

**MODELAMIENTO DEL RENDIMIENTO DE METANO DE LOS RESIDUOS  
SOBRANTES DE RESTAURANTE UIS**

**ÉDINSON DAVID ÁLVAREZ PÉREZ  
DIEGO ANDRÉS CALDERÓN BAUTISTA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2014**

**MODELAMIENTO DEL RENDIMIENTO DE METANO DE LOS RESIDUOS  
SOBRANTES DE RESTAURANTE UIS**

**ÉDINSON DAVID ÁLVAREZ PÉREZ.**

**DIEGO ANDRÉS CALDERÓN BAUTISTA**

**Trabajo de investigación presentado como requisito para optar por el título de  
Ingeniero Químico**

**DIRECTOR.**

**Humberto Escalante Hernández.**

**Ing. Químico, M. Sc., PhD**

**CODIRECTORA**

**Liliana del Pilar Castro Molano**

**Ing. Química PhD**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2014**

## Dedicatoria

Dedicado al creador del universo, Dios. Gracias Dios por haber hecho las cosas perfectas, gracias por haberme dado los dones para comprenderlas y estudiarlas y gracias por haberme dado la fuerza para caminar por este apasionante, pero nada fácil camino de la investigación.

A mi procreadora, educadora y amiga, mi madre Luz Mary. Gracias madre por tu apoyo y enseñanzas, gracias a tu devoción puedo decir que este logro es a penas en parte mío, porque también es tuyo ya que me guiaste por el camino de la dedicación y la excelencia.

A mi segunda madre, mi abuela Benita que Dios la tenga en su gloria; A mi padre putativo Jorge Augusto, mis padrinos Jorge Hernández y Claudia Navas, a mi tía Nubia y a toda mi familia en general. Gracias a todos por su apoyo, sus consejos y sus buenos deseos; También han sido parte importante en mi formación como persona, y en haber alcanzado esta meta.

A mis amigos: Jhon Anderson, Luis Eduardo, Julián, Liliana, Fajardo y Vanessa. Gracias por estar siempre ahí, por su apoyo tanto académico como emocional durante la carrera. A mis amigas Deisy y Laura que me apoyaron desde el principio de esta travesía de la digestión anaerobia con su conocimiento y buenos deseos.

Por ultimo a todos aquellos que pusieron su grano de arena para hacer todo esto posible.

Edinson David

## Dedicatoria

Dedico este trabajo al ingeniero perfecto, Dios, que me llenó de valor y perseverancia para mantenerme en la senda de la investigación, que aunque adversa es muy gratificante.

A mi padre Rito, a mi madre Ana y a mi hermano Sergio quienes realizaron muchos sacrificios y tuvieron siempre confianza en mí motivándome a continuar con sus regaños y consejos.

A mis queridos amigos: Andrés, Gerardo, Natalia, Maher, Karolth, José, Johan, Faruck y Luis Carlos, quienes sin esperar nada a cambio compartieron mis alegrías y tristezas presentes durante el desarrollo de esta investigación.

Al amor de mi vida Andrea Ayala, por sus paciencia y ser el pilar de mi vida

Al deporte y la música que aportaron el balance en mi vida y prestaron las ocasiones para las mejores interpretaciones ocurrencias y explicaciones de este trabajo.

A los profesores Humberto, Liliana y a mi amigo Luis, quienes guiaron mis pasos en el camino de la investigación.

Finalmente a todos los involucrados que aportaron un granito de arena y a cualquier persona a la que le haya dicho: “Rendirme no está en mi vocabulario, para mí esa palabra no tiene un significado verdadero”.

Diego Andrés

## Tabla de Contenido

INTRODUCCIÓN .....	15
1.1 Digestión anaerobia DA.....	17
2 METODOLOGÍA.....	23
2.1 Caracterización del EB y los RSR .....	23
2.2 Biodegradación anaerobia de RSR a diferentes RIS.....	24
2.3 Modelamiento.....	25
3. ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	27
3.1 Caracterización de sólidos volátiles RSR UIS.....	27
3.1.2 Caracterización de EB y los RSR.....	28
3.2 Cinética de producción de metano de RSR a distintas RIS y consumo de SV .....	29
3.2.1 Consumo de la materia orgánica.....	31
3.3 Estabilidad del proceso. Variación de pH durante el proceso y su capacidad Buffer ..	32
3.4 Evaluación del rendimiento del proceso .....	34
3.5 Modelamiento del proceso.....	35
4. CONCLUSIONES .....	42
BIBLIOGRAFÍA.....	43
Anexos .....	51

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> Etapas del proceso de DA .....	18
<b>Figura 2.</b> Etapas de la metodología .....	23
<b>Figura 3.</b> Producción de metano en el tiempo (a) y Consumo de sólidos volátiles en el tiempo (b).....	30
<b>Figura 4.</b> Curva de Variación de pH durante el proceso(a) y Capacidad Buffer al inicial y finalizar el experimento (b).....	33
<b>Figura 5.</b> Variación de los SV superpuesto en el tiempo para todas las RIS(a) el modelo ME (b) .....	35
<b>Figura 6.</b> Gráfica de paridad SV(experimental) vs SV(modelo)(a) gráfica de residuos estudentizados (b).....	36
<b>Figura 7.</b> Gráficas de desaparición de SV experimental, MR y ME en el tiempo para RIS 0.5 (a) y 1.0 RIS 1.5 y 2.0 (b) .....	37
<b>Figura 8.</b> Gráficas de generación de metano (G) experimental, MR y ME en el tiempo para RIS 0.5 y 1.0 (a) y RIS 1.5 y 2.0 (b) .....	38
<b>Figura 9.</b> Gráfica de la constante de proporcionalidad $\alpha$ vs RIS .....	39
<b>Figura 10.</b> Variación de las constantes cinéticas aparentes K1 y K2 (a) con la RIS (b) .....	40

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Rangos de operación de la DA.....	20
<b>Tabla 2.</b> Cantidades empleadas en la DA de RSR a distintas RIS .....	25
<b>Tabla 3.</b> SV de los RSR. ....	27
<b>Tabla 4.</b> Caracterización fisicoquímica del EB y los RSR .....	28
<b>Tabla 5.</b> Rendimiento del proceso para cada una de las RIS .....	34
Tabla 6. Set de ecuaciones empleadas en el modelamiento.....	41

## LISTA DE ANEXOS

<b>ANEXO a. Recolección de la muestra.....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXO b. CARACTERÍSTICAS MEDIBLES EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA .....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXO c. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES TOTALES (ART) .....</b>	<b>56</b>
<b>ANEXO d. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV), ALCALINIDAD TOTAL (AT).....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXO e. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES FIJOS Y VOLÁTILES EN MUESTRAS SÓLIDAS Y SEMISÓLIDAS.....</b>	<b>58</b>
<b>ANEXO f. PROTOCOLO DE DILUCIÓN DE SÓLIDOS DE LOS RSR.....</b>	<b>61</b>
<b>ANEXO g. MÉTODO DE DESPLAZAMIENTO ALCALINO .....</b>	<b>62</b>

## NOMENCLATURA

AGV	Ácidos grasos volátiles (mg/L). .
ART	Azúcares reductores totales (mg/mL).
AT	Alcalinidad Total (mg CaCO <sub>3</sub> /L).
DA	Digestión anaerobia.
DNS	Dinitrosalicílico.
EB	Estiércol Bovino.
G	Cantidad de metano acumulado
G <sub>m</sub>	Cantidad de metano acumulado al final del experimento
ME	Ecuaciones empíricas
MR	Modelo de propuesto por Raposo <i>et al.</i> , (2009)
RIS	Relación inóculo - sustrato.
RSR	Residuos sobrantes de restaurante universitario
ST	Sólidos totales (mg/L); [g/Kg].
SV	Sólidos volátiles (mg/L); [g/Kg].
SV <sub>T</sub>	Sólidos volátiles totales (igual a SV) (mg/L); [g/Kg].
SV <sub>B</sub>	Sólidos volátiles biodegradables (mg/L); [g/Kg].
SV <sub>NB</sub>	Sólidos volátiles <u>NO</u> biodegradables (mg/L); [g/Kg].
VNTP	Volumen a condiciones estándar.
YPS	Rendimiento de producción de biogás (m <sup>3</sup> biogás/ Kg SV).

TÍTULO: Modelamiento del rendimiento de metano de los residuos sobrantes de restaurante uis

AUTORES: Édinson Álvarez, Diego Calderón

## RESUMEN

Se estudió y modeló el rendimiento del proceso de digestión anaerobia (DA), de los residuos del restaurante (RSR) de la universidad industrial de Santander (UIS). Este estudio fue realizado a temperatura mesofílica (35°C) en múltiples bio-reactores por lotes. Los RSR-UIS, fueron recolectados y caracterizados durante cuatro (4) semanas, Para determinar su potencial como sustrato en un proceso DA. La producción de desechos es de 3,9 m<sup>3</sup> mensuales con una carga orgánica constante de 86,6% correspondiente a un valor de sólidos volátiles (SV) de 199,7 g SV/kg. Se realizaron ensayos de bio-degradación anaerobia y producción de metano para relaciones inóculo-sustrato (RIS) de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0; El objetivo fue observar la influencia de la RIS en el rendimiento de metano (YPS), reportando valores de 0,073, 0,138, 0,250 y 0,307 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kg SV respectivamente. La estabilidad del proceso de DA se monitoreó con mediciones de pH y capacidad buffer del sistema, observándose que las RIS de 1.5 y 2.0 se mantuvieron estables durante todo el proceso, mientras que las RIS de 0.5 y 1.0 se alejaron de la franja de estabilidad de pH (6.5-7.5) y capacidad buffer (0.8<). El modelamiento de la DA se realizó empleando modelo presentado por Raposo *et al.* (2009), el cual fue complementado con dos relaciones empíricas desarrolladas en este trabajo. Del modelo se obtuvo que la constante  $\alpha$  análoga al YPS se incrementó de 5,5 a 15,2 mlCH<sub>4</sub>\*kg/g SV desde la RIS de 0.5 a la RIS de 2.0. Los resultados de este trabajo muestran que los RSR-UIS pueden ser aprovechados y estabilizados con la DA, y que hay una clara influencia de la RIS en el rendimiento de metano.

Palabras clave: Digestión anaerobia (DA), Residuos sobrantes de restaurante UIS (RSR-UIS), sólidos volátiles (SV), Rendimiento de metano (YPS), modelamiento, Relación inóculo/sustrato (RIS), mesófilico.

\* Trabajo de grado

\*\* Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Dr. Humberto Escalante

TÍTULO: Modeling of methane-yield of waste restaurant-UIS\*

AUTORES: Édinson Álvarez, Diego Calderón\*\*

#### ABSTRACT

A study and modeling of the yield of the anaerobic digestion (AD) process, of restaurant waste (RSR) of the Universidad Industrial de Santander (UIS) was conducted at mesophilic temperatures (35°C) in multiple batch bioreactors. The RSR-UIS were collected and characterized for four (4) weeks, to determine its potential as a substrate in a DA process. Waste production is 3.9 m<sup>3</sup> monthly at a constant organic load of 86.6% corresponding to a value of volatile solids (VS) of 199.7 g SV / kg. Testing of anaerobic biodegradation and methane production for inoculum-substrate ratios (RIS) of 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 were performed; The aim was to observe the influence of RIS on the methane yield (YPS), reporting values of 0.073, 0.138, 0.250 and 0.307 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub> / kg SV respectively. The stability of the DA process was monitored by measurements of pH and buffering capacity of the system, showing that the RIS of 1.5 and RIS of 2.0 were stable throughout the process, otherwise the RIS of 0.5 and RIS of 1.0 RIS moved away from the stability band of pH (6.5-7.5) and buffer capacity (0.8 <). The modeling was performed using the DA model presented by Raposo *et al.* (2009), which was supplemented by two empirical relationships developed in this work. Model showed that the constant  $\alpha$  analogous to YPS increased from 5.5 to 15.2 mlCH<sub>4</sub>\*kg /g VS from RIS of 0.5 to RIS of 2.0. The results of this work show that RSR-UIS can be treated and stabilized by the DA, and that there is a clear influence of RIS on the methane yield.

Keywords: Anaerobic digestion (AD), restaurant Waste UIS (UIS-RSR), volatile solids (VS), methane yield (YPS), modeling, inoculum / substrate ratio (ISR), mesophilic

\*Degree Work.Research Mode.

\*\*Physical-Chemical Engineering Faculty.Chemical Engineering School. Director: Dr. Humberto Escalante

## INTRODUCCIÓN

Los desechos alimenticios son el componente de mayor proporción dentro de los residuos sólidos urbanos (RSU). Al año se desechan 1.3 billones de toneladas de residuos alimenticios (FAO, 2011). En Colombia, se vierten a la basura el 22.6% de la cosecha de frutas, el 16% de las verduras, el 30% de los cereales y pescados, además del 20% de los lácteos y carnes vacunas comercializadas en los mercados, todos los desechos suman un total de 2'200.000 toneladas anuales (FAO, 2012). Actualmente, la Universidad Industrial de Santander, beneficia a 4268 estudiantes con el servicio de comedor universitario, generando 3.9 m<sup>3</sup> de residuos sobrantes de restaurante (RSR) mensualmente. Las estrategias de gestión más comunes para los RSR, son los vertederos y su uso como suministro alimenticio en granjas porcícolas. Sin embargo, estos mecanismos de disposición son inadecuados debido a que por un lado generan gases y lixiviados con altas cargas contaminantes y por el otro causan enfermedades en los cerdos (Resolución 2040 de 2007).

Una estrategia de gestión para los RSR, es la digestión anaerobia (DA). Los sistemas de conversión biológica son procesos que descomponen la materia orgánica, generando una mezcla de gases denominada biogás, compuesta principalmente por metano y dióxido de carbono (Mata-Álvarez *et al.*, 2000). La DA permite un aprovechamiento energético de las biomásas residuales, dado que maximiza el reciclaje de nutrientes y estabiliza el residuo como enriquecedor de suelos, disminuyendo su impacto ambiental, la presencia de olores y emisiones de efecto invernadero, además presenta un bajo costo operacional, dando lugar a un balance de energía positivo (Holm *et al.*, 2009).

Los RSR pueden variar dependiendo de su fuente, son ricos en carbohidratos, lípidos y proteínas, además de N, P, K, Na, Ca, Mg, Al, Fe, Zn y Mn (Kwon and Lee 2004). Los RSR tienen una humedad entre 82-90 % y una fracción orgánica que varía en el rango de 85-90 %, SV/ST %. Generalmente los RSR presentan

porcentajes de componentes lignocelulósicos, inferiores al 15%, características que le permiten una fácil biodegradabilidad y los hace atractivos como sustrato, en procesos de DA (Zhang *et al.*, 2007; Wan *et al.*, 2013).

El rendimiento del proceso de DA se expresa como el volumen producido de metano sobre la cantidad de sólidos volátiles adicionados al biorreactor ( $\text{m}^3 \text{CH}_4 / \text{kg SV}$ ) y se representa como YPS (Carrhá *et al.*, 2006). Se han reportado estudios de DA de RSR con rendimientos de 0.482, 0.294, 0.277, 0.472, 0.647.5 y 0.483  $\text{m}^3 / \text{kg VS}$  para: carne cocida, arroz hervido, repollo fresco y desechos de alimentos mixtos, respectivamente, que corresponden a 82 %, 72 %, 73 %, 86 %, 87 y 85.1% del rendimiento de metano estequiométrico o potencial de biometanización (PBM) respectivamente, (Zhang *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2011; Eskicioglu *et al.*, 2011; Tampio *et al.*, 2014; Ariunbaatar *et al.*, 2014).

Un parámetro importante en DA es la relación inóculo sustrato (RIS) que corresponde a la cantidad de materia orgánica dispuesta para someterse a biodegradación para producir biogás. La RIS se expresa como la relación: SV inóculo / SV sustrato, su variación afecta la producción de metano y por ende el YPS, (Raposo, 2008; Liu *et al.*, 2008; Zeng *et al.*, 2010). Cuando la RIS es igual o menor a 1 se puede afectar el proceso (inhibición por sustrato) al presentarse niveles elevados de ácidos grasos en el medio, como consecuencia de la degradación acelerada del material disponible (Zhang *et al.*, 2007; Kalloum *et al.*, 2014; Kawai *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014).

La DA, como cualquier proceso biológico e ingenieril, se describe mediante modelos que permiten simular la interacción fisicoquímica, otorgando una capacidad operacional avanzada en fenómenos químicos, fisicoquímicos, bioquímicos y microbiológicos implicados en cada etapa del tratamiento anaerobio de residuos. (Antonopoulou *et al.*, 2012; Girault *et al.*, 2012). Debido a la

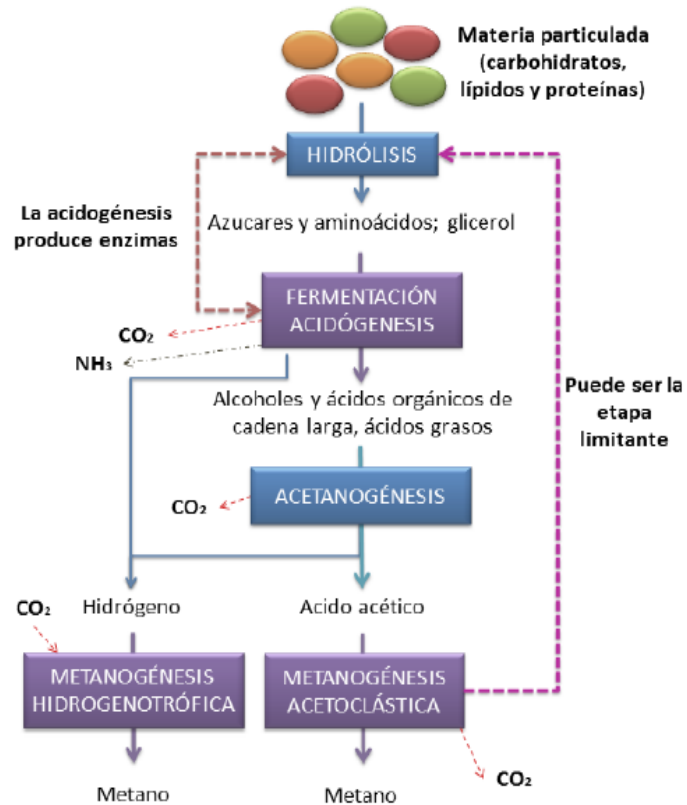
importancia del proceso de DA y el incremento de sus aplicaciones en los últimos años hay una urgente necesidad de establecer métodos de estimación de biodegradabilidad y PBM de los residuos usados en él (Raposo *et al.*, 2009). Los simuladores de procesos son apreciados tanto por las industrias como por investigadores, ya que pueden predecir un proceso adecuadamente y los costos de simulación son mucho más económicos que los de experimentación (Rajendram *et al.*, 2014). En los últimos años se han desarrollado varios modelos para la DA, desde matrices de interacción fisicoquímica de las sustancias (Li *et al.*, 2013), hasta de la dinámica poblacional de consorcios microbianos (Yu *et al.*, 2012). La simulación en DA ha llegado a modelos genéricos de predicción operacional avanzada, destacando el AM2, el cual es un modelo de dos etapas: etapa acidogénica y etapa metanogénica, y el ADM1: el cual considera como principales etapas la desintegración del sustrato, la hidrólisis, la acidogénesis, la acetogénesis y finalmente la metaogénesis (Derbal *et al.*, 2009), además de modificaciones o simplificaciones del ADM1 (Blumensaat and Keller, 2005; Raposo *et al.*, 2009).

Existen resultados contradictorios en la literatura acerca de la influencia de la RIS en el rendimiento de metano, además de que los trabajos anteriores que tratan este tema son pocos (Raposo *et al.*, 2009). No se encontró información de la influencia de las RIS en el rendimiento de metano de los RSR, por lo tanto el objetivo de este trabajo fue estudiar la DA de los RSR de la UIS y modelar el rendimiento de la producción de metano en función de la variación de la relación inóculo sustrato.

## **1.1 Digestión anaerobia DA**

La digestión anaerobia es un proceso bioquímico, que se desarrolla en un ambiente confinado en ausencia de oxígeno, por un consorcio microbiano. Mientras se desarrolla la DA, se obtiene como resultado un gas, compuesto principalmente por metano (CH<sub>4</sub>) y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), denominado biogás, se obtiene como subproducto agregado del proceso un lodo, este puede ser un enriquecedor de suelos una vez estabilizado. La DA se desarrolla por etapas: Hidrólisis,

acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, cada una es llevada a cabo por un grupo diferente de microorganismos (Castro, 2012). La figura 1 muestra las etapas del proceso de digestión anaerobia.



**Figura 1** Etapas del proceso de DA

*Fuente: Angelidaki et al, 2011*

La hidrólisis es la primera etapa de la DA, en esta etapa la materia prima rompe sus macromoléculas en compuestos más simples, producto de la acción enzimática de bacterias hidrolíticas (Morgenroth *et al.*, 2002). Cuando esta etapa está en curso, los lípidos, las proteínas, además de los carbohidratos, sufren una despolimerización originando glicerol y ácidos grasos de cadenas extensas, aminoácidos y monosacáridos respectivamente. La evidencia de la hidrólisis se encuentra en la disminución de materia orgánica disponible para el proceso (SV) que ocurre en el transcurso de las etapas, ésta se evalúa con la medición de azúcares reductores totales. (Angelidaki *et al.*, 2011).

En la acidogénesis, los productos intermedios como el ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico son truncados enzimáticamente, produciendo ácidos grasos volátiles o de cadena corta (AGV) y alcoholes, siendo los tres mencionados los más abundantes e importantes para la producción de biogás (Angelidaki *et al.*, 2011). Durante la acetogénesis, los microorganismos acetógenos generan acetato a partir de reacciones enzimáticas reduciendo los ácidos grasos y parte del CO<sub>2</sub>, provenientes de la etapa anterior, utilizando hidrógeno y dióxido de carbono como fuente de energía (Bermúdez. *et al* 1988).

Finalmente en la metanogénesis, el hidrógeno (H<sub>2</sub>) y el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) se transforman en CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>, por los microorganismos metanogénicos. Regulado por los 4 senderos de reacción anaerobia (Deppenmeier, 2002, Liu *et al.*, 2008). La *metanogénesis acetoclástica*: el acetato se fracciona en CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> afectando el pH del sistema; la *metanogénesis hidrogenotrófica*: el dióxido de carbono se reduce a CH<sub>4</sub>, limitando el potencial de óxido-reducción del bioproceso (Castillo *et al.*, 2007); y la *metanogénesis metilotrófica*, los compuestos metilados (metanol, metilaminas, sulfuro de dimetilo, etc) se transforman a CH<sub>4</sub> (Chen *et al.*, 2008).

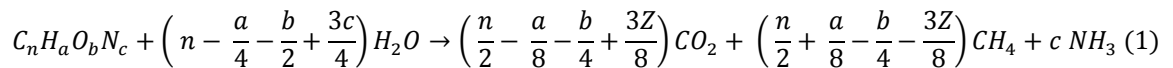
La DA de RSR presenta inhibición por acidificación del proceso debido a la elevada tasa de generación de AGV, producto de una etapa hidrolítica acelerada, característica de los RSR. Para contrarrestar el fenómeno inhibitorio se realizó un barrido de RIS que permitiera delimitar la relación mínima en la que se puede llevar a cabo el proceso de DA (Kawai *et al.*, 2014; Slimane *et al.*, 2014)

La evolución del proceso de DA puede ser evaluado mediante el monitoreo de las variables de operación que se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Rangos de operación de la DA

Variable de Respuesta	Unidad	Rango de operación	Frecuencia	Método	Descripción
<b>Temperatura</b>	°C	30-40 °C mesófilo	Diaria	Control de incubación	Define el comportamiento metabólico de los microorganismos (Campos, 2001)
<b>ART</b>	mg/mL	---	Al inicio y al final del experimento	Colorimétrico usando ácido 3-5 dinitrosalicílico (DNS) Anexo C	Garantiza el contenido de interés para el inicio de la etapa hidrolítica (Campos, 2001)
<b>AT</b>	mgCaCO <sub>3</sub> /L	1300-8000 mg CaCO <sub>3</sub> /L	Al inicio y al final del experimento	Titulación Anexo D	Permite soportar las fluctuaciones de pH (Charles <i>et al.</i> , 2009)
<b>SV</b>	g/L	---	Cada 5 días	Gravimétrico Anexo E	Evidencia el consumo de materia orgánica
<b>pH</b>	---	6.5 - 7.5	Cada 5 días	Potenciométrico/NTC 5167	Demarca la estabilidad del proceso (Poh & Chong, 2009)
<b>CH<sub>4</sub></b>	mL	100-600 mL	Diaria	Desplazamiento por trampa alcalina	Evalúa la etapa metanogénica Poh & Chong, 2009)
<b>YPS</b>	m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> / kg SV	40 – 87 %	Al final del experimento	Cálculo de YPS	Marca el rendimiento de la DA (Charles <i>et al.</i> , 2009)
<b>PBM</b>	m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> / kg SV	0.1 – 0.6	Al final del experimento	Cálculo PBM	Valor del metano teórico (Campos, 2001)

El ensayo del PBM para la DA por lotes, es la herramienta que permite evaluar y comparar la producción de metano de los sustratos usados en DA, como los cultivos energéticos, residuos agrícolas y desechos orgánicos. El Potencial de metano (YPS) se define como el volumen final de metano producido a partir de una cantidad específica de residuos (ya sea en peso o COD) en un experimento por lotes para un tiempo de degradación indefinido, es decir, hasta que cesa la producción de metano. El PBM teórico se calcula asumiendo que la cantidad presente de carbono reacciona en su totalidad para producir metano, bajo la siguiente reacción (Ecuación1):



## 1.2 Modelamiento de la DA

El modelamiento de un proceso biológico es complejo, sin embargo estudios realizados con residuos de la producción de aceite de girasol, otorgan herramientas suficientes para modelar la DA (Raposo *et al.*, 2009). El modelo de Raposo (MR) es un modelo de dos etapas, para las cuales la cantidad de biomasa (X) es constante en el tiempo y es la misma para todos los experimentos.

La etapa hidrolítica plantea que los sólidos volátiles totales (SV<sub>T</sub>) están conformados por una fracción de SV biodegradables (SV<sub>B</sub>) y otra de SV no biodegradables (SV<sub>NB</sub>). El MR plantea también que la velocidad de degradación de los SV<sub>B</sub> obedece a una constante cinética aparente de la etapa hidrolítica denotada k<sub>1</sub> (Ecuación. 2).

$$[SV_T]_t = SV_{NB} + \{[SV_T]_0 - SV_{NB}\} * e^{-K_1 t} \quad (2)$$

Dónde: los subíndices 0 y t denotan la concentración de SV<sub>T</sub> en el tiempo cero y el tiempo t respectivamente en [g/kg]. SV<sub>NB</sub> es la concentración de SV en el tiempo final del experimento en [g/kg]. k<sub>1</sub> es la constante cinética aparente de la etapa hidrolítica y t es el tiempo del experimento en [d].

La etapa metanogénica plantea que la cantidad de metano producida ( $G$ ) es proporcional a la variación de los  $SV_B$ , y que su velocidad de aparición obedece a una constante cinética aparente de la metanogénesis denotada  $k_2$  (Ecuación. 3).

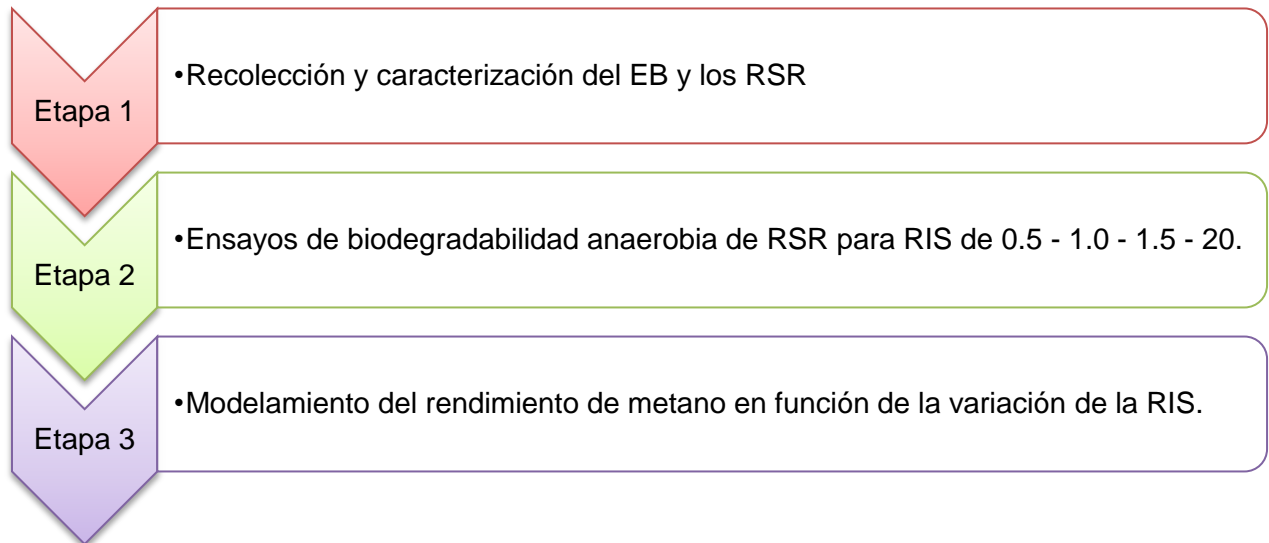
$$G_t = G_m * (1 - e^{-K_2 t}) \quad (3)$$

Donde:  $G_t$  y  $G_m$  son la cantidad de metano acumulado en el tiempo  $t$  y el tiempo final respectivamente;  $k_2$  es la constante cinética aparente de la metanogénesis.

Con el MR se puede modelar  $G$  y  $SV_T$  en el tiempo, pero sólo si se conocen  $G_m$  y  $SV_{NB}$ , que son valores finales de un experimento de DA. Por este motivo el MR no es un modelo predictivo sino solamente un modelo de ajuste de perfiles.

## 2 METODOLOGÍA.

Las etapas metodológicas desarrolladas durante este estudio se resumen en la Figura 2.



**Figura 2.** Etapas de la metodología

### 2.1 Caracterización del EB y los RSR

Los RSR fueron recolectados diariamente del comedor universitario de la Universidad Industrial de Santander. La recolección se llevó a cabo durante un mes. Se homogenizaron las muestras diariamente y se almacenaron en un congelador, posteriormente se realizó una mezcla por periodos semanales y finalmente se homogenizaron las muestras de los 4 periodos conforme al protocolo descrito en el anexo A. A partir de los restos no consumidos por los comensales, se obtiene una mezcla homogénea, esta se diluye hasta 130.9 [g/kg] de SV para facilitar la manipulación de acuerdo al protocolo del anexo F. La mezcla diluida comprende la totalidad de la materia prima usada en las botellas de vidrio que

denominamos biodigestores. Cuando se tiene la muestra procesada de los RSR, se caracteriza, mediante la determinación de los ST y los SV.

Como inóculo para la DA de RSR se utilizó estiércol bovino, éste fue recolectado del frigorífico Vijagual, Rionegro-Santander. Debido a que el estiércol fresco tiene alta concentración de materia orgánica se realizó una DA hasta agotar el sustrato endógeno, en un reactor de 23 litros a temperatura ambiente; durante tres meses. Posterior a este tratamiento, el inóculo se caracterizó fisicoquímicamente valorando: pH, concentración de SV suspendidos, humedad, ART, AGV y densidad.

## **2.2 Biodegradación anaerobia de RSR a diferentes RIS**

Se configuró un montaje experimental de DA tipo batch. Se utilizaron como biodigestores botellas de vidrio, de 50 mL con 36.6 mL de volumen útil, garantizando la ausencia de oxígeno por desplazamiento con N<sub>2</sub>. En cada biorreactor, se agregó una cantidad de inóculo en términos de sólidos volátiles (SV) constante, y se varió la cantidad de carga orgánica de sustrato para obtener valores de RIS entre 0.5 y 2.0 como lo muestra la tabla 2. Los biorreactores fueron sellados con tapones de butilo y agrafes de aluminio. Durante el experimento se mantuvo la temperatura de los biorreactores en un rango mesófilo (39°C) y se agitaron manualmente todos los días. El rango de RIS seleccionado respondió a trabajos de investigación en DA, con el fin de abarcar los mismos valores para un completo análisis comparativo (Lambis, 2013; Castro, 2010; Raposo *et al.*, 2006). Paralelamente se llevó a cabo un experimento denominado blanco, con una cantidad fija de inóculo y volumen de operación completado con agua destilada; con el fin de tener en cuenta el metabolismo endógeno de los consorcios microbianos. Todos los experimentos se realizaron por triplicado, durante 30 días. La tabla 2 muestra las cantidades de RSR de EB para el proceso de DA.

**Tabla 2.** Cantidades empleadas en la DA de RSR a distintas RIS

Parámetro	RIS 0,5	RIS 1	RIS 1,5	RIS 2
EB [mL]	28	28	28	28
(SV) <sub>EB</sub> [g/Kg]	20	20	20	20
RSR [mL]	8,6	4,28	2,9	2,15
(SV) <sub>RSR</sub> [g]	1,126	0,56	0,38	0,28
(SV) <sub>RSR</sub> [g/Kg]	130,9	130,9	130,9	130,9

### 2.3 Modelamiento

El modelamiento de la DA ha sido representado por el modelo de Raposo (MR) (Raposo *et al.*, 2009). El modelo MR se fundamenta en que conocidos los datos de G y SV en el tiempo final, se pueden obtener perfiles de G y SV en el tiempo. Sin embargo, en este trabajo se propone un modelo que solo tenga dependencia con las variables de entrada SV iniciales, RIS y el tiempo. El nuevo modelo permite hacer predicciones de YPS de la DA de los RSR de la UIS, con lo que permitiría la optimización del proceso a escalas mayores.

Para obtener el nuevo modelo, el MR se complementó con dos ecuaciones auxiliares las cuales serán denotadas ME (ecuaciones 4 y 5). El ME tiene la función de suministrar al MR los valores de  $G_m$  y  $SV_{NB}$  que este último necesita.

$$[SV_T]_t = -0,00265 * t^3 + 0,1676 * t^2 - 3,5809 * t + [SV_T]_0 \quad (4)$$

Donde los subíndices 0 y t denotan la concentración de  $SV_T$  en el tiempo cero y el tiempo t respectivamente en [g/kg]; t es el tiempo del experimento en [d].

$$G_t = \alpha * [\Delta SV]_{(t-2)} \quad (5)$$

Donde  $G_t$  es la cantidad de metano acumulado en el tiempo  $t$  en [mL] y  $\alpha$  es la constante de proporcionalidad análoga al YPS en [mL\*kg/g SV].  $[\Delta SV]_{(t-2)}$  es la variación de la concentración de SV en el tiempo  $t$  menos dos días en [g/kg].

Para obtener la ecuación. 4, los perfiles de SV de las RIS 0.5, 1.0 y 1.5 fueron superpuestos y trasladados en el eje Y sobre el perfil de SV de la RIS 2 con la ecuación 6 y se ajustaron a un polinomio de grado 3.

$$(SV_t^{RIS_i})_{superpuesto} = (SV_t^{RIS_i})_{Real} - \left( (SV_t^{RIS_i})_{Real} - (SV_t^{RIS_2})_{Real} \right)_{promedio} \quad (6)$$

Donde los superíndices  $RIS_i$  y  $RIS_2$  denotan la concentración de SV en el tiempo de cualquier RIS  $i$  y la RIS de 2 respectivamente en [g/kg]. Los subíndices superpuesto y real denotan la concentración de SV en el tiempo del valor de SV superpuesto y el valor de SV real respectivamente. El subíndice promedio denota el valor de la diferencia promedio en el tiempo entre una RIS  $i$  y la RIS 2 en [g/kg].

La segunda ecuación (ecuación 5) se basó en que la desaparición de SV y la generación de metano son directamente proporcionales. Además se aclara que la hidrólisis y la metanogénesis son etapas distintas y están desfasadas en el tiempo (Raposo *et al.*, 2009), por lo que se sugirió una latencia de dos días.

Las constantes  $k_1$ ,  $k_2$  y  $\alpha$  se calcularon con una regresión no lineal para cada RIS usando los datos experimentales, se graficaron y se analizaron estadísticamente con el software STATGRAPHICS Centurión XVI.II.

La precisión del ajuste del polinomio encontrado (ecuación 4) fue validada con un gráfico de paridad  $SV_{experimentales}$  en la abscisa y  $SV_{modelo}$  en la ordenada, y un gráfico de residuos estudentizados. Además los respectivos factores  $R^2$  fueron calculados tanto para el ME como para el MR

### 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 3.1 Caracterización de sólidos volátiles RSR UIS.

La carga orgánica puede ser expresada en términos de sólidos volátiles. Estos valores representan la materia orgánica disponible para ser degradada y convertida posteriormente a metano. La tabla 3 muestra la variación de los sólidos volátiles y los sólidos totales (ST) de los RSR en periodos semanales.

**Tabla 3.** SV de los RSR.

Muestra	Periodo	ST [g/kg]	SV [g/kg]	% SV/ST
I	2- 6 junio 2014	243,22	214,65	87,95
II	9- 13 junio 2014	220,82	181,31	81,83
III	16- 20 junio 2014	221,32	191,87	86,38
IV	21-25 julio 2014	199,78	166,73	86,38
<b>Promedio</b>		229,55	191,01	86,66

Los SV fluctúan de periodo a periodo, con un valor promedio de 191 [g/kg], con este valor promedio se realizó la dilución hasta 130.9 [g/kg] conforme al protocolo del anexo F. Las variaciones se atribuyen específicamente al cambio de menú en la semana. Además no siempre se desecha el mismo tipo de comida en las mismas proporciones. La variación del contenido de SV de los residuos de este estudio, está en concordancia con los estudios realizados por Kim *et al.*, (2003), Zhang *et al.*, (2007) y Huan, (2011).

Es importante resaltar que la fracción de SV es constante, 86.66%, esta alta fracción orgánica convierte a los RSR en un sustrato atractivo para procesos de valorización energética mediante DA. El porcentaje SV/ST% es similar a los reportados para residuos de comida: en un salón comedor comunitario (Corea) con

el 90% (Shin et al. 2001), un comedor universitario con SV desde 83% hasta el 91%(Corea) (Kwon and Lee 2004) y de un restaurante en Hangzhou, China con cargas orgánicas entre 84.21% y 91.03% (Yi *et al.*, 2014).

### 3.1.2 Caracterización de EB y los RSR

Los resultados de la caracterización del EB y los RSR se resumen en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Caracterización fisicoquímica del EB y los RSR

Parámetros	Unidades	EB	RSR	Los
ST iniciales	[g/kg]	38	150	valor
SV iniciales	[g/kg]	20	130,9	es
SV/ST %	%	52.26	86.66	de la
pH inicial	Unidades de pH	8.2	5.5	canti
AGV inicial	mg/L	1206	3414	dad
Alcalinidad inicial	mgCaCO <sub>3</sub> /L	1400	1900	de
ART inicial	mg/mL	0,65	3,5	SV
Densidad	g/mL	1,028	1,0246	disp
Humedad	%	96.2%	77%	onibl

e  
 presentados en la tabla 4 son adecuados para DA, principalmente el valor SV del sustrato el cual se encuentra en una proporción del 86.6% (Gray, 2008). El pH de la mezcla de EB y RSR tiene un valor de 8, éste propicia un arranque dinámico y favorece el crecimiento microbiano (Raposo *et al.*, 2006). Las concentraciones de azúcares se encuentran dentro de los valores que garantizan el arranque de la fase hidrolítica del bioproceso. Las cantidades de AGV son elevadas tanto en el EB como en los RSR, no obstante, la alcalinidad inicial es elevada por lo cual se regulan los valores permitiendo un correcto desarrollo de las distintas actividades enzimáticas del proceso (Zhang, 2007). La humedad garantiza una operación en medio fluido favoreciendo la actividad microbiana (Kumar, 2008).

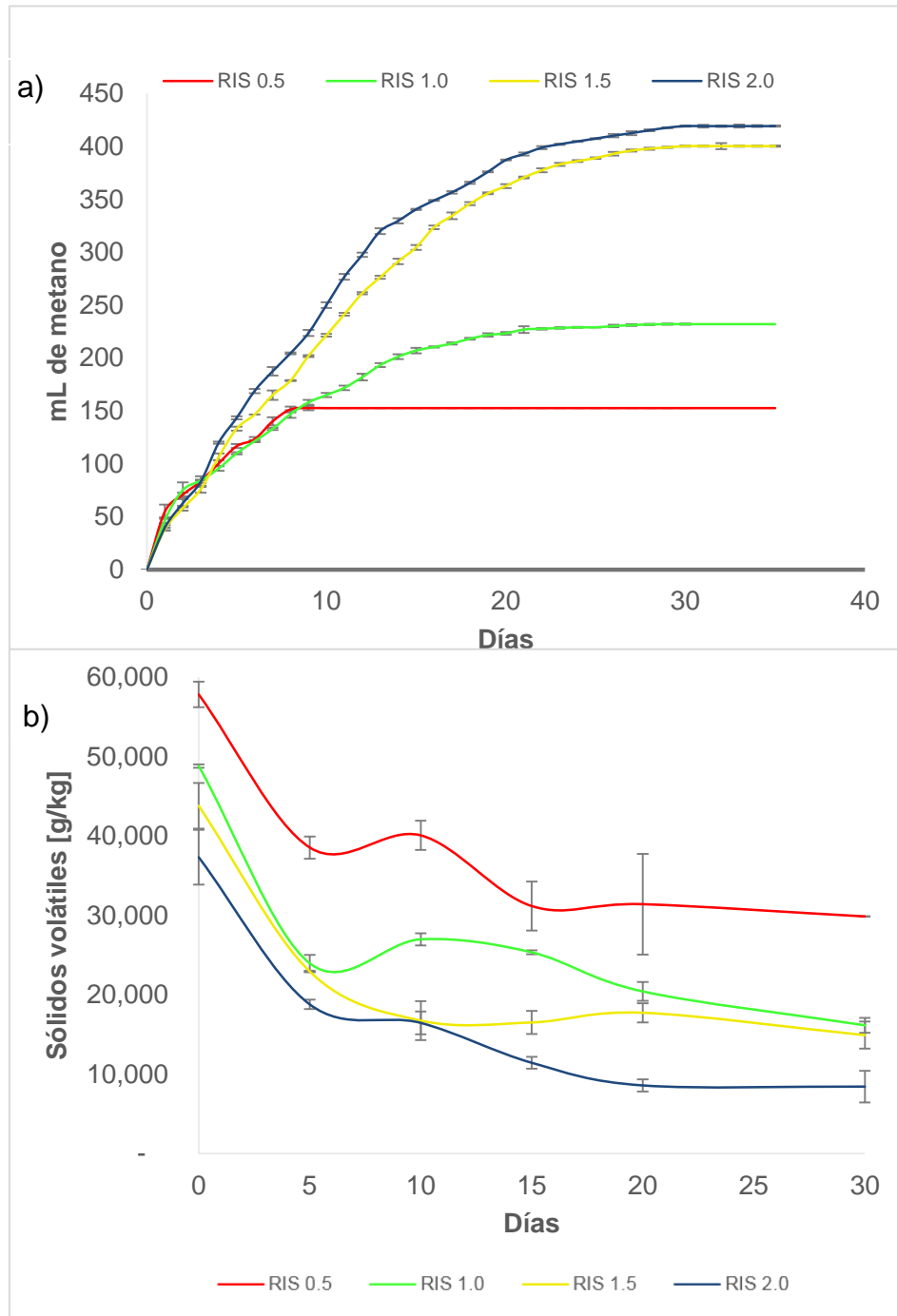
### **3.2 Cinética de producción de metano de RSR a distintas RIS y consumo de SV**

La figura 3(a) presenta la producción de metano y la figura 3(b) el consumo de sólidos volátiles, durante la DA de RSR, a diferentes RIS.

En la figura 3(a) se observa que la producción de metano es directamente proporcional a los valores de RIS. La máxima producción de metano fue para la RIS de 2.0 con 419 mL y la más baja para la RIS de 0.5 152 mL. En el gráfico 3(a) también se aprecia el tiempo que tardan en alcanzar una producción estable, el mayor tiempo fue de 23 días para las RIS de 2 y 1.5; y un tiempo de 13 días para la RIS de 1.

La RIS de 0.5, realiza un proceso de producción de metano al igual que los otros experimentos de DA, sin embargo después del noveno (9) día evidencia una parada en la producción de biogás. La detención de la producción es común para las RIS inferiores a 1 y se atribuye a la inhibición por sustrato. La inhibición por sustrato que se presenta en las RIS de 0.5 y 1 es concordante con los estudios realizados por Wang *et al.*, (2014) y Kawai *et al.*, (2014).

La RIS de 1.0 presenta una estabilización con baja producción (2.3mL), ésta ocurre a partir del día 15, con un tiempo de estabilización de la producción 57% menor, en comparación con las RIS 1.5 y 2.0. Con un tiempo de estabilización tan bajo, sería una proporción atractiva para el manejo de grandes cantidades de RSR para una operación en continuo. Además la RIS de 1.0 muestra una menor actividad metanogénica que las RIS 1.5 y 2.0, dicho comportamiento se debe al efecto de la RIS en el proceso (Kameswari, 2012; Kawai *et al.*, 2014; Kalloum, 2014).



**Figura 3.** Producción de metano en el tiempo (a) y Consumo de sólidos volátiles en el tiempo (b)

Las RIS 1.5 y 2.0 presentan una curva de producción propia del proceso de DA. Se alcanza la estabilización del proceso de producción 11 días después de

presentarse este comportamiento para la RIS 1.0, a pesar de necesitar más tiempo para estabilizar su producción, se obtiene entre un 42% y un 45% más metano. Las producciones totales fueron de 419 y 400 mL de metano para las RIS de 1.0 y 2.0 respectivamente. Los valores de producción reportados por este trabajo se encuentran dentro de los rangos que se reportan en estudios como los realizados por Raposo *et al.*, (2006), Ariunbaatar *et al.*, (2014) y Tampio *et al.*, (2014), con una franja de producción de 260-550 mL de metano para RIS de 1.0 y 2.0.

### **3.2.1 Consumo de la materia orgánica**

En la figura 3(b) se observa, para todas las RIS, un comportamiento en cuanto al consumo de SV elocuente con la evolución de un proceso de DA (Gray, 2008). La grafica 3(b) muestra comportamientos similares para las diferentes RIS marcados por tres (3) tiempos: a- de 0 a 5 días, en este tiempo se presenta el consumo primario de sólidos, éste es similar en cada RIS y se puede identificar este hecho cuando se observa la producción en este rango de tiempo. b- De 5 a 15 días, se observan fluctuaciones en el consumo de SV, en este punto, cada experimento se comporta de acuerdo a la cantidad de sustrato que contiene. Finalmente c- a partir del día 15 el consumo de SV es paulatino, este es un indicador que revela la estabilización del proceso, no obstante puede tardar unos días en manifestarse en la producción de metano, vea la figura 3(a) (Bermúdez. *et al* 1988).

La figura 3(b) no permite identificar con facilidad los porcentajes de consumo, sin embargo se reportan para efectos comparativos, estos fueron: 45%, 63%, 68% y 71% para las RIS de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 respectivamente. Los porcentajes de consumo concuerdan con los valores reportados en los estudios realizados por Kawai *et al.*, (2014), Gopi *et al.*, (2014) y Eskicioglu (2014). El consumo de SV para la RIS de 0.5 se vio afectado por la elevada producción de AGV, esto causó el descenso del pH por debajo de los valores aptos para la actividad microbiana (5.5-8.4) (Bermúdez. *et al* 1988).

### 3.3 Estabilidad del proceso. Variación de pH durante el proceso y su capacidad Buffer

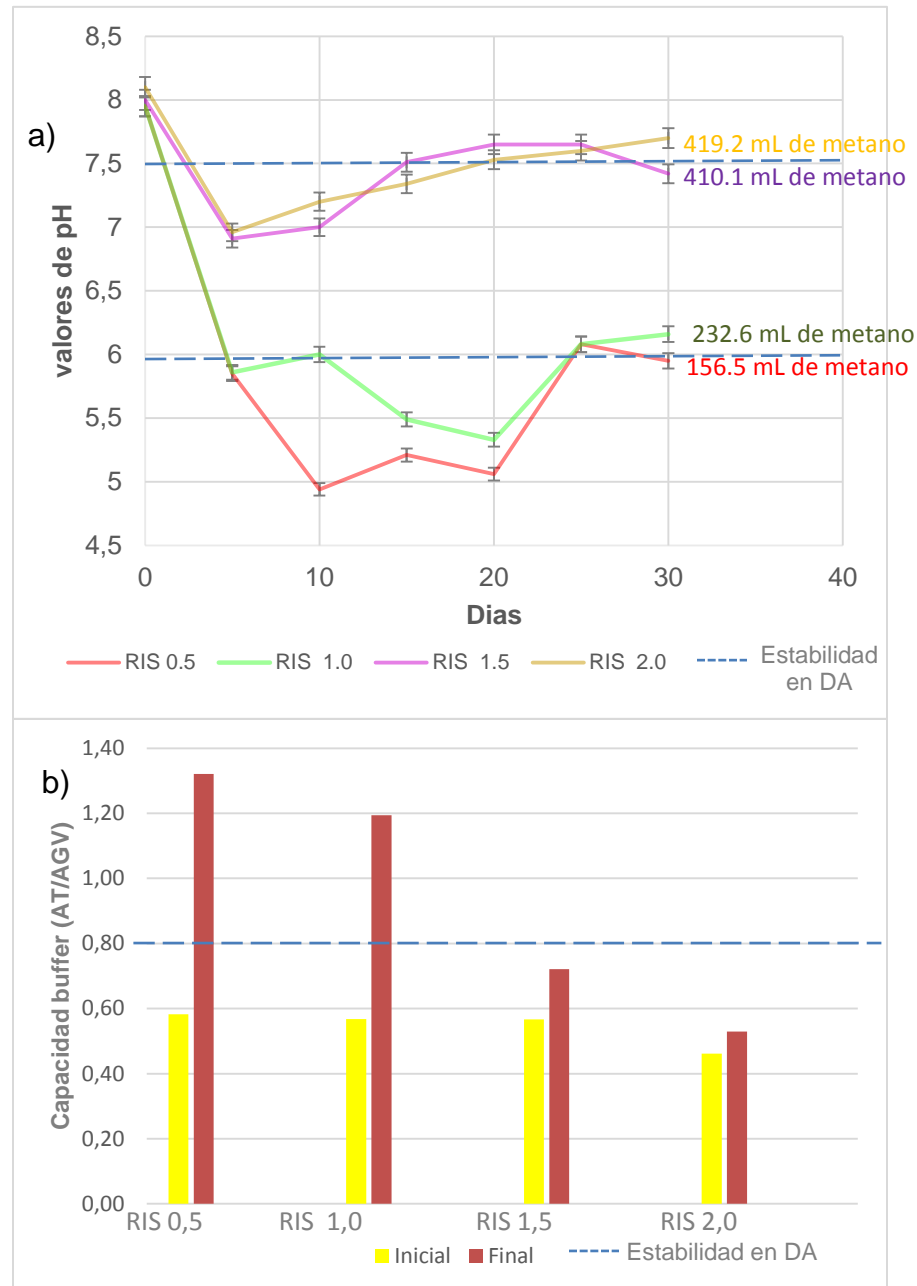
La figura 4 muestra la variación de pH (a) y la capacidad buffer del sistema (b) de la DA de RSR.

La figura 4(a) presenta comportamientos de pH propios de la evolución de la DA (Mejía, 2012). Los valores de pH para las RIS de 0.5 y 1 se encuentran fuera de la franja de operación, impidiendo el desarrollo dinámico de la DA. En los experimentos de RIS 0.5 y 1 el proceso, desde el día cinco (5), inicia una etapa de aletargamiento que progresa sistemáticamente hasta truncar total y parcialmente la actividad microbiana respectivamente (Mejía 2012). La figura 4(a) permite observar la acidificación del proceso por acumulación de AGV, el pH cae de 8 a un mínimo de 5.8 y 5.5 para la RIS de 1.0 y 0.5 respectivamente. Posterior a la adaptación, inicia la etapa de reactivación, incrementando el valor de pH, sin embargo en la RIS de 0.5 no se elevó suficientemente el valor del pH para reiniciar su producción. En cuanto a la RIS de 1.0 la etapa de reactivación fue sólo suficiente para evitar el cese de la actividad metanogénica (Campos *et al.*, 2012; Wang, 2014).

Los valores de pH correspondientes a las RIS de 1.5 y 2.0 se mantienen la mayor parte del tiempo del experimento dentro de la zona apta para la DA, esto les permite desarrollarse sin periodos de reactivación. A partir del día 20, comienza la etapa final, estabilización y muerte celular acompañada por un incremento en el pH, esto cual indica la baja de producción de AGV del proceso (Mejía, 1986; Wang *et al.*, 2014).

La figura 4(b) muestra la capacidad buffer (AT/AGV) del proceso, esta determina la capacidad de autorregular el pH dentro del proceso de DA. Las RIS de 0.5 y 1.0 mostraron una baja capacidad buffer, insuficiente para amortiguar el descenso de pH como consecuencia de la alta producción de AGV (Kawai *et al.*, 2014; Kalloum *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014). Para las RIS de 1.0 y 2.0 la capacidad buffer

demostró que son procesos estables, capaces de soportar la presencia de agentes ácidos durante su desarrollo: la evolución de estos procesos es coherente con el comportamiento reportado para RIS superiores a 1.3 estudiados por Eskicioglu *et al.*, (2011) y Tampio *et al.*, (2014).



**Figura 4.** Curva de Variación de pH durante el proceso(a) y Capacidad Buffer al inicial y finalizar el experimento (b)

### 3.4 Evaluación del rendimiento del proceso

La tabla 5 muestra los potenciales de biometanización del proceso para cada una de las RIS.

**Tabla 5.** Rendimiento del proceso para cada una de las RIS

	RIS 0.5	RIS 1.0	RIS 1.5	RIS 2.0
YPS [m <sup>3</sup> /kg SV ]	0,073	0,138	0,250	0,307

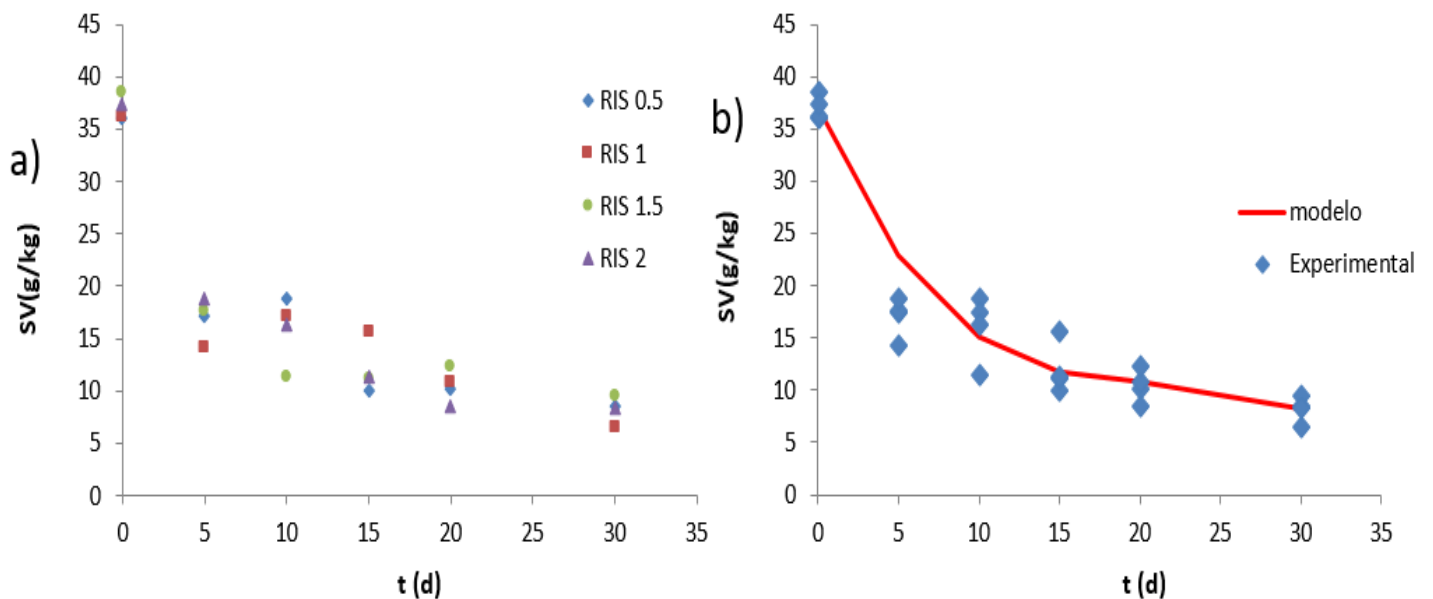
Los potenciales obtenidos al término del experimento están dentro de los rangos reportados en estudios con RSR como sustrato: 0.1-0.496 m<sup>3</sup>/kg SV (Gibson and Smyth, 2007). Los rendimientos fueron proporcionales a la RIS, mostrando la capacidad de disponer de diferentes cantidades de desechos, siendo la RIS de 1.0 la más atractiva debido a que que permite aprovechar la mayor cantidad de residuos con un valor energético agregado. Sin embargo, estos rendimientos son considerablemente más bajos que los reportados por Kawai *et al.*, (2014), donde RIS de 0.33, 0.5, 1 y 2 mostraron: 0.116, 0.246, 0.301 y 0.437 m<sup>3</sup>/kg SV respectivamente. Los resultados reportados por Kawai *et al.*, (2014) sugieren que los pretratamientos del sustrato como: choques térmicos y soluciones álcali, mejoran su capacidad de metanización, incluso en condiciones de operación donde se presenta la acidificación del proceso. Si pre-tratar el sustrato no es una opción, se recomienda procesar el inóculo con filtración o centrifugación para que este se encuentre lo más líquido posible, permitiendo una absorción rápida de los nutrientes dentro del reactor, para que así el proceso se lleve a cabo de forma más eficiente.

Con los actuales rendimientos del proceso, se pueden aportar mensualmente entre 11.592 y 25.788 kw, con lo que se podría suplir hasta el 8.5% del requerimiento energético de la caldera UIS modelo modelo E52C30C-2G.

### 3.5 Modelamiento del proceso

La figura 5(a) muestra los puntos experimentales de los SV en el tiempo de las RIS de 0.5,1 y 1.5, sobre los valores de SV de la RIS de 2. La figura 5(b) muestra la ecuación (4) que se ajusta a los datos experimentales

$$[SV_T]_t = -0,00265 * t^3 + 0,1676 * t^2 - 3,5809 * t + [SV_T]_{iniciales} \quad (4)$$

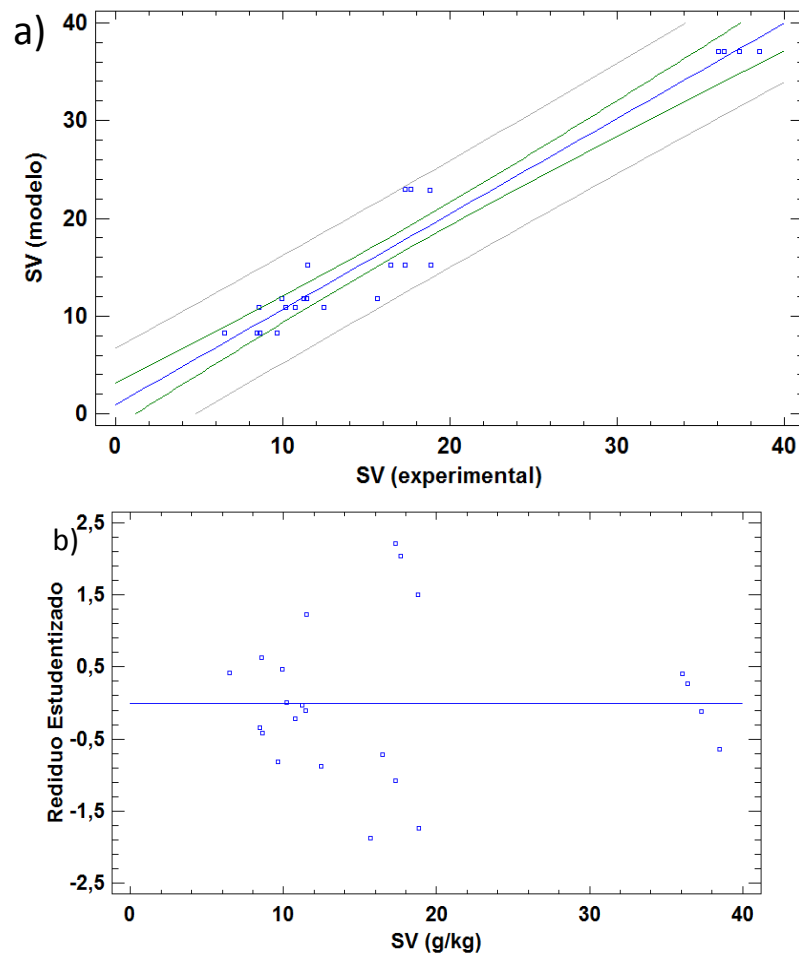


**Figura 5.** Variación de los SV superpuesto en el tiempo para todas las RIS(a) el modelo ME (b)

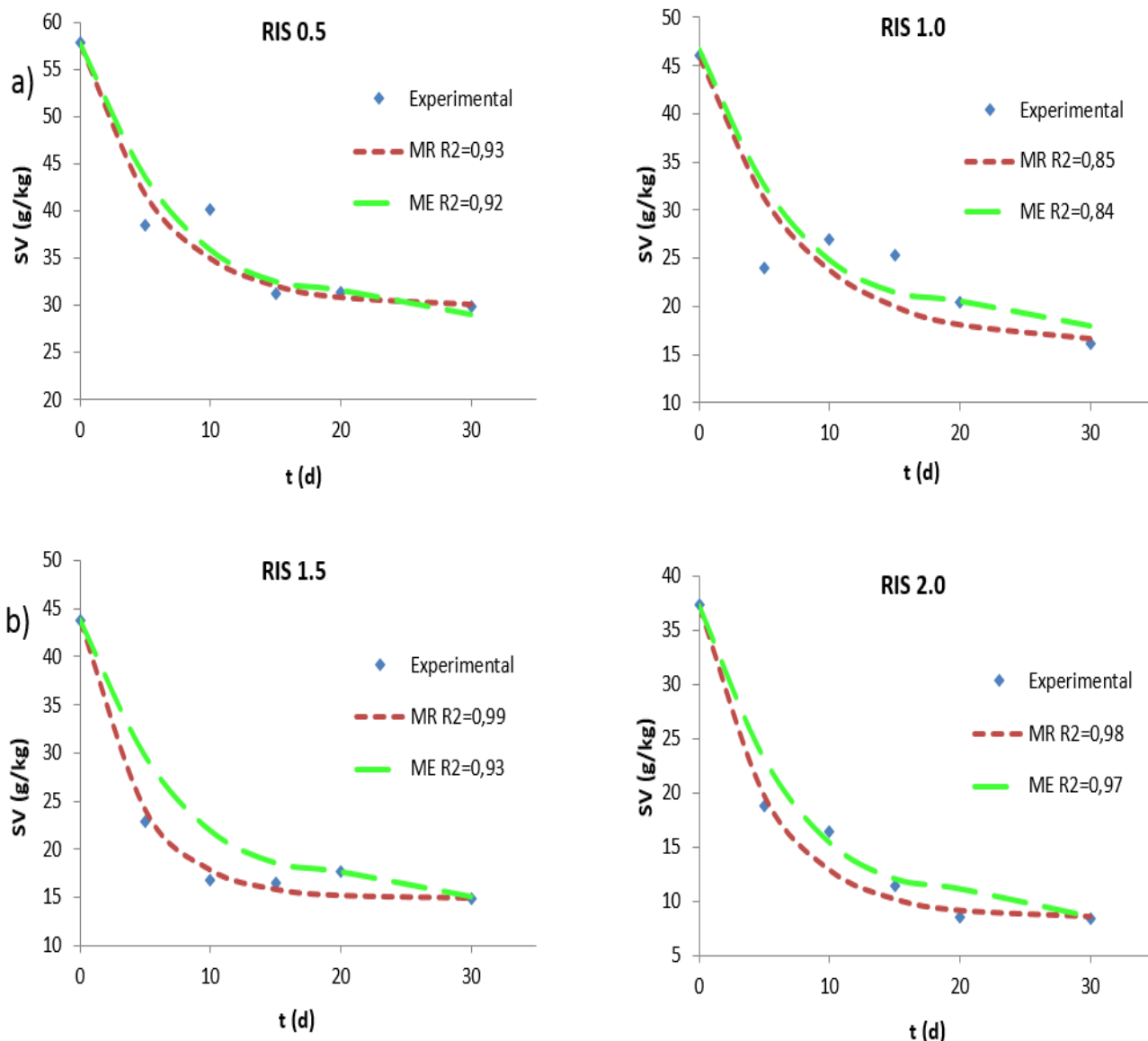
La validación del polinomio se presenta en la figura 6. Se obtuvo un valor de  $p=0$  (menor a 0.05), con esto se puede afirmar con un 95% de confianza, que existe una relación estadísticamente significativa entre los datos experimentales y el ajuste. El factor  $R^2$  fue 0,914, así que el modelo predice un 91.4% de los datos. Los datos dispersos se encuentran dentro del intervalo de confianza de la figura 6(a). Además como se observa en la figura 6(b), ninguno de los valores absolutos de los residuos estudentizados sobrepasa 3 desviaciones estándar. Lo anterior, indica que no hay

valores atípicos para una distribución normal de los residuos. Se puede afirmar que el modelo hace una buena predicción de los datos experimentales.

En las figuras 7 y 8 se presentan las gráficas de SV consumidos y metano generado respectivamente, ambas en el tiempo de experimentación para cada una de las RIS. En las gráficas 7 y 8 se puede ver simultáneamente la adaptación de los perfiles de ME (punteado largo) y MR (punteado corto) a los puntos experimentales (puntos), además se calculó el factor  $R^2$  correspondiente al ME y al MR, dejando en evidencia que las dos tendencias tienen una correlación matemáticamente válida respecto a los puntos experimentales

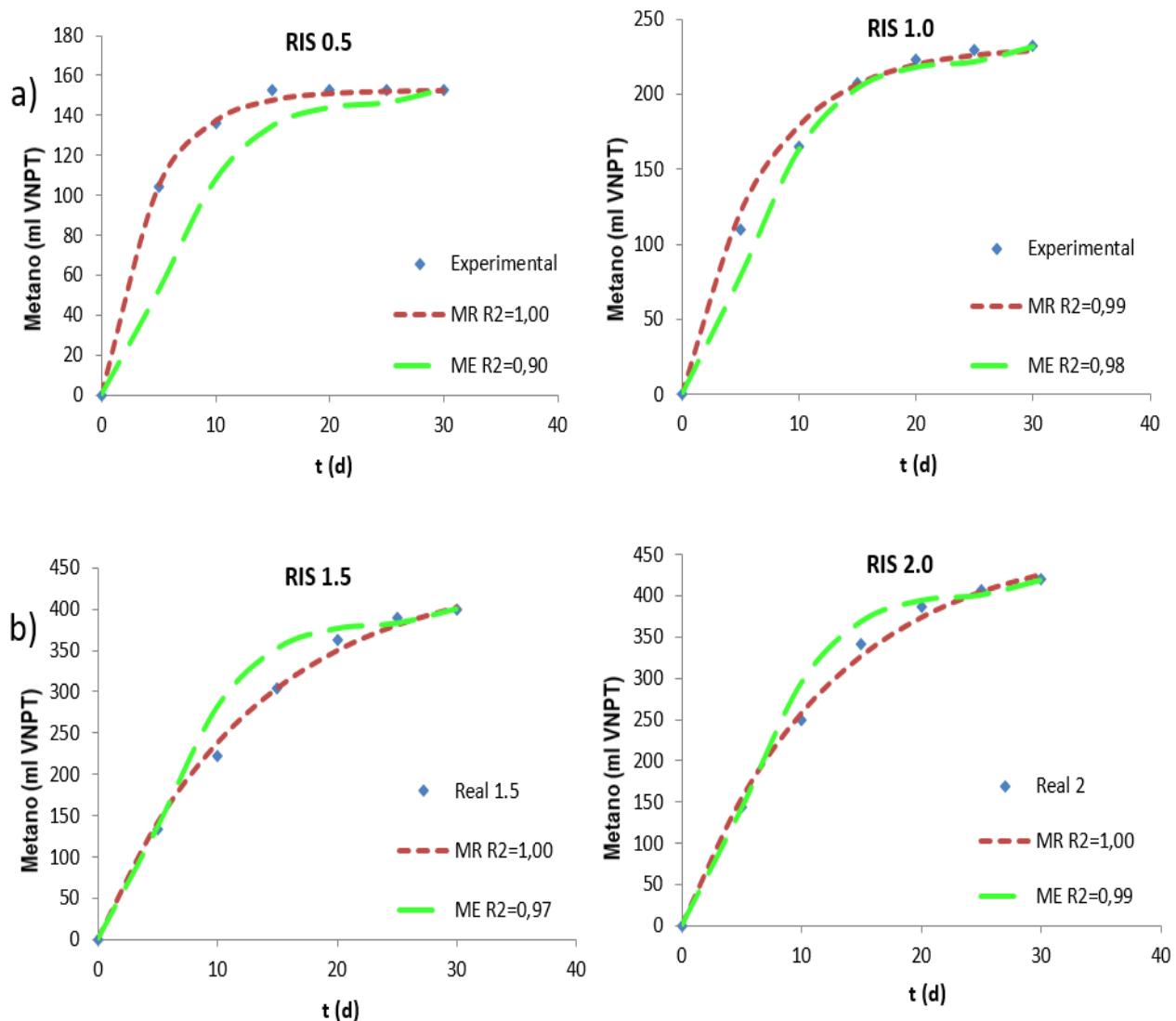


**Figura 6.** Gráfica de paridad SV(experimental) vs SV(modelo)(a) gráfica de residuos estudentizados (b)



**Figura 7.** Gráficas de desaparición de SV experimental, MR y ME en el tiempo para RIS 0.5 y 1.0 (a) RIS 1.5 y 2.0 (b)

Los valores de  $R^2$  de 0.92, 0.84, 0.93 y 0.97 para las RIS de 0.5, 1, 1.5 y 2 respectivamente indican una buena correlación de los datos del ME en la figura 7. Los ajustes del factor  $R^2$  concuerdan con el análisis estadístico presentado anteriormente en la figura 6. Además el ME tiene un comportamiento similar al MR con valores  $R^2$  de 0.93, 0.85, 0.99 y 0.98 para las mismas RIS.

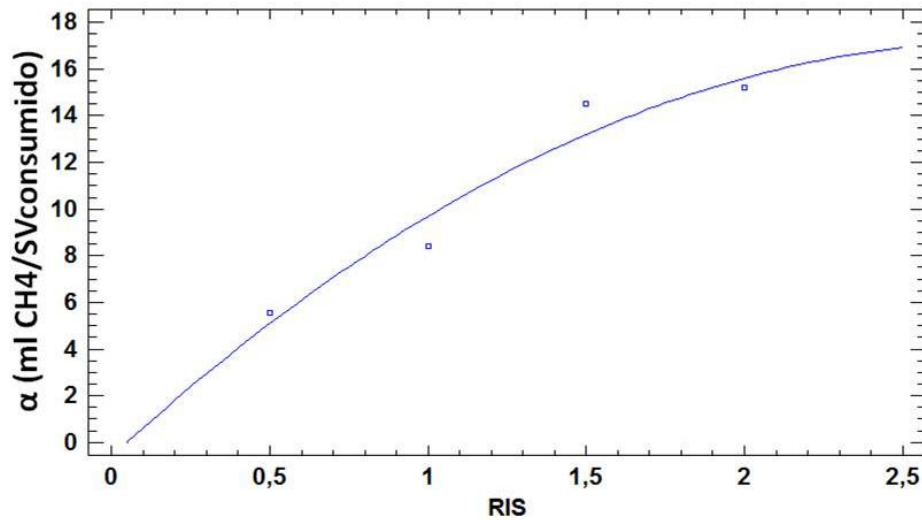


**Figura 8.** Gráficas de generación de metano (G) experimental, MR y ME en el tiempo para RIS 0.5 y 1.0 (a) y RIS 1.5 y 2.0 (b)

En la figura 8 se observa un comportamiento similar al de la figura 7, dado que se obtienen valores de  $R^2$  para ME muy cercanos a 1, de 0.90, 0.98, 0.97 y 0.99 para las RIS de 0.5, 1.0, 1.5 y 2 respectivamente. Los valores de  $R^2$  para MR son de: 1.00, 0.99, 1.00 y 1.00, para las RIS de 0.5, 1.0, 1.5 y 2 respectivamente, con lo

que se aprecia de nuevo la similitud de los modelos ME y MR. La precisión de ME, lo consolida como un buen ajuste auxiliar de MR.

La figura 9 muestra una gráfica de  $\alpha$  vs RIS, en ella se observa una relación clara entre estas dos variables, ésta relación se ajusta a un polinomio de grado 2 (ecuación 6) con un factor  $R^2=0.944$ . Cuanto mayor sea el valor de la RIS mayor será el volumen de metano generado por SV consumido (análogo al YPS).



**Figura 9.** Gráfica de la constante de proporcionalidad  $\alpha$  vs RIS

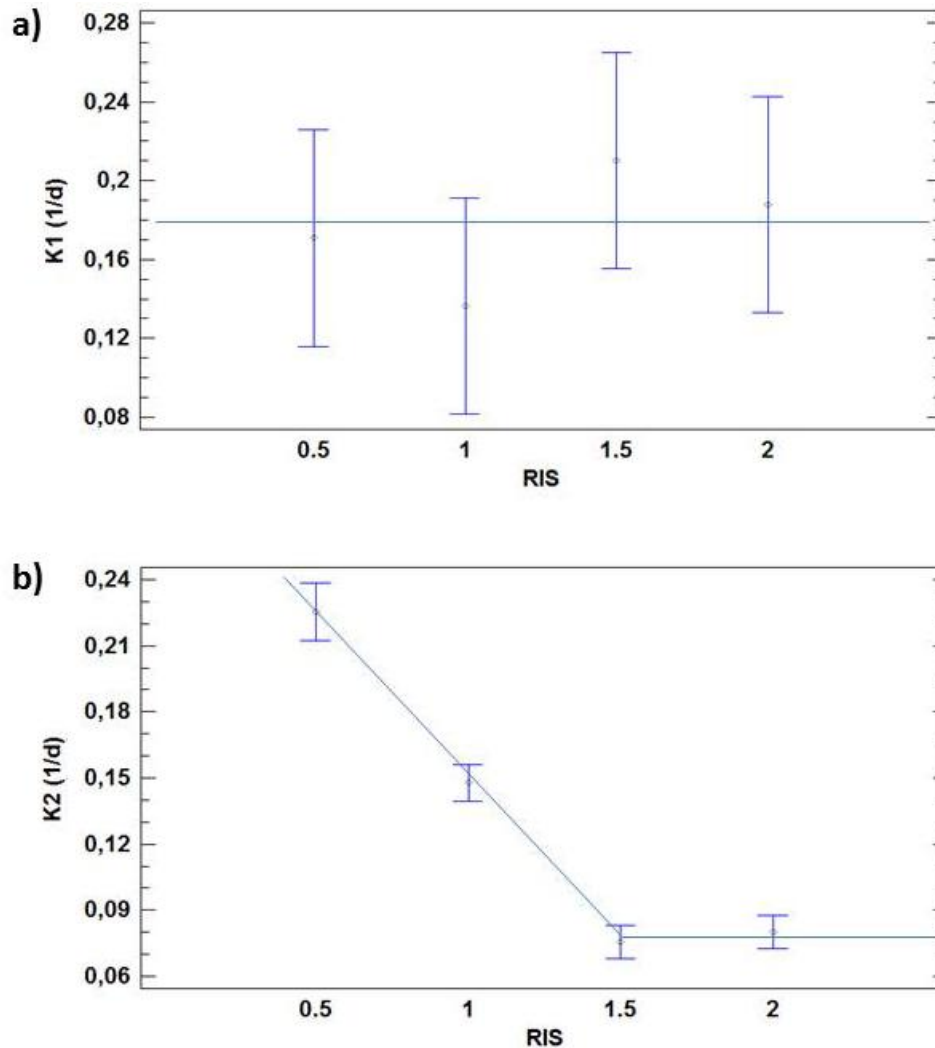
La figura 10 muestra la variación de las constantes cinéticas aparentes  $k_1$  (a) y  $k_2$  (b) respecto a la RIS. Fue necesario hacer un análisis de varianza (ANOVA) el cual estableció, con una confianza del 95%, que no hay diferencia significativa entre las  $k_1$  de las RIS 0.5, 1, 1,5 y 2 ( $p=0.54$ ), tampoco no hay diferencia significativa entre las  $k_2$  de las RIS 1.5 y 2 ( $p=0.24$ ).

$$\alpha = -2,189 * RIS^2 + 12,481 * RIS - 0,594 \quad (6)$$

Dado que  $k_1$  es la constante cinética aparente de la hidrólisis, dicha fase de la DA no está limitada por la RIS (Raposo *et al.*, 2009) hecho que se aprecia en la variación de los SV de los 0 a 30 días que fue de 27.45, 29.85, 28.87 y 28.87 g/kg

para las RIS de 0.5, 1, 1.5 y 2 respectivamente. Por lo que a  $k_1$  se le puede asignar un valor constante de  $0.18 \pm 0.04$  (ecuación 7).

$$k_1 = 0,18 \quad (7)$$



**Figura 10.** Variación de las constantes cinéticas aparentes  $k_1$  y  $k_2$  (a) con la RIS (b)

En la figura 10(b) se observa una constante cinética aparente de la metanogénesis  $k_2$ , con un valor de 0.23 para la RIS de 0.5. El valor de  $k_2$  desciende linealmente hasta alcanzar un valor estable de 0.078. Se infiere que el descenso del valor de  $k_2$ , se debe a que la RIS de 0.5 tiene más disponibilidad de sustrato y esto reduce el desfase que existe entre la hidrólisis y la metanogénesis. Una constante cinética

( $k_2$ ) elevada indica un arranque más rápido pero no garantiza un óptimo rendimiento, este hecho se evidencia en la producción de metano de la RIS de 0.5. Por otro lado las RIS superiores se ven más afectadas por el desfase entre la hidrólisis y la metanogénesis, este comportamiento se aprecia en la representación de ME de las figuras 7 y 8, modelo para el cual se propuso un desfase de dos (2) días entre las etapas. Cabe resaltar que la RIS de 0.5 no se ajusta tan bien a dicha hipótesis ( $R^2=0.90$ ) como si lo hacen las otras RIS ( $R^2 \geq 0.97$ ). La ecuación 8 relaciona el valor de la constante  $k_2$  con la RIS para dos rangos diferentes: [0.5 a 1.5] y [1.5 a 2.0]

$$k_2 = -0,151 * RIS + 0,303 \quad [0.5 \leq RIS \leq 1.5]; \quad k_2 = 0,078 \quad [RIS \geq 1.5] \quad (8)$$

En la Tabla 6 se presenta un resumen de las ecuaciones del MR y el modelo auxiliar ME, además de las variables que se sugiere se calculen con cada uno de ellos.

**Tabla 6.** Set de ecuaciones empleadas en el modelamiento

Variable	Ecuacion	Detallada	Modelo
$[SV_T]_t$	2	$[SV_T]_t = SV_{NB} + \{[SV_T]_0 - SV_{NB}\} * e^{-K_2 t}$	MR
$G_t$	3	$G_t = G_m * (1 - e^{-K_2 t})$	MR
$SV_{NB}$	4	$[SV_T]_t = -0,00265 * t^3 + 0,1676 * t^2 - 3,5809 * t + [SV_T]_{iniciales}$	ME
$G_m$	5	$G_t = \alpha * [\Delta SV]_{(t-2)}$	ME
$\alpha$	6	$\alpha = -2,189 * RIS^2 + 12,481 * RIS - 0,594$	ME
$K_1$	7	$K_1 = 0,18$	MR
$K_2$	8	$K_2 = -0,151 * RIS + 0,303 \quad [0.5 \leq RIS \leq 1.5]$	MR
		$K_2 = 0,078 \quad [RIS \geq 1.5]$	

Como se aprecia para el cálculo de los perfiles de  $SV_t$  y  $G_t$  se sugieren las ecuaciones del MR y para el cálculo de las constantes  $SV_{NB}$  y  $G_m$  se hace uso del ME. De acuerdo con este cambio, el modelo propuesto (ME) requiere como variable de entrada la RIS, el tiempo de operación y los SV iniciales, siendo un modelo de predicción y no de ajuste, como el planteado por Raposo *et al.*, (2009).

#### 4. CONCLUSIONES

- ✓ En la Universidad Industrial de Santander se generan mensualmente 3,9 m<sup>3</sup> de residuos sobrantes (alimenticios pos-cocción) de restaurante (RSR-UIS), los cuales tienen una concentración de sólidos volátiles de 191 g/kg de biomasa. El contenido de sólidos volátiles de los RSR-UIS, equivalen al 86.66% de materia orgánica, que permite el arranque y desarrollo del proceso de digestión anaerobia de estos residuos. La DA de los RSR-UIS, permite estabilizar el residuo y producir en promedio 0.2785 m<sup>3</sup>/kg de residuo trabajando en relaciones inóculo/sustrato entre 1.5 y 2.0.
  
- ✓ La digestión anaerobia de los RSR-UIS presenta un potencial de biometanización de 0.037 (m<sup>3</sup>/kg SV), cuando el proceso se realiza con una relación inóculo/sustrato de 0.5. Lo anterior, demuestra que a bajas relaciones de inóculo sustrato, el proceso presenta acidificación y consecuentemente disminución de los rendimientos de producción de metano.
  
- ✓ La digestión anaerobia de los RSR-UIS se simuló, mediante una modificación al modelo propuesto por Raposo *et al.* (2009). La modificación auxiliar suministra valores finales de producción de gas G y el valor final de los sólidos volátiles SV<sub>NB</sub>, permitiendo la predicción del rendimiento, los perfiles de metano y de la variación de la materia orgánica durante el proceso en función de la relación inóculo/sustrato (RIS).

## BIBLIOGRAFÍA

ANGELIDAKI, I., ALVES, M., BOLZONELLA, D., BORZACCONI, L., CAMPOS, J. L., GUWY, A. J., KALYUZHNYI, S., JENICEK, P., VAN LIER, J. B. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology*, 59.5, 2009, 927-934.

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

ANTONOPOULOU G., GAVALA H.N., SKIADAS I.V. AND LYBERATOS G. ADM1-based modeling of methane production from acidified sweet sorghum extract in a two stage process. *Bioresource Technology*, 106, 2012, 10-19.

ARIUNBAATAR, J., PANICO, A., ESPOSITO, G., PIROZZI, F., LENS, N.L. Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste. *Applied Energy*, 123, 2014, 143–156.

BERMÚDEZ, J.J., CANOVAS, M., MANJON, A. IBORRA, J.L., HOWELL, J.A. La digestión anaerobia. España: Universidad de Murcia, secretariado de publicaciones, 1988. ISBN: 84-7684-102-7. 75p

BLUMENSAAT, F., KELLER, J. Modelling of two-stage anaerobic digestion using the IWA anaerobic digestion model no. 1 (ADM1). *Water Research.*, 39, 2005, 171–183.

CAMPOS, A. Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante la codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria. Universidad de Lleida, Lleida, 2001.

CAMPOS, E., XAVIER, E., XAVIER, F. Procesos biológicos: La digestión anaerobia y el compostaje. España: Ediciones Díaz de Santos, 2012. ISBN: 978-84-9969-133-6.

CARRHÁ, R., VAN HAANDEL, A.C., ZEEMAN, G., LETTINGA, G. The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: A review. *Bioresource Technology*, 97, 2006, 1105–1118.

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

CASTRO L. Proceso Integral para la digestión anaerobia del bagazo de fique. Trabajo de investigación. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2012.

CHARLES, W., WALKER, L., CORD-RUWISCH, R. Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 100, 2009, 2329–2335.

CHEN, Y., CHENG, J., CREAMER, K. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99, 2008, 4044–4064.

COLOMBIA. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. Resolución 2640, 28 de septiembre de 2007. Por la cual se reglamentan las condiciones

sanitarias y de inocuidad en la producción primaria de ganado porcino destinado al sacrificio para consumo humano. Diario Oficial. Bogotá D.C., 1 de octubre de 2007. No. 46.768. P 1-16.

DEPPENMEIER, U. The unique biochemistry of methanogenesis. Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology, 71, 2002, 223–283.

DERBAL, K., BENCHEIKH-LEHOCINE, M., CECCHI, F., MENIAI, A.H. PAVAN, P. Application of the IWA ADM1 model to simulate anaerobic co-digestion of organic waste with waste activated sludge in mesophilic condition. Bioresource Technology, 100, 2009, 1539–1543.

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

FAO (2011) (2012), Global Food Losses and Food Waste.

GIRAULT, R., BRIDOUX, G., NAULEAU, F., POUILLAIN, C., BUFFET, J., STEYER, J.P., SADOWSKI, A.G., BÉLINE, F. A waste characterization procedure for ADM1 implementation based on degradation kinetics. Water Research, 46, 2012, 4099–4110.

GOPI, K.K., SUJALA, B., SANG, H.K., LIDE, C. Effect of feed to microbe ratios on anaerobic digestion of Chinese cabbage waste under mesophilic and thermophilic conditions: Biogas potential and kinetic study. Journal of Environmental Management. 133, 2014, 293–301.

Gray D. Anaerobic Digestion of Food Waste. 2008 U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY REGION 9

HERNÁNDEZ-MARINÉ, M., GARCÍA, J., FERRER, I., PASSOS, F. Long-term anaerobic digestion of microalgae grown in HRAP for wastewater treatment. Effect of microwave pretreatment. *Water Research.*, 46, 2014, 351-359.

HOLM-NIELSEN, J.B., AL SEADI, T., OLESKOWICZ-POPIEL, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. *Bioresource Technology.* 100, 2008, 5478–5484.

HUANG, G., WANG, X., HAN, L. Rapid estimation of nutrients in chicken manure during plant-field composting using physicochemical properties. *Bioresource Technology*, 102, 2011, 1455–1461.

KALLOUM, S., SALEM, F., KOUKI, A., MOKADDEM, H. Influence of Inoculums/Substrate Ratios (ISRs) on the Mesophilic Anaerobic Digestion of Slaughterhouse Waste in Batch Mode: Process Stability and Biogas Production. *Energy Procedia*, 50, 2014, 57–63.

KAMESWARI, K., KALYANARAMAN C., PORSELVAM, S., THANASEKARAN, K. Optimization of inoculum to substrate ratio for bio-energy generation in co-digestion of tannery solid wastes. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 14, 2012, 241-250.

KAWAI, M., NAGAO, N., TAJIMA N., NIWA C., MATSUYAMA T., TODA T. The effect of the labile organic fraction in food waste and the substrate/inoculum ratio

on anaerobic digestion for a reliable methane yield. *Bioresource Technology*, 157, 2014, 174–180.

KIM, J., PARK, C., KIM, T., LEE, M., KIM, S., KIM, S., LEE, J. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 95, 2003, 271–275.

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

KWON, S.H., LEE, D.H. Evaluation of Korean food waste composting with fed-batch operations I: using water extractable total organic carbon content (TOC<sub>w</sub>). *Process Biochemistry*., 39, 2004, 1183–1194.

LAMBIS, L., GARCÍA, N. ESTUDIO PRELIMINAR DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS MEDIANTE CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA DE JAULA CON MELAZA, LODO RESIDUAL Y ACEITE DE OLIVA COMO CO-SUSTRATOS. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2013.

LI, Y., ZHANG, R., CHEN, C., LIU, G., HE, Y., LIU, X. Biogas production from co-digestion of corn stover and chicken manure under anaerobic wet, hemi-solid, and solid state conditions. *Bioresource Technology*, 149, 2013, 406–412.

LIU, C., YUAN, X., ZENG, G., LI, W., LI, J. Prediction of methane yield at optimum pH for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 99, 2008, 882–888.

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

MEJÍA, G. Digestión anaerobia. México: Universidad autónoma de Yucatán, 1986. ISBN: 968-7576-05-06. 53p.

MORGENROTH, E., KOMMEDAL, R., HARREMOËS, P. Processes and modeling of hydrolysis of particulate organic matter in aerobic wastewater treatment – a review. *Water Science and Technology*, 45, 2002, 25–40.

POH, P.E., CHONG, M.F. Development of anaerobic digestion methods for palm oil mill effluent (POME) treatment. *Bioresource Technology* 100, Issue 1, January 2009, 1–9.

RAJENDRAN, K., KANKANALA, H.R., LUNDIN, M., TAHERZADEH, M.J. A novel process simulation model (PSM) for anaerobic digestion using Aspen Plus. *Bioresource Technology*. Volume 168, September 2014, Pages 7–13.

RAPOSO, F., BANKS, C., SIEGERT, I., HEAVEN, S., BORJA, R. Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. *Process Biochemistry*, 41, 2006, 1444–1450.

RAPOSO, F., BORJA, F., MARTÍN, M., MARTÍN, A., RINCÓN, B. 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, 2009, 70–77.

SHIN, H.S., HAN, S.K., SONG, Y.C., LEE, C.Y. Performance of uasb reactor treating leachate from acidogenic fermenter in the two-phase anaerobic digestion of food waste. *Wat. Res.*, 35, 2001, 3441–3447.

TAMPIO, E., ERVASTI, S., PAAVOLA, T., HEAVEN, S., BANKS, C., RINTALA, J. Anaerobic digestion of autoclaved and untreated food waste. *Waste Management*, 34, 2014, 370–377.

Gibson T., Smyth M. Organic Waste Biodegradability Test Bio Methane Potential Method. Aqua Enviro Ltd  
December 2007

WAN, S., SUN, L., SUN J., LUO, W. Biogas production and microbial community change during the Co-digestion of food waste with Chinese silver grass in a single-stage anaerobic reactor. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18, 2013, 1022-1030.

WANG, K., YIN, J., SHEN, D., LI, N. Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids (VFAs) production with different types of inoculum: Effect of pH. *Bioresource Technology*, 161, 2014, 395–401.

YI, J., DONG, B., JIN, J., DAI, X. Effect of Increasing Total Solids Contents on Anaerobic Digestion of Food Waste under Mesophilic Conditions: Performance and Microbial Characteristics Analysis. *Plos one*, 9, 2014, 145-156.

YU L., ZHAO Q., MA J., CRAIG F., SHULIN C. Experimental and modeling study of a two-stage pilot scale high solid anaerobic digester system. *Bioresource Technology* 124 (2012) 8–17

ZENG, S., YUANA, X., SHIA, X., QIUA, Y. Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and orthophosphate release from anaerobic digestion of *Microcystis* spp. *Journal of Hazardous Materials*, 178, 2010, 89–93.

ZHANG, R., EL-MASHAD, H.M., HARTMAN, K., WANG, F., LIU G.Q., CHOATE C., GAMBLE P. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 98, 2007, 929–935.

ZHANG, L., LEE, Y.W., JAHNG, D. Anaerobic co-digestion of food waste and piggery wastewater: focusing on the role of trace elements, *Bioresource Technology*. 102, 2011, 5048–5059.

## **Anexos**

### **ANEXO a. Recolección de la muestra**

#### **1. Metodología de toma de muestra**

El restaurante universitario produce un gran volumen de residuos alimenticios post cocción, los cuales no son provistos de una buena disposición para un aprovechamiento dentro de la universidad. La recolección de estos debe hacerse de manera eficaz, efectiva y rápida para evitar olores ofensivos a la comunidad. Durante el proceso de muestreo, los cúmulos de elementos post cocción deben estar previamente separados para que la muestra sea lo más representativa en cuanto al estudio se refiere. El almacenamiento masivo de SÓLO nuestro material de interés requiere un muestreo uniforme que tenga en cuenta las partes diferenciales que se pueden formar en la deposición del material.

#### **Procedimiento**

- Ubicar la fuente de la muestra, se estima volumen (TOTAL)
- Mediante una agitación, traqueteo oscilatorio se unifica toda la fuente para homogenizarla y se realiza la fase exploratoria de forma manual.
- La extracción de la muestra piloto debe hacerse en un ambiente seco aireado y con una temperatura no mayor los 22°-23°C para evitar la estimulación de la muestra y su propio consorcio microbiano presente
- Hacer dos tomas de 2000 g desde el fondo de los recipientes de almacenamiento para asegurar una muestra representativa que permita la repetitividad del experimento.
- Licuar las muestras tomadas para homogenizar y disminuir el tamaño de partícula, y por ende mejorar la solubilidad de la carga orgánica.
- Mezclar los batidos por semanas, y finalmente mezclar las muestras representativas de las semanas.

- Cuando se tenga el concentrado final (batido) se somete a cadena de frío intenso para mantener las propiedades y detener cualquier actividad microbiológica que pueda afectarlas para su correcta caracterización
- Caracterización fisicoquímica y organoléptica.

## **Caracterización de la muestra**

### **Características organolépticas**

Se debe realizar una caracterización cualitativa de las condiciones de los residuos de comida tomados de bienestar universitario de la universidad, tales como su color, su olor y su textura para así tener una idea general de si está en buenas condiciones para realizar un experimento reproducible, es importante que a simple vista las muestras tengan apariencias cualitativas similares como primer filtro de análisis.

### **Características fisicoquímicas**

Luego del análisis cualitativo se efectúa un estudio más detallado y de orden cuantitativo, para conocer cómo se comportan los valores de algunas variables, que permiten ser evaluadas en el Laboratorio de Biotecnología de Ingeniería Química como lo son: la humedad de la muestra, la densidad, los sólidos totales (ST) y los sólidos volátiles (SV) las cuales deben cuantificadas y controladas periódicamente para determinar si existen diferencias significativas en los residuos producidos.

Posteriormente se procede a estudios más detallados concernientes a composición química de las muestras que han sido almacenadas en frío (0°C), en estas se miden la cantidad de lípidos, carbohidratos y proteínas presentes en la muestra, además de sustancias importantes como carbono total, carbono orgánico oxidable, nitrógeno total, hidrógeno y oxígeno, con el fin de conocer la relación C/N promedio del residuo, permitiendo obtener un cálculo del rendimiento teórico. Todo el análisis

arroja evidencias de la probabilidad de problemas de inhibición por pH en los primeros días del montaje. Por las mismas razones también es importante hacer mediciones tanto de los AGV iniciales como de la capacidad buffer del residuo de comida o alcalinidad total (AT), siendo estas dos últimas realizadas en el laboratorio de biotecnología.

Se deben tener en cuenta las concentraciones de algunos nutrientes que pueden ser inhibitorias como lo son el calcio (Ca), el magnesio (Mg) el sodio (Na) y el potasio (K) (Angelidaki 2011). Por último se debe hacer una medición de la demanda química de oxígeno (DQO) y la demanda biológica de oxígeno (DBO) para tener el punto de referencia de la reducción de la materia orgánica que se convirtió en biogás.

## **ANEXO b. CARACTERÍSTICAS MEDIBLES EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA**

Debido a la experiencia que se tiene en el laboratorio de biotecnología y los conocimientos previos de la carrera de ingeniería química, es posible realizar mediciones y/o apreciaciones (según el caso) de:

- Densidad
- Humedad
- Sólidos totales (TS)
- Sólidos volátiles (SV)
- Ácidos grasos volátiles (AGV)
- Azúcares reductores totales (ART)
- Capacidad buffer (AT)

## **Características no medibles en el laboratorio de biotecnología, Laboratorios Calderón**

Debido a que no existe infraestructura ni protocolo definido en el laboratorio para una caracterización detallada, se debe contratar un laboratorio externo especializado para la medición de:

- Lípidos totales
- Proteínas totales
- Carbohidratos totales
- Carbono total
- Carbono orgánico oxidable
- Nitrógeno total
- Calcio (Ca)
- Magnesio (Mg)
- Potasio (K)
- Demanda química de Oxígeno (DQO)

- Demanda biológica de Oxígeno (DBQ)

### **Cargue**

Los biorreactores se cargan con las cantidades de inóculo y sustrato designadas, presentadas en la tabla 1. Con el fin de cumplir relación en los lotes designados.

Los biodigestores son grafados y siliconados una vez se garantiza la ausencia de oxígeno por desplazamiento de nitrógeno, dejando escapar este último antes del sello final. Cada grupo de botellas esta rotulado con un color distintivo a la RIS y la fecha de destrucción o evaluación de parámetros, con el fin de llevar un control directo entre los datos reportados y las muestras analizadas. Todos los lotes son puestos en cajas de aluminio, esto garantiza la distinción, organización y optimización del espacio tanto dentro como fuera de la incubadora haciendo más fácil la disposición de estos materiales durante las mediciones en el transcurso de la experimentación.

## **ANEXO c. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES TOTALES (ART)**

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

### **REACTIVO DNS**

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

### **PROCEDIMIENTO**

- Agregar 400  $\mu$  L de reactivo a 200  $\mu$  L de muestra y 200  $\mu$  L de agua destilada usando tubos de ensayo tapa rosca.
- Someter a baño maría durante 5 minutos.
- Detener la reacción con choque térmico en un baño de hielo.
- Agregar 5 mL de agua destilada, y dejar reposando durante 15 minutos.
- Leer densidad óptica a 540 nm contra un blanco obtenido en el procedimiento anterior pero agregando agua destilada en lugar de muestra.

### **CONSTRUCCIÓN DE LA CURVA ESTANDAR DE GLUCOSA**

Se preparan las muestras de glucosa con concentraciones conocidas, se aplica el método DNS y se lee su absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm.

Con los datos obtenidos se traza un gráfico lineal de la concentración de glucosa (azúcar reductor) como una función de absorción, y así se determina la ecuación que relaciona las dos cantidades.

#### **ANEXO d. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV), ALCALINIDAD TOTAL (AT).**

La determinación de los ácidos grasos volátiles se realiza por medio de una titulación, es un método a través del cual se determina el bicarbonato y los ácidos grasos volátiles en soluciones acuosas. La muestra es centrifugada y se lleva a un pH de 3,0 con ácido clorhídrico (HCL) 0,1N; a este pH el bicarbonato será convertido en dióxido de carbono y los ácidos grasos volátiles estarán presentes en solución en la forma no ionizada. Después la muestra es sometida a calentamiento hasta punto de burbuja con un sistema de condensación para remover el CO<sub>2</sub>, la solución restante se titula con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1N hasta alcanzar un pH de 6,5. Los ácidos grasos volátiles (y quizás otros ácidos) serán convertidos ahora a su forma disociada.

Los equivalentes de bicarbonato y AGV se pueden calcular a partir de los volúmenes de ácido y base utilizados en la titulación (Rojas 1988).

Las relaciones utilizadas son las siguientes.

- $\text{Alcalinidad} = (\text{B} \cdot \text{N}_{\text{HCL}} \cdot 50.000) / \text{V}$
- En donde:
- B= volumen de HCL usado para disminuir el pH en mL.
- V= volumen de muestra tomada para el análisis en mL.
- N<sub>HCL</sub>= concentración de ácido clorhídrico (Normalidad).
- Las unidades de alcalinidad son (mg de CaCO<sub>3</sub>/litro).
- $\text{ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES} = \text{D} \cdot \text{N}_{\text{NaOH}} \cdot 60.000 / \text{V}$
- En donde
- D= volumen de NaOH en mL requerido para elevar el pH después de haber usado HCL.
- V= volumen de muestra tomada para el análisis en mL.
- N<sub>NaOH</sub>=concentración de hidróxido de sodio (normalidad).
- Las unidades de Ácidos Grasos Volátiles son (mg de Ac. Acético/Litro).
- Para la preparación de HCL y NaOH se utilizan los siguientes reactivos.

- Biftalato de potasio
- NaOH
- HCL
- Fenolftaleína.

#### **ANEXO e. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES FIJOS Y VOLÁTILES EN MUESTRAS SÓLIDAS Y SEMISÓLIDAS**

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

#### **Instrumentos:**

- Placas de evaporación o cápsulas de cerámica
- Horno de mufla para operar a  $550\pm 50^{\circ}\text{C}$
- Horno de secado operar a  $103-105^{\circ}\pm 1\text{C}$
- Balanza de análisis

**Procedimiento:**

**Sólidos volátiles**

Ingresar un volumen conocido en una placa de evaporación limpia en un horno de secado a  $105^{\circ}\text{c}$  durante 24 horas

**Análisis de la muestra**

- Sólidos totales
- Caliéntese la placa en un horno a  $103-105^{\circ}\text{C}$  durante una hora.
- Enfríense en el desecador, pésele y consérvase en el desecador hasta que haya de usarse.

**Análisis de la muestra**

Muestra líquida: agítese para homogeneizarla, a continuación colóquese de 20 a 50 mL en una placa de evaporación y pésele, séquese a  $103-105^{\circ}\text{C}$ , durante un día, enfríese para equilibrar la temperatura en un desecador individual con desecante activo y pésele. Transfírase la muestra hasta un horno frío y caliéntese hasta  $550\pm 50^{\circ}\text{C}$  e incinérele durante una hora, enfríese en desecador para equilibrar la temperatura y pésele.

**Cálculos:**

- $\% \text{ de sólidos totales} = (A-B) \times 100 / (C-B)$
- $\% \text{ sólidos volátiles} = (A-D) \times 100 / (A-B)$
- A= peso del residuo seco+ placa, mg

- B= peso de la placa
- C= peso de la muestra húmeda más la placa, mg
- D= peso del residuo + placa después de ignición, mg

## ANEXO f. PROTOCOLO DE DILUCIÓN DE SÓLIDOS DE LOS RSR

Se realizó una dilución de los sólidos de los residuos sobrantes de comedores (RSC) con el objetivo de tener un mejor manejo en el experimento (reducción de la viscosidad).

De un balance de masa se tiene que:

$$\frac{ST_i}{1000+W_{H_2O}} = ST_f \quad (1) \quad \text{Y} \quad \frac{SV_i}{1000+W_{H_2O}} = SV_f \quad (2)$$

Dónde:

ST<sub>i</sub>= sólidos totales **antes** de dilución (iniciales) de los RSC en [g/kg]

SV<sub>i</sub>= sólidos volátiles **antes** de dilución (iniciales) de los RSC en [g/kg]

ST<sub>f</sub>= sólidos totales **después** de dilución (finales) de los RSC en [g/kg]

SV<sub>f</sub>= sólidos volátiles **después** de dilución (finales) de los RSC en [g/kg]

W<sub>H<sub>2</sub>O</sub>=Masa de agua que debe agregarse

Nótese que en las ecuaciones (1) y (2) se puede obtener un factor unitario para hacer diluciones con una masa de RSC diferente de 1000g al cual llamaremos  $\alpha$  y se presenta en la ecuación (3).

$$\frac{W_{H_2O} \text{ g de Agua}}{1000 \text{ g de RSC}} = \alpha \quad (3)$$

## PROCEDIMIENTO

1. Calcular el factor  $\alpha$  para un valor de ST o SV deseado.
2. Calcular la cantidad de agua de dilución como: (Masa de sustrato)\*( $\alpha$ )
3. Agregar la cantidad de agua de dilución calculada a los RSC sin diluir y revolver hasta homogenización.
4. Realizar el protocolo experimental de determinación de cantidad de ST y SV para corroborar el resultado.

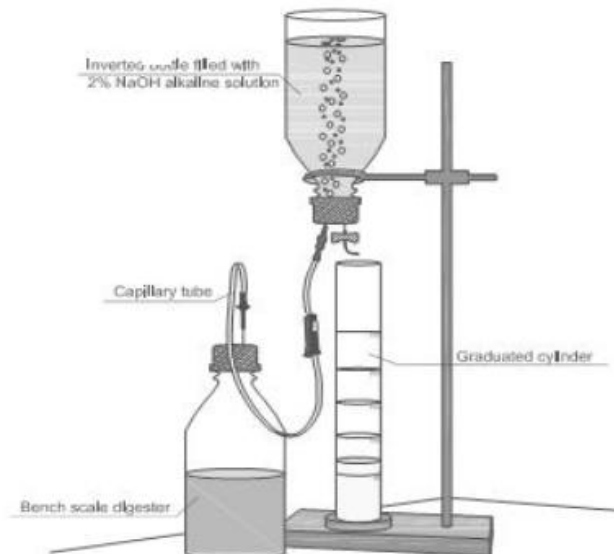
## ANEXO g. MÉTODO DE DESPLAZAMIENTO ALCALINO

### Materiales:

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

### Procedimiento:

Cada reactor se conecta con la botella de desplazamiento alcalino por medio de una red de mangueras de plástico y agujas como se muestra en el esquema. El biogás producido en el reactor se burbujea en la solución alcalina con fenolftaleína como indicador y pH mayor que 12, en la cual el  $\text{CO}_2$  es absorbido y el volumen de gas metano desplaza un volumen igual de la solución alcalina. El volumen de la solución desplazada fuera de la botella en el recipiente colector es equivalente al volumen de metano y otros gases en menor proporción generados por el sistema.



Esquema de montaje para la medición de volumen de metano.

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

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

$$VNTP = V * (Patm - P * V) * T0 * Po * T$$

$V$  = Volumen de gas generado (mL).

$Patm$  = Presión atmosférica.

$T0$  = Temperatura estándar 273,15 (K).

$Po$  = Presión estándar 1013.25 (mbar).

$PV$  = Presión de vapor del agua.

Temperatura al momento de medir (K)

$$PV = 10 * e^{(16.573 - \left(\frac{3988.42}{39.47 + T(^{\circ}k)}\right))}$$