

**EFFECTOS SINÉRGICOS EN LA CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA
DE JAULA CON RESIDUOS INDUSTRIALES**

JOSÉ DANIEL MARÍN BATISTA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2016

**EFFECTOS SINÉRGICOS EN LA CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA
DE JAULA CON RESIDUOS INDUSTRIALES**

JOSÉ DANIEL MARÍN BATISTA

**Trabajo de investigación presentado como requisito
para optar al título de magister en ingeniería química**

Director

PhD HUMBERTO ESCALANTE HERNÁNDEZ

Co Director

PhD LILIANA CASTRO MOLANO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2016

AGRADECIMIENTOS

Gratamente extiendo mis agradecimientos a las personas en las memorías fotográficas presentadas a continuación. A todos ellos, muchas gracias por suportar los resultados de este trabajo de investigación.



DEDICATORIAS

Las memorias consignadas en este trabajo de investigación están dedicadas:

A Sonia Batista por ser mi mama adoptiva y quien soportó mis sueños de ser científico.

A Lílana del pilar castro molano por ser mi madre académica.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN GENERAL	15
1. CAPITULO I: EFECTO DE LA CARGA ORGÁNICA DE LA GALLINAZA DE JAULA SOBRE LA PRODUCCIÓN ESPECÍFICA DE METANO.	21
1.1 BIOQUÍMICA DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA.....	22
1.2 DEPENDENCIA ENTRE LA RELACIÓN INOCULO/SUSTRATO (RIS) Y LA CARGA ORGÁNICA.....	23
1.3 MATERIALES	24
1.4 DISEÑO EXPERIMENTAL	25
1.5 PROCEDIMIENTOS Y MÉTODOS ANALÍTICOS	25
1.6 RESULTADOS	27
1.6.1 Caracterización fisicoquímica del sustrato e inóculo	27
1.6.2 Evolución de la etapa acidogénica de la digestión anaerobia de gallinaza de jaula	27
1.6.3 Estabilidad del proceso anaerobio	28
1.6.4 Efecto de la concentración de amonio sobre la digestión anaerobia de la gallinaza de jaula.....	30
1.6.5 Biodegradabilidad anaerobia de la gallinaza de jaula	31
1.7 CONCLUSIONES.....	33
2. CAPITULO II: OPTIMIZACIÓN DE LA SINERGIA DEL PROCESO DE CODIGESTIÓN DE GALLINAZA DE JAULA CON RESIDUOS INDUSTRIALES.....	34
2.1 REVISIÓN GENERAL SOBRE LA SINERGIA EN CODIGESTIÓN ANAEROBIA. .	35
2.2 RESIDUOS COLOMBIANOS ATRACTIVOS PARA LA CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA DE JAULA.	38
2.3 OPTIMIZACIÓN DE LA SINERGIA DEL PROCESO DE CODIGESTIÓN ANAEROBIA	42
2.4 ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS CINÉTICOS	44
2.5 OPTIMIZACIÓN DE LA SINERGIA DE LA CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE LA GALLINAZA DE JAULA	46
2.5.1 Origen de inóculo, sustrato y cosustratos	46
2.5.2 Diseño experimental	47
2.5.3 Diseño de mezcla.....	47
2.5.4 Técnicas analíticas.....	49
2.5.5 Identificación de los efectos sinérgicos.....	49
2.5.6 Validación de los efectos sinérgicos	50

2.6	RESULTADOS	50
2.6.1	Caracterización de los residuos	50
2.6.2	Evaluación de la sinergia desde el punto de vista de la composición del sustrato.	51
2.6.3	Evaluación de la sinergia desde el punto de vista operacional	58
2.6.4	Evaluación de la sinergia desde el punto de vista de la inhibición del proceso	63
2.7	CONCLUSIONES.....	64
3.	CAPITULO III: MODELAMIENTO DEL EFECTO SINÉRGICO DURANTE LA CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA DE JAULA EN OPERACIÓN CONTINUA	65
3.1	BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA DE LA GALLINAZA DE JAULA EN OPERACIÓN CONTINÚA.....	66
3.2	MECANISMO DE INHIBICIÓN POR AMONIO	68
3.3	EXPERIMENTACIÓN	70
3.3.1	Puesta en marcha de los digestores continuos.....	70
3.3.2	Métodos analíticos	71
3.3.3	Optimización de la sinergia en operación continua	71
3.4	RESULTADOS	72
3.4.1	Perfil de producción de biogás, concentración de NAT y concentración de AGV durante la operación continúa del CSTR.	72
3.4.2	Cambios en los parámetros de estabilidad	75
3.4.3	Modelamiento de la sinergia de la codigestion anaerobia en el estado pseudo-estacionario.	76
3.5	CONCLUSIONES.....	79
4.	CONCLUSIONES GENERALES.....	80
	BIBLIOGRAFÍA.....	81

NOMENCLATURA

AT: Alcalinidad total.

AGV: Ácidos grasos volátiles (mg/L).

CoDA: Codigestión anaerobia

DA: Digestión anaerobia

EB: Estiércol bovino

GJ: Gallinaza de jaula

LS: Lactosuero o suero de leche

MC: Melaza de caña

NAT: Nitrógeno Amoniacal Total

PBM: Potencial de biometanización

PEM: Producción específica de metano experimental

PEMP: Producción específica de metano ponderado

RIS: Relación inóculo-sustrato

ST: Sólidos totales (mg/L)

SV: Sólidos volátiles (mg/L)

VCO: Velocidad de carga orgánica (g SV/L días)

VNTP: Volumen a condiciones estándar

VPB: Velocidad específica de producción de biogás.

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Potencial energético de la GJ.....	16
Figura 2. Cinética de consumo de ácidos grasos totales (AGV).....	28
Figura 3. Estabilidad de la digestión anaerobia de la gallinaza de jaula; a) Capacidad tampón (relación AGV/AT) b) pH.....	30
Figura 4. Variación de la concentración de amonio en la digestión anaerobia de la gallinaza de jaula.....	31
Figura 5. Producción específica de metano a partir de gallinaza de jaula.....	32
Figura 6. Análisis de medias del potencial de biometanización para la gallinaza de jaula.....	33
Figura 7. Diseño enrejado simplex {4,3}.....	48
Figura 8. Graficas de contorno de mezclas para la codigestión de gallinaza de jaula con melaza de caña, glicerol residual y lactosuero.....	53
Figura 9. Comparación de la producción específica de metano (PEM) con las superficies de incertidumbre para la tasa de producción de metano.....	59
Figura 10. Perfil de variación de pH (a) and capacidad tampón (b) durante el periodo de digestión.....	62
Figura 11. Concentración final de nitrógeno amoniacal total (NAT) para las mezclas sinérgicos óptimas.....	63
Figura 12. Mecanismo de inhibición del amoniaco.....	69
Figura 13. Biodigestor CSTR.....	71
Figura 14. Velocidad de producción de biogás (VPB), cambios en la concentración de NAT y concentración de AGV durante la operación continua de D1 y D2.....	73
Figura 15. Perfil de cambios del pH (a) y capacidad buffer (b) durante la operación continua de D1 y D2.....	75
Figura 16. Modelamiento del efecto del amonio en la concentración de AGV y VPB.....	77

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica del sustrato e inóculo.....	27
Tabla 2. Algunas experiencias de codigestiones anaerobias de gallinaza de jaula con residuos orgánicos ricos en carbono.....	36
Tabla 3. Diseño estadístico enrejado <i>simplex</i> {4,3}- aumentado con puntos axiales.....	48
Tabla 4. Significado del valor \emptyset	49
Tabla 5. Caracterización de sustrato y cosustratos.....	51
Tabla 6. Efecto de los cosustratos en mezclas binarias con GJ.....	56
Tabla 7. Efecto de los cosustratos en mezclas ternarias con GJ.....	57
Tabla 8. Comparación de la composición de las mezclas sinérgicas óptimas con la composición de la gallinaza de jaula.....	58
Tabla 9. Producción específica de metano (PEM) para las proporciones sinérgicas óptimas a cargas orgánicas de 9 g SV/L y 18 g SV/L.....	60
Tabla 10. Efecto de la concentración del nitrógeno amoniacal total en procesos anaerobios.....	69
Tabla 11. Coeficientes y valores $-p$ del modelamiento de D1 y D2.....	76

LISTADO DE ECUACIONES

(1) Normalización de producción acumulada de metano.....	26
(2) Ecuación de <i>Buswell</i>	26
(3) Número de puntos de un diseño enrejado simplex.....	43
(4) Ecuación canónica de un diseño con mezcla.....	43
(5) Producción específica de metano ponderado (PEMP).....	44
(6) Forma diferencial del modelo de primer orden.....	45
(7) Modelo de cinético de primer orden.....	45
(8) Ecuación de primer orden modificada.....	45
(9) Ecuación de <i>Gompertz</i>	46
(10) Modelo cinético empírico de un reactor UASB.....	46
(11) Efectos sinérgicos o antagónicos.....	49
(11) Equilibrio amonio amoniaco.....	68
(12) Modelo polinómica de segundo orden.....	72

RESUMEN

TITULO: EFECTOS SINÉRGICOS EN LA CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA DE JAULA CON RESIDUOS INDUSTRIALES.

AUTOR: JOSÉ DANIEL MARÍN BATISTA

PALABRAS CLAVES: Gallinaza de jaula, codigestion anaerobia, glicerol, melaza de caña, lactosuero.

En este trabajo de investigación se evaluó la sinergia del proceso de codigestión anaerobia desde la perspectiva de la inhibición, aumentos en la carga orgánica y cinética del proceso. La investigación se realizó en dos etapas: la primera etapa permitió identificar los efectos sinérgicos en la codigestión anaerobia de gallinaza de jaula con residuos ricos en carbohidratos (Melaza de caña), lípidos (glicerol crudo) y proteínas (Lactosuero) en operación discontinua. Los ensayos fueron diseñados mediante la implementación de un diseño estadístico *lattice simplex*, el cual permitió eliminar la aleatoriedad en los experimentos y optimizar el proceso en función de una sinergia. La mezcla sinérgica óptima se evaluó en operación continua en un reactor de tanque agitado. La operación continua permitió definir los tiempos de retención hidráulicos necesarios para la operación del proceso de monodigestión de gallinaza de jaula y codigestión anaerobia con residuos industriales. El efecto de los cosustratos sobre la sinergia del proceso fue modelado corroborándose que la sinergia permite disminuir los niveles de inhibición a medida que la producción de biogás incrementa por mejoras en el tiempo de retención. Este trabajo describe una metodología que facilita la formulación de mezclas de residuos para su estabilización mediante codigestion anaerobia.

***Trabajo de investigación**

**** Facultad de Ing. Físicoquímica. Escuela de Ing. Química. Director Liliana Castro molano. Director Humberto Escalante Hernández.**

ABSTRACT

TITLE: SINERGISTIC EFFECTS DURING ANAEROBIC CODIGESTION OF CHICKEN MANURE WITH INDUSTRIAL AGROWASTE.

AUTHOR: JOSÉ DANIEL MARÍN BATISTA

KEYWORDS: Chicken manure, anaerobic codigestion, glycerol, sugarcane molasse, cheesy whey.

In this research the synergy of anaerobic co-digestion process was evaluated from the perspective of inhibition, increases in organic load and process kinetics. The research was conducted in two stages: the first stage identified synergistic effects on anaerobic co-digestion of chicken manure with waste rich in carbohydrates (sugarcane molasse), lipids (Crude glycerol) and proteins (cheese whey) in batch operation. The trials were designed by implementing a statistical design simplex lattice, which allowed eliminating randomness in the experiments and optimize the process based on a synergy. The optimum synergistic blend was evaluated in a continuously operating stirred tank reactor. Continuous operation allowed defining hydraulic retention time necessary for the operation of process monodigestión cage chicken manure and anaerobic co-digestion with industrial waste. The effect of co-substrates on the synergy of the process was modeled corroborating that synergy allows lower levels of inhibition as biogas production increased by improvements in retention time. The main outlook of this study comprises of a methodology which ease formulation of waste mixture for further stabilization via anaerobic codigestion.

***Thesis**

**** Faculty of phisicochemistry. School of chemical engineering. Director Liliana Castro molano. Director Humberto Escalante Hernández. °**

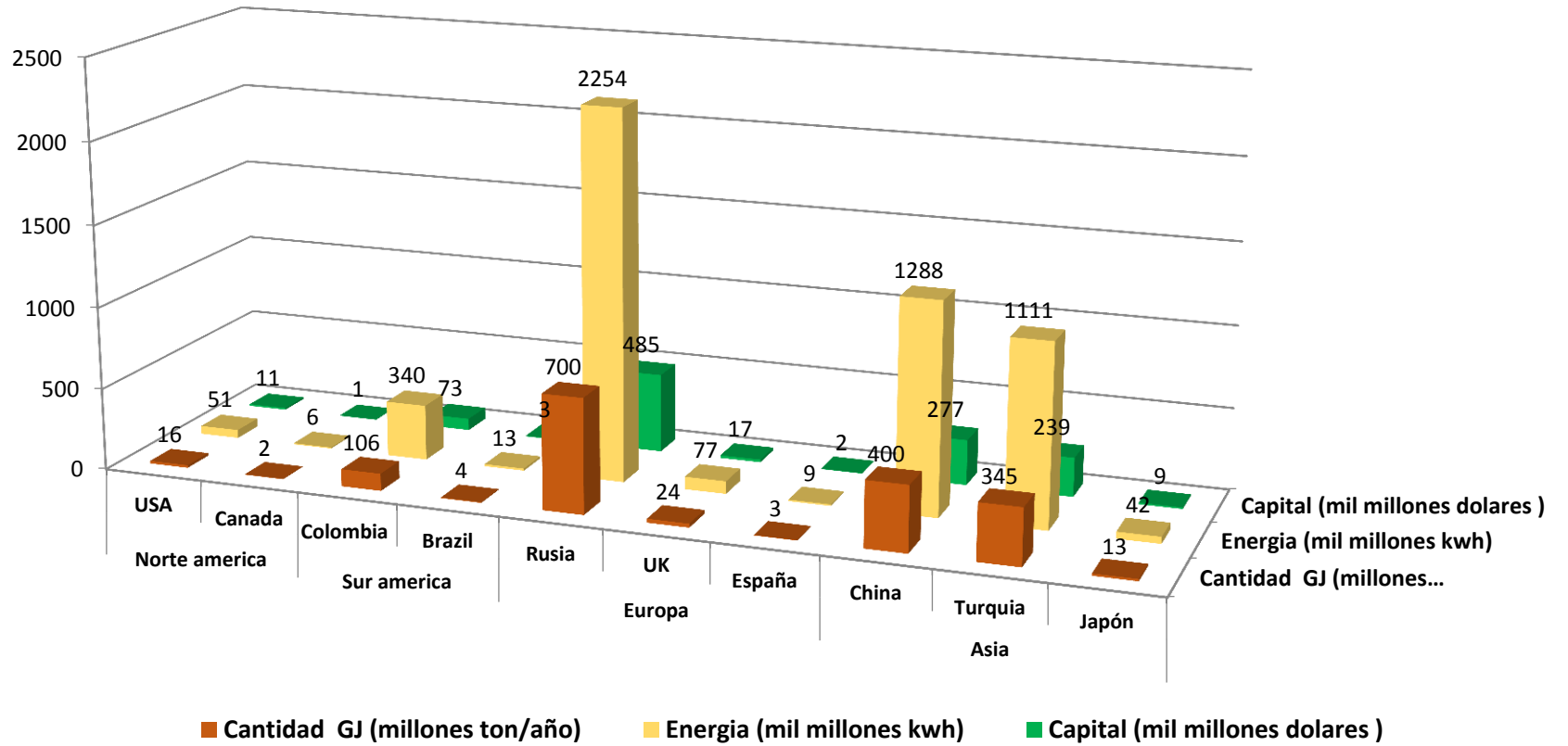
INTRODUCCIÓN GENERAL

La avicultura, al estar presente en diferentes productos básicos de la canasta familiar (huevos y carnes) se considera uno de los sectores agroindustriales con mayor crecimiento a nivel mundial. Como consecuencia, el sector ha incrementado el volumen de residuos orgánicos poniendo interés particularmente en el estiércol avícola, por su alta velocidad de generación durante los procesos de explotación (Salminen et al., 2002). Para la eliminación del estiércol, conocido comúnmente como gallinaza, el sector emplea tecnologías como el compostaje para la obtención de fertilizantes (Abouelenien et al., 2014). El compost representa una tecnología insuficiente para el sector, al no permitir la disposición total de la gallinaza y la recuperación de la inversión de capital (Dong et al., 2003).

Dependiendo del tipo de explotación, el estiércol avícola adquiere diferentes características fisicoquímicas. La gallinaza procedente de las explotaciones en jaula o gallinaza de jaula, resulta de las deyecciones (sólidas y líquidas), plumas, residuo de alimento y huevos rotos, que caen al piso y se mezclan (Estrada, 2005). Este tipo de estiércol contiene un alto contenido de humedad y altos niveles de nitrógeno principalmente en forma de proteínas (70%) y ácido úrico (30%) que se volatiliza rápidamente creando fuertes olores (Abouelenien, et al., 2009). Dado el potencial contaminante y la ineficiencia del sector para dar disposición final al residuo, se requieren de nuevas tecnologías que permitan aumentar la capacidad de gestión de la gallinaza de jaula.

Estudios sobre valorización energética de GJ reportan un poder calorífico oscilante entre 12,828 - 10,351kJ/kg, el cual permite aproximar la cantidad de energía extraíble a partir de la biomasa (Cotana, et al., 2014; Escalante, et al., 2010). La figura 1 presenta el potencial energético de la GJ en términos de potencia y capital en diferentes partes del mundo. Países como Rusia, China y Turquía lideran la explotación avícola al generar alrededor de 700, 400 y 345 millones de toneladas de GJ al año (Yetilmezsoy, et al., 2009; Li, et al., 2013b; Serhat et al., 2009).

Figura 1. Potencial energético de la GJ



La conversión de esta biomasa en energía representa altos niveles de potencia con un valor comercial aproximado de 2'254,000, 1'288,000, 1'111,000 millones de dólares anuales. Otros países competitivos son Colombia, Inglaterra, Japón, USA, Canadá, Brasil y España con una generación de GJ entre 106 – 2 millones de toneladas al año los cuales representan una producción de energía entre 340,000 - 6,000 millones de kW con un valor comercial entre 73,000-1,000 millones de dólares anuales (Escalante, et al., 2010; Callaghan, et al., 2002; Niu, et al., 2013; McDonald, et al., 2008; Valdehita, et al., 2014). Lo anterior, evidencia el grado del valor energético agregado del tratamiento de la GJ a través de las tecnologías de conversión energética.

Una alternativa para el manejo de residuos como la gallinaza de jaula es el tratamiento anaerobio mediante digestión y codigestión anaerobia. Particularmente, la digestión anaerobia de gallinaza de jaula (GJ) no es suficiente al presentarse un bajo potencial de biometanización. El residuo presenta un elevado contenido de proteínas que al degradar se transforman en amoníaco, el cual a concentraciones superiores a 2500 mg/L inhibe la actividad metanogénica (Nui et al 2013a). La codigestión anaerobia (CoDA) de GJ con residuos orgánicos ricos en carbono ha demostrado ser una alternativa viable para mitigar la inhibición y mejorar la factibilidad de operar digestores con gallinaza (Abouelenein et al., 2014). La CoDA favorece las interacciones positivas de equilibrio entre macro y micro nutrientes, balance de humedad, dilución de compuestos tóxicos o inhibitorios (Astals et al., 2014). Bajo estas circunstancias $1+1>2$, lo cual indica que codigestar dos o más residuos es producir más metano que el obtenido al ponderar el metano de las digestiones de los residuos por separado (Mata-Álvarez et al., 2014). Lo anterior se conoce como sinergismo, la sinergia describe el resultado del trabajo colectivo de varios actores, creando así un efecto más grande que el esperado por la suma de los efectos de cada uno al operar independientemente (Lu, et al., 2013).

En los resultados de Li et al, 2013b, la producción específica de metano ponderado (PEMP) y la producción específica obtenida experimentalmente (PEM) para la mezcla rastrojo de maíz y GJ (1:3 en base a sólidos volátiles) fue de 260 ml/g SV y 328 ml/g SV, respectivamente. No obstante, a las proporciones dadas se presentó un efecto sinérgico al ser positiva la diferencia entre la PEMP y la PEM experimental de 68 ml/g SV. Esta sinergia se confirma al comparar el valor positivo de la sustracción con la desviación estándar, 6 ml/ g SV, el cual es mucho mayor. Por otra parte, para esta proporción de mezcla la relación C/N fue 16.8, muy por debajo del rango óptimo (entre 20 y 30) (Yangin-Gomec & Ozturk, 2013), indicando que la relación C/N es independiente del efecto sinérgico.

Igualmente, la sinergia del proceso ha sido relacionada con mejoras en el equilibrio nutricional. Los efectos sinérgicos podrían ser consecuencia de la contribución del cosustrato en términos de alcalinidad, oligoelementos, nutrientes, u otra característica que el sustrato carezca por sí mismo; resultando en mejoras de la estabilidad del proceso y por lo tanto de la producción específica de metano (Labatut et al., 2011). La composición del sustrato determina la eficacia de la población microbiana, que a su vez influye en gran medida en el rendimiento de biogás, la rapidez del proceso de estabilización y la tasa de degradación de sólidos (Pagés-Díaz, et al., 2014).

Por otra parte, la sinergia también se ha relacionado con el alivio en la inhibición del proceso que a su vez se manifiesta en mejoras de la cinética de biodegradación (Astals et al., 2014). La mitigación de la inhibición facilita el correcto desarrollo de los consorcios microbianos, lo cual conduce a digestiones estables que garantizan la correcta medición del potencial de biometanización (Sharma et al., 2013). No obstante, tanto el potencial de biometanización como la inhibición al igual que la sinergia están directamente vinculadas con la composición nutricional del sustrato (Astals et al., 2014).

Es claro que el concepto de sinergia es limitado y por tanto, la literatura no reporta modelos para predecir la sinergia y solucionar problemas operativos a través de la identificación de la misma. Dado el potencial inhibitorio del amonio en la digestión anaerobia de la gallinaza de jaula, las plantas de biogás que tratan este residuo están forzadas a operar por debajo de su máxima capacidad (Wang et al., 2013). No obstante, existe la necesidad de mejorar el rendimiento de los biodigestores que operan gallinaza de jaula como sustrato. Sin embargo, se requiere mayor información que permita evaluar la efectividad de los cosustratos mediante la identificación de los efectos sinérgicos, la cual contribuya a la formulación de mezclas que mejoren la biodegradabilidad, cinética y estabilidad del proceso anaerobio.

Esta investigación evaluó los efectos sinérgicos en la codigestión anaerobia de gallinaza de jaula con residuos industriales ricos en carbohidratos, lípidos y proteínas. Durante el primer capítulo se estudió el efecto de la carga orgánica expresada en función de la relación inóculo/sustrato (RIS) sobre la producción específica de metano (PEM) en la gallinaza de jaula usando como inóculo lodo estiércol bovino. Cargas orgánicas de 16.6, 11.0, 8.3, 6.6 y 5.5 g SV/L fueron evaluadas. Los resultados obtenidos demuestran que el rendimiento del proceso es directamente proporcional a la concentración de sustrato. Este estudio también confirmó que la RIS permite diluir la concentración de compuestos inhibitorios como el amonio en el caso de la gallinaza de jaula.

Durante el segundo capítulo se evaluaron los efectos sinérgicos la de gallinaza de jaula con residuos industriales ricos en carbohidratos (melaza de caña), lípidos (glicerol crudo) y lactosuero (proteínas) mediante ensayos de biometanización en operación discontinua. Los ensayos permitieron identificar las mezclas sinérgicas óptimas al igual que estimar parámetros cinéticos a partir del modelamiento de los perfiles de metanización. No obstante, se consiguió formular mezclas factibles de

gallinaza de jaula con residuos ricos en carbohidratos, lípidos y proteínas para posible implementación en biodigestores a escala industrial.

Finalmente, el tercer capítulo evidencia los resultados de la puesta en marcha de dos reactores continuos de tanque agitado con los cuales se estudió el efecto de la sinergia sobre la inhibición del proceso. El primer reactor fue alimentado con gallinaza de jaula como sustrato y el segundo fue cargado con una mezcla sinérgica óptima de gallinaza con residuos industriales. Cada reactor operó a las mismas condiciones de operación y se cargó con velocidades de carga orgánica (g SV/Ld) de 1, 2 y 3. El modelamiento permitió determinar parámetros de biodegradabilidad y adicionalmente los rangos de tolerancia en cuanto a concentración de amonio y ácidos grasos al alcanzar el estado pseudo-estacionario.

La realización de esta investigación permitió profundizar en el conocimiento de la sinergia de la codigestión anaerobia de la gallinaza de jaula con residuos industriales. Los efectos de la sinergia fueron estudiados sobre la carga orgánica, la composición del sustrato, y la inhibición del proceso.

1. CAPITULO I: EFECTO DE LA CARGA ORGÁNICA DE LA GALLINAZA DE JAULA SOBRE LA PRODUCCIÓN ESPECÍFICA DE METANO.

Resumen

El objetivo de este capítulo fue evaluar el efecto de la carga orgánica expresada en función de la relación inóculo/sustrato (RIS) sobre el potencial de biometanización de la gallinaza de jaula usando como inóculo lodo estiércol bovino. Se llevaron a cabo ensayos de biodegradación anaerobia a temperatura mesofílica de $37\pm 2^{\circ}\text{C}$. Para cada una de las cargas orgánicas evaluadas (16.6, 11.0, 8.3, 6.6 y 5.5 g SV/L) se cuantificaron las variables: ácidos grasos volátiles totales, alcalinidad, concentración de amonio y volumen acumulado de metano. El mayor potencial de biometanización ($0.58 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg SV}$) se alcanzó cuando la biodegradación anaerobia se llevó a cabo con una RIS de 1.0. Los resultados obtenidos demuestran que la gallinaza es un sustrato potencial para ser degradado por digestión anaerobia y el rendimiento del proceso es directamente proporcional a la concentración del sustrato. Este estudio también confirma que la RIS permite diluir la concentración de compuestos inhibitorios como el amonio en el caso de la gallinaza de jaula.

1.1 BIOQUÍMICA DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

Durante el tratamiento anaerobio, la materia orgánica es transformada en biogás (70% metano y 30% dióxido de carbono) y un digerido como subproducto del proceso fermentativo destinado a la recuperación de nutrientes (Chamy, et al., 2012; Zhang, et al., 2014). La tecnología de DA es un proceso bioquímico que involucra cuatro etapas: a) la *hidrólisis* de las macromoléculas como polisacáridos, lípidos y proteínas b) la *acidogénesis o fermentación* de los monómeros, c) la *acetogénesis* y d) la metanogénesis (Gangagni, et al., 2011). Estas etapas son realizadas por consorcios microbianos conformados por diferentes poblaciones de microorganismos que pueden utilizar variedad de sustratos y que actúan en simbiosis (Quintero, et al., 2012).

Durante la hidrólisis, la materia orgánica compuesta de moléculas complejas debe ser degradada a compuestos más simples que puedan ser metabolizados por los microorganismos (Magbanua, et al., 1997). Las bacterias que participan en esta etapa son las fermentativas, productoras de ácido acético, compuestos monocarbonados, ácidos grasos orgánicos y otros compuestos policarbonados. En esta etapa los microorganismos segregan enzimas extracelulares que actúan sobre sustratos como la celulosa, el almidón, las proteínas y las grasas; transformándolos por hidrólisis en compuestos orgánicos solubles (Fantozzi & Buratti, 2009). De esta forma, los carbohidratos se convierten en azúcares simples, las grasas en ácidos grasos libres y glicerol y las proteínas se hidrolizan hasta péptidos y aminoácidos, liberando dióxido de carbono (CO_2) e hidrógeno (H_2). Durante la acidogénesis, los monómeros producidos en la etapa anterior son fermentados para generar ácidos grasos ionizados (AGV) tipo acetato, propionato, butirato, valerato, y CO_2 e H_2 (Barrera, et al., 2009). En la etapa de acetogénesis, se produce acetato (mayoritariamente), H_2 y CO_2 . La metanogénesis es el paso final, donde el consorcio metanogénico utiliza el acetato para producir gas metano (CH_4) y CO_2 , principalmente (Gangagni, et al., 2011).

1.2 DEPENDENCIA ENTRE LA RELACIÓN INOCULO/SUSTRATO (RIS) Y LA CARGA ORGÁNICA.

Estudios sobre DA a condiciones mesofílicas, han reportado rendimientos en la producción de metano entre 0.29 y 0.50 m³CH₄/kg SV, utilizando GJ como sustrato y lodo anaerobio de plantas de tratamiento de aguas residuales como inóculo (Li et al, 2013; Nui et al, 2013). Un parámetro importante a nivel operacional en DA es la carga orgánica representada mediante la relación Inóculo/sustrato (RIS) (Hashimoto et al., 1989). Se ha demostrado experimentalmente, que la RIS afecta la velocidad de biodegradación del sustrato, por tanto este parámetro permite especificar la producción específica de metano (PEM) y hacer estudios de DA comparables para cualquier tipo de sustrato (Raposo et al., 2011).

Los primeros estudios relacionados con la influencia de carga orgánica sobre PEM en términos de la RIS, se llevaron a cabo en operación discontinua, usando ensilado de maíz como sustrato y lodo estiércol bovino como inóculo en concentraciones volumétricas de 0 (control), 10, 30, 50, 70 y 90 %. Los resultados mostraron que para altas cargas orgánicas (valores de RIS por debajo de 0.25) la velocidad de biodegradación del sustrato fue lenta comparada con la velocidad de biodegradación del sustrato para valores en la RIS cercanos a 2 (Hashimoto et al., 1989). Resultados similares fueron obtenidos por Raposo et al., (2006), para la DA del mismo sustrato usando lodo estiércol bovino como inóculo a RIS entre 1 y 3.

La influencia de la RIS sobre el PEM también ha sido estudiada para los desechos de comida y residuos agroindustriales. Se comprobó que existe una relación lineal decreciente entre los rendimientos de biogás y la RIS (Liu et al., 2009). Neves et al., (2004), afirmó que para la DA de desechos de cocina utilizando lodo granular y lodo suspendido como inóculo, la selección de la RIS llega a ser más determinante que la misma actividad metabólica del inóculo. El criterio para establecer un valor de RIS gira en torno a la complejidad de biodegradación del sustrato. En el caso de la GJ, concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV) entre 2000-4800 mg/L y alcalinidad (AT) entre 4700-13600 mg/L permiten un adecuado arranque del

proceso anaerobio (Salminen et al., 2002; Callaghana et al., 2002). Sin embargo, la GJ también contiene nitrógeno amoniacal que en concentraciones superiores a 5000 mg/L ejercen un efecto tóxico o inhibitor sobre la actividad microbiana afectando la estabilidad del proceso (Nue et al, 2013).

Owen et al., (1979), establecieron que valores superiores a 1 en la RIS permiten diluir la concentración de compuestos tóxico presentes en el sustrato. Adicionalmente, Chynoweth et al., (1993) observaron que para sustratos como la celulosa se requiere una RIS de 2.0 para evitar inhibición por elevada acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV). La acidificación producida por la baja capacidad buffer en la biodegradación anaeróbica de residuos de cocina y la inhibición causada por la liberación de ortofosfatos en la DA de algas también fueron controladas al establecer una RIS superior a 1.0 permitiendo operar el proceso en valores de pH dentro del rango adecuado (6.0-8.5) para la DA (Zeng et al., 2010; Neves et al., 2004). No obstante, en los estudios de DA se requiere establecer una carga orgánica en función de una RIS, que permita especificar las condiciones a las cuales se realizó el arranque, se alcanzó la estabilización del proceso y se determinó el rendimiento específico de metano.

1.3 MATERIALES

El sustrato utilizado en la experimentación corresponde a GJ recolectada de una granja avícola localizada en el municipio de Lebrija-Santander, Colombia (7°12'15.0"N 73°07'47.9"W). La GJ se mantuvo refrigerada a temperatura de (4°C) para su posterior caracterización. Se utilizó como inóculo lodo estiércol bovino, procedente de un frigorífico en Rio negro, Santander (7°12'15.0"N 73°07'47.9"W). Santander. El estiércol bovino se pre-incubó a 25°C para reducir el contenido de la materia orgánica residual. La composición del inóculo fue de 777 mg/L DQO soluble, 28.2 g de sólidos totales/kg de muestra y de los cuales el 65% corresponden a volátiles. Los grupos tróficos presentes en el inóculo fueron identificados por medio del número más probable de células por concentración de

inóculo (células NMP/g sólido suspendido volátil), reportándose la presencia de 2.8×10^4 metanógenos acetoclásticas y 2.3×10^4 metanógenos hidrogenotróficos y 2.9×10^4 arqueas metanógenas de metanol (Alzate et al., 2016).

1.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

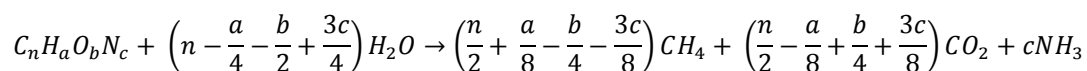
La producción específica de metano (PEM) de la GJ fue determinada experimentalmente de acuerdo al protocolo establecido por Angelidaki et al., (2009). Se evaluaron cinco cargas orgánicas 16.6 (RIS 1.0), 11.0 (RIS 1.5), 8.3 (RIS 2.0), 6.6 (RIS 2.5) y 5.5 (RIS 3.0) g SV/L, en biodigestores de 60 ml, con una cantidad fija de inóculo de 0.58 g de SV. Para garantizar condiciones de anaerobiosis en el sistema, los biodigestores fueron purgados con nitrógeno durante 2 minutos y sellados con tapones de butilo y agrafes de aluminio. Los ensayos de biodegradación se llevaron a cabo por triplicado durante 30 días en condiciones mesofílicas de temperatura ($37^\circ\text{C} \pm 2$) en una incubadora (BD-53+RS422 WTB BINDER).

1.5 PROCEDIMIENTOS Y MÉTODOS ANALÍTICOS

Los ácidos grasos volátiles (AGV), alcalinidad total (AT), pH, NH_4^+ y volumen de metano acumulado fueron considerados como las variables de respuesta del proceso. Los AGV fueron cuantificados por titulación con NaOH (0.1 N) y la AT por titulación con HCl (0.1 N) (Anderson & Yang, 1992). El pH fue determinado mediante un medidor de pH (pH meter 691 Metrohm) y el NH_4^+ de acuerdo al protocolo 4500-NH₃D del *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). El biogás producido durante el tiempo de experimentación se burbujeó en una solución alcalina (NaOH) con fenolftaleína como indicador y pH 12, en la cual el CO_2 es absorbido. El volumen de solución alcalina desplazada es equivalente al volumen de metano generado por el sistema anaerobio (Angelidakiet al., 2009). El metano se cuantificó en condiciones normales de temperatura y presión mediante la ecuación (1).

$$V_{NTP} = V \frac{(P_o - P)T_o}{P_{atm} \cdot T} \quad (1)$$

Donde, V_{NTP} es el volumen de gas a condiciones normales (ml), V es el volumen de gas generado durante el ensayo de biometanización, P_o es la presión de metano en condiciones normales (1013.25 mbar), T es la temperatura de ambiente a la cual se realizó la medición, P es la Presión de vapor (mbar) a temperatura T y P_{atm} es la presión atmosférica del lugar en el cual se llevó a cabo el ensayo. La producción específica de metano (PEM) correspondió al volumen normalizado de metano acumulado sobre sólidos volátiles adicionados del sustrato (SV). El potencial teórico de biometanización (PBM_{th}) del sustrato se calculó mediante la estequiometria representada en la ecuación de *Buswell* (2), la cual asume conversión completa de toda la materia orgánica en biogás (Buswell & Neave, 1930).



$$PBM_{,th} = \frac{\left(\frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4} - \frac{3c}{8}\right) 22.4}{12n + a + 16b + 14c} \left(\frac{m^3 - CH_4}{kg - VS}\right) \quad (2)$$

Donde, 22.4 es el volumen de un mol de gas a condiciones estándar de temperatura y presión. Los resultados experimentales fueron analizados con el software *StatGraphics plus 5.1*, StatPoint Inc. (Virginia, EE.UU) ®. El test de *Fisher's* fue usado para verificar diferencias estadísticas entre los resultados.

1.6 RESULTADOS

1.6.1 Caracterización fisicoquímica del sustrato e inóculo

En la Tabla 1, se presenta la caracterización fisicoquímica de sustrato e inóculo. El pH del sustrato y del inóculo se encuentra en el rango de operación para el desarrollo de DA reportado en la literatura (Raposo et al., 2006). La materia orgánica del sustrato representada por la concentración de sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV) y ácidos grasos volátiles (AGV) de la gallinaza de jaula, permiten identificarla como una fuente de carbono atractiva para DA.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica del sustrato e inóculo.

Parámetro	Unidades	Sustrato	Inóculo
Ph	-	6.3	8.5
Sólidos totales (ST)	g/L	226.2	29.2
Sólidos Volátiles (SV)	g/L	107.7	20.5
Alcalinidad total (AT)	mg CaCO ₃ /L	13467	6023
Ácidos grasos volátiles (AGV)	mg/L	15613	1370
Densidad	g/L	1080	1003
C	%P/P	28.0	ND
H	%P/P	2.6	ND
O	%P/P	18.4	ND
N	%P/P	3.8	ND

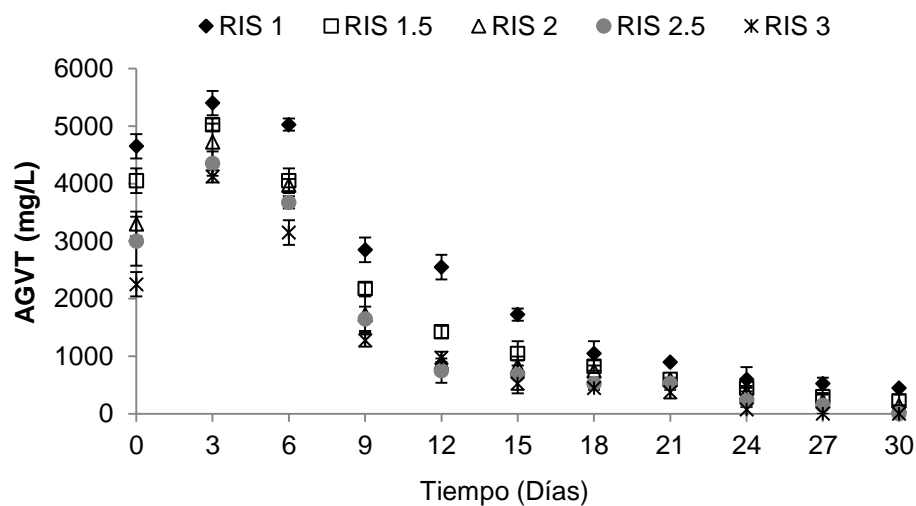
ND: No determinado

1.6.2 Evolución de la etapa acidogénica de la digestión anaerobia de gallinaza de jaula

La cinética de consumo de AGV durante 30 días de biodegradación, se presenta para las RIS de 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 (Figura 2). Se observa que para las diferentes relaciones inóculo-sustrato, el inicio del proceso presenta la misma tendencia exponencial; indicando afinidad del inóculo hacia el sustrato (Quintero et al., 2012). Se ha demostrado que concentraciones de AGV superiores a los 8000 mg/L pueden causar inhibición del proceso anaerobio (Castillo et al., 2007), en este estudio la máxima concentración de AGV fue de 5400 mg/L (RIS 1), valor que

se encuentra por debajo del límite que ocasionaría inhibición por acidificación. A partir del día 6, la concentración de AGV disminuyó por debajo de 450 mg/L, lo que demuestra alto grado de reducción de materia orgánica y consecuentemente actividad metabólica de los microorganismos acetogénicos, capaces de reducir los AGV hasta acetato (Wang et al., 1999).

Figura 2. Cinética de consumo de ácidos grasos totales (AGV)



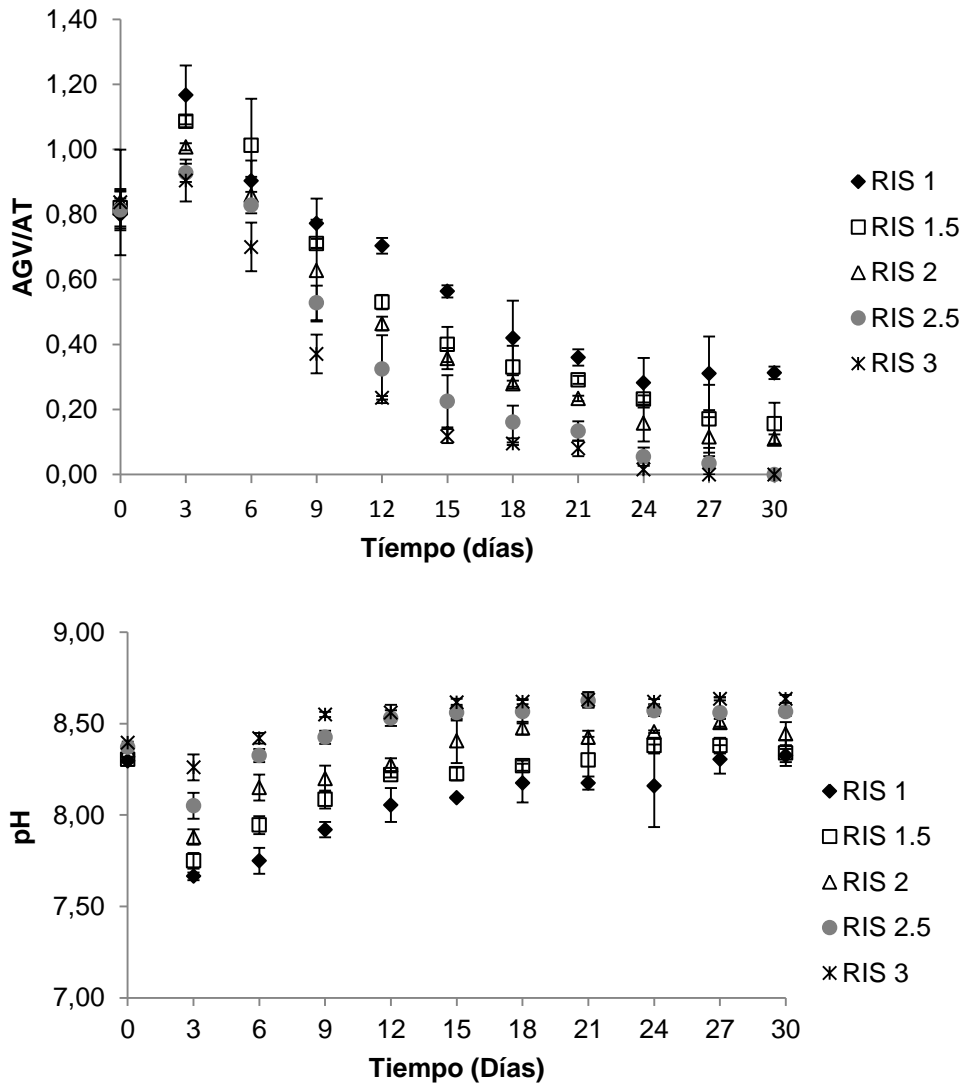
1.6.3 Estabilidad del proceso anaerobio

Los procesos anaerobios alcanzan la estabilidad en rangos de AGV/AT entre 0.2 - 0.8. (Raposo et al., 2011). Relaciones de AGV/AT superiores a 0.8 indican que no hay balance entre la población de microorganismos acidogénicos y metanogénicos (Wan et al, 2011). En la figura 3a, se muestra el cambio en la estabilidad del proceso de digestión anaerobia de la gallinaza para diferentes RIS. Se demostró que la estabilidad del proceso de digestión anaerobia de gallinaza se favorece a cargas orgánicas inferiores a 16.6 g SV/l, equivalentes a RIS superiores a 1.0. Sin embargo, durante el inicio del proceso se evidenció inestabilidad en el sistema para todas las relaciones estudiadas con valores de AGV/AT superiores a 0.8. Esto se debe a que las velocidades de producción de ácidos son mayores a las de consumo de los mismos, razón por la cual la relación AGV/AT se encuentra en los

límites de estabilidad para el experimento con RIS de 3. Debido a la capacidad *buffer* del inóculo (0.23, ver tabla 1), el sistema alcanza estabilidad, al noveno día de biodegradación y la relación AGV/AT se conserva en un rango 0.0 y 0.3, el cual es adecuado para operar un proceso a condiciones estables. Estos resultados concuerdan con la estabilidad alcanzada ($AGV/AT = 0.4$) para la digestión de lodo estiércol bovino y gallinaza diluida al 15% (Callaghan et al., 2002).

La evolución del pH, para las diferentes RIS se presenta en la figura 3b. El pH para las RIS evaluadas osciló en un rango de entre 7.5 y 8.5, valores adecuados para el crecimiento de consorcios microbianos metanogénicos (Gerardi, 2003). Durante el proceso biodegradativo el pH disminuyó durante los primeros 3 días producto de incrementos en la concentración de AGV. Luego del cuarto día el pH se incrementó gradualmente hasta estabilizarse. Este comportamiento se puede explicar con base a lo reportado por Lay et al., (1998), los sustratos con alta carga orgánica como la GJ tienden a presentar rápidos incrementos en la concentración de AGV causando fuertes descensos en el pH y desestabilizando el reactor. Sin embargo incrementos progresivos en la concentración de amonio aumentan el pH al comportarse como una base (Lay et al., 1998; Yenigun et al., 2013). Angelidaki et al., (2003), describió resultados similares para sistemas con diferentes residuos orgánicos, puntualizando que para el caso de la GJ se pueden presentar interacciones entre la producción de AGV y pH que conducen a un estado de equilibrio.

Figura 3. Estabilidad de la digestión anaerobia de la gallinaza de jaula; a) Capacidad tampón (relación AGV/AT) b) pH

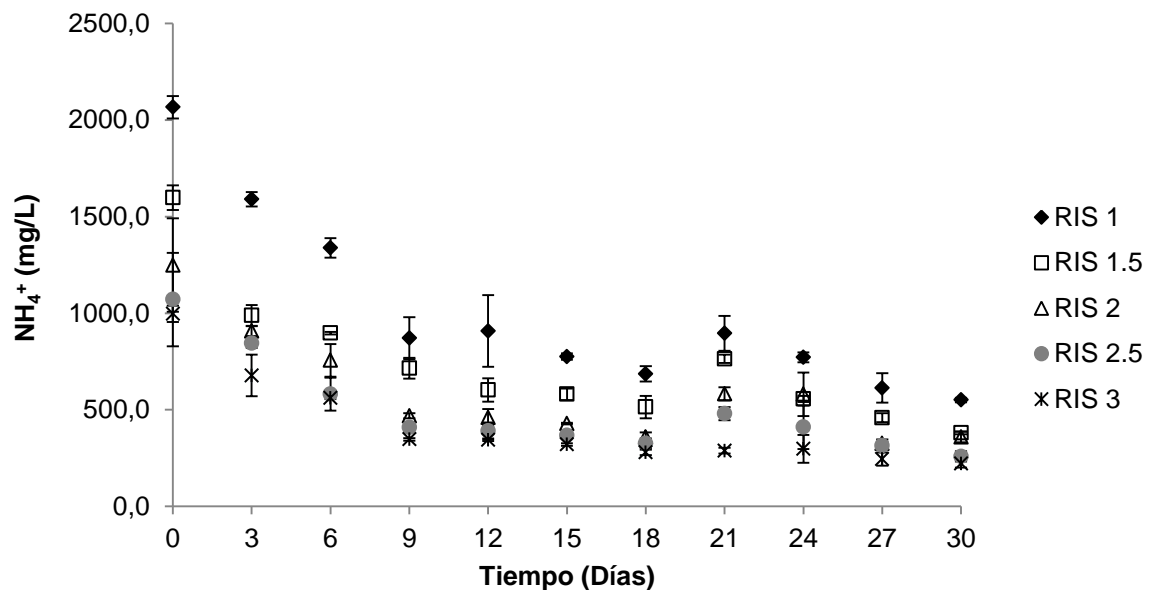


1.6.4 Efecto de la concentración de amonio sobre la digestión anaerobia de la gallinaza de jaula

En la Figura 4 se muestra que la variación de la concentración de amonio para cada una de las relaciones evaluadas tiene una tendencia similar. Las concentraciones de amonio son proporcionales a la carga orgánica adicionada. La máxima concentración de amonio (2066 mg/L) se presenta en el arranque del

proceso para la RIS de 1.0, que equivale a una carga orgánica de gallinaza de 16.6 g SV/L. El proceso se estabiliza a los 9 días de digestión alcanzando concentraciones de amonio que oscilan entre 225 mg/L y 550 mg/L. Teniendo en cuenta que concentraciones de amonio superiores a 2000 mg/L inhiben el sistema anaerobio; se observa que la digestión anaerobia de gallinaza de jaula no presenta efecto inhibitorio por iones amonio, excepto para cargas orgánicas superiores a 16.6 g SV/l (equivalente a RIS de 1).

Figura 4. Variación de la concentración de amonio en la digestión anaerobia de la gallinaza de jaula

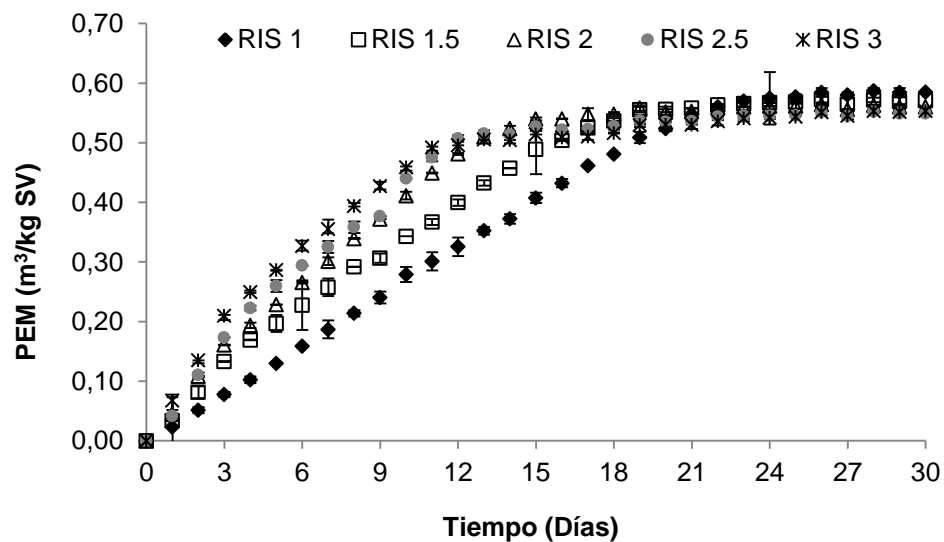


1.6.5 Biodegradabilidad anaerobia de la gallinaza de jaula

Según la composición elemental la gallinaza de jaula utilizada en este estudio (%p/p C:28; H:2.6; O:18.4; N:3.8) tiene teóricamente un potencial de biometanización (PBM) de 0.59 m³ CH₄/kg-SV. La producción específica de metano (PEM) del inóculo fue de 0.17 m³ CH₄/kg-SV, este valor se sustrajo de las respectivas PEM para cada uno de los ensayos (Figura 5). La máxima PEM fue de 0.58 m³ CH₄/kg-SV para RIS de 1.0 alcanzando una eficiencia del proceso del

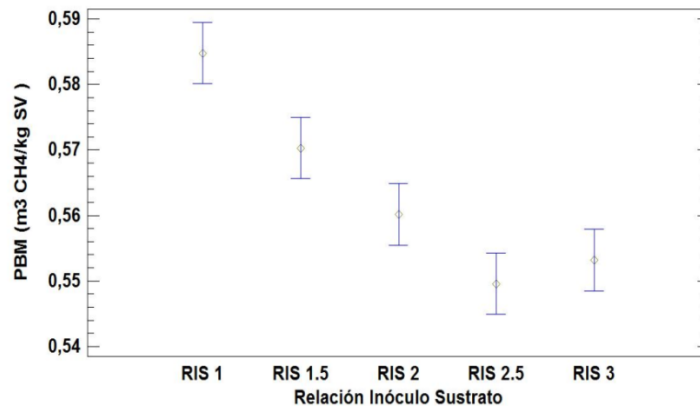
98%. La producción más baja de metano fue de $0.55 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ para los valores de RIS de 2.5 y 3.0, que corresponden a cargas orgánicas adicionales de 6.6 g SV/L y 5.5 g SV/L respectivamente. Los valores obtenidos en este estudio son superiores a los reportados por Li et al, (2013), quienes alcanzaron producciones de $0.30 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg-SV}$ a partir de una carga orgánica de 3.0 g SV/L de gallinaza de jaula. Lo anterior indica que el proceso de digestión anaerobia de la gallinaza de jaula presenta altos rendimientos de producción de metano.

Figura 5. Producción específica de metano a partir de gallinaza de jaula



La comparación de medias para las PEMs de la gallinaza de jaula a las RISs evaluadas (análisis estadístico), mostró que existen diferencias significativas entre cada uno de los experimentos con un valor de $p = 0.0001$ (Figura 6). Por consiguiente, se corrobora que cargas orgánicas inferiores a 17 gSV/L , no inhiben el proceso anaerobio de la gallinaza de jaula, demostrando un efecto inverso entre la carga orgánica de la gallinaza de jaula (expresada en función de la RIS) y el potencial de biometanización de este sustrato.

Figura 6. Análisis de medias del potencial de biometanización para la gallinaza de jaula



1.7 CONCLUSIONES

La producción específica de metano a partir de gallinaza de jaula se favorece al operar el proceso con cargas orgánicas inferiores a 17 g SV/L. En consecuencia, las relaciones inóculo (lodo estiércol bovino)/sustrato (gallinaza de jaula) superiores a 1.0 reducen la inhibición de la digestión anaerobia causada por la acumulación de ácidos grasos volátiles y iones amonio; dado que las máximas concentraciones de estos compuestos son 5400 mg/L y 2066 mg/L respectivamente. Como resultado, el potencial de biometanización de la gallinaza de jaula es de 0.58 m³ CH₄/kg-SV, alcanzando una eficiencia del proceso del 98%.

Estos resultados permiten inferir que una alternativa para mejorar la producción específica de metano a partir de la gallinaza de jaula a valores de cargas orgánicas superiores a 17 g SV/L, sería la co digestión con residuos industriales ricos en carbohidratos, lípidos y proteínas.

2. CAPITULO II: OPTIMIZACIÓN DE LA SINERGIA DEL PROCESO DE CODIGESTIÓN DE GALLINAZA DE JAULA CON RESIDUOS INDUSTRIALES

Resumen

En codigestión anaerobia, los efectos sinérgicos son descritos como una interacción positiva entre sustratos que hace superior a la producción de metano de la mezcla en comparación con la producción ponderada de las monodigestiones. En la actualidad, el conocimiento es limitado para definir la sinergia como un parámetro de control, diseño o para la solución de problemas en el proceso anaerobio. En esta investigación, se evaluaron los efectos sinérgicos en la codigestión anaerobia de la gallinaza de jaula con residuos industriales (melaza de caña, lactosuero y glicerol crudo). Se utilizó Un diseño estadístico de mezclas para realizar la formulación de proporciones. El diseño estadístico permitió identificar el efecto de los cosustratos para mezclas binarias y ternarias. Adicionalmente, los modelos empleados permitieron seleccionar las proporciones sinérgicamente óptimas mediante análisis de los parámetros cinéticos y de biodegradabilidad. Las proporciones óptimas se evaluaron posteriormente a condiciones inhibidas y no inhibidas. Como resultado, se concluyó que la sinergia del proceso es confiable cuando los cosustratos adicionados logran disminuir la inhibición del proceso al mismo tiempo que incrementan la producción de metano y la carga orgánica.

Ponencia: Marin-Batista J., Castro L., Puyol D., Escalante H, Astals S. Feasibility of sugarcane molasses as cosubstrate for chicken manure anaerobic digestion. XIV world congress on anaerobic digestion. Viña del Mar, Chile. 15-18th Nov, 2015.

Trabajo fin de carrera: Angarita A.K (2016) Evaluación de la co-digestión anaerobia de una mezcla terciaria compuesta por gallinaza de jaula, melaza de caña y lactosuero en un reactor de tanque agitado. Escuela Ing. Química. Universidad Industrial de Santander-UIS.

2.1 REVISIÓN GENERAL SOBRE LA SINERGIA EN CODIGESTIÓN ANAEROBIA.

La codigestión anaerobia (CoDA) se conoce como el tratamiento conjunto de dos o más sustratos con características complementarias. En CoDA, la complementariedad de los cosustratos contribuye a la disminución de los riesgos de inhibición, debido a un mejor equilibrio nutricional (Mata-Álvarez et al., 2014). La codigestión anaerobia de gallinaza con residuos orgánicos ha incrementado la factibilidad de operar plantas de biogás (Li et al., 2014). Los estudios demuestran que al codigestar gallinaza con residuos ricos en carbonos se presenta una sinergia durante el proceso biodegradativo, la cual conduce a un mejor rendimiento de metanización, mejoras en la estabilidad del digestato y disminución del riesgo de inhibición por amonio (Abouelenien et al., 2014).

En la tabla 2 se presenta un resumen de codigestión de gallinaza con residuos orgánicos ricos en carbono. En general, en estos estudios las proporciones de mezcla fueron seleccionadas aleatoriamente para lograr valores óptimos en relación C/N (25 a 30). Sin embargo, mezclas con baja relación C/N también fueron digeridas exitosamente con incrementos en la producción de metano (Zhang et al., 2014). Adicionalmente, los estudios demostraron que el cosustrato diluye la concentración de amonio disminuyendo la toxicidad, pero la producción de metano no fue mejorada significativamente. Por otra parte, las codigestiones se llevaron a cabo bajo condiciones húmedas o concentraciones de sólidos <10%, lo cual es inviable para aplicación industrial debido al alto consumo de agua y gran volumen de digestores (Li et al., 2013).

En CoDA, las mejoras en la producción de metano están relacionadas con la sinergia del proceso y los aumentos en la carga orgánica. El efecto sinérgico podría ser visto como un rendimiento de metano adicional al rendimiento ponderado de la mezcla y sirve como parámetro para explicar las mejoras en el

Tabla 2. Algunas experiencias de codigestiones anaerobias de gallinaza de jaula con residuos orgánicos ricos en carbono

Cosustrato	Modo de operación	Tiempo de digestión (Días)	T (°C)	Carga orgánica	Proporción de mezcla	Mayor producción de metano (m ³ CH ₄ /kg VS)		Concentración final (g/L) de nitrógeno amoniacal total (NAT) o amonio libre (NH ₃)		Referencia
						Control	Mezcla	Control	Mezcla	
Mezcla de residuos agrícolas (coco, yuca, café)	Batch (500 ml)	40	35	10 % ST	7:3 SV	0.480	0.502	12.5 NAT	10.6 NAT	Abouelenien et al., 2014
			55			0.490	0.506	15.8 NAT	9.7 NAT	
Rastrojo de maíz	Batch (250 ml)	30	37	3 g VS/L	1:0, 3:1, 1:1, 1:3, and 0:1 SV	0.291	0.298	0.09 NH ₃	0.02 NH ₃	Li et al, 2013
Rastrojo de arroz	Batch (1L)	60	35	8 % ST	100:0, 83.3:16.7, 75:25, 50:50, 25:75, 16.7:83.3, 0:100 TS	0.282	0.375	N.R	N.R	Zhang et al., 2014
Residuos alimenticios	CSTR (5L)	225	35	10% ST	50:50 SV	0.308	0.507	4.2 NAT	2.7 NAT	Wang et al., 2014
Lactosuero	CSTR (25L)	90	35	6% ST	15%, 25%, 35% and 50% (v/v)	0.880	0.860	4 NAT	3.2 NAT	Gelegenis et al., 2007
Estiércol porcino	Batch (125 ml)	113	35	N.R	100:0; 80:20; 60:40, 40:60, 20:80; 0:100	< 0.130	0.130	1.7 NAT	0.34 NAT	Magbanua et al., 2001
Estiércol bovino y ensilado de maíz	Batch 1 (L)	30	35	15 gST/L	Diseño factorial 2 ³	0.126	0.234	2.5 NAT	1.1 NAT	Wang, x., et al, 2013

N.R: No reportado

rendimiento de la producción de metano debido a la complementariedad del cosustrato (Labaut et al., 2011).

Estudios previos reportan mejoras en la viabilidad económica de la planta de biogás cuando hay presencia de efectos sinérgicos. Estos efectos propician incrementos en la biodegradabilidad y rapidez en la estabilización del proceso (Sharma et al., 2013). Por otro lado, Mata-Álvarez et al., (2014) afirmó que desde la perspectiva industrial, las mejoras en la producción de metano son consecuencia principalmente del aumento en la velocidad de carga orgánica en lugar de sinergia. Por tanto, si se desea implementar un proceso de CoDA, es viable considerar todo tipo de mezcla si el costo de transporte del cosustrato, desde el punto de generación hasta la planta de digestión se tiene en cuenta como el primer criterio de selección.

Además, la producción de metano es ampliamente influenciada por la carga orgánica o concentración inicial de sólidos volátiles en los digestores. La carga orgánica y el volumen acumulado de biogás presentan una relación proporcional (Raposo et al., 2006). Si la carga orgánica es muy baja, existe el riesgo de actividad metabólica microbiana deficiente causando poca producción de biogás (Tanimu et al., 2014), Por el contrario, si la carga orgánica es demasiado alta, se podría conducir a una situación de saturación donde los compuestos intermedios y tóxicos se acumularían, resultando en la inhibición del proceso (Wang et al., 2015).

En este capítulo se evaluaron los efectos sinérgicos durante la codigestión anaerobia gallinaza de jaula con residuos industriales (melaza de caña azucarera, lactosuero y glicerol crudo). El estudio permitió evaluar el efecto sinérgico bajo condiciones de inhibición y no inhibición.

2.2 RESIDUOS COLOMBIANOS ATRACTIVOS PARA LA CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA DE JAULA.

La selección de un cosustrato está ligada a criterios tales como la complementariedad de sus características fisicoquímicas y disponibilidad de la biomasa residual. En Colombia, la actividad agroindustrial es la principal fuente generadora de residuos orgánicos contaminantes, los cuales a su vez requieren de tecnologías económicas y ambientalmente amigables para su adecuada gestión (Escalante et al., 2010).

El lactosuero (LS) es un subproducto de la industria láctea. En Colombia, se producen aproximadamente 36000 toneladas de LS/año que lo posicionan como el residuo de mayor impacto ambiental en las industrias lácteas de mediano y gran tamaño (Rivaset. al, 2010). El lactosuero se genera en el proceso de producción de queso. Por un kilogramo de leche procesada se genera entre 85 y 90% de LS (Prazeres, 2013). A nivel mundial, las grandes empresas procesan el LS mediante liofilización, pero esta tecnología es costosa para ser aplicada en las pequeñas y medianas empresas (Mojica et. al,2007). El lactosuero presenta una concentración promedio en peso húmedo de proteína de 1.2-0.6 % (Rico et al., 2015; Gelegenis et al., 2007). Cuando los digestores se alimentan con residuos ricos en proteínas, aumentos significativos en la concentración de amoníaco se producen durante la etapa de fermentación que fortalece la capacidad de taponamiento, pero en concentraciones muy elevadas limita la metanogénesis (Esposito et al, 2014). Estudios sobre digestión anaerobia del LS, alcanzaron rendimientos de 0.2 - 0.4 m³/kg sólidos volátiles (SV) (Comino, et. al, 2012). Sin embargo, el pH ácido (3.5) y reducida alcalinidad (1.02 g/L CaCO₃) del LS reducen la factibilidad de operar digestores anaerobios con altas velocidades de carga orgánica (Gelegenis et al., 2007).

Comino et al., 2009, desarrollaron un digestor anaerobio a escala piloto (128 L) en el cual se estudió la codigestion anaerobia de LS con estiércol bovino fresco. El

estudio demostró mejorar el rendimiento global del proceso al incrementar la producción de biogás en 79%, por suplemento de una mezcla 50% de LS y estiércol bovino. La codigestión también demostró mejorar la eficiencia de conversión de SV hasta un 90%.

Dado que la gallinaza de jaula presenta elevada alcalinidad ($10 \text{ g CaCO}_3/\text{L}$) y valores básicos de pH (9.3 ± 0.2) (Li et al., 2013), su codigestión con LS podría mejorar la capacidad *buffer* del sistema mejorando así la estabilidad del proceso. Adicionalmente, el alto contenido de humedad y materia orgánica fácilmente fermentable en forma de proteínas y lactosa (Hublin et al., 2012), convierten al LS en un sustrato rápidamente biodegradable atractivo para mejorar la velocidad de producción de biogás en sistemas anaerobios de gallinaza de jaula. La factibilidad de operar plantas de biogás utilizando como sustrato GJ y LS ha sido evidenciada previamente en los estudios realizados por Gelegenis et al., (2007). Los investigadores evaluaron la producción de biogás en planta piloto a partir de incrementos significativos en la velocidad de carga orgánica. Se encontró para la mezcla GJ y LS, que la velocidad de producción del biogás se favorecía a velocidades de cargas orgánicas entre $1.5 - 2 \text{ g SVL}^{-1}\text{dia}^{-1}$.

Por otra parte, Colombia produce 21.5 millones de toneladas de caña azucarera cada año equivalentes a una productividad anual de 108 toneladas por hectárea cultivada, la cual se espera incremente en un 10% anual los próximos años (Delgadillo-Vargas et al., 2016). Debido a que la industria azucarera colombiana se caracteriza por lograr integrar el cultivo de caña con la producción de azúcar comercial, generación de bioetanol y electricidad, el gobierno ha incrementado la inversión en capital para investigaciones orientadas a implementar tecnologías que permitan la obtención de nuevos productos a partir de los residuos del ingenio (Moncada et al., 2014).

La melaza de caña es un residuo del proceso de concentración del jugo de caña y usado como fuente de carbono para fermentaciones industriales, fertilizante y

suplemento alimenticio para animales (Vega-Baudrit et al., 2007). La melaza tiene una concentración de carbohidratos cercana al 90% de su composición (Fang et al., 2010). La degradación anaerobia de los carbohidratos es fuertemente dependiente de la relación entre la velocidad metabólica acidogénica y metanogénica. En particular, los carbohidratos presentan una rápida hidrólisis que genera una fuerte acidificación, que pese a su baja alcalinidad no puede ser contrarrestada y reduce la población de microorganismos metanogénicos (Yang et al., 2015).

La melaza de caña aún no ha sido ampliamente estudiada como sustrato potencial para la producción de biogás. Previos estudios de digestión reportan producciones de metano de $0.26 \pm 0.03 \text{ m}^3/\text{kg SV}$ partir de melaza de remolacha azucarera. La baja producción de metano fue consecuencia principalmente de inhibiciones ocasionadas por altas concentraciones de sodio y potasio entre 11 g/L y 28 g/L, respectivamente (Fang et al., 2011). Como cosustrato, la melaza aporta azúcares fácil y rápidamente fermentables tales como glucosa, fructosa y sacarosa (Park et al., 2010). Mezclas de GJ con melaza de caña resultarían benéficas para el tratamiento anaerobio conjunto de ambos residuos dado que resultarían diluidos tanto el amonio presente en la GJ como posibles compuestos tóxicos en la melaza de caña. Adicionalmente, el alto contenido de carbono en la melaza permitiría ajustar la baja relación C/N de la gallinaza de jaula.

El glicerol crudo representa otro cosustrato atractivo para mejorar la velocidad de producción de biogás y cinética de biodegradación en la GJ. Este residuo es el principal subproducto de la reacción de transesterificación en el proceso de producción de biodiesel (Panponga et al., 2014). La utilización del glicerol como fuente potencial de energía, se presenta como una forma adecuada para bajar los costos de producción del biodiesel y hacer más competitiva esta industria emergente. El glicerol crudo corresponde a una mezcla entre glicerol y un alto contenido de ácidos grasos remanentes del proceso de transesterificación (Viana et al., 2012). Normalmente, los gliceroles crudos con mayor valor comercial

contienen concentraciones de ácidos grasos solubles de 10 g/L, la cual varía con respecto a la pureza del producto y con la tecnología empleada para su producción (Panpong et al., 2014). En cuanto a la composición del sustrato, los lípidos son atractivos para la producción de biogás debido a la alta cantidad de átomos de C y H sus moléculas, lo que implica un potencial teórico de metanización elevado. Sin embargo, también presentan problemas de inhibición y adsorción que puede causar floculación de lodos y de lavado de la biomasa (Neves et al., 2009). Adicionalmente, el glicerol se caracteriza por tener una alta concentración de carbono provenientes del glicerol y restos de alcohol, que son compuestos disponibles para la degradación inmediata de los microorganismos acidogénicos (Astals et al., 2012). La ausencia de nitrógeno en el glicerol limita su uso como sustrato. Sin embargo es un residuo atractivo para los procesos de codigestión anaerobia con sustratos ricos en nitrógeno (Silvestre et al., 2015).

Las ventajas que presenta el uso de glicerol como cosustrato para la codigestión anaerobia con cualquier tipo de estiércol son: a) el elevado contenido de agua en el estiércol actúa como solvente para el glicerol b) La alta alcalinidad del estiércol permite que el sistema tenga una capacidad tampón que evita la acumulación de ácidos grasos, c) el amplio rango de micro nutrientes presentes en el estiércol son esenciales para el crecimiento microbiano y el glicerol aporta materia orgánica rápidamente biodegradable (Santibáñez et al., 2011).

El glicerol ha sido empleado como cosustrato para mejorar el rendimiento en la producción de metano de estiércoles (Bovino y porcino) (Santibáñez et al., 2010; Astals et al., 2012), residuos lignocelulosicos (ensilados, bagazo) (Viana et al., 2012), aguas residuales (Panpong et al., 2014), biomasa microalgal (Neumann et al., 2015), entre otros. Reportes de codigestiones de glicerol crudo con GJ no fueron encontrados en la revisión literaria.

En digestión anaerobia, el desequilibrio en la composición del sustrato es inapropiado para el proceso al producir un bajo rendimiento en la metanización y un índice bajo de hidrólisis (Pagés-Díaz et al., 2014). Teniendo en cuenta lo anteriormente descrito, la codigestión de GJ con residuos ricos en carbohidrato (MC) lípidos (GC) y proteínas (LS) podría mejorar el equilibrio nutricional en la composición del sustrato prometiéndolo un proceso con efectos sinérgicos, alta cinética de desintegración y estabilidad.

2.3 OPTIMIZACIÓN DE LA SINERGIA DEL PROCESO DE CODIGESTIÓN ANAEROBIA

Las metodologías de optimización estadística permiten la formulación de modelos de regresión de primer, segundo y tercer orden. De esta manera, la maximización de la variable de respuesta posibilita encontrar las proporciones óptimas para una serie de componentes (Wang, et al., 2013b). Las variables de respuesta como relación C/N, pH, producción de metano y consumo de DQO han sido optimizadas mediante la metodología de superficie de respuesta aplicando diseños experimentales de mezclas, compuesto central y Box-Wilson (Wang, et al., 2013; Serhat & Ferda, 2009). Los diseños tipo mezclas corresponden al diseño simplex, centroide central y simplex enrejado. Los diseños consisten en la distribución de diferentes combinaciones de compuestos puros a lo largo de un área geométrica denominada simplex. Cuando la mezcla la constituyen 3 componentes puros, el área del simplex denota un diagrama triangular, donde los puntos vértices corresponden a los compuestos puros, puntos sobre las aristas son mezclas binarias y los puntos al interior del triángulo corresponden a mezclas ternarias (Misi & Foster, 2001).

El centroide simplex, consta de un diseño factorial $2^q - 1$ puntos, donde q corresponde al número de componentes puros que hacen parte de la mezcla, es decir para una mezcla de 3 componentes el simplex consta de 7 puntos o proporciones distribuidas en 3 vértices, 3 mezclas binarias y un punto centroide equivalente a una mezcla ternaria (Jiménez, et al., 2015). Si se requiere

implementar una mayor cantidad de puntos al interior del simplex se recomienda usar un diseño simplex enrejado el cual consiste de un diseño factorial {q,m} donde q es el número de componentes de la mezcla y m es grado del polinomio resultante de la superficie de respuesta. El número de puntos de un diseño enrejado simplex se obtiene de acuerdo a la ecuación (3).

$$\{q, m\} = \frac{(q+m-1)!}{m!(q-1)!} \quad (3)$$

Particularmente, para un diseño enrejado simplex {3,3} el número de puntos es 10 distribuidos sobre la superficie simplex en 3 puntos vértices (componentes puros), 3 puntos sobre la arista (mezclas binarias), 3 puntos axiales (mezclas ternarias) y un punto centroide. La metodología de optimización estadística fue empleada para evaluar la codigestión anaerobia de la gallinaza de jaula con estiércol bovino (EB) y rastrojo de arroz (RA). En este estudio, se utilizó un diseño simplex centroide central dando como resultado una proporción óptima para los sustratos de 42.4% EB + 29.3% GJ + 28.3% RA para una relación C/N de 28.0(Wang, et al., 2013). Adicionalmente, a través de modelamiento se puede indicar el grado de sinergia o antagonismo de uno o varios componentes en la mezcla (Misi & Foster, 2001). La ecuación canónica para expresar la sinergia de un diseño con mezcla se presenta a continuación (4).

$$f_i = \sum_{1 \geq i \geq 4} \beta_i x_i + \sum_{1 \geq i \geq j \geq 4} \beta_i x_i x_j + \sum_{1 \geq i \geq j \geq k \geq 4} \beta_i x_i x_j x_k \quad (4)$$

Donde la primera sumatoria corresponde a un modelo lineal de biodegradabilidad para sustratos puros, la segunda y tercera sumatoria corresponde a un modelo cuadrático y cubico de biodegradabilidad para las mezclas binarias y ternarias de sustratos. El coeficiente β representa los efectos sinérgicos (+) o antagónicos (-) de las fracciones.

Los efectos sinérgicos del proceso de codigestión anaerobia pueden ser evaluados a partir de los resultados de ensayos de biodegradabilidad anaerobia (Labatut et al., 2011). Los efectos sinérgicos se determinan al comparar la producción específica de metano (PEM) con la producción específica de metano ponderado (PEMP) calculado con la ecuación (5).

$$PEMP = \frac{PEM A * \alpha + PEM B * \beta}{\alpha + \beta} \quad (5)$$

Donde, PEM A y PEM B representa la producción específica de metano del sustrato A y B, respectivamente. α y β corresponden a la fracción de SV adicionada del sustrato A y B, respectivamente.

2.4 ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS CINÉTICOS

El modelo de digestión anaerobia N°1 (*ADM1* por sus siglas en inglés) desarrollado por el grupo *IWA* fue diseñado a partir de la integración de la mayoría de los modelos para validación de estudios de DA (Bastone et al., 2002). El modelo permite hacer una descripción de los fenómenos fisicoquímicos, bioquímicos y microbiológicos involucrados en la DA a partir de una caracterización fisicoquímica detallada del sustrato en términos de la fracción de inertes, solubles, carbohidratos, lípidos y proteínas (Astals, et al., 2013).

El modelamiento del proceso anaerobio comienza con la consideración de la hidrólisis como la principal etapa limitante del proceso cuando altas concentraciones de sólidos están presentes. Esta consideración permite definir la desintegración del material particulado (moléculas de alto peso molecular) como un parámetro cinético denominado constante de desintegración hidrolítica (ecuación 4) (Galí et al., 2009). Donde, K_{dis} corresponde al parámetro cinético de desintegración y X_i representa la concentración de material particulado en el sustrato.

$$\frac{dX_i}{dt} = -K_{dis}X_i \quad (6)$$

Teniendo en cuenta la relación existente entre la biodegradabilidad del sustrato y producción específica de metano. La ecuación 6 se puede integrar para obtener un modelo de primer orden, ecuación 7, que permite calcular el parámetro cinético de desintegración a partir del ajuste de los datos experimentales del perfil de metanización.

$$B(t) = B_o(1 - e^{-K_{dis}t}) \quad (7)$$

Donde, $B(t)$ representa la producción específica de metano ($\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg SV}$) en el tiempo t , B_o ($\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg SV}$) corresponde a la máxima producción específica de metano y K_{dis} (d^{-1}) el parámetro cinético de desintegración.

Modificaciones al modelo de primer orden han sido propuestas para condicionar la producción de metano a la velocidad de biodegradación del sustrato, la cual varía de acuerdo a la complejidad del mismo (Li, et al., 2013a). Este modelo corresponde a la ecuación 8.

$$B = B_o[(1 - \beta) - (1 - \beta) \exp(-kt)] \quad (8)$$

Donde B ($\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg SV}$) es la producción específica de biogás en un tiempo t (d), B_o ($\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg SV}$) es la máxima producción específica de biogás alcanzada, β es la fracción no biodegradable del sustrato y K es la denominada constante de desintegración del material particulado (carbohidratos, lípidos y proteínas) del sustrato.

Otros modelos de primer orden como la ecuación de *Gompertz* se emplearon para reproducir de manera rápida y sencilla la velocidad de producción de biogás (ecuación 9) (Li, et al., 2013b). Adicionalmente, el modelo incluye un parámetro cinético que describe la fase de latencia que permite dar información sobre los tiempos de adaptación de los microorganismos a las condiciones del medio.

$$B = B_o \exp\left(-\exp\left[\frac{\mu_m e}{B_o}(\lambda - t) + 1\right]\right) \quad (9)$$

Donde B (ml/g SV ad) es la producción específica de biogás en un tiempo t (d), B_o (ml/g SV ad) es la máxima producción específica de biogás alcanzada, μ_m es la velocidad de producción de biogás (ml/g SV ad. d), λ se refiere a la etapa de latencia (días) y e equivale al *número de Euler*.

Distintos modelos matemáticos de regresión han sido empleados para describir la cinética y optimizar la producción de metano a partir de gallinaza de jaula. La operación de un reactor UASB se evaluó mediante la formulación de un modelo matemático en función de la producción de biogás (Q_g), tiempo de retención hidráulico (θ) y Carga orgánica (S_i). El modelo se describe en la ecuación 10.

$$Q_g = 0.005775 (\theta)^{-1.013} S_i^{1.019} \quad (10)$$

El modelo permitió definir los valores óptimos de remoción de COD del 83.6 % y 90.6% para tiempos de retención hidráulicas entre 7.9 y 14.3 días (Gungor-Demirci & Demirer, 2004).

2.5 OPTIMIZACIÓN DE LA SINERGIA DE LA CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE LA GALLINAZA DE JAULA

2.5.1 Origen de inóculo, sustrato y cosustratos

El inóculo utilizado corresponde a estiércol bovino pre digerido como se describió en el capítulo 1. Sustrato y cosustratos se obtuvieron de las industrias colombianas. La gallinaza de jaula (GJ) se obtuvo de una granja avícola (7°12'15.0"N 73°07'47.9"W); la melaza de caña de azúcar (MC) se recolectó en una refinera de caña de azúcar (7°12'15.0"N 73°07'47.9"W); el glicerol crudo (GC) fue tomado de una refinera de petróleo (7°12'15.0"N 73°07'47.9"W) y el lactosuero (LS) fue suministrado por una empresa láctea (7°12'15.0"N

73°07'47.9"W). Los residuos fueron refrigerados a 4°C para su posterior caracterización.

2.5.2 Diseño experimental

El ensayo de metanización se llevó a cabo por triplicado a 37 ± 2 ° C durante 30 días según el procedimiento descrito por Angelidaki et al (2009). Cada reactor de 60 ml contenía 12 ml de inóculo y una carga orgánica de 9 g SV/L equivalentes a una relación inóculo/sustrato (RIS) de 2 en base a sólidos volátiles (SV). El volumen de operación se ajustó a 35 ml con agua destilada y se sellaron los digestores con tapones de butilo y agrafes metálicos. Ensayos blancos de solo inóculo, se realizaron por triplicado para descontar el metabolismo endógeno del inóculo.

2.5.3 Diseño de mezcla

La aleatoriedad de los experimentos se eliminó mediante la implementación de un diseño estadístico enrejado *simplex* {4,3}- aumentado con puntos axiales. El diseño experimental se representó gráficamente con un tetraedro compuesto de una base triangular y caras llamadas *simplex* (Figura 7). Tres *simplex*, denominados regiones de interés, fueron evaluados: A {GJ, MC, GC}, B {GJ, GC, LS}, C {GJ, MC, LS}. Cada *simplex* constaba de 13 puntos (relaciones de mezcla), donde los vértices corresponden a la monodigestión de cada sustrato. El vértice superior del tetraedro fue la proporción pura de GJ y los vértices de la base fueron las proporciones puras de MC, GC y LS. En los puntos sobre los ejes se ubican las proporciones binarias y los puntos al interior del *simplex* coinciden con las proporciones ternarias. El resumen de las proporciones evaluadas para cada uno de los *simplex* se muestra en la tabla 3. Todas las proporciones fueron calculadas con base a sólidos volátiles (SV). El *software* MINITAB 17 (Licencia 17.1.0.0) se empleó para generar el diseño y examinar estadísticamente los datos experimentales mediante análisis ANOVA. La mínima diferencia significativa de *Fisher* se calculó con una confianza del 95% para comparar por parejas las medias de las producciones específicas de metano.

Figura 7. Diseño enrejado simplex {4,3}.

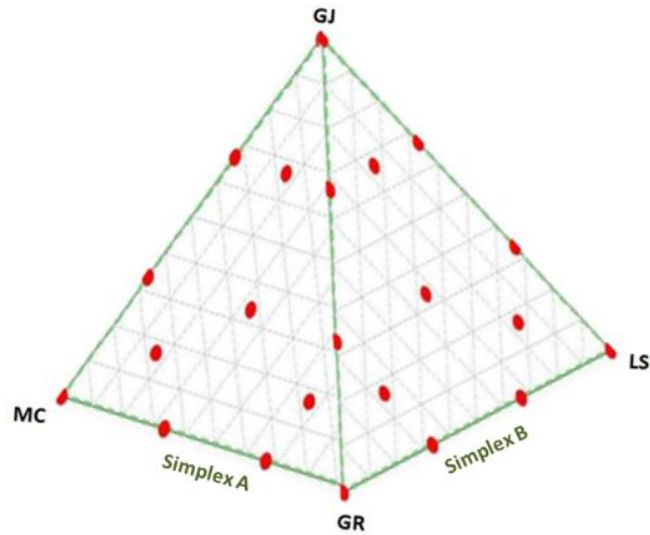


Tabla 3. Diseño estadístico enrejado *simplex* {4,3}- aumentado con puntos axiales

Proporción	Simplex A			Simplex B			Simplex C		
	GJ	MC	GC	GJ	GC	LS	GJ	LS	MC
1	17	66	17	17	66	17	17	66	17
2	33	0	67	33	0	67	33	0	67
3	0	67	33	0	67	33	0	67	33
4	100	0	0	100	0	0	100	0	0
5	33	67	0	33	67	0	33	67	0
6	34	33	33	34	33	33	34	33	33
7	17	17	66	17	17	66	17	17	66
8	0	0	100	0	0	100	0	0	100
9	67	0	33	67	0	33	67	0	33
10	67	33	0	67	33	0	67	33	0
11	0	33	67	0	33	67	0	33	67
12	66	17	17	66	17	17	66	17	17
13	0	100	0	0	100	0	0	100	0

2.5.4 Técnicas analíticas

Los análisis de sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), demanda química de oxígeno (DQO), volumen producido de metano, nitrógeno total Kjeldahl (NTK), nitrógeno amoniacal total (NAT), carbono orgánico total (COT), proteínas y lípidos se realizaron de acuerdo con los Métodos estándares para el examen de las aguas residuales (APHA, 2005). La relación C/N se determinó dividiendo la concentración de COT sobre la concentración de NTK. Los carbohidratos se calcularon a partir de la sustracción de las proteínas y lípidos de sólidos volátiles (Galí et al., 2009). La alcalinidad total (AT) y ácidos grasos volátiles totales (VFA) se cuantificaron por titulación (Jobling-Purser et al, 2014). Los valores de pH se determinaron mediante un medidor de pH (691, Metrohm).

2.5.5 Identificación de los efectos sinérgicos

La sinergia se identificó a partir del análisis de la producción específica de metano (PEM). La evaluación de los efectos sinérgicos se realizó mediante la ecuación 11.

$$\phi = \frac{PEM}{PEMP} \quad (11)$$

Donde, PEM representa la producción específica de metano obtenida y PEMP corresponde a la media ponderada del efecto obtenido en la digestión individual de los residuos. El PEMP se calculó de acuerdo a la ecuación 5. El significado del resultado de la ecuación 11 se describe en la tabla 4.

Tabla 4. Significado del valor ϕ

Resultado	Descripción
$\phi > 1$	Existe efecto sinérgico
$\phi < 1$	Existe efecto antagónico
$\phi = 1$	El resultado no es claro

Para cada *simplex* se encontró una proporción de mezcla con un máximo valor de \emptyset , la cual se consideró como proporción sinérgica óptima. En esta investigación, se presenta un nuevo enfoque para la evaluación de la sinergia, que integra tres componentes: a. Efecto de la concentración de carbohidratos, lípidos y proteínas; b. Aumento de carga orgánica y c. Concentración de NAT como inhibidor del proceso

2.5.6 Validación de los efectos sinérgicos

Con el objetivo de validar la presencia de la sinergia en la codigestión anaerobia de GJ con residuos industriales, se propuso duplicar la carga orgánica de 9 g SV/L a 18 g SV/L, para las proporciones sinérgicas óptimas de cada *simplex*. El ensayo de biodegradabilidad anaerobia se realizó a las mismas condiciones de operación de la etapa anterior. Los valores del pH, capacidad tampón (Relación AGV/AT) y concentración final de NAT se consideraron como variables de respuesta. Un modelo de primer orden (ecuación 7) se utilizó para evaluar la biodegradabilidad de las mezclas con los más altos valores sinérgicos a las cargas orgánicas probadas. El ajuste del perfil de metanización permitió la obtención de los parámetros cinéticos de hidrolisis (K_{dis}) y máxima producción específica de metano (B_0). Los parámetros del modelo se calcularon con la herramienta *curve fitting* (cftool) del software MATLAB R2014a (Licencia 271828).

2.6 RESULTADOS

2.6.1 Caracterización de los residuos

Las principales características del sustrato (GJ) y cosustratos (MC, GC y LS) se resumen en la Tabla 5. Todos los residuos mostraron valores de pH inferiores a 6.5, excepto la GJ que mostró valor de pH superior a 8.0. Los residuos mostraron una relación SV/ST entre 0.52 y 0.98, indicando alto contenido de materia orgánica potencialmente biodegradable. Sin embargo, gran parte de la materia orgánica en los cosustratos es rápidamente biodegradable haciendo susceptible el

proceso a acidificaciones (Yang et al., 2015). La MC presentó el mayor contenido de carbohidratos de 82.5% así como GC y LS mostraron el mayor contenido de lípidos del 49.3 % y proteínas del 23.0%, respectivamente. Por otra parte, para cada residuo se encontró una relación C/N fuera del rango reportado como óptimo (20-25) para el proceso de degradación anaeróbica (Mata-Alvarez et al., 2014). La GJ presentó la relación C/N más baja, lo cual se representó en una concentración alta de NAT igual a 843.5 mg/L. Lo anterior demuestra que tanto el sustrato como los cosustratos no presentan las condiciones adecuadas para el proceso anaerobio. Sin embargo, las mezclas entre residuos podrían garantizar el éxito de la digestión anaerobia.

Tabla 5. Caracterización de sustrato y cosustratos

Parámetro	Unidad	GJ	MC	GC	LS
pH	-	7.5	5.6	5.0	3.8
DQO	g/L	198.0	1387.8	1914.0	53.0
ST	g/L	224.7	767.2	680.3	42.0
SV	g/L	116.9	561.2	670.4	37.7
SV/ST	-	0.52	0.73	0.98	0.90
AGV	mg/L	16680	3420	5790	9860
Carbohidratos	%	17.1	82.5	41.2	55.3
Proteínas	%	23.5	5.8	5.6	23.0
Lípidos	%	1.8	0.9	49.3	1.9
C/N	-	10.8	53.6	57.5	19.9
NAT	mg/L	843.5	7.8	23.3	46.7

(%) Porcentaje en base húmeda

2.6.2 Evaluación de la sinergia desde el punto de vista de la composición del sustrato.

En esta sección se evaluó el efecto de la concentración de carbohidratos, lípidos y proteínas en la co digestión de la gallinaza de jaula.

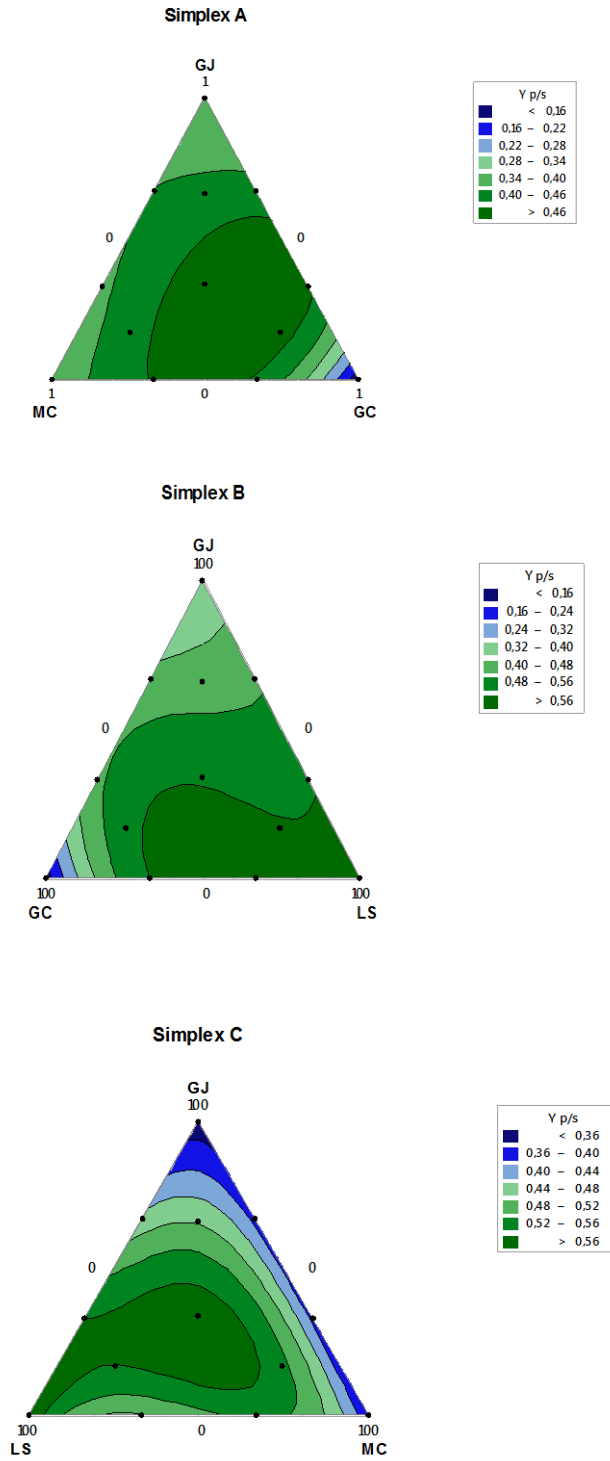
2.6.2.1 Producción específica de metano en diseño lattice Simplex

La figura 8 presenta las vistas frontales para cada una de las caras del tetraedro denominadas *simplex A*, *simplex B* y *simplex C*. Cada vista frontal corresponde a

una gráfica de contorno construida a partir de la producción específica de metano (PEM) con la ayuda del *software* MINITAB 17 (Licencia 17.1.0.0). La grafica de contorno fue útil para identificar el efecto de cosustratos ricos en carbohidratos (Melaza de caña), lípidos (Glicerol crudo) y proteínas (Lactosuero), sobre la PEM de la gallinaza de jaula. En la gráfica de contorno, la respuesta es analizada estadísticamente para delimitar al interior del simplex regiones con la misma significancia estadística. Cada región fue demarcada con un tono de la escala verde-azul, el cual es gradual a la magnitud de la respuesta. Las zonas de color verde intenso corresponden a las proporciones que presentaron estadísticamente las mayores PEM, mientras que las zonas de color azul suave corresponden a las proporciones que mostraron estadísticamente las menores PEM.

El *Simplex A* muestra el efecto de mezclar gallinaza de jaula con residuos ricos en carbohidratos (melaza de caña) y lípidos (glicerol crudo). De acuerdo con el resultado, la máxima PEM se obtuvo entre el punto centroide y la proporción 33:33:64 de GJ:MC:GC. La PEM promedio obtenida para cualquier punto de esta región fue $0.45 \pm 0.02 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$, correspondiente a una mejora en PEM de la GJ del 32%. Este resultado indica que la PEM de la GJ mejora al incrementar la concentración de lípidos en el biodigestor. Para la zona de máxima respuesta en el simplex A, la concentración de glicerol crudo estuvo entre 1.53 g SV/L y 5.94 g SV/L. Estos valores son recomendados por la literatura para lograr altas tasas de remoción de sólidos usando glicerol como cosustrato (Neumann et al 2015; Panpong et al. 2015). La zona con menor PEM correspondió al vértice inferior derecho (proporción pura de GC) donde, la concentración de glicerol crudo fue 9 g SV/L. No obstante, en mezclas de GJ, MC y GC las concentraciones de glicerol crudo se deben mantener inferior a 6 g SV/L para garantizar efectividad del proceso anaerobio.

Figura 8. Graficas de contorno de mezclas para la codigestión de gallinaza de jaula con melaza de caña, glicerol residual y lactosuero



El simplex B muestra las interacciones entre la gallinaza de jaula (GJ), glicerol crudo (GC) y lactosuero (LS). De acuerdo con la gráfica, la máxima respuesta se presentó en las zonas comprendidas entre el punto centroide y el vértice inferior derecho. Para esta región la PEM promedio fue $0.56 \pm 0.03 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ equivalentes a un incremento del 64% en el PEM de la GJ. De acuerdo al resultado se puede inferir que el lactosuero presentó buena afinidad como cosustrato para la codigestión anaerobia con gallinaza de jaula. La afinidad en los residuos reduce la fase de latencia durante los primeros días de digestión incrementándose la biodegradabilidad de la mezcla (Wang et al., 2015). Probablemente, la afinidad entre la GJ y LS pudo ser consecuencia de la naturaleza en su composición rica en proteínas. Igualmente, el elevado potencial de biometanización del lactosuero facilitó el mejoramiento PEM. No obstante, para las mezclas GJ, GC y LS la concentración de proteínas en la mezcla se debe mantener alta para asegurar mejoras en la PEM.

Para el *Simplex C* la mayor respuesta se alcanzó alrededor del punto centroide donde las proporciones de mezcla son iguales para GJ, MC y LS de 3 g SV/L. Para esta región la PEM promedio obtenida fue de $0.55 \pm 0.04 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$, equivalentes a un 62% en la mejora de la PEM respecto a la GJ. La menor PEM se alcanzó alrededor de la arista comprendida entre el vértice superior e inferior derecho donde se presentó alta concentración de melaza de caña. Estudios han demostrado que los carbohidratos tienen una velocidad de biodegradación lineal en comparación con las proteínas y lípidos que presentan velocidades de biodegradaciones no lineales (Yang, et al., 2015). No obstante, es probable que exista poca afinidad al mezclar gallinaza de jaula con un residuo rico en carbohidratos como la melaza de caña. Sin embargo, la rápida velocidad de biodegradación en residuos ricos en carbohidratos sirve como soporte para eliminar las fases de latencias en proporciones con altas concentraciones de lípidos (Astals et al., 2014).

2.6.2.2 Evaluación de los efectos sinérgicos y antagónicos (\emptyset).

Las PEM obtenidas experimentalmente corresponden a indicadores de biodegradabilidad. En los experimentos con mezclas, las gráficas de contorno son útiles para identificar las proporciones óptimas en términos de la PEM. Sin embargo, cualquier proporción sobre la región de máxima respuesta podría ser tomada en cuenta al no presentar diferencia significativa con los demás puntos de la región. En CoDA, los efectos sinérgicos y antagónicos podrían determinarse como parámetros de estabilidad para hacer una discriminación de los datos adicional a la PEM. Los efectos sinérgicos son consecuencia de la contribución del cosustrato en términos de alcalinidad, oligoelementos, nutrientes, o cualquier característica que el sustrato carezca por sí mismo, resultando en una mejora de la estabilidad del proceso y por lo tanto de la PEM. Del mismo modo, los efectos antagónicos pueden provenir de varios factores, tales como caídas en el pH, la toxicidad del amoníaco, alta concentración de ácido volátil, entre otros (Labatut et al., 2011). La existencia de efectos sinérgicos promueve digestiones anaerobias estables, así como la mitigación de inhibiciones (Sharma et al., 2013).

La Tabla 6 presenta los efectos sinérgicos y antagónicos para mezclas binarias de GJ con residuos ricos en carbohidratos (melaza de caña), lípidos (glicerol crudo) y proteínas (lactosuero). Los efectos sinérgicos se evidenciaron para las mezclas binarias con valores de \emptyset entre 1.05 y 1.68. La mayoría de las mezclas binarias presentaron efecto sinérgico excepto la proporción LS:MC de 67:33, la cual presentó un valor antagónico de $\emptyset= 0.86$. El antagonismo en la mezcla refleja su inestabilidad, la cual podría ser consecuencia de acidificaciones por el bajo pH tanto del lactosuero como de la melaza de caña

Tabla 6. Efecto de los cosustratos en mezclas binarias con GJ

X ₁	X ₂	X ₃	Simplex A	Simplex B	Simplex C
33	0	67	1.58	1.05	1.13
0	67	33	1.68	1.08	0.86
33	67	0	1.13	1.58	1.05
67	0	33	1.59	1.09	1.10
67	33	0	1.10	1.59	1.09
0	33	67	1.32	1.32	1.25

Simplex A {X₁:GJ; X₂:MC; X₃:GC}; Simplex B {X₁:GJ; X₂:GC; X₃:LS}; Simplex C {X₁:GJ; X₂:LS; X₃:MC}

La Tabla 7 presenta los efectos sinérgicos y antagónicos para mezclas ternarias de GJ con residuos ricos en carbohidratos (melaza de caña), lípidos (glicerol crudo) y proteínas (lactosuero). En general, todas las mezclas ternarias presentaron efectos sinérgicos demostrado en valores de \emptyset entre 1.25 y 2.67, rango superior al obtenido para las mezclas binarias. Las proporciones de mezclas con los valores más altos de \emptyset de cada simplex, se consideraron como mezclas sinérgicas óptimas. Para el *simplex* A, el máximo valor sinérgico ($\emptyset = 2.67$) se presentó para la mezcla ternaria GJ:MC:GC de 17:17:66. Para el Simplex B, la proporción sinérgica óptima fue GJ:GC:LS de 17:66:17 con un valor \emptyset equivalente a 2.29. Mientras que para el Simplex C, la proporción sinérgica óptima correspondió a la mezcla GJ:MC:LS de 34:33:33, la cual alcanzó una sinergia de $\emptyset = 1.38$. Lo anterior, confirma las ventajas de la codigestión multicomponente con respecto a la tradicional mezcla binaria. Pagés-Díaz et al. (2014) también encontraron en la codigestión multicomponente una alternativa promisorio para mitigar problemas de inhibición y mejorar la estabilidad del proceso anaerobio. De acuerdo al estudio, la sinergia en la codigestión de mezclas ternarias y cuaternarias con residuos sólidos de las plantas de sacrificio bovino (viseras, sangre, rumen), estiércol, residuos de poda y residuos sólidos urbanos presentó

una mejor distribución de nutrientes que propició el rápido y correcto desarrollo de consorcios microbianos.

Tabla 7. Efecto de los cosustratos en mezclas ternarias con GJ

X ₁	X ₂	X ₃	Simplex A	Simplex B	Simplex C
17	66	17	1.38	2.29	1.16
34	33	33	1.66	1.48	1.38
17	17	66	2.67	1.25	1.26
66	17	17	1.54	1.37	1.25

Simplex A {X₁:GJ; X₂:MC; X₃:GC}; Simplex B {X₁:GJ; X₂:GC; X₃:LS};
Simplex C {X₁:GJ; X₂:LS; X₃:MC}

La tabla 8 muestra la composición nutricional (carbohidratos, lípidos y proteínas) para las mezclas sinérgicas óptimas. Las mezclas GJ:MC:GC de 17:17:66 y GJ:GC:LS de 17:66:17 presentaron concentraciones de lípidos alrededor del 33% en peso húmedo. Dichas concentraciones se pueden considerar elevadas si se comparan con la concentración de lípidos de la mezcla sinérgica óptima GJ:MC:LS de 34:33:33 y la concentración de lípidos en la gallinaza de jaula, las cuales no sobrepasaron los valores de 1.8% en peso húmedo. Todas las mezclas sinérgicas óptimas presentaron concentraciones de carbohidratos altas permitiendo inferir que a nivel nutricional los carbohidratos representan un soporte para la biodegradación de lípidos. Por otra parte, para las mezclas sinérgicas óptimas las proteínas mantuvieron concentraciones intermedias, lo cual podría conducir a un sistema anaerobio con producciones de amonio controladas.

No obstante, es posible concluir que altas concentraciones de lípidos en la mezcla estimulan la sinergia del proceso. Entre los macro nutrientes, los lípidos presentan el mayor potencial teórico de biometanización pero requieren bajas velocidades de cargas al disminuir el rendimiento de los digestores cuando se alcanza la constante de saturación de 1500 mg/L (esposito et al., 2014; Palatsi et al., 2009).

No obstante, la sinergia podría estar ligada a la carga máxima sostenible de lípidos durante el proceso degradativo. La cual se podría traducir a tiempos de retención para optimización de sistemas continuos y solución de problemas operacionales a través de la sinergia.

Tabla 8. Comparación de la composición de las mezclas sinérgicas óptimas con la composición de la gallinaza de jaula.

Proporción sinérgica óptima	Carbohidratos (%)	Lípidos (%)	Proteínas (%)	(ϕ)
GJ:MC:GC 17:17:66	44.1	33.0	8.7	2.67
GJ:GC:LS 17:66:17	39.5	33.2	11.6	2.29
GJ:MC:LS 34:33:33	51.3	1.5	17.5	1.38
Gallinaza de Jaula	23.5	1.8	17.1	1

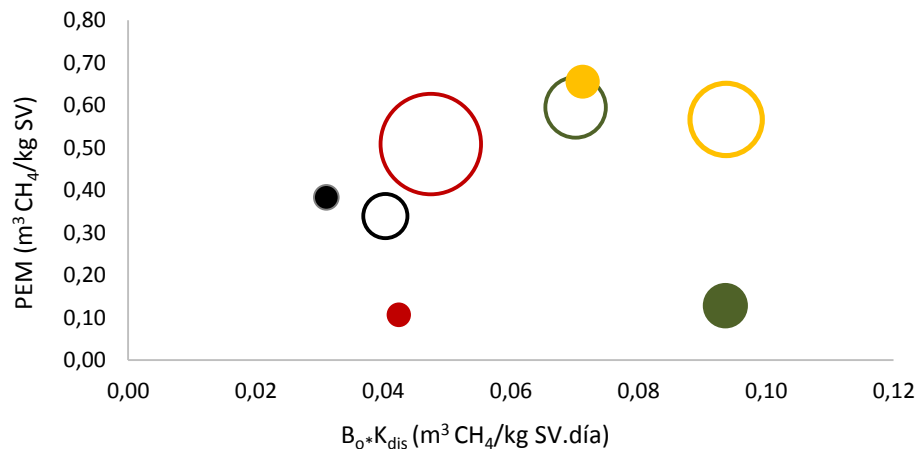
2.6.3 Evaluación de la sinergia desde el punto de vista operacional

La sinergia vista desde el punto operacional se evaluó teniendo en cuenta la incidencia de los parámetros cinéticos sobre el aumento de carga orgánica.

2.6.3.1 Parámetros cinéticos de biodegradabilidad

La figura 9 presenta una comparación entre la PEM y sus respectivas superficies de incertidumbre para los parámetros cinéticos. La máxima producción específica de metano (B_o) y constante de hidrólisis (K_{dis}), son los parámetros cinéticos que describen la velocidad de biodegradación del sustrato (Galí et al., 2009). El tamaño de las superficies de incertidumbre corresponde a la desviación estándar de los parámetros cinéticos. Las áreas rellenas pertenecen a los experimentos llevados a cabo a una carga orgánica de 18 g SV/L mientras que las áreas vacías corresponden a los experimentos con carga de 9 g SV/L. De acuerdo con la información mostrada en figura 9, la incertidumbre de los parámetros cinéticos incrementa ligeramente a cargas orgánicas pequeñas, lo cual indica que la concentración de sustrato debe mantenerse alta con el fin de alcanzar resultados más confiables.

Figura 9. Comparación de las superficies de incertidumbre para la tasa de producción de metano. Área completamente rellenas y áreas vacías representan cargas orgánicas de 18 g VS/L y 9 g VS/L, respectivamente.



En la figura 9 se observa que al duplicar la carga orgánica la mezcla GJ:MC:LS de 34:33:33, aumentó significativamente ($p = 0.000$) la PEM desde $0.57 \pm 0.02 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ hasta $0.66 \pm 0.01 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$. Por el contrario, las mezclas GJ:GC:MC de 17:17:67 y GJ:GC:LS de 17:66:17 presentaron disminuciones en la PEM. Para la carga de 18 g SV/L, las mezclas GJ:GC:MC de 17:17:67 y GJ:GC:LS de 17:66:17 alcanzaron PEM de $0.11 \pm 0.01 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ y $0.13 \pm 0.00 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$, valores inferiores a la PEM alcanzada por el control (monodigestión de GJ) de $0.38 \pm 0.01 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$.

El anterior resultado se sustenta con la información de la tabla 9, correspondiente a los parámetros cinéticos obtenidos para las diferentes cargas. Al duplicar la carga orgánica, las mezclas GJ:GC:MC de 17:17:67 y GJ:GC:LS de 17:66:17 aumentaron la K_{dis} hasta $0.38 \pm 0.02 \text{ días}^{-1}$ y $0.74 \pm 0.02 \text{ días}^{-1}$, respectivamente. Para dichas cargas los incrementos en la velocidad de hidrólisis causaron el declive en la PEM. Los valores elevados en la K_{dis} indican una rápida hidrólisis de las fracciones solubles del residuo (Astals et al, 2015). La rápida hidrólisis se debe a una mayor actividad acidogénica, la cual es estimulada al presentarse mayor disponibilidad de nutrientes cuando la carga orgánica es alta (Tanimu et al., 2014).

Dado que el coeficiente del rendimiento celular ($Y_{x/s}$) de las bacterias acidogénicas (0.15-0.17 g VS/g COD) es mucho mayor que el rendimiento de las bacterias acetogénicas (0.025-0.051 g VS/g DQO) y archaea metanogénicas (0.020-0.054 g VS/g DQO) (Viana et al., 2012). En consecuencia, los procesos anaerobios se deben operar a cargas orgánicas donde la actividad hidrolítica sea proporcional a la velocidad acetogénica y metanogénica para evitar caídas en el pH que conduzcan a la acidificación del proceso.

Tabla 9. Producción específica de metano (PEM) para las proporciones sinérgicas óptimas a cargas orgánicas de 9 g SV/L y 18 g SV/L.

Proporción	Carga (g SV/L)	PEM (m ³ CH ₄ /kg SV)	B ₀ (m ³ CH ₄ /kg SV)	K _{dis} (día ⁻¹)
GJ:MC:GC 17:17:67	9 (○)	0.51 ± 0.04	0.56 ± 0.01	0.10 ± 0.03
GJ:GC:LS 17:66:17	9 (○)	0.60 ± 0.02	0.64 ± 0.02	0.11 ± 0.03
GJ:MC:LS 34:33:33	9 (○)	0.57 ± 0.02	0.58 ± 0.02	0.15 ± 0.02
Control GJ	9 (○)	0.34 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.11 ± 0.01
GJ:MC:GC 17:17:67	18 (●)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.38 ± 0.02
GJ:GC:LS 17:66:17	18 (●)	0.13 ± 0.00	0.13 ± 0.01	0.74 ± 0.02
GJ:MC:LS 33:33:34	18 (●)	0.66 ± 0.01	0.66 ± 0.01	0.11 ± 0.01
Control GJ	18 (●)	0.38 ± 0.01	0.43 ± 0.01	0.07 ± 0.02

Por otra parte, al duplicar la carga para la mezcla GJ:MC:LS de 34:33:33 se presentó una disminución en el valor de la K_{dis} desde 0.15± 0.02 días⁻¹ a 0.11 ± 0.01 días⁻¹. Para la mezcla GJ:MC:LS de 34:33:33 la velocidad hidrolítica se redujo hasta valores proporcionales a la velocidad acetogénica y metanogénica, generando estabilidad en la homeostasis celular que impidió un declive en la PEM.

Para la carga orgánica de 9 g SV/L, las constantes de hidrólisis (K_{dis}) de las mezclas sinérgicas óptimas fueron estadísticamente iguales a la monodigestión de gallinaza. Las K_{dis} obtenidas estuvieron en el rango entre 0.10-0.15 días⁻¹, valores similares a los comúnmente reportados en la literatura para codigestiones con gallinaza de jaula (Li et al., 2013; 2014). No obstante, a bajas cargas orgánicas la

codigestión no presentó un efecto significativo sobre las velocidades de biodegradación.

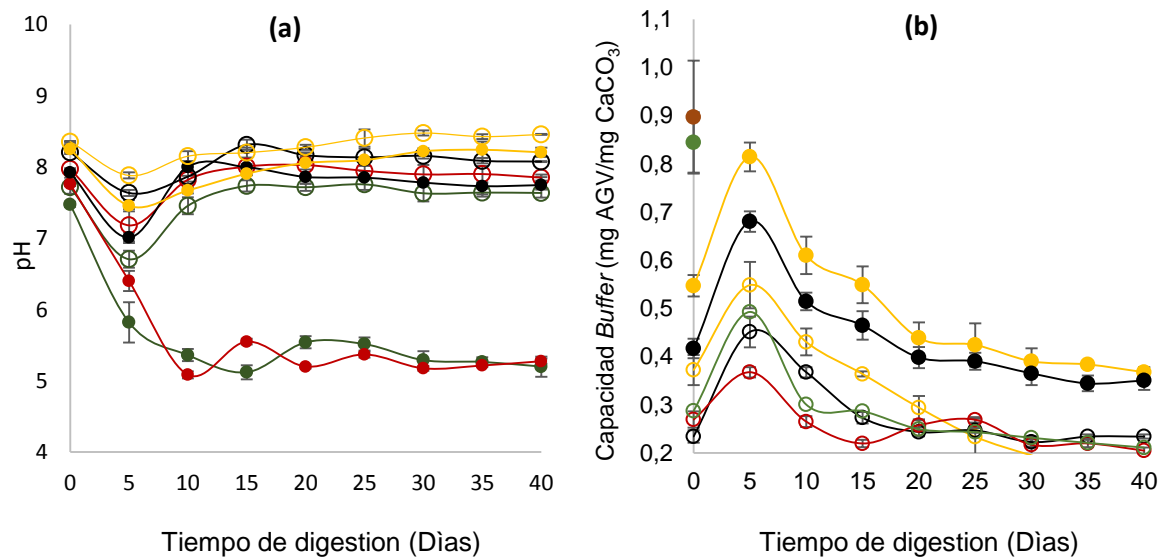
En términos generales, a una carga orgánica de 18 g SV/L prevalecieron efectos antagónicos para los componentes de la mezcla GJ:GC:MC de 17:17:67 y GJ:GC:LS de 17:66:17. A la carga de 18 g SV/L solo la mezcla GJ:MC:LS de 34:33:33 presentó efectos sinérgicos. Por su parte, para todas las mezclas evaluadas a una carga orgánica de 9 g SV/L se presentaron efectos sinérgicos, dado que los compuestos tóxicos o intermedios se mantuvieron por debajo de los umbrales de inhibición o saturación. Estos resultados representan un nuevo enfoque para la evaluación del efecto sinérgico en la CoDA. Una mezcla presentaría un efecto sinérgico efectivo cuando la adición del cosustrato permite aumentar la carga orgánica, al mismo tiempo que son contrarrestados factores negativos en el desempeño de la mezcla, tales como el pH, acumulación de ácidos y toxicidad del amoníaco. Un efecto sinérgico efectivo facilitaría la operación de biodigestores anaerobios con alta velocidad de producción de biogás, bajos tiempos de retención hidráulica y rápida velocidad de estabilización, lo cual garantizaría un sistema anaerobio óptimo.

2.6.3.2 Perfil de cambio de los parámetros de control para las mezclas sinérgicas óptimas.

La Figura 10a presenta la variación de pH durante los 40 días del periodo de digestión. De acuerdo al resultado, las mezclas codigestadas a una carga orgánica de 9 g VS/L mantuvieron variaciones en el pH en el rango de 7.6- 8.4 en el periodo de digestión, valores adecuados para el desarrollo de los microorganismos metanogénicos (Nui et al., 2014). Por el contrario, a 18 g SV/L, solo la mezcla GJ:MC:LS de 34:33:33 presentó variaciones dentro del rango apropiado de pH. Las mezclas GJ:GC:MC de 17:17:64 y GJ:GC:LS de 17:64:17 disminuyeron el pH hasta el rango inhibitorio de 5.4 - 6.4, el cual se mantuvo constante durante todo el periodo de digestión. De acuerdo con la figura 10b, la capacidad *buffer* respondió

a la dinámica de variación del pH para una carga orgánica de 9 g VS/L. Para esta carga, los valores de capacidad *buffer* se mantuvieron en el rango óptimo de 0.2-0.8 (Li et al., 2013), indicando un proceso anaerobio estable.

Figura 10. Perfil de variación de pH (a) y capacidad tampón (b) durante el periodo de digestión para proporciones de GJ:MC:GC de 17:17:66 (9 g/L \circ and 18 g/L \bullet); GJ:GC:LS de 17:66:17 (9 g/L \circ and 18 g/L \bullet); GJ:MC:LS de 34:33:33 (9 g/L \circ and 18 g/L \bullet) y control GJ (9 g/L \circ and 18 g/L \bullet).



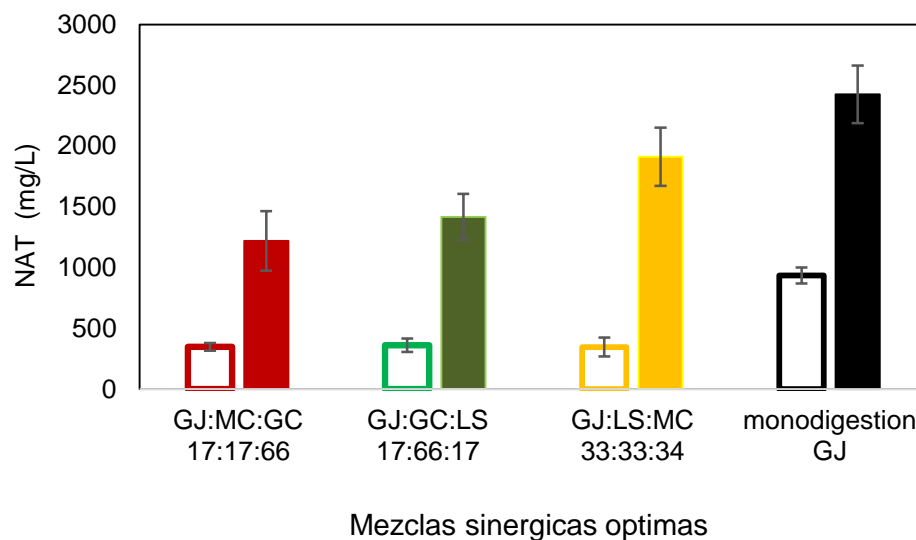
Por otra parte, a 18 g SV/L solo la mezcla GJ:MC:LS de 34:33:33 presentó valores estables en la capacidad *buffer* mientras que las proporciones GJ:GC:LS de 17:17:64 y GJ:GC:LS de 17:64:17 mostraron valores de inestabilidad (0.84 ± 0.06 y 0.90 ± 0.08 , respectivamente) desde los primeros días de digestión. Al día 5 de digestión, las proporciones GJ:GC:LS de 17:17:64 y GJ:GC:LS de 17:64:17 alcanzaron valores en la concentración de AGV de $8,040 \pm 1,188$ mg/L y $10,020 \pm 933$ mg/L, lo que causó valores de pH inferiores a 6.5 implicando completo consumo de la alcalinidad total para el sistema anaeróbico. Lo anterior confirma un efecto sinérgico efectivo para la mezcla GJ:MC:LS de 34:33:33, dado que el

incremento en la carga orgánica estimuló el proceso biodegradativo y permitió un procesos anaerobio bajo condiciones estables de pH y capacidad *buffer*.

2.6.4 Evaluación de la sinergia desde el punto de vista de la inhibición del proceso

La concentración final de nitrógeno amoniacal total (NAT) para las mezclas sinérgicas óptimas con cargas de 9 g SV/L y 18 g SV/L se presenta en la figura 11.

Figura 11. Concentración final de nitrógeno amoniacal total (NAT) para las mezclas sinérgicas óptimas. Barras vacías corresponden a la carga de 9 g VS/L, barras rellenas representan la carga de 18 g VS/L.



La mono digestión de GJ alcanzó una concentración final de NAT de 935 ± 66 mg/L, mientras que las codigestiones sinérgicas óptimas alcanzaron concentraciones finales de NAT en el rango de 368-361 mg/L. Los resultados demuestran que con una carga orgánica de 9 g SV/L, los ensayos no presentan inhibición por NAT, dado que el umbral de toxicidad del amoniac se encuentra en un rango entre 2,500 – 3,000 mg/L (Nue et al., 2013). En el caso de los reactores alimentados con una carga orgánica de 18 g SV/L, la monodigestión de la GJ presentó una concentración final en NAT de $2,427 \pm 237$ mg/L, valor muy cercano a la concentración inhibitoria por amoniac. Por el contrario, los experimentos de codigestión se mantuvieron en el rango de 1,220-1,912 mg/L, lo cual permite

afirmar que la sinergia entre los cosustratos reduce el riesgo de inhibición por amoniaco.

2.7 CONCLUSIONES

La sinergia del proceso de codigestión anaerobia se puede determinar a partir del estudio de un diseño experimental de mezclas. Los efectos sinérgicos fueron estimulados cuando se presentaron altas concentraciones de lípidos en la mezcla. No obstante, la sinergia está condicionada a la tolerancia y adaptabilidad de los consorcios microbianos a operaciones sobre las condiciones de saturación. Cargas orgánicas de 9 g SV/L presentaron efectos sinérgicos al operar por debajo de las condiciones de saturación o inhibición. Los efectos sinérgicos efectivos se lograron cuando la suplementación de cosustratos permitió aumentar la carga orgánica, al mismo tiempo que se disminuyeron los impactos negativos asociados a factores tóxicos e inhibitorios como caídas en el pH, acumulación de ácidos grasos y amonio.

Efectos sinérgicos efectivos se pueden garantizar al mantener una mezcla de gallinaza de jaula (GJ) con alta concentración de residuos ricos en carbohidratos (melaza de caña) y proteínas (lactosuero). La codigestión multicomponente GJ:LS:MC de 17:66:17 (base %SV) incrementó la PEM de la GJ desde $0.34 \pm 0.01 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg VS}$ hasta $0.60 \pm 0.01 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg VS}$. Adicionalmente, codigestión multicomponente propició un mayor reajuste de los nutrientes permitiendo un proceso anaerobio libre de inhibiciones. Dado que los cosustratos empleados en este estudio son fácilmente e incorporables a la cadena productiva del sector avícola, se hace posible la implementación de biodigestores anaerobios en el sector para mejorar la sustentabilidad del proceso productivo.

3. CAPITULO III: MODELAMIENTO DEL EFECTO SINÉRGICO DURANTE LA CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA DE JAULA EN OPERACIÓN CONTINUA

Resumen

La digestión anaerobia de la gallinaza de jaula es limitada por la inhibición de amonio, la cual conduce al estado pseudo-estacionario donde hay una producción estable de biogás pero con bajo rendimiento. En este estudio se evaluó el efecto de la sinergia de la codigestión sobre el estado pseudo-estacionario inhibido. El estudio se realizó a partir de la evaluación de dos digestores continuos de tanque agitado. El primer digestor (D1) operó gallinaza como único sustrato mientras que el segundo digestor (D2) operó una mezcla sinérgica óptima de gallinaza de jaula, melaza de caña y lactosuero. Cada digestor fue analizado a partir del monitoreo de los ácidos grasos volátiles (AGV), pH, capacidad *Buffer*, velocidad de producción de biogás (VPB) y amoniaco. El modelamiento del efecto sinérgico sobre el estado pseudo estacionario se realizó a partir del ajuste de un modelo de regresión polinómica de segundo orden, el cual permitió comparar el efecto del amonio sobre la VPB y el efecto del amonio sobre la acumulación de AGV. De acuerdo al resultado, se pudo concluir que la sinergia del proceso de codigestión anaerobia permite operar los digestores por encima de las condiciones de saturación de la monodigestión de GJ.

Ponencia: Marin-Batista J., Castro L., Escalante H. (2015) Effect of total ammonia nitrogen during chicken manure anaerobic digestion. 2nd International congress of mechanical engineering and agricultural science. Bucaramanga, Colombia. 7-9 de Oct.

Trabajo fin de carrera: Uribe D., Vega M.A. (2015) Efecto del amonio en proceso de digestión anaerobia de gallinaza de jaula. Escuela de Ing. Química. Universidad Industrial de Santander.

3.1 BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA DE LA GALLINAZA DE JAULA EN OPERACIÓN CONTINÚA

La producción anual de gallinaza de jaula (GJ) en Colombia supera las 3'436,204 ton (Escalante et al., 2010). El aprovechamiento de esta biomasa como fuente de energía, permitiría al sector avícola disminuir el consumo de combustibles fósiles y reducir costos operativos en los sistemas de explotación (Hamawand et al., 2015). Dentro de las tecnologías de transformación bioquímica de la biomasa a energía, la digestión anaerobia se ha convertido en la opción más atractiva para este residuo (Afazeli et al., 2014). Actualmente, las plantas de biogás que operan gallinaza de jaula como sustrato son limitadas por la presencia del estado pseudo-estacionario inhibido, el cual se alcanza luego de un largo periodo de operación (Wu et al., 2016).

El estado pseudo-estacionario inhibido es consecuencia de la inhibición por amonio en el proceso. El amonio difunde en las células de las arqueas metanogénicas y altera la homeostasis celular (Niu et al., 2013). Al disminuir la población metanogénica se produce acumulación de ácidos grasos, conduciendo a un equilibrio dinámico entre ácidos grasos volátiles (AGV) y amonio, donde el proceso opera en estado estable pero con baja producción de metano (Lu et al., 2013). Lo anterior, conduce a bajas velocidades de carga que reducen la factibilidad de operación del biodigestor y generan poca gestión del residuo (Huang et al., 2016).

Dado que la GJ es un sustrato heterogéneo, amplios rangos de concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT) han sido reportados como concentraciones inhibitorias. Generalmente, la inhibición ocurre en un rango de concentración entre 2,000 y 4,000 mg/L. Wang et al. (2014) obtuvo valores de concentración de NAT entre 565–4,200 mg/L, notando que cuando las concentraciones eran superiores a 2,700 mg/L, la producción de metano disminuyó notablemente desde 0.35 m³ CH₄/kg SV hasta 0.05 m³ CH₄/kg SV. Por otra parte, Niu et al. (2014) operaron un biodigestor CSTR en condiciones termófilas (55°C) y reportaron un rango de NAT

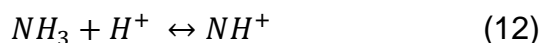
entre 2,000–7,000 mg/L. En este estudio, se observó que a partir de 4,000 mg/L de NAT, la producción de metano disminuyó desde su máximo valor de 0.35 m³ CH₄/kg SV hasta 0.29 m³ CH₄/kg SV, con un rango de pH estable entre 8.1-8.3. Incluso a una baja concentración de amonio de 1,700 mg/L, se ha presentado inhibición (Niu et al., 2014). Liu et al. (2012), obtuvieron rangos de concentración de NAT entre 200-1,300 mg/L, reportando inhibición del sistema al alcanzar concentraciones mayores a 1,000 mg/L; el estudio evidenció que la producción de metano descendió, mientras que el pH aumentaba de 7.5 a 8.2 dando lugar a un aumento de la toxicidad.

En un estudio típico de codigestión, la operación en modo discontinuo permite formular y optimizar proporciones de mezclas, que posteriormente son evaluadas en reactores continuos donde se garantiza la estabilización de la carga orgánica presente en el residuo (García-Gen et al., 2014; Navaneethan et al., 2011). El proceso de codigestión anaerobia con GJ se ha implementado en reactores continuos tales como flujo pistón (Field et al., 1995); UASB (Yetilmezsoy et al., 2009); UBF (Ibrahim et al., 1997), CSTR (Chamy et al., 2012), configuración en tres etapas (Xue et al., 2014) y reactores con sistemas de auto mezclado por presión (Gangagni et al., 2011).

Cada configuración requiere de un estudio operacional orientado a seleccionar las mejores condiciones de operación. Generalmente, el estudio corresponde a la evaluación del desempeño del biodigestor en términos del tiempo de retención hidráulico, que a su vez, permite determinar una velocidad crítica de carga orgánica en la cual el proceso se operaría sin riesgos de inhibición por elevada concentración de NAT. La toxicidad del amonio ha sido ampliamente estudiada en sistemas continuos. Sin embargo, se requiere información para determinar el efecto sinérgico entre la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), amonio y biogás durante el estado pseudo-estacionario de la codigestión anaerobia de gallinaza de jaula con residuos industriales.

3.2 MECANISMO DE INHIBICIÓN POR AMONIO

Las proteínas constituyen una parte importante del sustrato al representar una fuente directa de nitrógeno (Martí., 2006). En la primera etapa de la DA, las proteínas son hidrolizadas a aminoácidos por la acción de enzimas proteolíticas llamadas proteasas. La formación de los aminoácidos implica principalmente la desaminación oxidativa en cetoácidos, seguido por una descarboxilación de los cetoácidos (Demeyer et al., 1979). Consecuentemente, los aminoácidos se convierten en ácidos grasos tales como acetato, propionato, butirato, amonio y amoníaco (Niu et al., 2014). Tanto el amonio como amoníaco se encuentran en equilibrio químico (ecuación 12), y la concentración relativa de cada uno depende del pH. El efecto inhibitorio del NH_4^+ aumenta a pH alcalinos.



Las concentraciones de NH_4^+ no solo dependen del pH, también son dependientes de la concentración de sustrato, la relación C/N y la temperatura de digestión (Martí-Ortega., 2006). Concentraciones de NAT entre 50-200 mg/L resultan benéficas para los consorcios microbianos (Niu et al., 2014). El NH_4^+ representa un aporte de nutrientes esenciales para el crecimiento microbiano y formación de capacidad buffer (Li et al., 2013). Bajas concentraciones de amoníaco facilitan el crecimiento microbiano dado que representan una fuente de nitrógeno, mientras que altas concentraciones perturban el desempeño del proceso anaeróbico al disminuir la actividad microbiana (Rajagopalet al., 2013). (Ver tabla 10).

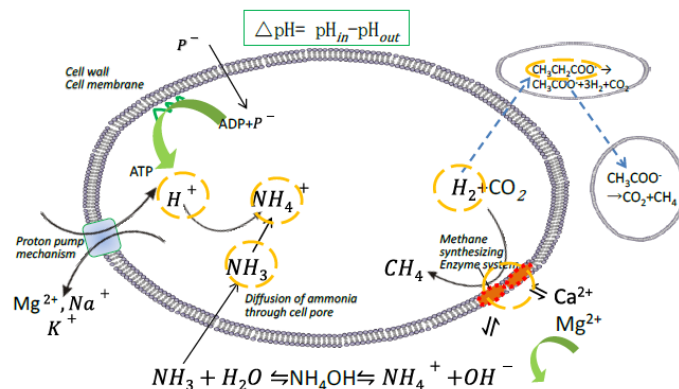
Tabla 10. Efecto de la concentración del nitrógeno amoniacal total en procesos anaerobios.

CONCENTRACIÓN DE NAT (mg/L)	EFEECTO
50 a 100	Benéfico
200-1,000	No presenta efectos adversos
1,500-3,000	El efecto inhibitorio incrementa conforme lo hace el pH
Superior a 3,000	Toxicidad

Fuente: Kumar, 2008.

La inhibición por amoniaco se puede presentar en las distintas fases de la DA. El mecanismo de inhibición se muestra en la figura 12. El NH_3 se difunde a través de la membrana celular, donde es ionizado hasta NH_4^+ como parte del ciclo de generación de ATP en microorganismos estricta mente anaerobios. A diferencia del amoniaco, el NH_4^+ no puede difundirse fácilmente a través de las membranas lipídicas. Las concentraciones de NH_4^+ intracelular y extracelular dependen de la concentración de NH_3 y el pH local. Por lo tanto, las células cuyo pH intracelular es más bajo que el pH extracelular, tienen una concentración de NH_4^+ intracelular mayor que la de su ambiente. Este desequilibrio de pH inactiva la acción de las enzimas citosólicas que son las encargadas de transformar los azúcares a piruvato, el cual es un sustrato clave para la producción de energía, convirtiendo al NH_4^+ acumulado dentro de las células en una sustancia tóxica (Niu, 2014).

Figura 12. Mecanismo de inhibición del amoniaco



Los metanógenos hidrogenotróficos son más tolerantes y favorables para el crecimiento que los metanógenos acetoclásticos. Por otra parte, la GJ tiene una alta concentración de calcio (Ca_2^+) y magnesio (Mg^{2+}), que puede contrarrestar la inhibición por NTA. Gracias a una concentración de Ca^{2+} y Mg^{2+} , las células activas aseguran suficiente ATP producido y potasio (K^+) transportado, el K^+ es acumulado en el citoplasma de los organismos metanógenos manteniendo el pH intracelular, esto incrementa el requerimiento de energía de mantenimiento causando la inhibición de reacciones enzimáticas. (Niu, et al., 2014; Rajagopalet al., 2013).

3.3 EXPERIMENTACIÓN

3.3.1 Puesta en marcha de los digestores continuos.

Se construyeron dos digestores en material plástico de 5 litros de tanque agitado que operaron con un volumen de operación de 3 L (Figura 13). Ambos digestores se equiparon con dos válvulas, para alimentación del residuo y recolección del efluente. Los digestores fueron equipados de un sistema de agitación continua con barra magnética a 80 rpm. La operación del digestor se realizó a las condiciones locales de temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). El biodigestor D1 fue cargado con GJ como único sustrato, mientras que el biodigestor de D2 se cargó con una mezcla sinérgica optima de GJ:MC:LS de 34:33:33 con base a sólidos volátiles (SV). Durante el arranque, los digestores se operaron en forma discontinua a 16g SV/L cerca de las zonas de saturación por amonio (Marin-Batista et al., 2015). Luego de 30 días de operación se procedió a cargar sustrato continuamente a una velocidad de carga orgánica (VCO) de 1 g SV/Ldía, 2 g SV/Ldía y 3 g SV/Ldía. El cambio en la VCO se realizó conforme el sistema alcanzó la estabilización.

Figura 13. Biodigestor CSTR



3.3.2 Métodos analíticos

Los ácidos grasos volátiles (AGV), alcalinidad total (AT), pH, nitrógeno amoniacal total (NAT) y producción diaria de biogás fueron medidas durante el periodo de digestión. Los AGV fueron cuantificados por titulación con NaOH (0.1 N) y la AT por titulación con HCl (0.1 N) (Jobling-Purser et al., 2014). El pH fue cuantificado mediante un medidor de pH (pH meter 691 Metrohm) y el NAT de acuerdo al protocolo 4500-NH₃D del *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). El biogás producido durante el tiempo de experimentación fue medido por desplazamiento de una solución saturada con NaCl para evitar la difusión del gas en el líquido. La producción diaria de biogás se expresó en términos del rendimiento volumétrico de producción de biogás, correspondiente al volumen de biogás desplazado diariamente sobre el volumen de operación (Wang et al., 2014).

3.3.3 Optimización de la sinergia en operación continua

La dinámica de la operación anaerobia para D1 y D2 se describió usando el modelo de segundo orden de la ecuación 12. Donde, β_0 , β_1 , β_2 fueron los coeficientes de correlación del polinomio y A correspondió a la variable independiente del modelo equivalente a la concentración de NAT. El efecto del amonio sobre la metanogénesis se determinó a partir del ajuste de la VPB como

variable dependiente en el modelo (Y'). Mientras que el efecto del amonio sobre la acetogénesis se determinó a partir del ajuste del AGV como variable dependiente en el modelo (Y'')

$$Y = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 A^2 \quad (12)$$

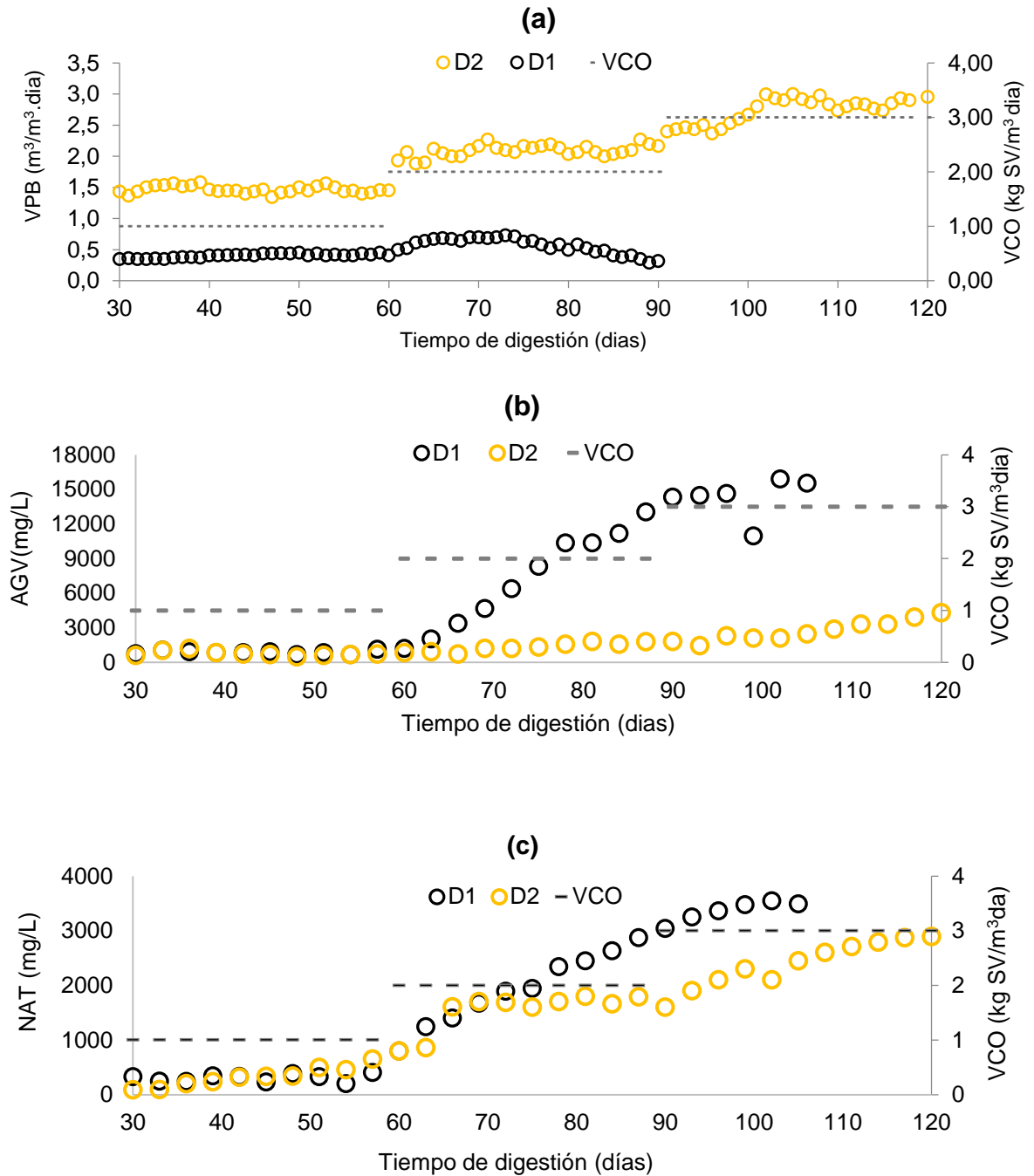
Los coeficientes del modelo fueron calculados y analizados estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA), empleando el *software* MINITAB 17 (Licencia 17.1.0.0). El modelo de inhibición y metanogénicos fue verificado con los datos experimentales para D1 y D2. El punto máximo del modelo de inhibición se determinó por aproximaciones con la primera derivada. Mientras que la intercepciones en los modelos se calculó usando el método algebraico de igualación de ecuaciones.

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Perfil de producción de biogás, concentración de NAT y concentración de AGV durante la operación continua del CSTR.

La figura 14 muestra la velocidad volumétrica de producción de biogás (a), acumulación de AGV (b) y concentración de NAT (c), a medida que se incrementa la VCO para D1 y D2. Para la VCO de 1 g SV/L*día, D1 presentó una velocidad volumétrica de producción de biogás (VPB) que osciló entre 0.40-0.57 m³/m³día. Por su parte, D2 presentó una VPB en el rango 1.34-1.93 m³/m³día, la cual fue superior a la VPB de D1. Ambos digestores mantuvieron concentraciones de AGV oscilantes en un rango de 600- 1,200 mg/L. Sin embargo, D2 demostró una mejor eficiencia de conversión de AGV siempre mantener la concentración de AGV a valores inferiores a D1. Por otra parte, para la VCO de 1 g SV/L*día, el NAT no presentó un efecto adverso en el desempeño de D1 y D2, al permanecer en concentraciones inferiores a 800 mg/L.

Figura 14. Velocidad de producción de biogás (VPB), cambios en la concentración de NAT y concentración de AGV durante la operación continua de D1 y D2.



A partir del día 60 de operación D1 y D2 se cargaron con una VCO de 2 g-SV/L*día. El aumento en la VCO incrementó la VPB de D1 y D2 hasta

0.83m³/m³día y 2.30 m³/m³día, respectivamente. Sin embargo, a partir del día 75 D1 comenzó a disminuir su VPB hasta 0.30 m³/m³día, valores muy inferiores a la VPBs obtenidas durante la VCO inicial. Este hecho, se puede asociar al estado pseudo estacionario de la GJ en el cual el sistema produce biogás bajo condiciones inhibidas (Nue et al., 2013). Al cargar D1 a una VCO de 2 g SV/L*día, los AGV se acumularon hasta alcanzar concentraciones hasta de 14,325 mg/L. Mientras que D2, mantuvo una concentración de AGV oscilante en un rango 780-1800 mg/L que permitieron un producción de biogás estable. Igualmente, para D1 las concentraciones de NAT se incrementaron hasta valores superiores a 2500 mg/L donde se inicia toxicidad del proceso (Nui et al., 2013). Mientras D2 presentó concentraciones de NAT oscilantes en 800 mg/L y 1800 mg/L, muy por debajo de la concentración toxica de amonio.

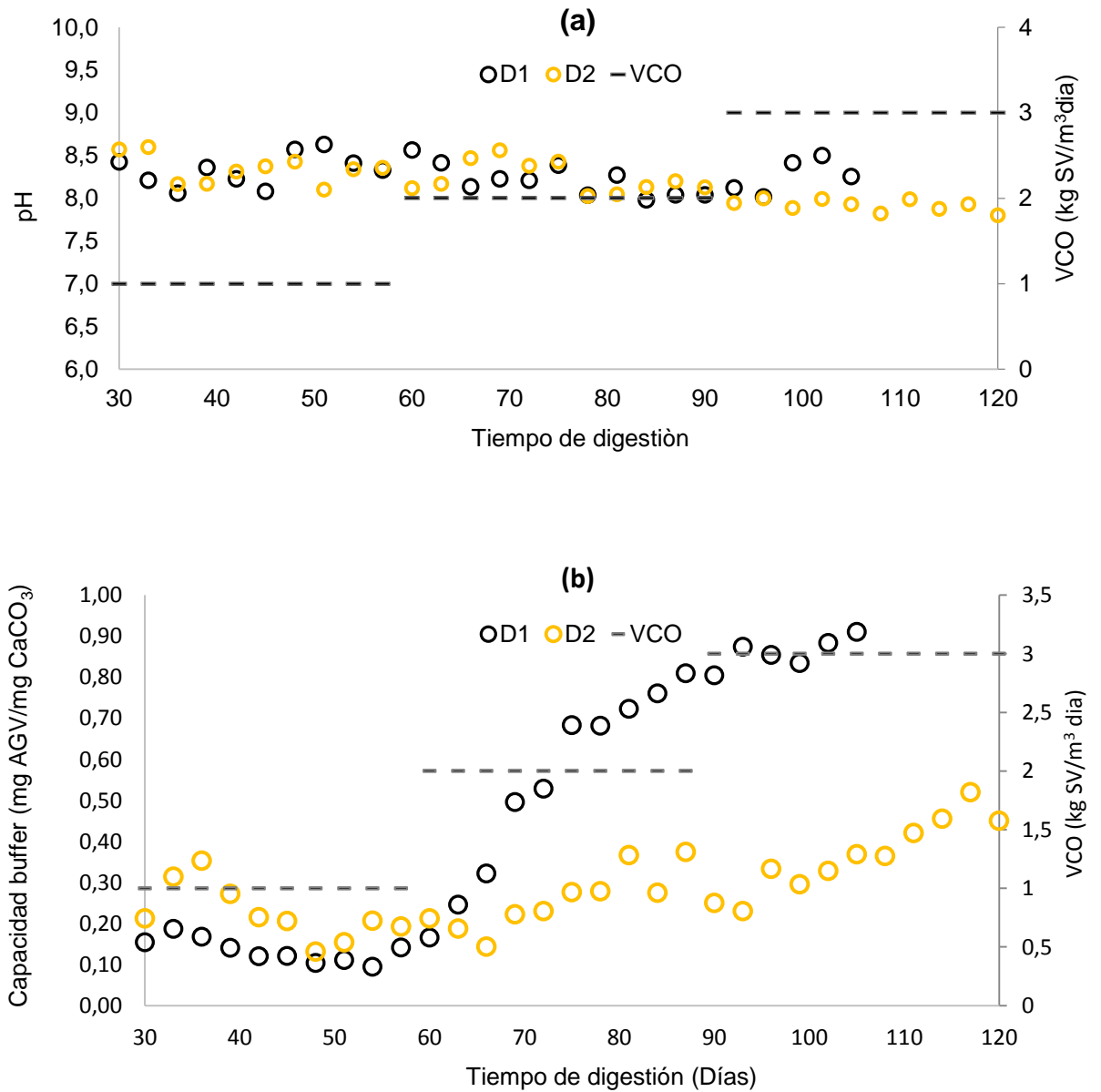
Dada la operación inhibida de D1, se procedió operar solo D2 con una VCO de 3 g SV/L*día. D2 logró alcanzar una VPB estable en un rango de 2.80 -2.95 m³/m³.día, valores muy superiores a los valores máximos obtenidos por D1. Estos resultados son consecuentes con los otros estudios reportados en la literatura. Por ejemplo, Gelenenis et al. (2007) determinaron para la monodigestión anaerobia de la gallinaza una VCO óptima de 1.8 kg SV/m³.días con producciones de biogás de 0.55 m³/m³.día. Esta VCO pudo ser incrementada a 4kg SV/m³.días, mediante la codigestion de la mezcla gallinaza (75% V/V) y lactosuero (35% V/V) logrando producciones de biogás de 1.2 m³/m³.día.

Por otra parte, los incrementos en la VCO disminuyen la eficiencia de conversión de AGV dado que existe una mayor acumulación a incrementar la VCO. Para la VCO de 3 g SV/L*día se presentó una acumulación de AGV entre 2880 mg/L y 4300 mg/L. Por otra parte, el NAT se incrementó hasta valores entre 2300 -2890 mg/L sin causar efecto adverso en la producción de biogás. No obstante, el efecto de la sinergia presente en la mezcla de sustratos en D2 permitió un mejor desempeño y estabilidad en el proceso, representado en una mayor velocidad de conversión de AGV en biogás.

3.4.2 Cambios en los parámetros de estabilidad

La figura 15, muestra los cambios en el pH (a) y capacidad *buffer* (relación AGV/Alcalinidad) (b) durante el periodo de operación en continuo para D1 y D2.

Figura 15. Perfil de cambios del pH (a) y capacidad *buffer* (b) durante la operación continua de D1 y D2.



Para ambos digestores, los incrementos en la VCO no generaron cambios drásticos en el pH. Ambos digestores mantuvieron un pH elevado en un rango de 8.6-7.8, valores típicos para sistemas anaerobios con alto contenido de amonio (Wang et al., 2014). Por otra parte, los incrementos en la VCO tuvieron incidencia en la capacidad tampón del sistema. Durante la VCO de 1 g SV/Ldía, tanto D1 como D2 mantuvieron valores en la capacidad *buffer* por debajo de 0.40, indicando una operación estable durante el proceso biodegradativo. Sin embargo, al incrementar la VCO, la capacidad tampón *buffer* en D1 incrementó constantemente hasta valores superiores a 0.8, a partir del cual se presentan las inestabilidades en el sistema. En cambio para la D2 la sinergia de la mezcla permitió mantener un proceso estable. Los incrementos en la VCO no generaron variaciones drásticas en los valores de la capacidad *buffer* que afectaran la dinámica del proceso.

3.4.3 Modelamiento de la sinergia de la codigestion anaerobia en el estado pseudo-estacionario.

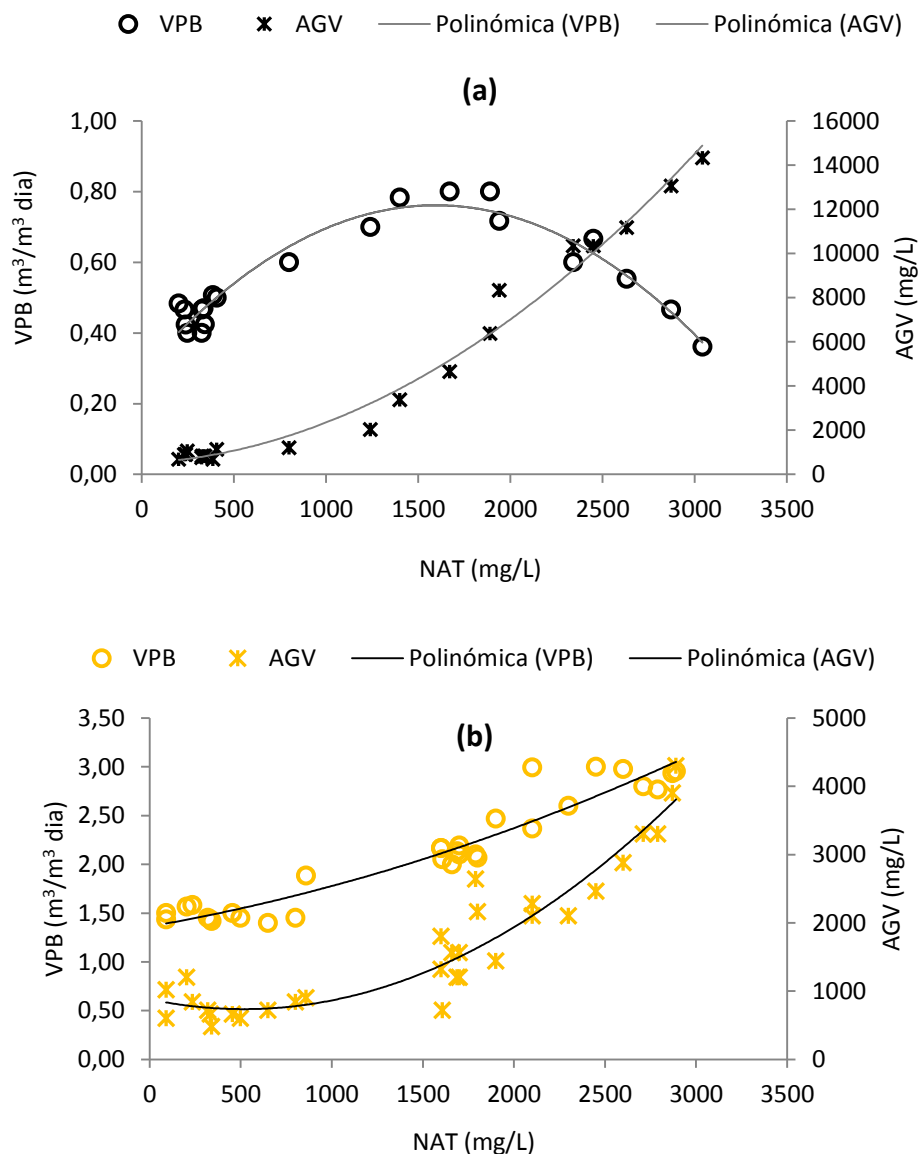
El efecto del NAT sobre la metanogénesis (Y') y la acetogénesis (Y'') se determinó a partir del ajuste del modelo descrito en la ecuación 12. La tabla 11 muestra los coeficientes del modelo con su respectivo análisis de varianza (ANOVA) para D1 y D2.

Tabla 11. Coeficientes y valores $-p$ del modelamiento de D1 y D2.

Reactor	D1				D2			
	Y'		Y''		Y'		Y''	
Término	Coef	P	Coef	p	Coef	p	Coef	P
β_0	0.291	-	507,3	-	1.363	-	881.2	-
β_1	6×10^{-4}	0.017	0,425	0.000	0.0003	0.000	-0.561	0.000
β_2	-2×10^{-7}	0.000	0,001	0.000	9×10^{-8}	0.050	0.001	0.000

Todos los coeficientes del modelo presentaron significancia estadística, lo cual indica que el NAT mantuvo un efecto directo sobre la VPB y los AGV. Las variables de la VPB y los AGV presentaron un buen ajuste con los valores experimentales. Todos los ajustes mostraron valores de $R^2 > 90\%$ y R^2 ajustado $> 89.5\%$. No obstante, la mayoría de los datos obtenidos experimentalmente en ambos digestores se pueden explicar bajo con la ecuación 12. La simulación del efecto del amonio sobre la metanogénesis y acetogénesis se muestra en la figura 16a para D1 y 16b para D2.

Figura 16. Modelamiento del efecto del amonio en la concentración de AGV y VPB.



De acuerdo con el resultado, para D1 la VPB óptima de $0.74 \text{ m}^3/\text{m}^3\text{día}$ se alcanzó cuando la concentración de NAT fue de 1500 mg/L . A concentraciones de NAT por encima del óptimo se presentó un declive en la VPB indicando disminución en la actividad metabólica de los metanógenos. Esto se puede corroborar a partir del comportamiento de los AGV respecto al NAT, lo cuales se mantuvieron altos a concentraciones elevadas de amonio. Lo anterior corrobora que el amonio, en altas concentraciones, inhibe el consumo de AGV y por ende reduce la VPB. Por otra parte, en la figura 16a se observó un cruce entre las curvas del modelamiento de la metanogénesis y acetogénesis formando un punto triple de convergencia entre AGV, amonio y VPB. En el punto triple la concentración de NAT fue 2580 mg/L , la VPB fue $0.51 \text{ m}^3/\text{m}^3\text{días}$ y la concentración de AGV fue 8260 mg/L . Otros estudios señalaron inhibición por amonio a concentración de NAT superiores a 2500 mg/L e inhibición por acumulación de AGV a concentraciones superiores a 8000 mg/L (Kumar, 2008). No obstante, para D1 se pueden establecer en la figura 16a una zona de leve inhibición y una zona de severa inhibición. La zona de leve inhibición correspondió al rango de $1500\text{-}2510 \text{ mg/L}$ de NAT el cual corresponde a las concentraciones de NAT entre el punto óptimo y el punto de intercepción. La zona de severa inhibición se presentó posterior al punto de intercepción donde la concentración de amonio se comportó como un agente toxico reduciendo el consumo de AGV y la VPB.

Para el caso de D2, la figura 16b no mostró intercepciones entre las curvas resultantes de la simulación de la dinámica metanogénica y acetogénica. Para D2, la VPB incrementó proporcional a incrementos en la concentración de AGV y NAT. La producción de biogás óptima de $3.1 \text{ m}^3/\text{m}^3\text{día}$ se logró cuando las concentraciones de NAT fue 3000 mg/L y la concentración de AGV fue 4000 mg/L . Nótese que los AGV no se acumularon a pesar que la concentración de NAT sobrepasó el umbral de inhibición. Probablemente, la sinergia del proceso de codigestión condujo a un proceso anaerobio estable con rápida velocidad de biodegradación y libre de inhibición por NAT.

3.5 CONCLUSIONES

La digestión anaerobia de gallinaza de jaula en un digestor anaerobio de tanque agitado es factible a VCO de 1 kg SV/m³.dia, donde el digestor opera a condiciones óptimas de operación. El estado pseudo estacionario inhibido se alcanza a concentración de NAT entre 1500 mg/L y 2500 mg/L donde la VPB comienza a descender desde su valor máximo de 0.74 m³/m³.dia. Concentraciones de NAT por encima de 2580 mg/L inhiben el consumo de AGV conduciendo a su acumulación hasta valores superiores a los 12 000 mg/L. La codigestión de la gallinaza con residuos ricos en carbohidratos (melaza) y proteínas (lactosuero) incrementa la factibilidad de implementación de digestores anaerobios de gallinaza de jaula al permitir incrementar la VCO hasta 3 kg SV/m³.dia. La sinergia en la mezcla permitió un proceso anaerobio con rápida biodegradabilidad y libre de inhibiciones, lo cual aumentó el rango de tolerancia de los microorganismos al NAT.

4. CONCLUSIONES GENERALES

La gallinaza de jaula constituye un sustrato potencial para la generación energía en forma de biogás. Estequiométricamente la gallinaza de jaula puede alcanzar una producción de metano equivalente a 0.58 m³/kg sólidos volátiles (SV). Sin embargo, limitaciones del sustrato asociadas a la biodegradabilidad conducen a un estado pseudo-estacionario que implica un arranque con cargas orgánicas por debajo de 17 g SV/L y una operación a velocidades de cargas orgánicas inferiores a 1 g SV/L días. El estado pseudo estacionario se hace más notorio en la operación continua cuando la concentración de amonio alcanza 2580 mg/L y la concentración de ácidos grasos se acumula a valores de 8260 mg/L.

Los efectos sinérgicos presentes en la codigestión anaerobia de gallinaza de jaula constituyen una alternativa viable para superar las limitantes ocasionadas por el estado pseudo-estacionario. Los cosustratos permiten eliminar el estado pseudo-estacionario dada la sinergia de su codigestión. La sinergia está relacionada a la adaptabilidad de las colonias microbianas en la operación de digestores sobre las condiciones de saturación. La sinergia permitió disminuir el efecto toxico del amonio al mismo tiempo que incrementar velocidad de carga orgánica en los biodigestores de 1 g SV/L días a 3 g SV/L días con la mezcla sinérgica optima GJ:MC:LS de 34:33:33 en base a sólidos volátiles.

Los resultados obtenidos en esta investigación servirán como punto de partida para replantear procedimientos experimentales en la determinación del potencial de biometanización. La metodología empleada permitió realizar una evaluación de la sinergia desde la perspectiva de la intensificación de procesos de digestión anaerobia. Finalmente, se propone para el proceso de codigestion realizar la adición de cosustratos a las condiciones de saturación donde la producción de metano se comporta como una función independiente de la carga orgánica y dependiente de la concentración de compuestos tóxicos.

BIBLIOGRAFIA

- Abouelenien F., Namba Y., Kosseva M., Nishio N., Nakashimada Y. (2014) Enhancement of methane production from co-digestion of chicken manure with agricultural wastes. *Bioresource Technology*, 159, 80–87.
- Afazeli H., Jafari A., Rafiee S., Nosrati M., Almasi F. (2014) Investigation Yield and Energy Balances for Biogas Production from Cow and Poultry Manure. *International Journal of renewable energy research*, 4(2), 311-320.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J., Guwy, A., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., Van Lier, J., 2009. Defining the biomethanepotential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology*, 59 (5), 927–934.
- APHA, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th ed. American Public Health Association.
- Appels L., Baeyens J., Degréve J., Dewil R.(2008) Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34, 755-781.
- Astals S., Musenze R.S., Bai X., Tannock S., Tait S., Pratt S., Jensen P.D. (2015) Anaerobic co-digestion of pig manure and algae: Impact of intracellular algal products recovery on co-digestion performance. *Bioresource Technology*, 181, 97-104.
- Astals S., Batstone D., Mata-Alvarez J., Jensen P. (2014) Identification of synergistic impacts during anaerobic co-digestion of organic wastes. *Bioresource Technology*, 169, 421–427.
- Astals, A; Esteban-Gutiérrez, M; Fernández-Arávalo, T.; Aymerich, E.; García-Heras, J.L; Mata-Alvarez, J. (2013) Anaerobic digestion of seven different sewage sludges: A biodegradability and modelling study. *Water research*, 47, 6033-6043.
- Astals S., Nolla-Ardèvol N., Mata-Alvarez J. (2012) Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: Biogas and digestate. *Bioresource Technology*, 110, 63–70.
- Bastone D.J., Keller I., Angelidaki I., Kalyuzhnyi SV., Pavlostathis SG., Rozzi A., Sanders W.T.M., Siegrist H., Vavilin V.A. (2002) The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). *Water Science Technology*, 45, 65-73.
- Barrera P., Salas X., Castro L., Ortiz C., Escalante H. (2009) Estudio preliminar de la bioproducción de metano a partir de los residuos del proceso de beneficio del fique. *Revista ION*, 22 (1), 21-25.
- Callaghan F., Wase D., Thayanithy K., Forster C. (2002) Continuous co-digestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure. *Biomass and Bioenergy*, 27, 71–77.

- Chamy R., León C., Vivanco E., Poirrier P., Ramos C. (2012) Anaerobic monodigestion of poultrymanure:determination of operational parameters for CSTR. *Water Science & Technology*, 65(1), 53-59.
- Comino E., Riggio V.A., Rosso M. (2012) Biogas production by anaerobic codigestion of cattle slurry and cheese whey. *Bioresource technology*, 114, 46-53.
- Comino E., Rosso M., Riggio V.A. (2009) Pilot-scale anaerobic digester for biogas production from cow manure and whey mix. *Industrial bioprocessing*, 64 (2), 4-10
- Dareioti M, A., Kornaros M. (2015) Anaerobic mesophilic co-digestion of ensiled sorghum, cheese whey and liquid cow manure in a two-stage CSTR system: Effect of hydraulic retention time. *Bioresource Technology*, 175, 553-562.
- Delgadillo-Vargasa O.,Garcia-RuizR., Forero-Álvarez J. (2016) Fertilizing techniques and nutrient balances in the agriculture industrialization transition: The case of sugarcane in the Cauca river valley (Colombia), 1943–2010. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 218, 150–162.
- Demeyer, D. V.-N. C., 1979. Protein fermentation and growth by rumen microbes. *HAL archives-ouvertes*, 277-279.
- Dong X., Tollner E.W. (2003). Evaluation of Anammox and denitrification during anaerobic digestion of poultry manure. *BioresourceTechnology*, 86, 139–145.
- Escalante H., Orduz J., Zapata, L. (2010) Atlas del potencial energético de la biomasa residual en Colombia. Universidad Industrial de Santander, UIS.
- Esposito G., Frunzo L., Giordano A., Liotta F., Panico A., Pirozzi F. (2012) Anaerobic co-digestion of organic wastes. *Rev Environ Sci Biotechnol*. 11 (4), 325–341.
- Estrada M. (2005) Manejo y procesamiento de la gallinaza. *Revista Lasallista de investigación*, 2(1), 43-48.
- Fang C., Boe K., Angelidaki I. (2011) Anaerobic co-digestion of desugared molasses with cow manure; focusing on sodium and potassium inhibition. *Bioresource Technology*, 102, 1005–1011.
- Fantozzi F., Buratti C. (2009) Biogas production from different substrates in an experimental Continuously Stirred Tank Reactor anaerobic digester. *Bioresource Technology*, 100, 5783–5789.
- Field J., Reneau R.K.W., Caldwell J.(1985) Nutrient recoveries from plug-flow anaerobic digestion of poultry manure. *Agricultural Wastes*,56, 207–216.
- FotidisJ., Kougias P., Zaganas I., Kotsopoulos T. (2014) Inoculum and zeolite synergistic effect on anaerobic digestion of poultry manure. *Environmental Technology*, 35(10), 1219–1225.
- Galí A., Benabdallah T., Astals S., Mata-Alvarez J. (2009) Modified version of ADM1 model for agro-waste application. *Bioresource Technology*, 100, 2783–2790.

- Gangagni R.A., Surya S., Joseph J., Rajashekhara R.A., Sarma P. (2011) Multi stage high rate biomethenation of poultry litter with selfmixed anaerobic digester. *Bioresource Technology*, 102, 729–735.
- García-Gen S., Rodríguez J., Lema J.M. (2014) Optimisation of substrate blends in anaerobic co-digestion using adaptive linear programming. *Bioresource Technology* 173, 159–167.
- Gelegenis J., Georgakakis D., Angelidaki I., Mavris V. (2007) Optimization of biogas production by co-digesting whey with diluted poultry manure. *Renewable Energy* 32, 2147–2160.
- Gungor-Demirci G., Demirci G. (2004). Effect of initial COD concentration, nutrient addition, temperature and microbial acclimation on anaerobic treatability of broiler and cattle manure. *Bioresource Technology*, 93, 109–117.
- Hamawand I. (2015) Anaerobic digestion process and bio-energy in meat industry: A review and a potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 44, 37-51.
- Huang W., Zhao Z., Yuan T., Lei Z., Cai W., Li H., Zhang Z. (2016) Effective ammonia recovery from swine excreta through dry anaerobic digestion followed by ammonia stripping at high total solids content. *Biomass and Bioenergy*, 90, 139-147.
- Hublin A., Zoké T.I., Zelié B. (2012) Optimization of Biogas Production from Co-digestion of Whey and Cow Manure. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17, 1284-1293.
- Ibrahim G., Gu G., Zhu J., Tayel S., Khairy M., El-Shimi S. (1997) Anaerobic digestion for waste water poultry manure by UBF reactor. *Journal of Environmental Sciences*, 9(2), 149-161.
- Jensen P.D., Ge H., Batstone D.J. (2011) Assessing the role of biochemical methane potential tests in determining anaerobic degradability rate and extent. *Water Science Technology*. 64 (4), 880–886.
- Jiménez J., Guardia-Puebla Y., Cisneros-Ortiz M., Morgan-Sagastume J., Guerra G., Noyola A. (2015) Optimization of the specific methanogenic activity during the anaerobic co-digestion of pig manure and rice straw, using industrial clay residues as inorganic additive. *Chemical Engineering Journal*, 259, 703–714.
- Jobling-Purser B.J., Thai S.M., Fritz T., Esteves S.R., Dinsdale R.M., Guwy A.J. (2014) An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food waste. *Water research*, 61, 162-170.
- Kothari R., Pandey A.K., Kumar S., Tyagi V.V., Tyagi S.K. (2015) Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 39, 174-195.
- Kythreotou N., Florides G., Tassou S. (2014) A review of simple to scientific models for anaerobic digestion. *Renewable Energy*, 71, 701-714.
- Kumar S. (2008) *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications*. John Wiley & Sons, Inc, ISBN: 978-0-813-82346-1. USA.

- Labatut R., Angenent L., Scott N. (2011) Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. *Bioresource Technology*, 102, 2255–2264.
- Li Y., Zhang R., He Y., Zhang C., Liu X., Chen C., Lui G. (2014) Anaerobic co-digestion of chicken manure and corn stover in batch and continuously stirred tank reactor (CSTR). *Bioresource Technology*, 156, 342–347.
- Li Y., Zhang R., Chen C., Liu G., He Y., Liu X. (2013) Biogas production from co-digestion of corn stover and chicken manure under anaerobic wet, hemi-solid, and solid state conditions. *Bioresource Technology*, 149, 406–412.
- Li Y., Zhang R., Liu X., Chen C., Xiao X., Feng F., He Y. (2013b). Evaluating Methane Production from Anaerobic Mono and Codigestion of Kitchen Waste, Corn Stover, and Chicken Manure. *Energy&fuel*, 27, 2085–2091
- Liu, Z., Zhou, X., Zhang, Y., & Zhu, H. (2012). Enhanced anaerobic treatment of CSTR-digested effluent from chicken manure: The effect of ammonia inhibition. *Waste Management*, 32, 137–143.
- Lu F., Hao L., Guan D., Qi Y., Shao L., He P. (2013) Synergetic stress of acids and ammonium on the shift in the methanogenic pathways during thermophilic anaerobic digestion of organics. *water research* 47, 2297- 2306.
- Mao C., Feng Y., Wang X., Ren G. (2015) Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45, 540-555.
- Maibaum C., Kuehn V. (1999). Thermophilic and mesophilic operation of an anaerobic treatment of chicken slurry together with organic residual. *Water Science and Technology*, 40(1), 231–236
- Marin-Batista J., Castro L., Escalante H. (2015). Effect of chicken manure organic load on biomethane potential. *Colombian journal of Biotechnology*, 17 (1), 18-23.
- Mata-Alvarez J., Dosta J., Romero-Güiza M.S., Fonoll X., Peces M., Astals S. (2014) A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 36, 412–427.
- Mata-Alvarez J., Dosta J., Macé S., Astals S. (2011) Anaerobic codigestion of solid waste: A review of its uses and perspectives including modeling. *Critical Review in Biotechnology*, 67, 1-13.
- McDonald T., Achari G., Abiola A. (2008) Feasibility of increased biogas production from the co-digestion of agricultural, municipal, and agro-industrial wastes in rural communities. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 7, 263–273.
- Misi S., Foster C. (2001) Batch codigestion of multi-component agro waste. *Biosource Technology*, 80, 19-28.
- Mojica F.J., Trujillo R., Castellanos D.L, Bernal N. (2007) Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena láctea colombiana. Proyecto transición de la agricultura. MADR. Bogotá D.C.

- Moncada J., Tamayo J.A, Cardona C.A (2014) Integrating first, second, and third generation biorefineries: Incorporating micro algae into the sugarcane biorefinery. *Chemical Engineering Science* 118, 126–140.
- Neumann P., Torres A., Feroso F.G., Borja R., Jeison D. (2015) Anaerobic co-digestion of lipid-spent microalgae with waste activated sludge and glycerol in batch mode. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 100, 85-88.
- Neves L., Oliveira R., Alves M.M (2009) Co-digestion of cowmanure, food waste and intermittent input of fat. *BioresourceTechnology*, 100, 1957–1962.
- Niu Q., Hojo T., Qiao W., Qiang H., Li Y.Y. (2014) Characterization of methanogenesis, acidogenesis and hydrolysis in thermophilic methane fermentation of chicken manure. *Chemical Engineering Journal*, 244, 587-596.
- Niu Q., Qiao W., Qiang H., Li Y. (2013a) Microbial community shifts and biogas conversion computation during steady, inhibited and recovered stages of thermophilic methane fermentation on chicken manure with a wide variation of ammonia. *Bioresource Technology* 146, 223–233.
- Niu Q., Qiao W., Qiang H., Hojo T., Li Y. (2013b) Mesophilic methane fermentation of chicken manure at a wide range of ammonia concentration: Stability, inhibition and recovery. *Bioresource Technology* 137, 358–367.
- Pagés-Díaz J., Pereda Reyes I., Lundin M., Sárvári I. (2011) Co-digestion of different waste mixtures from agro-industrial activities: Kinetic evaluation and synergetic effects. *Bioresource Technology* 102, 10834–10840.
- Pagés-Díaz J., Pereda-Reyes I., Taherzadeh M, Sárvári-Horváth I., Lundin M. (2014) Anaerobic co-digestion of solid slaughterhouse wastes with agro-residues: Synergistic and antagonistic interactions determined in batch digestion assays. *Chemical Engineering Journal* 245, 89–98.
- Park M.J, Jo J., Park D., Lee D.S., Park J.M. (2010) Comprehensive study on a two-stage anaerobic digestion process for the sequential production of hydrogen and methane from cost-effective molasses. *International journal of hydrogen energy*, 35, 6194- 6202.
- Poh P.E., Chong M.F. (2009) Development of anaerobic digestion methods for palm oil mill effluent (POME) treatment. *Bioresource Technology*, 100, 1-9.
- Prazeres A.R., Carvalho F., Rivas J., Patanita M., Dores J. (2013) Retreated cheese whey wastewater management: A review. *Journal of environmental management*, 110, 48-68.
- Rajagopal R., Massé D.I., Singh G. (2013) A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology*, 143, 632-641.
- Raposo F., Borja R., Martín M.A., Martín A., de la Rubia M.A., Rincón B. (2009) Influence of inoculum–substrate ratio on the anaerobic digestion of sunflower oil cake in batch mode: Process stability and kinetic evaluation. *Chemical Engineering Journal*, 149, 70-77.

- Rivas J., Prazeres A.R., Carvalho F., Beltrán F. (2010) Treatment of cheese whey wastewater: Combined coagulation-flocculation and aerobic biodegradation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58 (13), 7871-7877.
- Quintero M., Castro L., Ortiz C., Guzmán C., Escalante H. (2012) Enhancement of starting up anaerobic digestion of lignocellulosic substrate: fique's bagasse as an example. *Bioresource Technology*, 108, 8–13.
- Salminen E., Rintala J. (2002) Anaerobic digestion of organic solid poultry slaughterhouse waste – a review. *Bioresource Technology*, 83, 13–26.
- Santibáñez C., Varnero M.T., Bustamante M. (2011) Residual glycerol from biodiesel manufacturing, wasteor potential source of bioenergy: a review. *Chilean journal of agricultural research*, 71(3), 469-475.
- Sharma D., Espinosa-Solares T., Huber D. H. (2013) Thermophilic anaerobic co-digestion of poultry litter and thin stillage. *Bioresource Technology* 136, 251–256.
- Siegert I, Banks C. (2005) The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochemistry*, 40, 3412–3418.
- Silvestre G., Fernández B., Bonmatí A. (2015) Addition of crude glycerine as strategy to balance the C/N ratio on sewage sludge thermophilic and mesophilic anaerobic co-digestion. *Bioresource Technology* 193, 377–385.
- Tanimu M., Ghazi T., Harun M., Idris A. (2014) Effect of feed loading on biogas methane production in batch mesophilic anaerobic digesters treating food waste. *International Journal on chemical and environmental engineering*, 5(1).
- Valdehita A., Quesada-García A., Delgado M., Martín J., García-González M. (2014) In vitro assessment of thyroidal and estrogenic activities in poultry and broiler manure. *Science of the Total Environment*, 472, 630–641.
- Vega-Baudrit J., Delgado-Montero K., Sibaja-Ballesteros M., Alvarado-Aguilar P. (2007) Uso alternativo de la melaza de la caña de azúcar residual para la síntesis de espuma rígida de poliuretano (ERP) de uso industrial. *Tecnología, Ciencia y Educación*, 22 (2), 101-107.
- Venkateswara P., Baral S. (2011) Experimental design of mixture for the anaerobic co-digestion of sewage sludge. *Chemical Engineering Journal*, 171, 977–986.
- Viana M.B., Freitas A.V., Leitão R.C., Pinto G.A.S., Santaella S.T. (2012) Anaerobic digestion of crude glycerol: a review. *Environmental Technology Reviews*. 1(1), 81-92.
- Wang M., Sun X., Li P., Yin L., Liu D., Zhang Y., Li W., Zheng G. (2014) A novel alternate feeding mode for semi-continuous anaerobic co-digestion of food waste with chicken manure. *Bioresource Technology*, 164, 309–314.
- Wang x., Yang G., Li F., Feng Y., Ren G., Han X. (2013) Evaluation of two statistical methods for optimizing the feeding composition in anaerobic co-digestion: Mixture design and central composite design. *Bioresource Technology*, 134, 172–178.

- Wang X., Yang G., Li F., Feng Y., Ren G. (2013b). Response surface optimization of methane potentials in anaerobic co-digestion of multiple substrates: dairy, chicken manure and wheat straw. *Waste Management & Research*, 31(1), 60 – 66.
- Wang X., Yang G., Feng Y., Ren G., Han X. (2012) Optimizing feeding composition and carbon–nitrogen ratios for improved methane yield during anaerobic co-digestion of dairy, chicken manure and wheat straw. *Bioresource Technology*, 120, 78–83.
- Wu S., Ni P., Li J., Sun H., Wang Y., Luo H., Dach J., Dong R. (2016) Integrated approach to sustain biogas production in anaerobic digestion of chicken manure under recycled utilization of liquid digestate: Dynamics of ammonium accumulation and mitigation control. *Bioresource Technology*, 205, 75–81.
- Yang G., Zhang P., Zhang G., Wang Y., Yang A. (2015) Degradation properties of protein and carbohydrate during sludge anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 192, 126–130.
- Yangin-Gomec C., Ozturk I. (2013) Effect of maize silage addition on biomethane recovery from mesophilic co-digestion of chicken and cattle manure to suppress ammonia inhibition. *Energy Conversion and Management*, 71, 92–100.
- Yetilmezsoy K., Ilhan F., Sapci-Zengin Z., Sakar S., Talha M. (2009) Decolorization and COD reduction of UASB pretreated poultry manure wastewater by electrocoagulation process: A post-treatment study. *Journal of Hazardous Materials*, 162, 120–132.
- Xiujin Y., Feng Y., Hairong Y., Liang Z., Chao L., Jian G. (2013) Performance and synergistic effect of anaerobic co-digestion of corn stover and chicken manure. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 123, 1234-1241.
- Zhang T., Yang Y., Liu L., Han Y., Ren G., Yang G. (2014) Improved Biogas Production from Chicken Manure Anaerobic Digestion Using Cereal Residues as Co-substrates. *Energy&Fuels*, 28, 2490–2495.