

## **Información Importante**

La Universidad Santo Tomás, informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan **finalidad académica**, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el Artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, la Universidad Santo Tomás informa que “los derechos morales sobre documento son propiedad de los autores, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.”

**Bibliotecas Bucaramanga  
Universidad Santo Tomás**

**ESTUDIO DEL USO DE LA CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA COMO  
ALTERNATIVA DE REDUCCIÓN DE LA CARGA ORGÁNICA DEL  
LACTOSUERO Y ESTABILIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA BIOMASA  
RESIDUAL**

**ERIKA YURLEY CÉSPEDES MENDOZA  
EVA CATHERINE MEZA CALDERÓN**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS  
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA  
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA**

**2014**

**ESTUDIO DEL USO DE LA CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA COMO  
ALTERNATIVA DE REDUCCIÓN DE LA CARGA ORGÁNICA DEL  
LACTOSUERO Y ESTABILIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA BIOMASA  
RESIDUAL**

**Autoras:  
ERIKA YURLEY CÉSPEDES MENDOZA  
EVA CATHERINE MEZA CALDERÓN**

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

**Directora del Proyecto  
SINDY JOHANNA LOZANO VERJEL, Qca. MSc (c)**

**Codirectora del Proyecto  
ROSA MARÍA HIGUERA ARDILA, Qca. Esp.**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS  
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA  
FACULTAD DE QUÍMICA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA**

**2014**

## DEDICATORIA

*Especialmente dedicado a papito Dios quien siempre supo cómo confortar mi alma en momentos de desesperación y tristeza, porque siempre confió en mí y me demostró su amor de infinitas maneras, por permitirme cumplir y llevar a cabo cada uno de mis propósitos y sueños. Para ti con amor mi amado Padre todo poderoso y misericordioso.*

*A los amores de mi vida, mis padres y hermanos, por la paciencia y el apoyo que siempre me ofrecieron incondicionalmente, por amarme como soy y aguantarme tanto. En este punto no encuentro palabras que describan la gratitud que tengo con ellos y lo afortunada que me siento al tener una familia tan maravillosa.*

*A mi compañera Erika, por sobrellevar todos y cada uno de los momentos que vivió a mi lado, no solo a lo largo de la carrera, sino también durante la realización de nuestro proyecto. Por enseñarme como ser una mejor persona, amiga y profesional. Muchas gracias.*

*A todas las personas que hicieron parte de mi crecimiento personal y profesional durante cinco años, compañeros de clase, profesores, personal de laboratorio, conocidos... para ellos también es dedicado este triunfo personal, pues contribuyeron de manera directa o indirecta en la realización de este proyecto.*

***Eva Catherine Meza Calderón***

*“Encender una antorcha para  
iluminar el camino de otros  
ilumina el nuestro”*

*Ben Sweetland*

## DEDICATORIA

Eres la razón de mi felicidad, mi roca, mi castillo y mi libertador. A ti mi DIOS, lo dedico todo. Tú, quien sustentas mis pasos, para que mis pies no resbalen, alumbras mis ojos, me rodeas de tu favor como un escudo, me guardas como a la niña de tus ojos, me escondes bajo la sombra de tus alas. Tú, mi padre, mi mejor amigo, mi salvador, mi gran amor, mi todo. Porque fuera de ti, no hay para mí bien. Todo lo debo a ti, gracias a ti, soy lo que soy, estoy donde estoy y tengo lo que tengo.

A mis amados padres, Alfonso Céspedes y Marleny Mendoza, quienes se han sacrificado y han dado todos y cada uno de sus días por mi bienestar, siempre han estado incondicionalmente a mi lado, apoyándome, alentándome y siendo un verdadero ejemplo de amor y entrega.

A mis pequeños corazones, mis hermanos Sebastián y María, por ser la bendición y alegría de nuestro hogar, por alentarme y motivarme a ser cada vez mejor y poder ser un apoyo y ejemplo para ellos.

A mí querida compañera Eva, por su apoyo, ayuda y acompañamiento de principio a fin, durante esta carrera profesional. Gracias por siempre darme ánimo y aliento.

A todos aquellos que de una u otra manera contribuyeron en mi crecimiento y aprendizaje académico, personal y espiritual. Profesores, compañeros, hermanos en Cristo, amigos y familiares, gracias, muchas gracias.

**Erika Yurley Céspedes Mendoza**

“El principio de la sabiduría es el temor de Jehová: Buen entendimiento tienen todos los que ponen por obra sus *mandamientos*; Su loor permanece para siempre.” Salmo 111:10.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por ser nuestra guía, nuestro refugio y fortaleza en todo momento.

A nuestros padres por su esfuerzo, dedicación y apoyo incondicional.

A la directora Sindy Johanna Lozano Verjel, Química MSc., por su dirección, apoyo continuo y confianza en el desarrollo de este proyecto.

A la codirectora Rosa María Higuera Ardila, Química Esp., por su dirección, asesoría y apoyo.

Al ingeniero químico Humberto Escalante Hernández, PhD., por abrirnos las puertas del laboratorio de biotecnología que está a su cargo y permitirnos desarrollar nuestro proyecto allí.

A la Universidad Industrial de Santander, por permitirnos realizar y desarrollar nuestro proyecto.

A Laura Ximena Velásquez y Deisy Villamizar Jaimes, ingenieras químicas, por su asesoría y acompañamiento.

A la Universidad Santo Tomás, por brindarnos el apoyo con instalaciones y materiales para el desarrollo de este proyecto.

A la Corporación autónoma regional para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga (CDMB), por su colaboración para la realización de algunos análisis químicos, necesarios para la culminación de este proyecto.

Al laboratorio Servicios integrados para la Industria de Alimentos y el Medio Ambiente (SIAMA Ltda.) por sus servicios técnicos prestados.

## CONTENIDO

	pág.
<b>INTRODUCCIÓN</b>	19
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	20
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b>	22
<b>3. OBJETIVOS</b>	24
3.1 Objetivo general	24
3.2 Objetivos específicos	24
<b>4. MARCO DE REFERENCIA</b>	25
4.1 Lactosuero	25
4.2 Digestión y co-digestión anaerobia	26
4.3 Estabilización de la biomasa residual	32
4.4 Clases de biosólidos y marco legal para su uso y disposición de biosólidos	34
<b>5. DISEÑO METODOLÓGICO</b>	36
5.1 Materiales y métodos	37
5.1.1 Equipos de análisis, medición y caracterización	37
5.1.2 Reactivos	37
5.1.3 Otros	39
5.2 Aclimatación del inóculo al sustrato	40
5.3 Caracterización del sustrato	40
5.3.1 pH	40
5.3.2 Sólidos totales (ST) y sólidos volátiles totales (SVT)	40
5.3.3 Demanda química de oxígeno (DQO)	41
5.4 Co-digestión anaerobia del lactosuero usando estiércol bovino aclimatado	43
5.5 Caracterización del inóculo	43
5.5.1 pH	43
5.5.2 Ácidos grasos volátiles (AGV)-alcalinidad	43
5.5.3 Azúcares reductores totales (ART)	44

5.5.4 Nitrógeno (NTK)	44
5.5.5 Potasio (K)	45
5.5.6 Fósforo (P)	46
5.5.7 Sodio (Na)	47
5.6 Co-digestión anaerobia del lactosuero usando estiércol bovino aclimatado	49
5.6.1 Montaje de los biorreactores	49
5.6.2 Monitoreo del proceso de la co-digestión anaerobia (Co-DA)	50
5.6.2.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica al inicio de la Co-DA	50
5.6.2.2 Medición y cuantificación de pH y sólidos volátiles totales	50
5.6.2.3 Medición de metano por método de desplazamiento alcalino	50
5.6.2.4 Caracterización fisicoquímica y microbiológica al final de la Co-DA	51
5.7 Estabilización microbiológica de la biomasa residual (estabilización alcalina)	51
5.7.1 Adición de cal	51
5.7.2 Caracterización microbiológica de la biomasa residual estabilizada	52
5.8 Alternativas de uso para la biomasa residual estabilizada	52
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>53</b>
6.1 Evaluación del tiempo de aclimatación	53
6.2 Caracterización del inóculo y sustrato	55
6.3 Co-digestión anaerobia del LS	58
6.3.1 Monitoreo de la co-digestión anaerobia	61
6.3.2 Caracterización del lodo antes y después de la co-digestión anaerobia	64
6.4 Estabilización microbiológica de la biomasa residual	66
6.5 Alternativas de uso para la biomasa residual estabilizada	67
<b>7. CONCLUSIONES</b>	<b>69</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>70</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>78</b>

## LISTA DE CUADROS

	pág.
<b>Cuadro 1.</b> Parámetros a cumplir para la estabilización alcalina de la biomasa residual según la EPA	34
<b>Cuadro 2.</b> Parámetros a cumplir para clasificar productos orgánicos con fines agrícolas	34
<b>Cuadro 3.</b> Parámetros microbiológicos para la categorización de los biosólidos	35
<b>Cuadro 4.</b> Lista de reactivos empleados en el desarrollo metodológico	38
<b>Cuadro 5.</b> Condiciones de operación para la aclimatación del EB	40
<b>Cuadro 6.</b> Condiciones de operación de la Co-DA	49

## LISTA DE TABLAS

	pág.
<b>Tabla 1.</b> Proceso de Co-DA-Evaluación del tiempo de aclimatación	55
<b>Tabla 2.</b> Caracterización fisicoquímica del sustrato (LS)	57
<b>Tabla 3.</b> Caracterización fisicoquímica del inóculo (EBA)	57
<b>Tabla 4.</b> Resultado de la producción de metano por el proceso de Co-DA	59
<b>Tabla 5.</b> Resultados en la medición de pH durante el proceso de Co-DA	62
<b>Tabla 6.</b> Valores de SVT obtenidos a lo largo del proceso de Co-DA	64
<b>Tabla 7.</b> Caracterización fisicoquímica antes de la Co-DA	65
<b>Tabla 8.</b> Caracterización microbiológica antes de la Co-DA (Servicios técnicos prestados por el laboratorio SIAMA Ltda.)	65
<b>Tabla 9.</b> Caracterización fisicoquímica después de la Co-DA	65
<b>Tabla 10.</b> Caracterización microbiológica después de la Co-DA (Servicios técnicos prestados por el laboratorio SIAMA Ltda.)	66
<b>Tabla 11.</b> Condiciones de la estabilización alcalina	66
<b>Tabla 12.</b> Análisis microbiológico de la mezcla al final de la Co-DA y después de la estabilización alcalina	67
<b>Tabla 13.</b> Comparativo entre la Norma Técnica Colombiana 5167 y los resultados obtenidos	68

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
<b>Figura 1.</b> Separación del queso	25
<b>Figura 2.</b> Fluctuación de las publicaciones sobre co-digestión del lactosuero	28
<b>Figura 3.</b> Determinación de sólidos totales y sólidos volátiles totales, equipo disponible en el laboratorio de biotecnología UIS	41
<b>Figura 4.</b> Determinación de DQO por reflujo abierto, equipo disponible en el laboratorio de investigaciones de la USTA	42
<b>Figura 5.</b> Determinación de azúcares reductores totales, disponible en el laboratorio de biotecnología UIS	44
<b>Figura 6.</b> Determinación de nitrógeno (NTK), equipo disponible en laboratorio de aguas y suelo de la CDMB. Digestor Kjeldahl ( <i>Büchi</i> K-424); Scrubber ( <i>Büchi</i> K-415); destilador de nitrógeno ( <i>Büchi</i> K-355); titulador automático ( <i>Metrohm</i> 776 <i>dosimat</i> ) con agitador	45
<b>Figura 7.</b> Determinación de potasio, equipo disponible en el laboratorio de investigaciones USTA	46
<b>Figura 8.</b> Determinación de fósforo	47
<b>Figura 9.</b> Determinación de sodio, equipo disponible en el laboratorio de investigaciones USTA	48
<b>Figura 10.</b> Dilución de la muestra analizada	48
<b>Figura 11.</b> Biorreactores usados en la co-digestión anaerobia	49
<b>Figura 12.</b> Montaje para medir metano por el método de desplazamiento alcalino	51

<b>Figura 13.</b> CaO utilizado en la estabilización alcalina de la biomasa residual al final del proceso de la Co-DA	52
<b>Figura 14.</b> Tanque de aclimatación, disponible en el laboratorio de biotecnología de la UIS	53
<b>Figura 15.</b> Producción de CH <sub>4</sub> según días de aclimatación	54
<b>Figura 16.</b> Curvas de calibración empleadas para la determinación de ART (A), potasio (B), fósforo (C) y sodio (D)	56
<b>Figura 17.</b> Producción de CH <sub>4</sub> durante el proceso de la Co-DA	59
<b>Figura 18.</b> Comportamiento del pH durante el proceso de la Co-DA	62
<b>Figura 19.</b> Producción de metano vs degradación de los SVT	63

## LISTA DE ESQUEMAS

	pág.
<b>Esquema 1.</b> Comparación entre la DA y la Co-DA	27
<b>Esquema 2.</b> Reacción en la etapa de hidrólisis	30
<b>Esquema 3.</b> Reacción general de la etapa de acidogénesis	30
<b>Esquema 4.</b> Reacción general de la etapa de acetogénesis	31
<b>Esquema 5.</b> Reacciones de la etapa de metanogénesis de acuerdo al sustrato	31
<b>Esquema 6.</b> Etapas de la co-digestión anaerobia	32
<b>Esquema 7.</b> Reacción del óxido de calcio	33
<b>Esquema 8.</b> Presentación general de la metodología	36

## LISTA DE ANEXOS

	pág.
<b>Anexo 1.</b> Principios y reacciones generales de los métodos usados en la caracterización fisicoquímica	78
<b>Anexo 2.</b> Resultados de los parámetros microbiológicos	80

## LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

<b>AGV:</b>	<b>Ácidos Grasos Volátiles</b>
<b>APHA:</b>	<i>American Public Health Association</i>
<b>ART:</b>	<b>Azúcares Reductores Totales</b>
<b>CDMB:</b>	<b>Corporación autónoma regional para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga</b>
<b>CH<sub>4</sub>:</b>	Metano
<b>Co-DA:</b>	<b>Co-Digestión Anaerobia</b>
<b>CV:</b>	<b>Coeficiente de Variación</b>
<b>DA:</b>	<b>Digestión Anaerobia</b>
<b>DS:</b>	<b>Desviación estándar</b>
<b>DBO:</b>	<b>Demanda Biológica de Oxígeno</b>
<b>DQO:</b>	<b>Demanda Química de Oxígeno</b>
<b>DNS:</b>	<b>Dinitrosalicílico</b>
<b>EB:</b>	<b>Estiércol Bovino</b>
<b>EBA:</b>	<b>Estiércol Bovino Aclimatado</b>
<b>EBA-0:</b>	<b>Estiércol Bovino Aclimatado a 0 días</b>
<b>EBA-30:</b>	<b>Estiércol Bovino Aclimatado a 30 días</b>
<b>EBA-60:</b>	<b>Estiércol Bovino Aclimatado a 60 días</b>
<b>EPA:</b>	<i>Environmental Protection Agency</i>
<b>FAS:</b>	<i>Ferrous Ammonium Sulfate</i> (Sulfato ferroso de amonio)
<b>LS:</b>	Lactosuero
<b>NMP:</b>	<b>Número Más Probable</b>
<b>OHPA:</b>	<i>Obligate Hydrogen Producing Acetogens</i>
<b>SIAMA:</b>	<b>Servicios integrados para la Industria de Alimentos y el Medio Ambiente</b>
<b>ST.d:</b>	<b>Sólidos Totales por día</b>
<b>ST:</b>	<b>Sólidos Totales</b>
<b>SVT:</b>	<b>Sólidos Volátiles Totales</b>
<b>UIS:</b>	<b>Universidad Industrial de Santander</b>
<b>USTA:</b>	<b>Universidad Santo Tomás</b>
<b>Vol.:</b>	<b>Volumen</b>

## GLOSARIO

**ACONDICIONADOR DE SUELOS:** toda sustancia cuya acción fundamental consiste en el incremento de por lo menos una característica física, química o biológica del suelo.<sup>1</sup>

**BIOMASA RESIDUAL:** remanente líquido o húmedo producto de la co-digestión anaerobia.<sup>2</sup>

**BIOSÓLIDO:** Producto resultante de la estabilización de la fracción orgánica de los lodos generados en el tratamiento de aguas residuales municipales, con características físicas, químicas y microbiológicas que permiten su aprovechamiento.<sup>1</sup>

**CONSORCIO MICROBIANO:** asociación o grupo de microorganismos.<sup>3</sup>

**ESTIÉRCOL BOVINO ACLIMATADO (EBA):** estiércol bovino adaptado al lactosuero, proporción de 10%, en un reactor de aproximadamente tres litros, por un periodo de tiempo, para el caso dos meses.<sup>3</sup>

**INÓCULO:** suspensión de microorganismo que se transfieren a un ser vivo o a un medio de cultivo a través de la inoculación.<sup>4</sup>

**SUSTRATO:** fuente de alimento para la población microbiana del inóculo.<sup>4</sup>

# ESTUDIO DEL USO DE LA CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA COMO ALTERNATIVA DE REDUCCIÓN DE LA CARGA ORGÁNICA DEL LACTOSUERO Y ESTABILIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA BIOMASA RESIDUAL

Por:  
Erika Yurley Céspedes Mendoza  
Eva Catherine Meza Calderón

## RESUMEN

El lactosuero, como principal residuo de la elaboración de queso, se considera una fuente de contaminación en suelo y agua por su carga orgánica, por ende es necesario aplicar métodos en los que se aproveche o reutilice, y disminuir así su impacto al ambiente. La co-digestión anaerobia es una opción favorable en la cual se degrada la materia orgánica y se genera biogás, aplicado como fuente de energía alternativa.

Por lo anterior para el desarrollo del proyecto se realizó la co-digestión anaerobia del estiércol bovino aclimatado y lactosuero, 70:30 % v/v respectivamente, en bioreactores de 50 mL con un volumen de operación de 35 mL a una temperatura de 39°C con agitación manual e intermitente.

La investigación fue desarrollada con el fin de realizar una estabilización fisicoquímica, con la medición del pH, SVT, volumen de CH<sub>4</sub> acumulado, durante un periodo de 60 días y una estabilización microbiológica de la biomasa residual, al emplear CaO con una concentración de 25%, como agente alcalino. Los parámetros microbiológicos tomados como control fueron, el contenido de coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella spp.*, para determinar el posible uso o disposición final de este residuo.

**Palabras clave:** co-digestión anaerobia, estabilización alcalina, estiércol bovino, lactosuero.

# USING STUDY OF ANAEROBIC CO-DIGESTION AS AN ALTERNATIVE FOR REDUCTION ORGANIC LOAD OF WHEY AND STABILIZATION MICROBIAL OF BIOMASS REMAINING

By:

Erika Yurley Céspedes Mendoza  
Eva Catherine Meza Calderón

## ABSTRACT

Whey as a main waste of manufacturing cheese, is considered a source of pollution in land and water due his high organic charge, in this way is necessary apply methods that take advantages or reduce, making more low his impact at the environment. Anaerobic co-digestion is a pro option in which the organic load is reduced and biogas is generated, applied as an alternative energy source.

Consequently at the research development anaerobic co-digestion was performed of acclimatized cattle manure and whey, at %v/v of 70:30 respectively, in bioreactors of 50 mL with operating volume of 35 mL, 39°C of temperature and intermittent manual agitation.

The research was developed in order to carry out a physicochemical stabilization with the measurement of pH, SVT and CH<sub>4</sub> volume accumulated during a 60 day period, and microbial stability of the residual biomass by employing CaO with a concentration of 25 %p/v as the alkaline agent. Microbiological parameters were taken as a control, the content of total coliforms, fecal coliforms and *Salmonella spp*, to determine the possible use or disposal of this waste.

**Keywords:** alkaline stabilization, anaerobic co-digestion, cattle manure, whey.

## INTRODUCCIÓN

Los derivados de la leche dentro de sus procesos de producción generan una cantidad considerable de residuos, particularmente en la elaboración de queso donde su principal subproducto, el lactosuero (LS), es descartado con frecuencia sin previo tratamiento.<sup>5</sup> Debido a su composición, proteínas, lactosa, minerales y grasas, es considerado como una fuente de elevada carga orgánica y por ende una fuente de contaminación desde el punto de vista ambiental,<sup>6</sup> en consecuencia es de gran importancia y necesidad la implementación de tecnologías o métodos que conlleven a la mitigación del impacto ambiental y beneficios económicos.<sup>7</sup>

Se han planteado diferentes opciones respecto al aprovechamiento y tratamiento de este residuo, aunque ninguna que cumpla con el bajo costo en su implementación, disminución en la contaminación y el cumplimiento de requisitos legales en la descarga de efluentes;<sup>8</sup> conforme a lo anterior se han planteado métodos anaerobios que conlleven beneficios en el tratamiento en efluentes de elevada carga orgánica.<sup>9</sup> En este sentido la co-digestión anaerobia (Co-DA) es planteada como una tecnología útil que trae beneficios ambientales y energéticos por el biogás producido.<sup>10</sup>

Se han realizado estudios en Co-DA con diferentes tipos de estiércol, bovino, caprino, porcino y gallinaza, siendo la principal función de este el aporte del consorcio microbiano, además se han empleado diferentes tipos de sustratos: lactosuero, residuos de alimentos, residuos agroindustriales, etc.<sup>11, 12</sup> El estiércol bovino (EB) ha tenido mayor interés en su uso, debido a su capacidad para regular el pH durante el proceso en presencia de lactosuero y el aumento en la producción de biogás, ejemplo de esto es el trabajo de Shilton y colaboradores<sup>13</sup> en el cual se producían  $0,383\text{m}^3\text{-CH}_4/\text{kg-DQO}$  por cada  $5.3\text{kg-DQO}/\text{m}^3\text{-día}$  adicionado.<sup>13</sup>

Además de reducir la materia orgánica y convertirla en biogás, también concede valor agregado al residuo, porque después de realizado el proceso de co-digestión anaerobia se obtiene una biomasa residual, que al ser sometida a un método de estabilización alcalina, puede emplearse como acondicionador de suelos.<sup>14</sup>

El desarrollo del proyecto tuvo como propósito estudiar la Co-DA del EB y LS, al determinar: el período de aclimatación que promueva la mayor producción de biogás; el tiempo necesario para disminuir el contenido de materia orgánica y además la estabilización alcalina de la biomasa residual del proceso, determinando su adecuada disposición o uso.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Durante el proceso de elaboración de queso se genera un subproducto resultante de la precipitación de la caseína, conocido como lactosuero, el cual constituye entre el 80 al 90% de la leche.<sup>5</sup> Según, Kavacik y Topaloglu, a nivel mundial en 2010 se produjeron 115 millones de toneladas de LS,<sup>15</sup> de los cuales, Colombia reporta en el año 2006 la producción de 943.792 toneladas.<sup>16</sup> En Santander, se calcula la producción de 890 toneladas de LS, debido a la elaboración de 1130 toneladas de queso en 2012.<sup>17</sup>

Cada año cerca de un 47% del LS producido es desechado en ríos, lagos y otros cuerpos de aguas residuales, o en el suelo.<sup>15</sup> En este sentido, la estabilización y disposición adecuada del LS es un problema común en las medianas y grandes empresas de lácteos, esta dificultad se debe a los requerimientos en infraestructura y tecnología para su tratamiento, lo cual constituye uno de los impactos ambientales de dichas empresas.<sup>18</sup>

La problemática del LS se fundamenta en su composición, dado que contiene en promedio 50-102 g/L de DQO, 27-60 g/L de DBO, 0,07-2,9 g/L de grasas y aceites, 1,23-22 g/L sólidos suspendidos totales, 8 mS/cm de conductividad y minerales (K, Mg, P, Ca, Na).<sup>16</sup> Estas características representan contaminación conducente a la eutrofización de las aguas receptoras.<sup>6</sup>

La composición del LS señala que no puede ser considerado como un efluente típico y requiere la implementación de una tecnología útil, capaz de solucionar el problema de disposición del residuo y que a su vez disminuya su impacto en el ambiente.<sup>18</sup> En consecuencia, se han reportado métodos efectivos para su tratamiento, identificando entre ellos, la digestión anaerobia.<sup>9</sup>

Con el empleo de la digestión anaerobia se han alcanzado reducciones en el contenido de materia orgánica del 90% empleando LS, con el beneficio de producir 0,29 mL CH<sub>4</sub>.g/ DQO.<sup>19</sup> Asimismo, en los trabajos reportados por Patel y Madamwar donde se emplea LS salado, el contenido de materia orgánica se reduce entre 65%-80% y la producción de metano se encuentra entre 0,14-0,38 L CH<sub>4</sub>/g ST.d.<sup>20</sup> El metano producido representa energía utilizable a nivel industrial.<sup>21</sup>

Con el objeto de fortalecer las ventajas de la digestión anaerobia, los últimos estudios se enfocan en la búsqueda de las mejores condiciones de reacción que favorezcan el sinergismo entre los microorganismos y las características nutricionales del sustrato, a fin de mejorar la producción de biogás y las características de la biomasa residual.<sup>13</sup>

De acuerdo con su composición, la biomasa residual puede ser empleada de diversas formas, previo proceso de estabilización microbiológica,<sup>7</sup> debido al riesgo potencial para la salud humana, plantas y animales, por presencia de patógenos.<sup>14</sup> Motivo por el cual se requiere, finalmente, evaluar las características del residuo y proponer las diversas alternativas de uso, por ejemplo, emplearlo como acondicionador o mejorador de suelo.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Para dar solución al problema de disposición del lactosuero (LS) se han estudiado alternativas para su aprovechamiento nutricional, incluyendo obtención de levadura de panadería, bebidas a base de LS, alimento para animales, proteína liofilizada etc.<sup>22</sup> otras alternativas buscan su estabilización y valorización, mediante el aprovechamiento energético, que incluyen procesos bioquímicos.<sup>23</sup>

La digestión anaerobia es un proceso bioquímico que permite la estabilización y consecuente valorización del LS.<sup>24</sup> Se ha buscado mejorar el proceso de digestión, encontrando que la co-digestión anaerobia es el tipo de tecnología capaz de emplear diferentes residuos, con elevada carga orgánica, para favorecer su efecto sinérgico con los microorganismos y las condiciones ambientales del proceso, con el fin de aumentar la producción energética y en consecuencia, disminuir la carga orgánica del subproducto residual obtenido.<sup>25,26</sup>

Adicionalmente, la co-digestión anaerobia no requiere adición de productos químicos en su proceso, es considerado un tratamiento biológico eficiente para disminuir la demanda de carga orgánica del LS, o al menos pre-tratarlo, tiene múltiples opciones en cuanto al diseño de reactores en los que se llevan a cabo,<sup>7</sup> representa una opción económica, eficiente, limpia y simple que controla la contaminación por vertimientos,<sup>27</sup> y representa la oportunidad para aprovechar los residuos de animales de granja (estiércol) para producción de biogás.<sup>28</sup>

Como en todo proceso la co-digestión genera un efluente, lodo, el cual puede valorizarse según su composición, para lo cual se necesita su previa estabilización e higienización.<sup>29</sup> Este residuo es llamado biomasa residual y se le atribuye la presencia de minerales como: N, P, K, Na, elementos necesarios en todo fertilizante o acondicionador de suelo,<sup>30,31</sup> actividad para la cual no ha sido ampliamente estudiado.

En este sentido, es fundamental estabilizar el biosólido, pues durante el tratamiento la fitotoxicidad disminuye por eliminación de ácidos grasos volátiles y compuestos fácilmente biodegradables, por lo tanto es inerte, no genera contaminación y preserva inocuidad en el entorno; teniendo conocimiento de esto, los biosólidos deben ser clasificados de acuerdo con su uso y características microbiológicas.<sup>30</sup>

La legislación colombiana establece una normativa respecto a la estabilización de biomasa residual, la Norma Técnica Colombiana 5167 que dispone los requisitos, parámetros y ensayos que deben realizarse para productos en la industria agrícola, productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas o

acondicionadores de suelo.<sup>1</sup> A nivel internacional la EPA, con reportes como el No. 530-R-99-009, dispone la importancia de la estabilización de biosólidos, lo cual lleva a la disminución de riesgo de afecciones a la salud pública por patógenos o por atracción de vectores a los terrenos donde este se deposite.<sup>32</sup>

En consecuencia, existen varias técnicas de estabilización de la biomasa residual, entre las que se encuentran: acondicionamiento químico que emplea sustancias coagulantes, tratamiento térmico que calienta el lodo a baja presión, deshidratación y secado que reúne diferentes tipos de filtración, secado en eras y centrifugación, filtración al vacío, filtración a presión y finalmente se tiene el ajuste de pH o estabilización alcalina.<sup>30,32</sup> Entre ellas es necesario identificar la más pertinente para el tratamiento de la biomasa residual según su composición; técnica que a su vez requiere contar con características que permitan baja inversión en equipos, sustancias, energía e instalación.<sup>33</sup>

Lo anterior justifica la necesidad de hacer un estudio del proceso de co-digestión anaerobia del LS, con el fin de maximizar la estabilización de materia orgánica de la biomasa residual, y realizar una posterior estabilización de agentes patógenos para identificar su posible utilización como acondicionador de suelos. En el tratamiento se aprovecha, la composición fisicoquímica y los consorcios microbianos presentes en el estiércol bovino (EB), controlando variables como el pH y temperatura. La efectividad del proceso se mide en términos de disminución de sólidos volátiles (%), dado que representan la remoción de carga orgánica y producción de biogás.<sup>24</sup>

El trabajo pretende aplicar procesos que permitan mejorar la calidad de vida del ser humano obteniendo beneficios, atendiendo al uso de tecnología convencional o sostenible, con el aprovechamiento energético de residuos agrícolas y de la industria de los productos lácteos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Estudiar el proceso de co-digestión anaerobia del lactosuero con estiércol bovino, con el fin de maximizar la estabilización de la materia orgánica y establecer la mejor alternativa de uso para la biomasa residual, de acuerdo con sus características fisicoquímicas y microbiológicas, según la Norma Técnica Colombiana 5167, el Decreto 1287 de 2014 y documento reportado por la EPA No. 530-R-99-009.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

**3.2.1** Monitorear la co-digestión anaerobia del lactosuero usando estiércol bovino en una relación de 30:70 % v/v respectivamente, según experimentos previos, evaluando los siguientes parámetros: pH, sólidos volátiles totales y volumen de metano producido.

**3.2.2** Estabilizar microbiológicamente la biomasa residual generada en la co-digestión anaerobia, con el fin de identificar la mejor alternativa para su posible uso y aprovechamiento de acuerdo con la concentración de nutrientes y microorganismos presentes, según la Norma Técnica Colombiana 5167, el Decreto 1287 de 2014 y documento reportado por la EPA No. 530-R-99-009.

## 4. MARCO DE REFERENCIA

### 4.1 LACTOSUERO

El lactosuero (LS) es el resultado de la producción de queso, originado por la separación de dos componentes importantes en la leche entera: la caseína (precipitación) y la grasa (centrifugación) (Figura 1).<sup>34</sup> En la producción de queso el LS representa 80-90% del volumen de la leche procesada,<sup>35</sup> a nivel mundial se estima que se produce 115 millones de toneladas de lactosuero al año.<sup>15</sup>

**Figura 1.** Separación del queso.<sup>36</sup>



En su composición el LS conserva un 55% del total de los nutrientes presentes en la leche, constituidos por: lactosa (70-75%), proteínas solubles (10-15%), lípidos (0,4-0,5%), sales minerales (1-3%), ácido láctico (menos del 1%) al igual que hidratos de carbono (4-5%),<sup>34,37,38</sup> generalmente tiene un pH ácido, una relación de carbono, nitrógeno y fósforo de C/N/P  $\approx$  200/3,5/1, los sólidos suspendidos y el fósforo se encuentran entre el rango de 0,1 a 22 gL<sup>-1</sup> y 0,006 a 5 gL<sup>-1</sup> respectivamente. Las características del LS varían dependiendo del tipo de leche (vaca, cabra, oveja, etc.) que se usa para la producción del queso.<sup>6</sup>

Debido a la considerable cantidad de nutrientes se generan aproximadamente 3,5 kg de DBO y 6,8 kg DQO por cada 100 kg de líquido siendo la lactosa, el azúcar que más aporta al aumento de estos dos parámetros.<sup>29</sup> Este residuo ocasiona grandes riesgos al ser eliminado al ambiente sin ningún tratamiento. En este sentido su disposición en suelo provoca alteraciones en las propiedades físicas y químicas, disminuyendo el rendimiento de los cultivos. Asimismo, si el LS es vertido a un cuerpo de agua, la vida acuática tiene riesgo de muerte a causa de la

demanda de oxígeno que se necesita para degradar la carga orgánica de este vertimiento.<sup>37</sup>

El efluente de LS reduce el oxígeno necesario para el desarrollo del ecosistema acuático,<sup>37</sup> teniendo valores de: 0,8-102 g/L para DQO y de 0,6-60 g/L para DBO. Por otra parte, tiene alto contenido de nitrógeno total y fósforo, lo cual representa un riesgo considerable de eutrofización para la fuente hídrica receptora, también puede generar efectos adversos sobre la vida de animales (peces, ganado, etc.) y humanos debido a las toxinas generadas por las algas; así mismo el nitrógeno como ion de amonio ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ), en un intervalo de concentración de 60 a 270 mg/L, puede generar también efectos tóxicos para la vida acuática.<sup>6</sup>

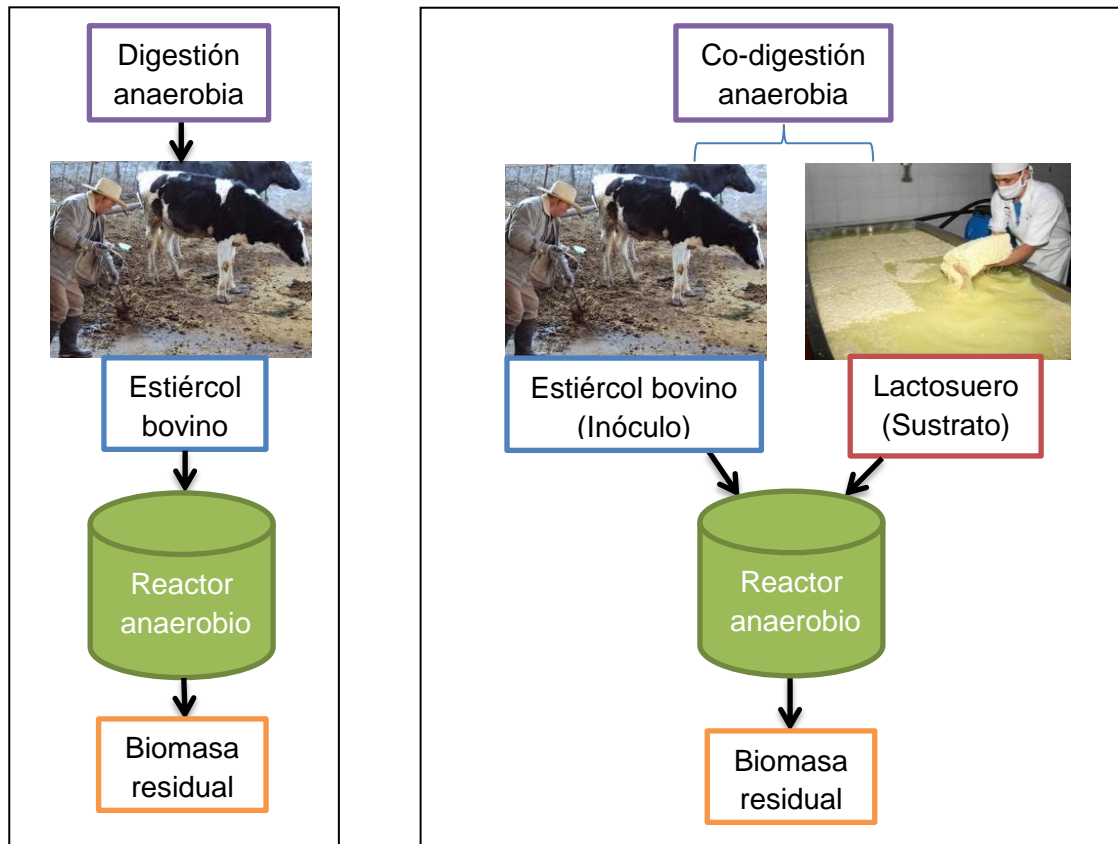
## **4.2 DIGESTIÓN Y CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA**

La digestión anaerobia es un proceso biológico en el que microorganismos específicos degradan y estabilizan la materia orgánica en ausencia de oxígeno, lo cual encamina a la formación de biogás, mezcla de dióxido de carbono y metano, y biomasa residual. Este proceso anaerobio es una herramienta útil para la reducción de contaminación y representa una alternativa energética, por ende es una de las tecnologías más eficiente para el tratamiento de residuos.<sup>39</sup>

La estabilización de materia orgánica mediante digestión anaerobia no es una tecnología novedosa, pues sus pioneros Swards y Holder, 1975,<sup>40</sup> al intentar solucionar un problema de contaminación en la producción de queso, propusieron realizar un tratamiento biológico al residuo LS de forma aerobia y anaerobia, así por primera vez entre 1974 y 1975 se empleó el método de digestión.<sup>40</sup> El uso de digestión anaerobia ha tenido una gran acogida a nivel mundial, países como Reino Unido, entre otros han aplicado esta tecnología, beneficiando así a varios granjeros con el aprovechamiento de los residuos de sus granjas y originando rentabilidad económica con el aporte energético (biogás) y la comercialización de fertilizantes.<sup>41</sup>

Sin embargo, estos estudios han evolucionado y se han desarrollado nuevas alternativas para mejorarlos; siendo este el caso de la co-digestión anaerobia, ya que, es una técnica novedosa (Figura 2) de mejora de la digestión anaerobia, donde hay un mayor equilibrio de carbono y nutrientes por el uso de un co-sustrato (Esquema 1), lo cual genera un aumento en el rendimiento de producción de biogás.<sup>42</sup>

**Esquema 1.** Comparación entre la DA y la Co-DA.

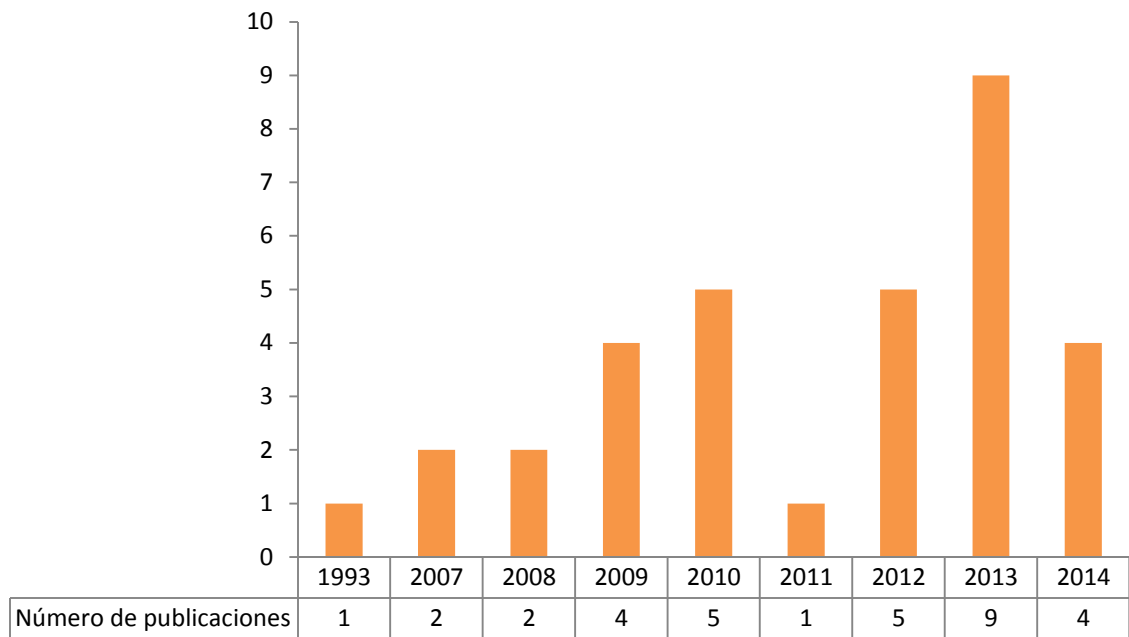


Los primeros estudios realizados por Gelegenis y Samarakou<sup>7</sup> se basaron en la identificación y desarrollo de condiciones adecuadas para el aumento en la tasa de producción de metano en los digestores o reactores,<sup>7</sup> algunas de estas condiciones fueron: reactores con agitación continua a condiciones mesofílicas, alimentación semi-continua de mezclas de estiércoles y lactosuero, y variación en las proporciones de inóculo y sustrato.<sup>43</sup>

Documentos representativos fueron publicados en el año 2007, lo que indica que es un método aplicado recientemente; durante el 2008 y 2011 se reportó un aumento paulatino en las publicaciones, mientras que del 2012 en adelante se reportó un aumento significativo en las publicaciones relacionadas con este tema, lo cual indica un interés por un avance en las mejoras del proceso.

Como se puede observar en la Figura 2, conforme a la base de datos *Scopus* y la ecuación de búsqueda definida (TITLE-ABS-KEY(co-digestion of whey) AND PUBYEAR > 1973), hasta el momento se ha reportado la publicación de 33 documentos, los cuales están vinculados con la co-digestión anaerobia del lactosuero.

**Figura 2.** Fluctuación de las publicaciones sobre co-digestión del lactosuero.<sup>44</sup>



Sin embargo, el estudio de la co-digestión anaerobia (Co-DA) no se ha detenido, a medida que el tiempo ha pasado los estudios y análisis de mejora tanto de la producción de biogás como de viabilidad económica, han aumentado.<sup>45</sup> Los investigadores han empleado diferentes alternativas de mejora, entre las cuales se encuentra el uso de diferentes residuos agroindustriales como co-sustratos, siendo algunos de estos: los residuos de alimentos, cultivos energéticos, aceite de oliva, ensilaje de maíz, glicerina, levadura de cerveza, etc.<sup>46-50</sup>

El progreso y evolución de esta tecnología ha generado iniciativas y nuevas políticas a nivel gubernamental, un ejemplo de esto es la Unión Europea la cual exige que todos los estados miembros deben intensificar el uso de energías renovables y reducir las emisiones de metano no controladas.<sup>51,52</sup>

El interés por la Co-DA en las recientes investigaciones tienen el propósito de mejorar la digestión anaerobia aumentando la producción de biogás, gracias al equilibrio de nutrientes que logra la mezcla de estiércol junto con otra materia prima. Esta mezcla tiene la capacidad de amortiguar el exceso de nutrientes y nitrógeno permitiendo la conversión de carbono a gas metano.<sup>53</sup>

La co-digestión anaerobia del LS y el EB tiene lugar, por las características de cada residuo, y la forma como se complementan uno al otro. El alto contenido de

materia orgánica y la baja capacidad buffer del LS se traducen en una baja producción de biogás, contrario al EB donde la relación C/N es baja y su alto contenido de nitrógeno total, como amoníaco, puede inhibir procesos microbianos. Se ha demostrado que la Co-DA de LS y EB regula el pH del proceso mejorando la producción de biogás, dependiendo de la relación en la mezcla y del período de aclimatación.<sup>28</sup>

La aclimatación anaerobia del lodo (estiércol), según Gavala y Lyberatos, se define como el tiempo de adaptación de los microorganismos a un sustrato específico, permitiendo maximizar la degradación de carbohidratos, proteínas e intermediarios (ácidos propiónico, L-láctico y acético) presentes en el mismo.<sup>54</sup>

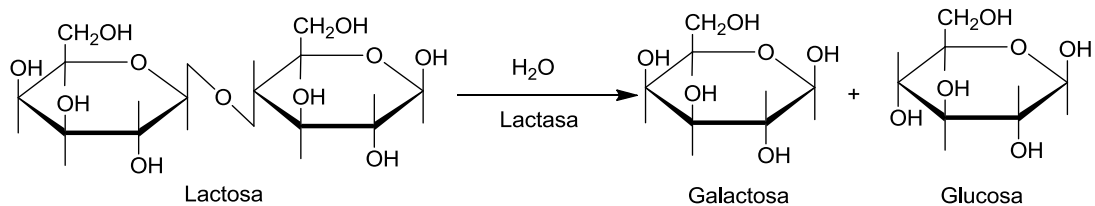
Wilson y colaboradores<sup>55</sup> establecieron que, debido al cambio en la composición del consorcio microbiano por la aclimatación, los efectos negativos como: niveles elevados de salinidad y amoníaco, disminuyen favoreciendo a una mayor velocidad en la etapa de hidrólisis.<sup>57</sup>

Cuando se realiza la adaptación del inoculo al sustrato se aumenta la cinética del proceso de degradación de la materia orgánica y por ende se tiene un mayor control del proceso.<sup>56</sup> En el caso del LS, la degradación de la lactosa acarrea la formación de: propioanato, etanol o acetato y la acumulación de estos productos intermediarios provoca la inhibición de algunos microorganismos; de ahí la importancia de la aclimatación, porque al aumentar la cinética del proceso se evita la acumulación de estos.<sup>57,58</sup>

Al igual que la DA, el conjunto de reacciones de la Co-DA se resume en cuatro etapas fundamentales: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, en las que el sustrato es degradado por diferentes tipos de microorganismos.

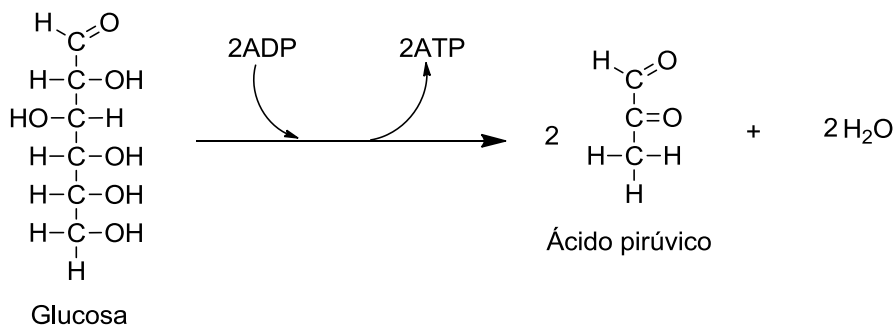
En la primera etapa los polímeros que componen la biomasa son degradados en aminoácidos, azúcares, alcoholes y ácidos grasos de bajo peso molecular (Esquema 2) para ser integrados a la glucólisis y demás procesos metabólicos de las bacterias acidogénicas o fermentativas. En este ciclo, la materia orgánica de la biomasa debe ser soluble para los microorganismos por lo cual segregan enzimas extracelulares que ayudan a disolverla. Gracias a la presencia de los microorganismos es posible no sólo proporcionar el sustrato al consorcio microbiano de la siguiente etapa, sino eliminar el oxígeno disuelto en la materia orgánica.<sup>59,53</sup>

**Esquema 2.** Reacción en la etapa de hidrólisis.<sup>60</sup>



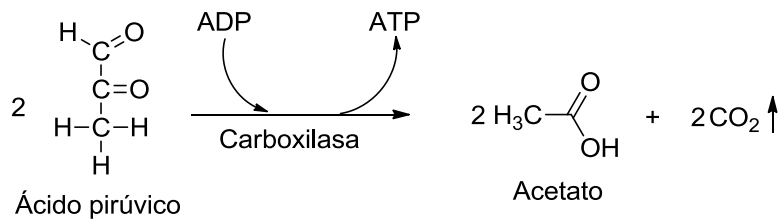
Los productos de la hidrólisis son sustratos de las bacterias fermentativas en la acidogénesis, convirtiendo monosacáridos en ácidos orgánicos: ácido pirúvico, ácido láctico, ácido propiónico y ácido valérico (Esquema 3).<sup>61</sup> El proceso tiene una cinética rápida a condiciones de pH bajo, pero una de sus limitantes es el exceso de hidrógeno que dificulta la degradación de la glucosa.<sup>53</sup>

**Esquema 3.** Reacción general de la etapa de acidogénesis.<sup>60</sup>



La etapa de acetogénesis permite oxidar el ácido pirúvico, de la anterior etapa, a acetato, CO<sub>2</sub> y H<sup>+</sup> (Esquema 4) para que la metanogénesis sea eficiente. Lo anterior se lleva a cabo por microorganismos acetógenos obligados a producir hidrógeno, por sus siglas en inglés OHPA (*Obligate Hydrogen Producing Acetogens*). Este tipo de reacciones se caracterizan por permitir un balance energético favorable, debido a las relaciones de cooperación entre los microorganismos.<sup>62</sup>

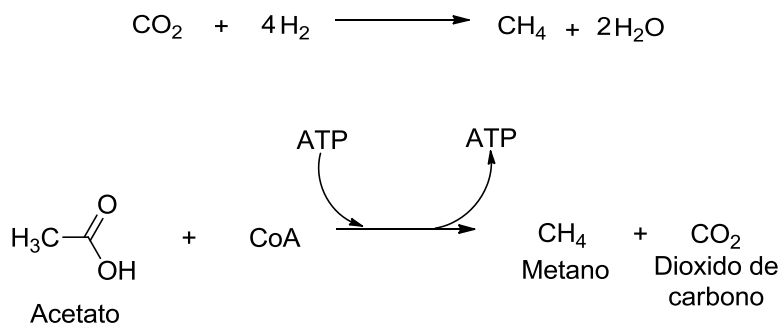
**Esquema 4.** Reacción general de la etapa de acetogénesis.<sup>60</sup>



En la metanogénesis, las bacterias metanogénicas (grupo *Archaea*) son las encargadas de transformar el ácido acético de etapas anteriores y convertirla en biogás, estos microorganismos producen metano de acuerdo al sustrato. Los hidrogenotróficos consumen hidrógeno y ácido fórmico; los acetoclásticos consumen grupos metilo de acetato, algunas aminas y metanol (Esquema 5). Cerca del 70% del metano producido tiene su origen en el ácido acético del sustrato y lo que resta es obtenido del dióxido de carbono y el ácido fórmico.

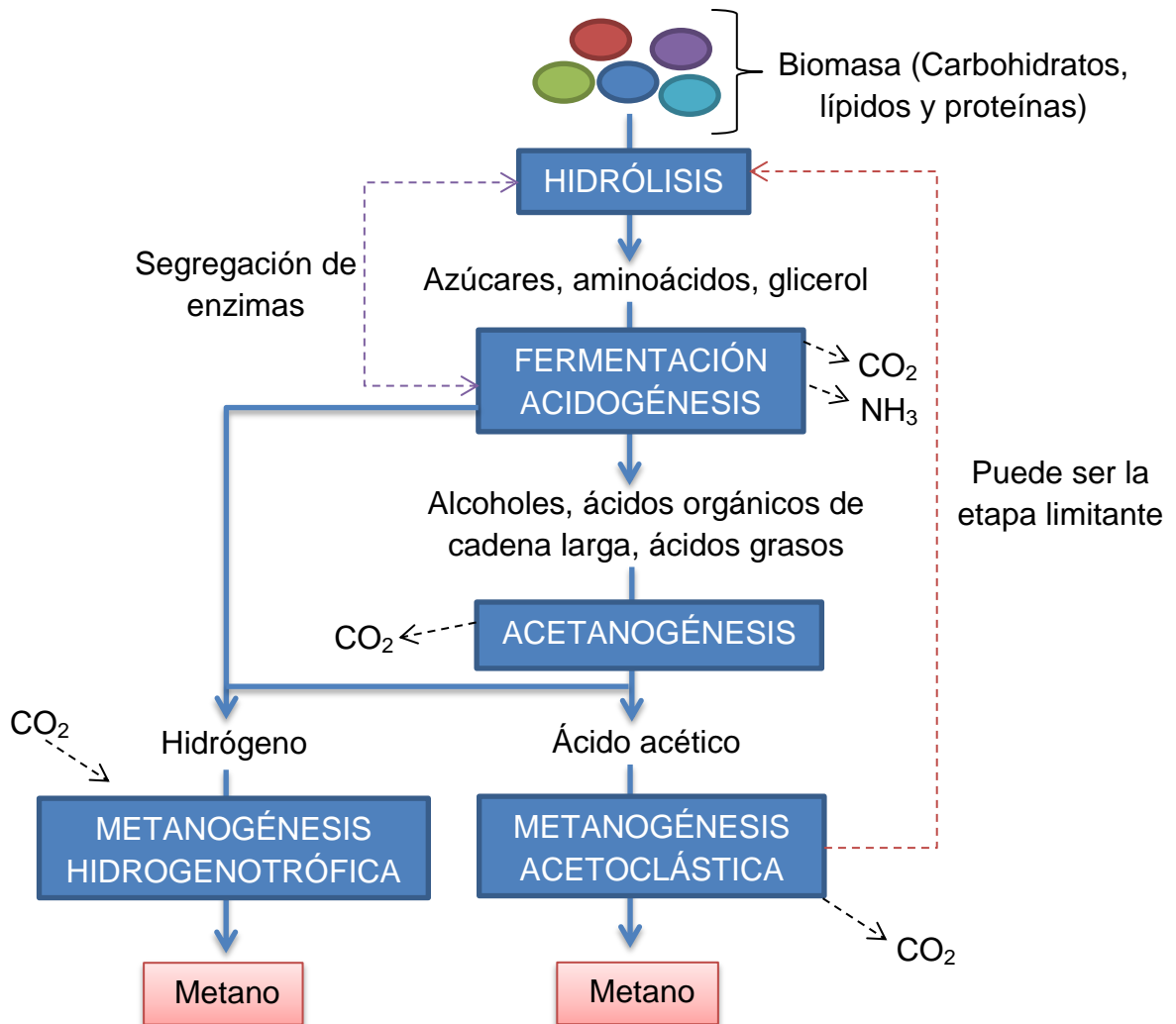
La estabilidad del proceso depende de la regeneración de los microorganismos, es decir, que deben tener las mejores condiciones para reproducirse; así, la concentración de sustancias intermedias, como el hidrógeno y el ácido acético, debe ser baja, de lo contrario la producción de metano disminuye al igual que se acidifica el medio.<sup>59</sup>

**Esquema 5.** Reacciones de la etapa de metanogénesis de acuerdo al sustrato.<sup>62</sup>



Una idea más clara de las etapas de la Co-DA se presenta en el Esquema 6, donde se interpreta de manera general la dinámica y la relación de una etapa con otra.

**Esquema 6.** Etapas de la co-digestión anaerobia.<sup>3</sup>



#### 4.3 ESTABILIZACIÓN DE LA BIOMASA RESIDUAL

La co-digestión es una alternativa eficiente en cuanto a degradación de materia orgánica, sin embargo, después de la Co-DA se genera un residuo, conocido como biomasa residual, la cual, puede ser aprovechada a nivel agrícola por su contenido de nutrientes (N, P, Na, K, entre otros), empleándolos de forma segura y eficiente evitando que sean vertidos al alcantarillado o aplicados en cualquier terreno sin previa estabilización.<sup>2,31</sup>

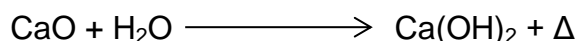
Con la finalidad de cerrar el ciclo de producción de queso o derivados de lácteos se han planteado varias técnicas para estabilizar la biomasa residual como: acondicionamiento químico, en el que usan sustancias coagulantes;

tratamiento térmico, donde se calienta el lodo a baja presión; deshidratación y secado que reúne diferentes tipos de filtración, secado en eras y centrifugación; filtración al vacío y filtración a presión; por último y no menos importante el ajuste de pH o estabilización alcalina en el que se emplean materiales alcalinos como: polvo de horno de cemento, polvo de horno de cal, cemento Portland, cenizas volantes, aunque se emplea comúnmente cal viva (CaO) o hidratada (Ca(OH)<sub>2</sub>). Al aplicar óxido de calcio sobre la biomasa residual se promueve la reducción de malos olores, agentes patógenos, movilidad de metales pesados y aumento de su valor agrícola, pues neutraliza suelos ácidos.<sup>63</sup>

Es indispensable que la mezcla biosólido/cal tenga un pH de 11-13 y la temperatura de la biomasa residual debe ser superior a 52 °C, para obtener una mejor esterilización.<sup>63</sup> Los avances tecnológicos realizados a la técnica incluyen la implementación de nuevas sustancias químicas y secado suplementario que aumentan la granularidad además del contenido del producto.<sup>30,32</sup>

La mejor opción de tratamiento para la investigación es la estabilización alcalina dado que no requiere ninguna inversión en equipos especiales, no exige instalaciones particulares, no hay consumo adicional de energía durante el proceso de estabilización microbiológica, sino que por el contrario se genera una reacción exotérmica por la presencia de agua en la biomasa residual (Esquema 7). Para este fin, lo necesario y más empleado es la cal u óxido de calcio (CaO), un insumo económico, natural que se encuentra comercialmente.<sup>2</sup>

**Esquema 7.** Reacción del óxido de calcio.<sup>64</sup>



La estabilización de la biomasa residual es necesaria para disminuir el contenido de microorganismos patógenos presentes en esta,<sup>30</sup> para evitar riesgos medioambientales y sanitarios que pueden generar presencia, acumulación y biomagnificación de metales (Zn, Cu, Cd, Pb, etc.), alteraciones ambientales por el grado de putrefacción y fitotoxicidad.<sup>33,65</sup>

Por lo anterior, se tiene una base o guía con las reglamentaciones de la EPA, reporte No. 530-R-99-009, en el cual, se establecen las condiciones a cumplir para la estabilización alcalina de la biomasa residual (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Parámetros a cumplir para la estabilización alcalina de la biomasa residual según la EPA.<sup>32</sup>

Parámetro	Valor	Tiempo
pH	≥ 12	Mínimo 2 h
Temperatura (°C)	52 °C	Aproximadamente 12 h

De este modo, empleando un método de estabilización adecuado se puede clasificar el biosólido según sus características microbiológicas (tipo A o B), determinando su uso, para ciertos tipos de cultivo, según la normatividad vigente.<sup>1,66</sup>

#### 4.4 CLASES DE BIOSÓLIDOS Y MARCO LEGAL PARA EL USO Y DISPOSICIÓN DE BIOSÓLIDOS

El biosólido es un residuo estabilizado que proviene del tratamiento de lodos con elevado contenido de materia orgánica, este se obtiene por procesos de digestión anaerobia.<sup>67</sup>

Para utilizar o aplicar los lodos resultantes de la digestión anaerobia como biosólidos es necesario tener presente la normatividad legal vigente. En Colombia se tiene la Norma Técnica Colombiana 5167 de 2004, que establece los requisitos que deben cumplir los productos orgánicos empleados como fertilizantes o abonos y enmiendas (Cuadro 2) y el decreto 1287, el cual fue publicado en Julio 10 de 2014, establece los parámetros a tener en cuenta para la categorización de los biosólidos (Cuadro 3).<sup>68</sup>

**Cuadro 2.** Parámetros a cumplir para clasificar productos orgánicos con fines agrícolas.<sup>66</sup>

Clasificación del producto	Parámetro	Valor
Abono orgánico mineral líquido	N total + P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> + K <sub>2</sub> O	Mínimo 40 g/L
	Riqueza máxima potasio (K <sub>2</sub> O)	50 g/L
	Elementos menores	Reportar en g/L
	Contenido de sodio (Na)	Reportar
	pH	Reportar

**Cuadro 3.** Parámetros microbiológicos para la categorización de los biosólidos.<sup>1</sup>

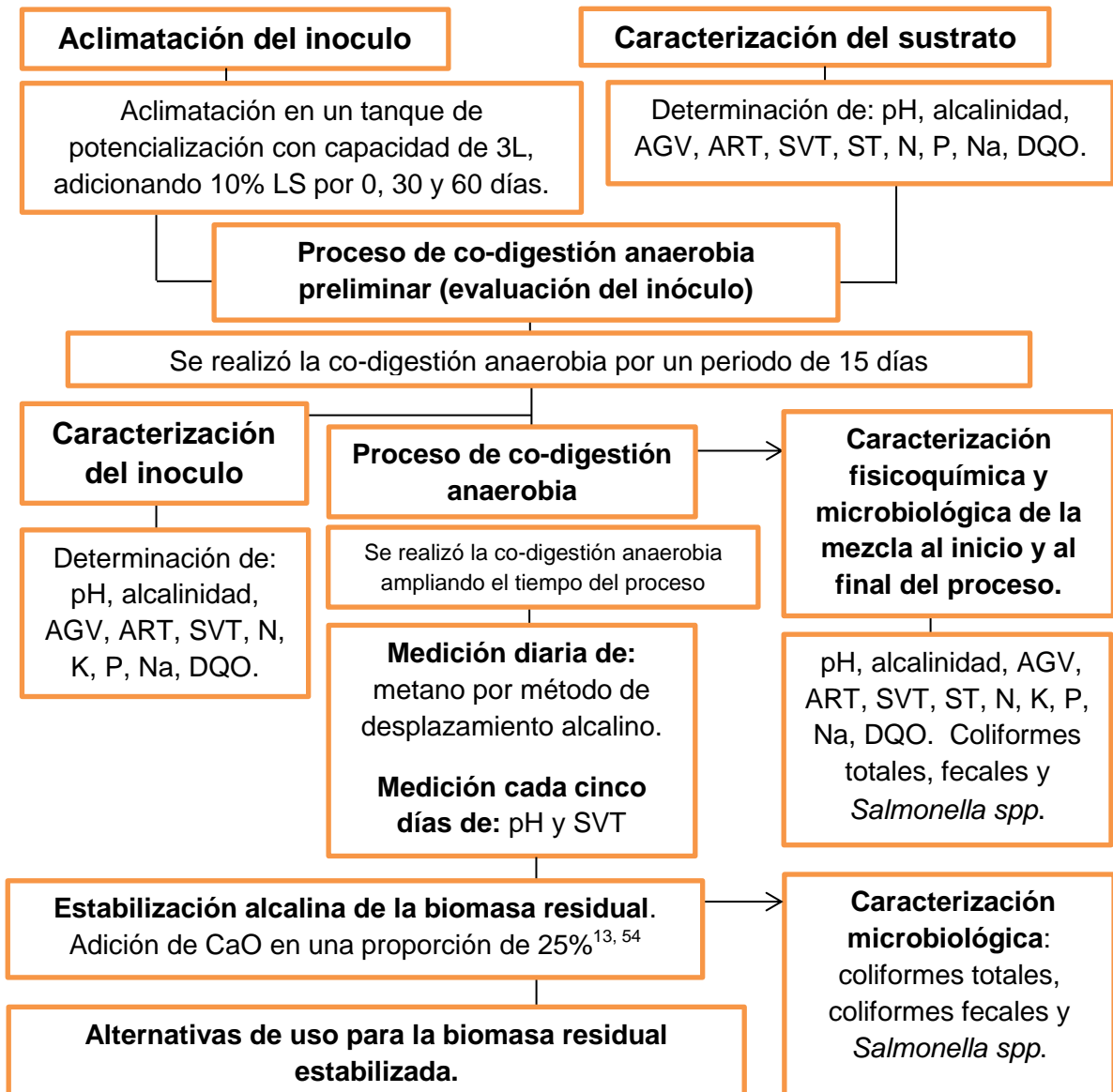
CRITERIO DE CALIDAD	PARÁMETRO	UNIDAD DE MEDIDA	CATEGORÍA BIOSÓLIDO		
			A	B	C
MICROBIOLÓGICOS	Coliformes Fecales	NMP/g de producto final (base seca)	< 1x10 <sup>3</sup>	< 2x10 <sup>6</sup>	Parámetros definidos para las categorías A ó B y que no son considerados como residuos peligrosos de acuerdo con la normativa ambiental vigente
	Huevos de Helmintos viables	Huevo Helminto viable/4 g de producto final (base seca)	< 1	–	
	<i>Salmonella spp.</i>	NMP/4 g de producto final (base seca)	< 3	–	

Es necesario verificar lo anterior para poder disponer del biosólido, bien sea preparándolo o aplicándolo, y ser distribuido. Para biosólidos tipo A no existe restricción para ser aplicados en jardines o usados en agricultura, siempre y cuando cumpla con lo mencionado. Por ningún motivo debe atraer vectores: ratas, moscas etc.<sup>32</sup> El biosólido tipo B es restringido para cultivos de consumo humano o animal, al igual que en zonas públicas a menos que se reduzca la cantidad de patógenos. Entre los procesos que generan biosólidos tipo B se encuentra la digestión anaerobia y aerobia, el compostaje, secado al aire y estabilización alcalina.<sup>69</sup>

## 5 DISEÑO METODOLÓGICO

El desarrollo de esta investigación se llevó a cabo en diferentes etapas: adaptación del inóculo, caracterización del sustrato y del inóculo, co-digestión anaerobia, del LS empleando EBA, estabilización microbiológica de la biomasa residual y alternativas de uso para esta. El esquema general de la metodología es presentado a continuación.

**Esquema 8.** Presentación general de la metodología.



FUENTE: las autoras

La siguiente descripción detalla los materiales, equipos, reactivos y condiciones empleadas para el desarrollo del proyecto.

## 5.1 MATERIALES Y MÉTODOS

Para el estudio del tratamiento de estabilización de biomasa residual procedente de la co-digestión anaerobia de estiércol bovino, usando como sustrato lactosuero fue necesario el uso de materiales, equipos de análisis, medición y caracterización, al igual que reactivos de grado analítico e industrial comercialmente disponibles. El LS empleado para el desarrollo del proyecto fue almacenado en recipientes de plástico con una capacidad de 3 L, fue conservado en una nevera a baja temperatura (8-10°C) y recolectado de la microempresa de lácteos Villa Aurora ubicada en el barrio San Francisco de Bucaramanga. El EB se tomó del tanque de aclimatación.

**5.1.1 Equipos de análisis, medición y caracterización.** Balanza analítica (Precysa XB 220, pesa 0,0001g-220g); espectrofotómetro UV-Vis (*Spectroquant Pharo 300*, Merck) con cubeta de cuarzo rectangular de 10 mm con capacidad de 3 mL (Merck); pHmetro electrónico digital (*Metrohm/Brinkmann 691*) espectrofotómetro UV-Vis (*Agilent Technologies*, 8453; *software online Agilent Technologies*) con cubeta de cuarzo rectangular de 10 mm con capacidad de 3 mL (*Agilent Technologies*); espectrómetro de absorción atómica (*Thermo Scientific*, 3000) con llama (ICE, 3000 series A.A. *Spectrometer*) y lámpara de cátodo hueco de sodio (*Thermo Scientific*, 8mA S74321), potasio (*Thermo Scientific*, 8mA, B78568); balanza analítica (OHAUS, Pioneer, N13123, pesa 0,0001g-210g); digestor Kjeldahl (*Büchi K-424*); Scrubber (*Büchi K-415*); destilador de nitrógeno (*Büchi K-355*); titulador automático (*Metrohm 776 dosimat*) con agitador; pipeta de émbolo (*transferpette BRAND*, 0,1 µL – 100 µL).

**5.1.2 Reactivos.** El reactivo **DNS (dinitrosalicílico)** empleado para la determinación de azúcares reductores totales, se obtuvo mezclando, con agitación constante, en 250 mL de agua destilada, 8 g de NaOH (Merck, ≥ 99, *Darmstadt, Alemania*) 150 g de KNaC<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>.4H<sub>2</sub>O (Carlo Erba, >99, *Rodano, Italia*) y 5 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico (Sigma Aldrich, San Luis, Estados Unidos) aforando a un volumen final de 500 mL.<sup>70</sup>

El reactivo de **ácido sulfúrico\*** empleado para la determinación de DQO, se obtuvo agregando cuidadosamente sulfato de plata a ácido sulfúrico concentrado, en una proporción 5,5 g AgSO<sub>4</sub>/0,5 L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.<sup>71</sup>

---

\* Reactivo suministrado por el laboratorio de suelos y aguas de la CDMB.

La **solución de sulfato ferroso de amonio** (FAS), empleado para la determinación de DQO, se obtuvo disolviendo en agua destilada 19,6 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Merck,  $\leq 100$ ), y se adicionó 4 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Al llegar a temperatura ambiente se aforó a 1000 mL con agua destilada.<sup>71</sup>

El **reactivo combinado**, empleado para la determinación de fósforo, se preparó mezclando los siguientes reactivos en orden y proporciones de la siguiente manera: 50 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5 N, 5 mL de solución tartrato de antimonio y potasio  $(\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O})$  (Merck, 99%), 15 mL de solución de molibdato de amonio  $((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O})$  (Carlo Erba, Rodano, Italia), 30 mL de solución de ácido ascórbico. Al adicionar cada reactivo se mezclaron vigorosamente.<sup>71</sup>

Para el **reactivo de digestión\*** empleado en la determinación de nitrógeno, se disolvieron 134 g de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (Carlo Erba, Rodano, Italia) y 11,4 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Carlo Erba, Rodano, Italia) en 800 mL de agua destilada. Cuidadosamente se agregaron 134 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Cuando llegó a temperatura ambiente, se diluyó la solución a un litro con agua destilada mezclando muy bien.<sup>71</sup>

La **solución de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$**  empleada para la determinación de DQO, fue preparada disolviendo 12,26 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (Carlo Erba, Rodano, Italia), secado durante 2 h a  $103^\circ\text{C}$ , en agua destilada y se diluyó a 1000 mL en un balón volumétrico

**Cuadro 4.** Lista de reactivos empleados en el desarrollo metodológico.

Compuesto	Casa comercial	Pureza (%)
$\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Tartrato sodio potasio)	Carlo Erba	>99
$\text{C}_7\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_7$ (Ácido 3,5-dinitrosalicílico)	Sigma Aldrich	-
NaOH (Hidróxido de sodio)	Merck	$\geq 99$
Solución estándar ácido clorhídrico (HCl) 0,1N	Merck	-
Solución estándar hidróxido de sodio (NaOH) 0,1N	Merck	-
Fenolftaleína	Merck	-
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (Dihidrógeno fosfato de potasio)	Carlo Erba	98
$\text{H}_2\text{SO}_4$ (Ácido sulfúrico)	Carlo Erba	96
$\text{AgSO}_4$ (Sulfato de plata)	-	-

\* Reactivo suministrado por el laboratorio de suelos y aguas de la CDMB.

**Cuadro 4.** (Continuación)

Compuesto	Casa comercial	Pureza (%)
$K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 3H_2O$ (Tartrato de antimonio y potasio trihidratado)	Merck	99
$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (Molibdato de amonio)	Carlo Erba	-
$C_6H_8O_6$ (Ácido ascórbico)	Carlo Erba	99
$K_2Cr_2O_7$ (Dicromato de potasio)	Carlo Erba	$\geq 99$
$HgSO_4$ (Sulfato de mercurio)	JTBaker	100
Solución indicadora de ferroina	HACH	-
$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ (Sulfato de amonio y Hierro II hexahidratado)	Merck	$\leq 100$
$HNO_3$ (Ácido nítrico)	Carlo Erba	65
Patrón de fósforo (P)	Merck	-
$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (Molibdato de amonio tetrahidratado)	Alfa Aesar	99
Patrón de sodio (Na)	Merck	-
Patrón de potasio (K)	AA Panreac	-
$K_2SO_4$ (Sulfato de potasio)	Carlo Erba	-
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (Sulfato de cobre pentahidratado)	Carlo Erba	98-102

FUENTE: Las autoras

**5.1.3 Otros.** Agua destilada; agua desionizada; espátula; microespátula; papel filtro; pipeteadores; pinzas; nueces; mangueras; vidrio reloj; plancha de calentamiento con agitación magnética y plato de cerámica (*Velp scientifica* F20510010); centrifuga de mesa refrigerada y microprocesada (Universal 320R, *Hettich Zentrifugen*, max. Vel. 15000 rpm); plancha de calentamiento con agitación plato en cerámica (*Exactitu*, temperatura 550 °C); horno convección natural (*Binder* ED 115, 9010-0164, temporizador integrado de 0 a 99 horas, temperatura ambiente hasta 300 °C); manta de calentamiento (E&Q, equipos y químicos M250); mufla análoga y digital (E&Q MD 2.2 50-1100 °C); estufa de esterilización (*Gemy Industrial Corp.* YCO-010 IN-010); nevera (*Haceb* AS 388 LT).

## 5.2 ACLIMATACIÓN DEL INÓCULO AL SUSTRATO

El estiércol bovino fue aclimatado con el fin de identificar el período óptimo de aclimatación. En el proceso se empleó un tanque con un volumen de tres litros, ubicado en las instalaciones del laboratorio de biotecnología de la UIS (Figura 14).<sup>57</sup>

Las condiciones de trabajo se presentan en el cuadro 5. Con base en los resultados obtenidos se establecieron los parámetros para la continuidad de este trabajo.

**Cuadro 5.** Condiciones de operación para la aclimatación del EB.

Condiciones de aclimatación del inóculo			
Parámetros	EB-0	EBA-30	EBA-60
Tiempo de aclimatación (días)	0	30	60
Relación inóculo/sustrato	90:10 % v/v		
Inóculo	EB (2,25 L)		
Sustrato	LS (0,25 L)		
Volumen del reactor	3 L		
Volumen de operación	2,5 L		
Temperatura promedio del reactor	39°C		
Agitación	Manual intermitente		

FUENTE: Las autoras

## 5.3 CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO

El LS, fue sometido a la determinación de los parámetros presentados a continuación, según manual de procedimientos de laboratorio de biotecnología<sup>70</sup> y métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales.<sup>71</sup> La medición de los parámetros fue realizada en las instalaciones del laboratorio de biotecnología de la UIS y en el de investigaciones de la USTA.

El principio y las reacciones correspondientes a los métodos que se describen a continuación se presentan en el Anexo 1.

**5.3.1 pH.** En tubos falcon se tomaron 10 mL de muestra y se realizó la lectura por triplicado en un potenciómetro.

**5.3.2 Sólidos totales (ST) y sólidos volátiles totales (SVT).** Se tomaron 20 mL de muestra en una cápsula de porcelana fondo redondo, previamente pesada ( $P_1$ ),

llevándola a baño maría hasta evaporación máxima de humedad, se trasladó a una estufa a 105°C por una hora y se llevó al desecador por una hora. Al llegar a temperatura ambiente la cápsula fue pesada ( $P_2$ ) y posteriormente llevada a una mufla a 550°C por una hora, fue transferida al desecador hasta temperatura ambiente y fue pesada ( $P_3$ ). El procedimiento se realizó por triplicado y los valores se calcularon con las Ecuaciones 3 y 4.<sup>70</sup>

$$ST = \frac{(P_2 - P_1) \times 1000}{\text{Volumen de muestra}} \left[ \frac{g}{L} \right] \quad (\text{Ecuación 3})$$

$$SVT = \frac{(P_2 - P_3) \times 1000}{\text{Volumen de muestra}} \left[ \frac{g}{L} \right] \quad (\text{Ecuación 4})$$

**Figura 3.** Determinación de sólidos totales y sólidos volátiles totales, equipo disponible en el laboratorio de biotecnología UIS.



FUENTE: Las autoras

**5.3.3 Demanda química de oxígeno (DQO).** Antes de iniciar, el material de vidrio se lavó con una solución de  $H_2SO_4$  al 10% para prevenir contaminación. En un balón de reflujo de 100 mL se depositaron 10 mL de muestra, 0,2 g de  $HgSO_4$  (JTBaker, 100, Center Valley, United States) y muy lentamente 5 mL de reactivo de ácido sulfúrico, agitando hasta disolverlo.

Se agregaron perlas de vidrio para regular la ebullición, se llevó a un baño de hielo para enfriar y se agregaron 5 mL de la solución de  $K_2Cr_2O_7$  mezclando

vigorosamente. El balón fue acoplado a un condensador y lentamente fueron agregados 10 mL más del reactivo de  $H_2SO_4$  (ver sección 5.1.2) a través del extremo superior del condensador, antes de suministrar calor se agitó la mezcla.

El montaje permaneció en reflujo por 2 horas; luego se dejó en reposo el montaje hasta alcanzar la temperatura ambiente y se lavó el condensador con 30 mL de agua destilada. Para titular el exceso de  $K_2Cr_2O_7$  con FAS (0,049 N) se adicionaron 3 gotas de indicador de ferroína, donde el punto final de la titulación fue el primer cambio de color azul-verdoso a café-rojizo. El anterior procedimiento se realizó por duplicado, donde el volumen de FAS usado para la titulación de la primera repetición fue de 18,5 mL y para la segunda de 16,8 mL y además 20,5 mL para el blanco de reactivos. Los cálculos se realizaron usando la Ecuación 5.<sup>71</sup>

$$DQO \text{ como } mg \ O_2/L = \frac{(A - B) \times N \times 8000}{mL \text{ de muestra}} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Dónde:

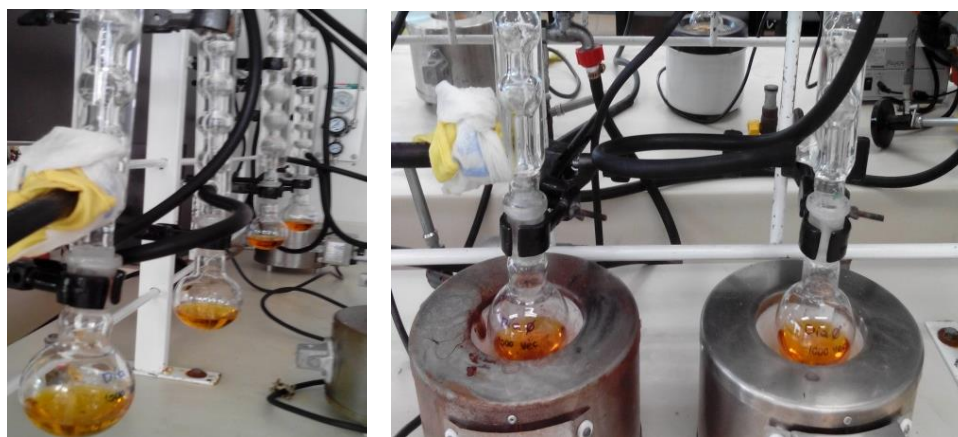
A = mL de FAS usados para el blanco

B = mL de FAS usados para la muestra

N = Normalidad del FAS

Para la determinación de la DQO, la muestra de LS fue diluida 1000 veces, es decir, se tomó 1 mL de LS y se aforó en un balón de 1000 mL con agua destilada.

**Figura 4.** Determinación de DQO por reflujo abierto, equipo disponible en el laboratorio de investigaciones de la USTA.



FUENTE: Las autoras

## 5.4 CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL LACTOSUERO USANDO ESTIÉRCOL BOVINO ACLIMATADO

Con el fin de determinar el período de tiempo de aclimatación óptimo, en relación con la producción de CH<sub>4</sub>, se realizó la co-digestión anaerobia con estiércol a 0, 30 y 60 días de aclimatación hasta evidenciar una diferencia significativa en esta producción.

## 5.5 CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO

El estiércol bovino aclimatado (EBA) fue caracterizado por la determinación de: pH, alcalinidad total, AGV, ART, ST, SVT, DQO, NTK, K, P y Na. El procedimiento para la determinación de ST, SVT y DQO se realizó como se menciona en el numeral 5.3, según manual de procedimientos de laboratorio de biotecnología<sup>70</sup> y métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales.<sup>71</sup>

El principio y las reacciones correspondientes a los métodos que se describen a continuación se presentan en el Anexo 1.

**5.5.1 pH.** En tubos falcon se tomaron 10 mL de EBA, se llevaron a la centrifuga a 5000 rpm por 30 minutos. Se extrajo el sobrenadante y se realizó la lectura por triplicado en un potenciómetro.

**5.5.2 Ácidos grasos volátiles (AGV)-alcalinidad.** Se tomaron 5 mL de muestra, que fueron adicionados a un vaso de precipitado, se agregaron 25 mL de agua destilada y se tituló con una solución de HCl 0,1N (Merck, *Darmstadt, Alemania*) hasta alcanzar pH de 6,5, de allí a 4,5 y finalmente a 3, se registró el volumen desplazado entre cada intervalo de pH. La muestra fue vertida a un balón fondo redondo adaptado a un condensador tipo rosario, se llevó a ebullición por 2 minutos, una vez retirado del montaje se llevó a un recipiente con hielo hasta temperatura ambiente, se transfirió a un vaso de precipitado y se tituló con una solución de NaOH al 0,1N (Merck, *Darmstadt, Alemania*) hasta alcanzar pH 6,5. El anterior procedimiento se realizó por triplicado, en la titulación se utilizó 2,4 mL de HCl y 0,6 mL de NaOH para la primera repetición, para la segunda repetición 2,6 mL HCl y 0,6 NaOH y para la tercera repetición 3 mL HCl y 0,7 NaOH. Con los datos obtenidos de la titulación se calculó la alcalinidad y los ácidos grasos volátiles por medio de las respectivas ecuaciones (ecuación 1 y 2).<sup>70</sup>

$$\text{Alcalinidad} = \frac{V_1 \times N_{HCl} \times 50000}{5 \text{ mL}} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$AGV = \frac{V_2 \times N_{NaOH} \times 60000}{5 \text{ mL}} \left[ \frac{mg}{L} \right] \quad (\text{Ecuación 2})$$

**5.5.3 Azúcares reductores totales (ART).** En tubos falcon se tomaron 5 mL de EBA, se llevaron a la centrifuga a 10000 rpm por 15 minutos. En tubos de ensayo con tapa rosca se tomaron del sobrenadante 200 µL de muestra, 200 µL de agua destilada y 400 µL de reactivo DNS, se llevaron a un baño de agua en ebullición por 5 minutos, después a un baño de hielo hasta temperatura ambiente y se agregaron 5 mL de agua destilada. En el espectrofotómetro UV-Vis se midió la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm,<sup>70</sup> lo anterior se realizó por triplicado.

La concentración de ART se calculó usando la curva de calibración realizada con un patrón de glucosa (D(+)-glucosa monohidrato) con un rango de concentración de 0.2-2 g/L, siendo esta curva la de mejor valor de coeficiente de correlación (R = 0,9979).

**Figura 5.** Determinación de azúcares reductores totales, disponible en el laboratorio de biotecnología UIS.



FUENTE: Las autoras

**5.5.4 Nitrógeno (NTK).** En tubos de digestión se depositaron 1 mL de muestra y 10 mL de reactivo de digestión, se ajustaron al equipo de digestión Kjeldahl (*Büchi* K-424) adaptado a un Scrubber (*Büchi* K-415), por 40 minutos a posición 8,5. Finalizado el tiempo se dejó enfriar los tubos hasta temperatura ambiente y se agregaron 30 mL de agua destilada, 10 mL de la solución hidróxido de sodio-sulfato y una gota de fenoltaleína. Se destiló un volumen de 50 mL de muestra

y 10 mL de solución indicadora de ácido bórico en destilador de nitrógeno (*Büchi K-355*). Por último se tituló con  $H_2SO_4$  0,02 N hasta un viraje lavanda pálido, en un titulador automático (*Metrohm 776 dosimat*) con agitador. El procedimiento se realizó por duplicado, donde se usó 4,12 mL de  $H_2SO_4$  0,02 N para la primera repetición, 4,27 mL para la segunda repetición y para el blanco de reactivos se usó 0,054 mL. Los cálculos se realizaron usando la Ecuación 6.<sup>71</sup>

$$mg NH_3 - N/L = \frac{(A - B) \times 280}{mL \text{ de muestra}} \quad (\text{Ecuación 6})$$

Dónde:

A = mL de  $H_2SO_4$  usados para la muestra

B = mL de  $H_2O_4$  usados para el blanco

**Figura 6.** Determinación de nitrógeno (NTK), equipo disponible en laboratorio de aguas y suelo de la CDMB. Digestor Kjeldahl (*Büchi K-424*); Scrubber (*Büchi K-415*); destilador de nitrógeno (*Büchi K-355*); titulador automático (*Metrohm 776 dosimat*) con agitador.

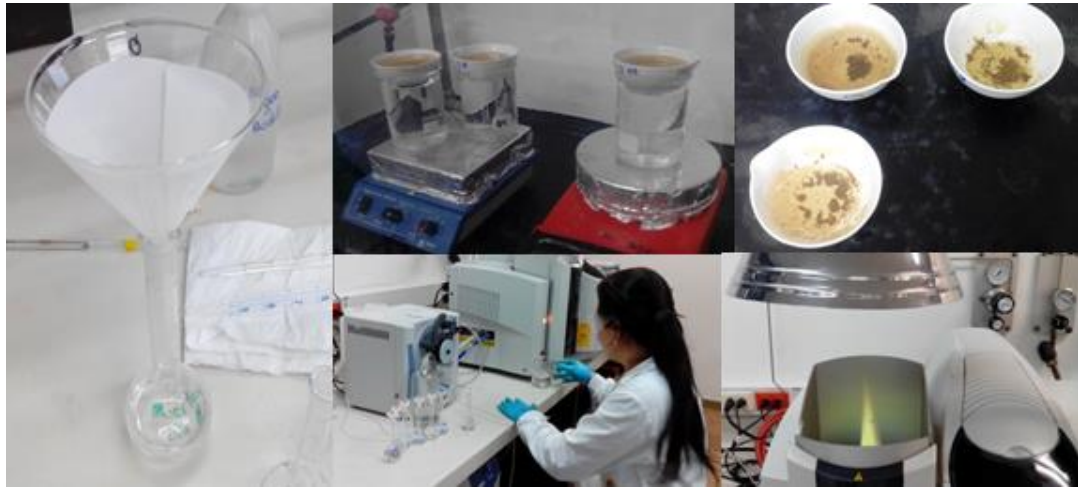


FUENTE: Las autoras

**5.5.5 Potasio (K):** en cápsulas de porcelana fondo redondo se depositaron 50 mL de muestra y se evaporó a sequedad en baño maría, se llevó a la mufla a 500 °C por 5 horas. La ceniza blanca obtenida se disolvió en 2 mL de  $H_2SO_4$  (96%) y 10 mL de agua caliente, luego se filtró y se aforó a un volumen de 50 mL. Lo obtenido de la filtración se llevó al espectrómetro de absorción atómica (emisión por llama y mezcla aire-acetileno) se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 766 nm. El anterior procedimiento se realizó por duplicado, además de un blanco de reactivos y la concentración de potasio se calculó usando la curva de

calibración con una rango de concentración de 0,1-4 mg/L, con un mejor valor de coeficiente de correlación ( $R = 0,9980$ ).<sup>71</sup>

**Figura 7.** Determinación de potasio, equipo disponible en el laboratorio de investigaciones USTA.



FUENTE: Las autoras

**5.5.6 Fósforo (P).** Se lavó el material con una solución de HCl (Carlo Erba, 37%, *Rodano, Italia*) al 10% antes de utilizarlo para evitar contaminación. En una capsula de porcelana fondo redondo se adicionaron 25 mL de muestra, 1 mL de  $H_2SO_4$  (96%) y 5 mL de  $HNO_3$  concentrado. En una vitrina extractora se ubicó la capsula de porcelana sobre una placa de calentamiento y se dejó en evaporación hasta obtener un volumen aproximado de 1 mL.

Al llegar a temperatura ambiente se adicionaron 5 mL de agua destilada, fue necesario neutralizar con 4 mL de una solución de NaOH 2,5 N utilizando dos gotas de fenolftaleína como indicador, hasta un tinte rosado en la solución. Se filtró la solución, para remover material particulado, se realizaron pequeños lavados de la cápsula y en balones volumétricos se aforó hasta 25 mL con agua destilada.

Posteriormente se transfirió la solución a vasos de precipitado y se adicionaron 2 mL de  $H_2SO_4$  5 N hasta que desapareció la coloración, enseguida se adicionaron 4 mL de reactivo combinado, mezclando y agitando vigorosamente. Después de 15 minutos pero antes de 30 min, en el espectrofotómetro UV-Vis se midió la absorbancia a una longitud de onda de 880 nm la muestra, por triplicado y además un blanco de reactivos.<sup>71</sup>

Para la determinación del P fue realizada una curva de calibración con un patrón de fósforo, en un rango de concentración de 0,05-1 mg/L. En la Figura 11 se muestra la curva con el mejor valor de coeficiente de correlación ( $R= 0,9998$ ).

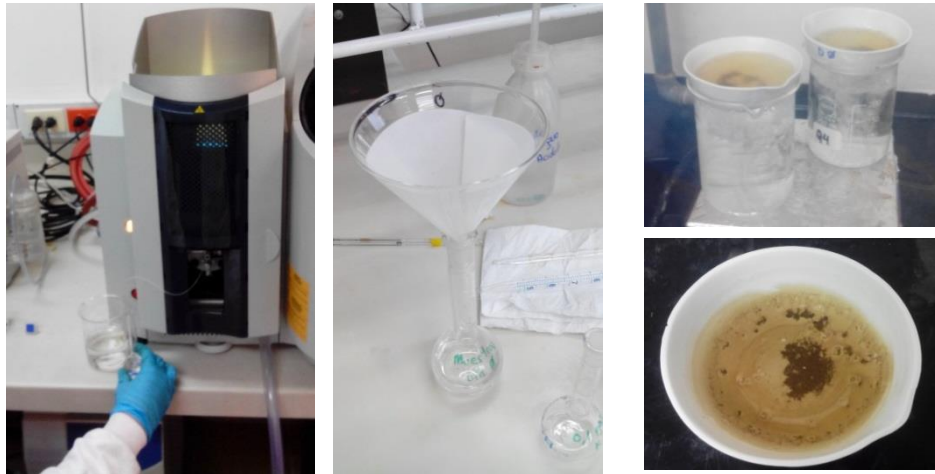
**Figura 8.** Determinación de fósforo.



FUENTE: Las autoras

**5.5.7 Sodio (Na).** En cápsulas de porcelana fondo redondo se depositaron 50 mL de muestra y se evaporó a sequedad en baño maría, se llevó a la mufla a 500 °C por 5 horas. La ceniza blanca obtenida se disolvió en 2 mL de  $H_2SO_4$  concentrado y 10 mL de agua caliente, la muestra fue filtrada y se aforó a un volumen de 50 mL. Se llevó al espectrómetro de absorción atómica (emisión por llama y mezcla aire-acetileno) y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 589 nm. El anterior procedimiento se realizó por duplicado, además de un blanco de reactivos. La concentración de sodio se calculó usando la curva de calibración con un mejor valor de coeficiente de correlación ( $R = 0,9978$ ), la cual se realizó con un rango de concentración de 01-1,2 mg/L.<sup>71</sup>

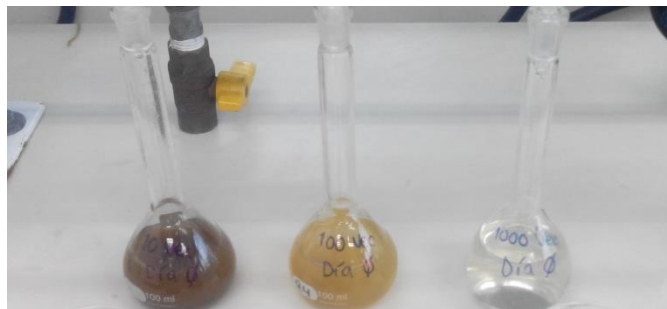
**Figura 9.** Determinación de sodio, equipo disponible en el laboratorio de investigaciones USTA.



FUENTE: Las autoras

Para la realización de la caracterización del inóculo, la muestra de EBA fue diluida 10, 100 y 1000 veces. Para la realización de estas diluciones se tomó 10 mL de EBA y se aforó en un balón de 100 mL con agua destilada, de esta dilución se tomaron 10 mL de muestra y se aforó en un balón de 100 mL con agua destilada y finalmente de esta última se tomaron 10 mL de muestra y se aforó en un balón de 100 mL con agua destilada nuevamente, como se muestra en la Figura 10. La dilución de 100 veces se usó para determinar sodio y potasio y la dilución de 1000 veces para la determinación de fósforo.

**Figura 10.** Dilución de la muestra analizada.



FUENTE: Las autoras

Para determinar nitrógeno, la muestra de EBA fue diluida 50 veces, 1 mL de EBA se aforó en un balón de 50 mL con agua destilada.

## 5.6 CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL LACTOSUERO USANDO ESTIÉRCOL BOVINO ACLIMATADO

La co-digestión anaerobia se realizó teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el numeral 5.2 y bajo las condiciones que se describen en el cuadro 6.

**Cuadro 6.** Condiciones de operación de la Co-DA.

Tipo de inóculo	EBA-60
Relación inóculo/sustrato	70:30 % v/v
Inóculo	EBA (24,5 mL)
Sustrato	LS (10,5 mL)
Volumen del reactor	50 mL
Volumen de operación	35 mL
Temperatura promedio del reactor	39°C
Tiempo de reacción	60 (días)
Agitación	Manual intermitente
Variable de respuesta	Volumen acumulado de metano (mL)

**5.6.1 Montaje de los biorreactores.** En botellas de vidrio con capacidad de 50 mL se agregó una cantidad de 35 mL de mezcla de estiércol bovino aclimatado (24,5 mL) y lactosuero (10,5 mL), con una relación 70:30 % v/v respectivamente, relación usada basados en experimentos previos.<sup>3</sup> Las botellas fueron selladas herméticamente para asegurar la condición anaerobia, posteriormente se mantuvieron en una incubadora a una temperatura de 39°C para asegurar la actividad microbiana, por un período de tiempo de 60 días.<sup>3</sup>

**Figura 11.** Biorreactores usados en la co-digestión anaerobia.



FUENTE: Las autoras

**5.6.2 Monitoreo del proceso de la co-digestión anaerobia (Co-DA).** Se realizaron monitoreos en cuatro momentos a lo largo de todo el proceso, al inicio se midió pH, ST, SVT, alcalinidad, AGV, ART, nitrógeno, fósforo, potasio, sodio, DQO, coliformes totales, coliformes fecales y *salmonella spp.* Cada 5 días se midió pH, ST y SVT. Todos los días se midió la producción de metano y al final se midieron los mismos parámetros que al inicio.

El procedimiento para la determinación de estos parámetros se encuentra descrito en los numerales 5.3 y 5.5. Los parámetros microbiológicos fueron realizados por el laboratorio SIAMA Ltda. como servicio técnico.

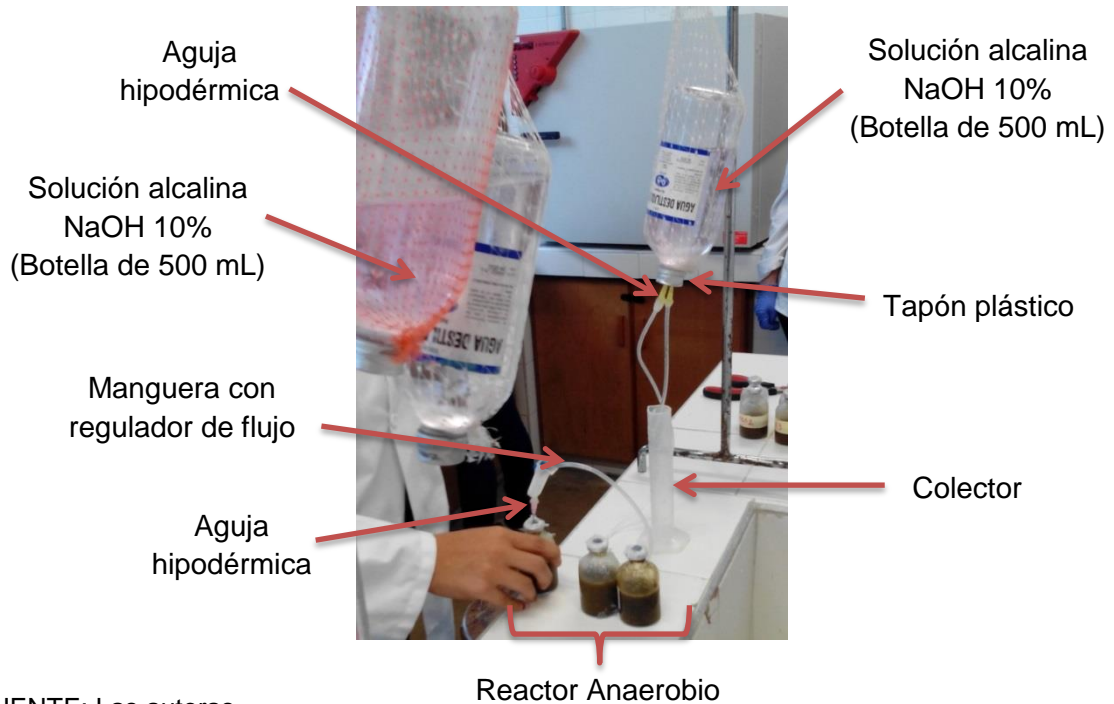
**5.6.2.1 Caracterización fisicoquímica y microbiológica al inicio de la Co-DA.**

Al inicio de la co-digestión anaerobia se realizó una caracterización fisicoquímica y microbiológica de la mezcla, para determinar el contenido de nutrientes y patógenos en su composición.

**5.6.2.2 Medición y cuantificación de pH y sólidos volátiles totales.** Estos dos parámetros se realizaron cada cinco días por triplicado según manual de protocolos usado en el laboratorio de biotecnología de la UIS. Estos procedimientos permitieron tener información acerca de la estabilidad y evolución del proceso.

**5.6.2.3 Medición de metano por método de desplazamiento alcalino.** Para este procedimiento se empleó un montaje, como se muestra en la Figura 12. Los reactores, con un volumen de 35 mL de mezcla (24,5 mL EBA y 10,5 mL LS) se conectaron individualmente al montaje por medio de mangueras de plástico y agujas hipodérmicas. El metano producido se burbujó en la solución alcalina, NaOH 10% p/v (se preparó un litro de solución alcalina con 100 g de NaOH, la cual se distribuyó en dos botellas con un volumen de 500 mL), que contenía fenolftaleína como indicador, allí se absorbió el CO<sub>2</sub> y el volumen del biogás desplazó cierto volumen de solución. El volumen recolectado en la probeta se asumió como biogás generado.<sup>75</sup> La producción de metano fue medida todos los días durante 60 días, según manual de protocolos usado en el laboratorio de biotecnología de la UIS.<sup>70</sup>

**Figura 12.** Montaje para medir metano por el método de desplazamiento alcalino.



FUENTE: Las autoras

**5.6.2.4 Caracterización fisicoquímica y microbiológica al final de la Co-DA.** Al cumplirse el período de tiempo establecido se midieron los mismos parámetros mencionados en la sección 5.3, estableciendo el contenido de nutrientes y patógenos en su composición según manual de protocolos usado en el laboratorio de biotecnología de la UIS y protocolos APHA.<sup>70, 71</sup>

## 5.7 ESTABILIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA BIOMASA RESIDUAL (ESTABILIZACIÓN ALCALINA)

**5.7.1 Adición de cal.** A la biomasa residual obtenida, 100 mL, después de la Co-DA se adicionó 24,2 g de cal viva (CaO), obtenida en una calera ubicada en el kilómetro 8 vía al mar, con el objeto de disminuir la humedad y los agentes patógenos presentes en esta. La dosis de cal que se aplicó, por recomendación de la literatura, fue de 25% (% p/v),<sup>14, 67</sup> esta se agitó vigorosamente para obtener una mezcla homogénea.

**Figura 13.** CaO utilizado en la estabilización alcalina de la biomasa residual al final del proceso de Co-DA.



FUENTE: Las autoras

### **5.7.2 Caracterización microbiológica de la biomasa residual estabilizada.**

Como parte final de la estabilización del biosólido se realizó una caracterización microbiológica determinando coliformes totales, coliformes fecales y *Salmonella spp.*, por medio de servicios técnicos prestados por el laboratorio SIAMA Ltda. corroborando así la disminución o eliminación de los agentes patógenos.

## **5.8 ALTERNATIVAS DE USO PARA LA BIOMASA RESIDUAL ESTABILIZADA**

Los resultados obtenidos en la caracterización fisicoquímica y microbiológica permitieron establecer la mejor alternativa de uso para la biomasa residual estabilizada, teniendo en cuenta la Norma Técnica Colombiana 5167, el Decreto 1287 de 2014 y documento reportado por la EPA No. 530-R-99-009 para la aplicación de acondicionadores y fertilizantes de suelo.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE ACLIMATACIÓN

Para la adaptación del lactosuero al estiércol bovino fue empleado un tanque de aclimatación (Figura 14), con volumen de operación de 2,5 L. La agitación de la mezcla se realizó todos los días para garantizar que la mezcla fuera homogénea.

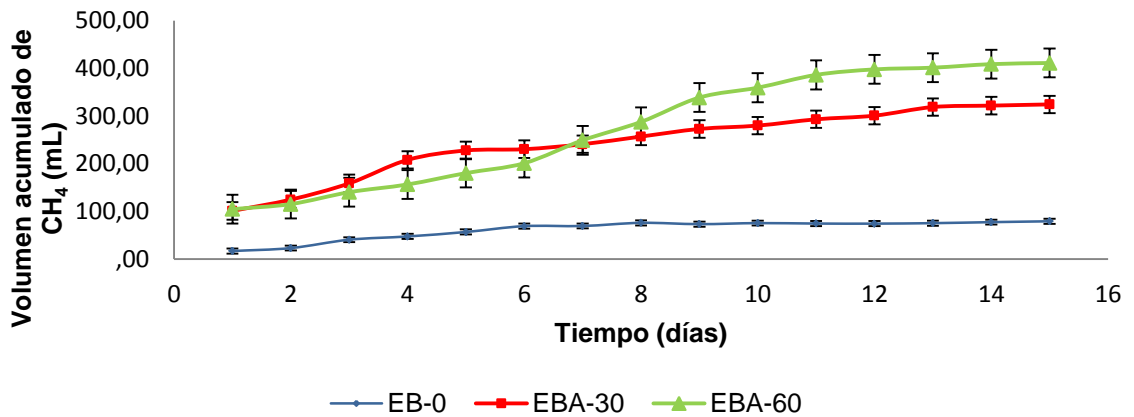
**Figura 14.** Tanque de aclimatación, disponible en el laboratorio de biotecnología de la UIS.



FUENTE: Las autoras

Con el fin de evaluar la efectividad de la aclimatación, los tres inóculos aclimatados se emplearon en el proceso de co-digestión anaerobia preliminar durante 15 días para su evaluación.

**Figura 15.** Producción de CH<sub>4</sub> según días de aclimatación.



FUENTE: las autoras

La Figura 15 representa gráficamente el comportamiento de los datos de la Tabla 1. En las tres condiciones evaluadas, las gráficas muestran un comportamiento creciente, donde se identifica, claramente, la mejora en la tasa de producción de metano al emplear en el proceso un inóculo previamente aclimatado al sustrato. De igual manera, las mediciones obtenidas evidencian, que al aumentar el tiempo de aclimatación del inóculo al sustrato, se favorece la producción de metano durante el proceso de co-digestión anaerobia.

Por su parte, los resultados obtenidos al emplear EBA-30 y EBA-60, indican que no hay diferencias importantes en la producción de metano durante este período. Sin embargo, a partir del día nueve las curvas se diferencian claramente, lo que permite asegurar que el comportamiento de la producción de metano empleando EBA-60, es mejor que al emplear EBA-30.

Resultados similares son obtenidos por Güngör-Demirci y Demirer en 2004, en cuanto a comportamiento del rendimiento en la producción de metano, bajo condiciones como: temperatura 35°C, relación inóculo sustrato 25:75, mezcla aclimatada a 0 días y 91 días, los cuales para la aclimatación a 0 días reportaron una producción de 186,3 mL gas/g DQO adicionado y para 90 días de aclimatación 242,8 mL gas/g DQO adicionado, indicando que con la aclimatación aumenta la producción de biogás en un 30%.

En nuestro caso el rendimiento en la producción de metano fue de 99,5 mL CH<sub>4</sub>/g DQO para EB-0; 406,8 mL CH<sub>4</sub>/g DQO para EBA-30 y 515,7 mL CH<sub>4</sub>/g DQO para EBA-60, lo cual muestra un comportamiento creciente en la producción de metano, reafirmando así que la aclimatación tiene un efecto positivo en el desarrollo del proceso de Co-DA.

**Tabla 1.** Proceso de Co-DA-evaluación del tiempo de aclimatación.

Tiempo (días)	EB-0		EBA-30		EBA-60	
	$\bar{x}$ (mL)	CV (%)	$\bar{x}$ (mL)	CV (%)	$\bar{x}$ (mL)	CV (%)
1	17,0 ± 1,6	9,4	101,1 ± 5,2	5,1	104,8 ± 0,5	0,5
2	23,2 ± 2,8	11,9	124,8 ± 9,0	7,2	115,4 ± 0,5	0,4
3	40,7 ± 2,8	6,8	158,8 ± 10,5	6,6	140,3 ± 1,9	1,4
4	47,5 ± 3,1	6,5	208,0 ± 8,9	4,3	156,5 ± 3,4	2,2
5	56,9 ± 3,3	5,9	227,7 ± 9,0	4,0	180,3 ± 2,9	1,6
6	69,1 ± 4,2	6,0	230,4 ± 8,5	3,7	201,1 ± 3,6	1,8
7	69,5 ± 3,2	4,6	240,8 ± 7,6	3,1	249,1 ± 3,2	1,3
8	76,1 ± 2,5	3,3	256,9 ± 6,9	2,7	287,6 ± 1,6	0,6
9	73,3 ± 5,2	7,1	272,8 ± 4,4	1,6	338,6 ± 7,7	2,3
10	75,5 ± 2,4	3,2	279,9 ± 4,1	1,5	359,3 ± 6,2	1,7
11	74,6 ± 2,7	3,7	293,0 ± 4,0	1,4	386,1 ± 6,7	1,7
12	74,4 ± 2,7	3,6	300,7 ± 3,9	1,3	397,6 ± 5,9	1,5
13	75,4 ± 3,3	4,4	318,7 ± 1,0	0,3	401,2 ± 6,9	1,7
14	77,5 ± 3,7	4,8	321,7 ± 1,3	0,4	408,6 ± 6,7	1,6
15	79,3 ± 3,9	4,9	324,2 ± 0,8	0,3	411,0 ± 7,1	1,7

FUENTE: las autoras

La totalidad de los resultados obtenidos presenta coeficientes de variación inferior o cercana al 10%, por lo cual todos los resultados fueron aceptados.

Con base en los resultados obtenidos se decidió continuar el estudio del proceso de Co-digestión utilizando EBA-60.

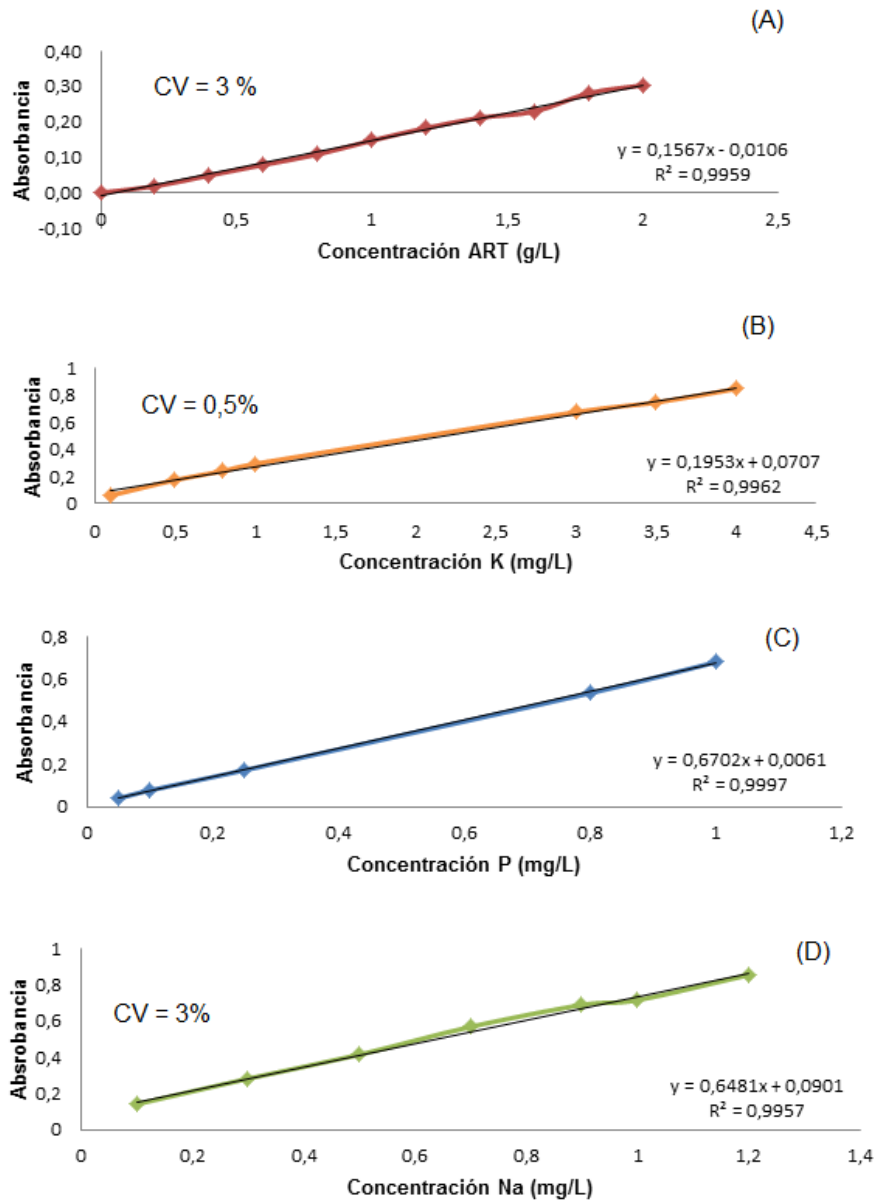
## 6.2 CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO Y SUSTRATO

La caracterización del inóculo y del sustrato requirió la determinación y cuantificación de azúcares reductores totales, potasio, fósforo y sodio, para los cuales fue necesario realizar las curvas de calibración correspondientes a los requerimientos de cada método.

Se presentan en la Figura 16 las curvas con un mejor coeficiente de correlación y con un porcentaje del coeficiente de variación menor al 10%, por lo tanto se aprueba su uso, estas se emplearon para la caracterización fisicoquímica del LS y del EBA.

\* Promedio volumen acumulado de CH<sub>4</sub>.

**Figura 16.** Curvas de calibración empleadas para la determinación de ART(A), potasio (B), fósforo (C) y sodio (D).



FUENTE: las autoras

En las Tablas 2 y 3 se presenta la caracterización fisicoquímica del lactosuero y del estiércol bovino aclimatado, respectivamente.

**Tabla 2.** Caracterización fisicoquímica del sustrato (LS).

Parámetros	Unidades	$\bar{x}$	CV (%)
DQO	g/L	75,9 ± 3,5	4,6
SVT	g/L	63,5 ± 1,0	1,6
ST	g/L	70,2 ± 0,4	0,6
pH	-	5,05	0,1
Alcalinidad	g/L	0	0
AGV	g/L	8,5 ± 0,2	2,9
ART	g/L	5,5 ± 0,4	8,1
Nitrógeno *	g N/L	2,3	-
Fósforo*	g P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /L	2,7	-
Sodio*	g Na/L	0,6	-

FUENTE: las autoras

**Tabla 3.** Caracterización fisicoquímica del inóculo (EBA).

Parámetros	Unidades	$\bar{x}$	CV (%)
DQO	g/L	54 ± 14,1	26,2
SVT	g/L	32,62 ± 5,7	17,5
ST	g/L	49,04 ± 9,3	18,9
pH	-	7,46	0,2
Alcalinidad	mg/L	2611 ± 29,4	14,3
AGV	g/L	0,7 ± 0,01	9,2
ART	g/L	2,19 ± 0,1	5,9
Nitrógeno NTK	g N/L	1,1 ± 28,9	2,5
Fósforo	g P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /L	1,08 ± 2,6	0,6
Potasio	g K <sub>2</sub> O/L	0,2 ± 11,9	5,7
Sodio	g Na/L	0,4 ± 8,4	1,9

FUENTE: las autoras

Las características que presenta el sustrato (LS) señalan la elevada carga orgánica que este contiene, reflejo de esto son los valores elevados de SVT, ST y DQO, lo cual indica que el LS es un gran contribuyente de carbono para la producción de metano en la co-digestión anaerobia, siendo esto una ventaja para el proceso.

Valores menores a 7 en el pH y cercanos a 0 en la alcalinidad (Tabla 2) ocasionan una limitante para el desarrollo del consorcio microbiano, encargado de degradar y transformar la materia orgánica en biogás, esto lleva a la acidificación del medio, pero es ahí donde el inóculo (estiércol bovino aclimatado, EBA) juega un papel

importante, porque que el estiércol tiene una capacidad de amortiguación de los declives súbitos de pH.

Lo anterior corresponde a lo mencionado por Luo y colaboradores, 2013 y Bezerra y colaboradores, 2009, quienes afirman que la mezcla entre estiércol bovino y lactosuero genera estabilidad en el proceso y un incremento en la producción de metano.<sup>74,75</sup>

Los parámetros de ART y AGT fueron medidos con el fin de identificar el aporte de estos en el desarrollo de las etapas de la co-digestión anaerobia, ya que como se muestra en los esquemas 3 y 4, la glucosa (azúcar reductor) es el sustrato para la producción de ácido pirúvico (ácido graso volátil), es decir, en la medida que se consume la glucosa se producen AGV, sustrato en la producción de acetato.

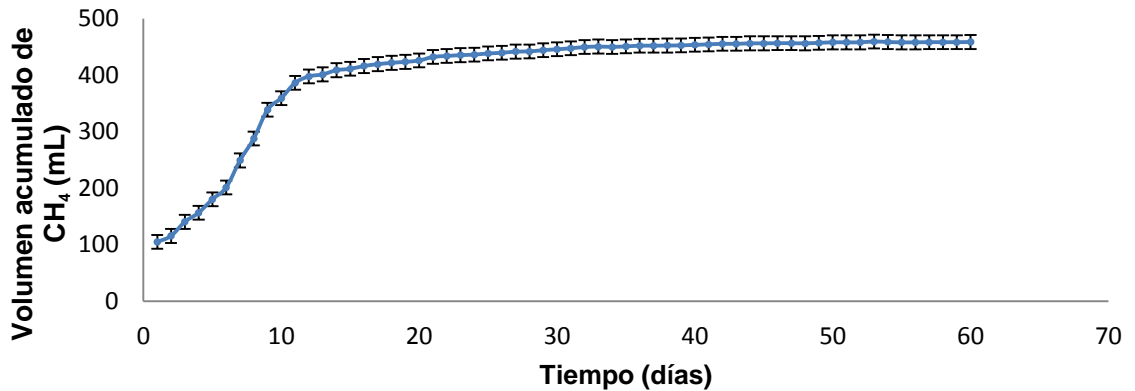
Por otro lado, los minerales (N, P, K y Na) se midieron con el fin de observar el aporte nutricional que el LS y el EBA hacen a la mezcla usada en la co-digestión anaerobia. Al comparar los resultados obtenidos en las Tablas 2 y 3, donde el aporte del valor nutricional es mayor por parte del lactosuero, esto posiblemente tiene relación con lo planteado por Carvalho y colaboradores en el 2013, donde se indica que el 55% del total de los nutrientes de la leche permanecen en el LS.

### **6.3 CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL LS**

La co-digestión anaerobia se llevó a cabo durante 60 días con el fin de evaluar la estabilización de la producción de CH<sub>4</sub>, es decir, determinar el período de tiempo en el que se alcanza la estabilización de la materia orgánica presente en el LS.

En la Figura 17 se muestra la producción del volumen acumulado de metano, con sus respectivas replicas, durante el tiempo de operación (60 días).

**Figura 17.** Producción de CH<sub>4</sub> durante el proceso de la Co-DA



FUENTE: las autoras

**Tabla 4.** Resultados de la producción de metano por el proceso de Co-DA.

Tiempo (días)	Vol. 1 (mL)	Vol. 2 (mL)	Vol. 3 (mL)	$\bar{x}$	CV (%)
1	103,6	104,5	106,3	104,8 ± 1,4	1,3
2	116	116	114,2	115,4 ± 1,0	0,9
3	141,8	141,8	137,4	140,3 ± 2,5	1,8
4	161,6	153,5	154,5	156,5 ± 4,4	2,8
5	183,8	171,3	185,6	180,2 ± 7,8	4,3
6	206,2	191,8	205,3	201,1 ± 8,1	4,0
7	253,5	241	252,6	249,0 ± 7,0	2,8
8	290,3	282,2	290,3	287,6 ± 4,7	1,6
9	347,2	338,4	330,3	338,6 ± 8,5	2,5
10	366,7	359,5	351,5	359,2 ± 7,6	2,1
11	395	385,1	378,1	386,1 ± 8,5	2,2
12	408,3	399,3	385,2	397,6 ± 11,6	2,9
13	414,6	401,1	387,8	401,2 ± 13,4	3,3

**Tabla 4.** (Continuación).

<b>Tiempo (días)</b>	<b>Vol. 1 (mL)</b>	<b>Vol. 2 (mL)</b>	<b>Vol. 3 (mL)</b>	$\bar{x}$	<b>CV (%)</b>
14	423,4	407,4	395	408,6 ± 14,2	3,5
15	427	409,2	396,8	411,0 ± 15,2	3,7
16	432,4	415,4	400,3	416,0 ± 16,1	3,9
17	435,9	419,8	402,1	419,3 ± 16,9	4,0
18	437,7	422,5	404,7	421,6 ± 16,5	3,9
19	440,3	424,2	405,6	423,4 ± 17,4	4,1
20	442,1	426	409,2	425,8 ± 16,5	3,9
21	448,3	432,2	415,4	432,0 ± 16,5	3,8
22	450,9	434	416,3	433,7 ± 17,3	4,0
23	452,7	434,9	418,1	435,2 ± 17,3	4,0
24	453,6	435,8	419	436,1 ± 17,3	4,0
25	456,3	438,5	419,9	438,2 ± 18,2	4,2
26	458	439,3	420,7	439,3 ± 18,7	4,2
27	459,9	441,1	423,4	441,5 ± 18,3	4,1
28	460,8	441,2	423,4	441,8 ± 18,7	4,2
29	462,5	443,7	426	444,1 ± 18,3	4,1
30	463,4	445,5	427,8	445,6 ± 17,8	4,0
31	465,2	447,3	429,6	447,4 ± 17,8	4,0
32	466,1	449,2	433,2	449,5 ± 16,5	3,7
33	467	450,1	434,2	450,4 ± 16,4	3,6
34	467	450	432,4	449,8 ± 17,3	3,8
35	467,9	451	433,3	450,7 ± 17,3	3,8
36	469,7	451,9	434,1	451,9 ± 17,8	3,9
37	469,7	451,9	434,2	451,9 ± 17,8	3,9
38	470,6	451,8	434,2	452,2 ± 18,2	4,0
39	470,6	451,8	435,1	452,5 ± 17,8	3,9
40	472,4	453,6	434,2	453,4 ± 19,1	4,2
41	473,3	454,6	435,1	454,3 ± 19,1	4,2
42	475,1	454,6	436	455,2 ± 19,6	4,3
43	476	455,4	434,2	455,2 ± 20,9	4,6
44	476,8	456,3	435,1	456,1 ± 20,9	4,6
45	476,8	456,4	435,1	456,1 ± 20,9	4,6
46	476,8	458,1	434,2	456,4 ± 21,4	4,7
47	476,8	458,1	434,3	456,4 ± 21,3	4,7
48	475,9	458,1	434,2	456,1 ± 20,9	4,6

**Tabla 4.** (Continuación).

<b>Tiempo (días)</b>	<b>Vol. 1 (mL)</b>	<b>Vol. 2 (mL)</b>	<b>Vol. 3 (mL)</b>	$\bar{x}$	<b>CV (%)</b>
48	475,9	458,1	434,2	456,1 ± 20,9	4,6
49	476,8	459	435,2	457,0 ± 20,9	4,6
50	478,6	459,9	435,1	457,9 ± 21,8	4,8
51	480,4	459,9	433,4	457,9 ± 23,6	5,1
52	480,4	459,9	433,3	457,9 ± 23,6	5,2
53	482,2	460,7	435,1	459,3 ± 23,6	5,1
54	481,3	459,9	434,2	458,5 ± 23,6	5,1
55	479,5	459,9	434,2	457,9 ± 22,7	5,0
56	479,5	459,9	434,2	457,9 ± 22,7	5,0
57	480,4	460,8	433,4	458,2 ± 23,6	5,2
58	480,4	460,8	433,3	458,2 ± 23,7	5,2
59	480,4	460,8	433,3	458,2 ± 23,7	5,2
60	481,3	461,7	432,4	458,5 ± 24,6	5,4

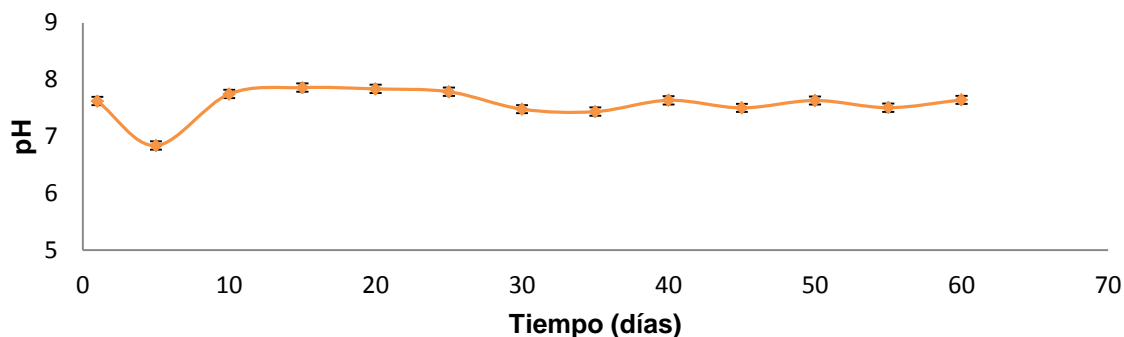
FUENTE: las autoras

Con lo reportado en la Tabla 4, se identificó la pertinencia de los resultados, debido a que los valores del CV son menores al 10%. En esta se observa un aumento significativo en la producción de CH<sub>4</sub> hasta el día 14, se podría afirmar entonces que a partir de ese día se estabilizó la generación del gas, aunque la mejor manera para definir un comportamiento estable, es calculando la pendiente de la gráfica y la relación con la gráfica de SVT, discusión que se realiza en el siguiente numeral.

**6.3.1 Monitoreo de la co-digestión anaerobia.** Con el fin de observar la estabilidad del proceso a lo largo de la Co-DA se midieron el pH, los SVT y la producción de metano. Estos parámetros permitieron identificar el progreso de la degradación de la materia orgánica, así como la permanencia y reproducción de los microorganismos.

El comportamiento en la producción de biogás se relaciona estrechamente con el pH, de allí la importancia de tomarlo como parámetro de control. En la Figura 18 se presentan los resultados obtenidos en la medición del pH durante el proceso de Co-DA.

**Figura 18.** Comportamiento del pH durante el proceso de la Co-DA.



FUENTE: las autoras

La medición del pH se realizó cada 5 días, los resultados presentados en la Figura 18 confirman un comportamiento constante, pues permaneció dentro de un rango de 6,8-7,8 durante todo el proceso, sin embargo, en el día 5 se presentó una disminución del pH, posiblemente por la alta producción de CH<sub>4</sub> durante estos primeros días, ya que hay mayor producción y acumulación de AGV que acidificaron levemente el medio, es allí donde actúa el EBA como amortiguador y regula el pH haciendo que el comportamiento se vuelva constante. Esto permitió asumir que el medio de crecimiento para los microorganismos fue aceptable.

**Tabla 5.** Resultados en la medición de pH durante el proceso de Co-DA.

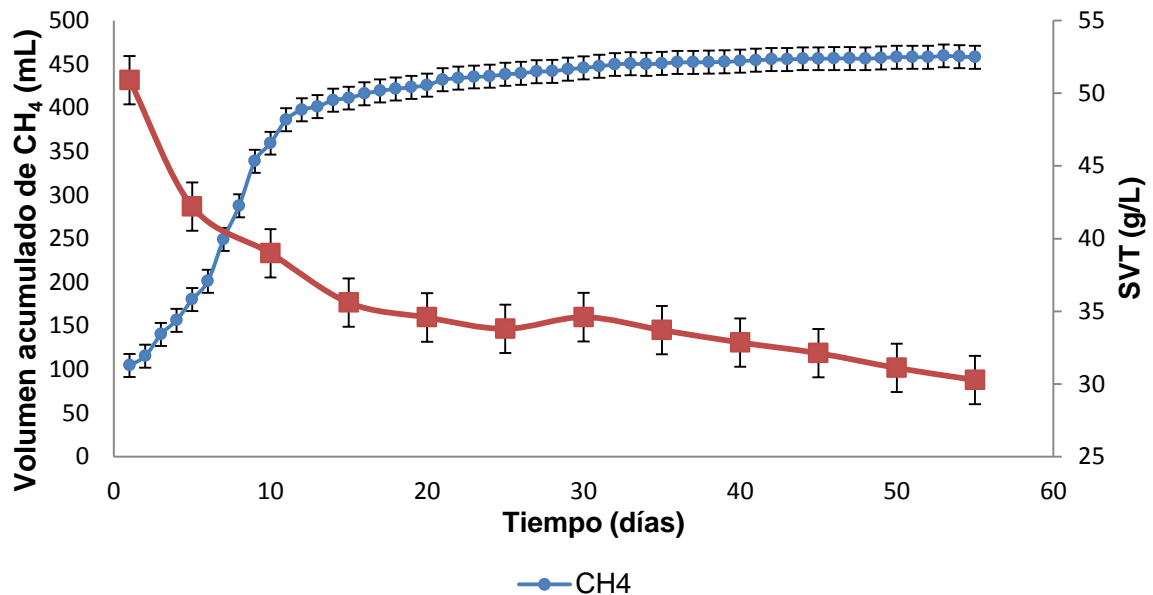
Tiempo (días)	Valor 1	Valor 2	Valor 3	$\bar{x}$	CV (%)
0	7,42	7,67	7,78	7,62 ± 0,18	2,42
5	6,96	6,69	6,87	6,84 ± 0,14	2,01
10	7,70	7,66	7,88	7,75 ± 0,12	1,51
15	7,91	7,83	7,84	7,86 ± 0,04	0,55
20	7,78	7,83	7,90	7,84 ± 0,06	0,77
25	7,75	7,82	7,79	7,79 ± 0,04	0,45
30	7,46	7,49	7,49	7,48 ± 0,02	0,23
35	7,42	7,43	7,46	7,44 ± 0,02	0,28
40	7,62	7,63	7,66	7,64 ± 0,02	0,27
45	7,47	7,52	7,52	7,50 ± 0,03	0,38
50	7,58	7,65	7,67	7,63 ± 0,05	0,62
55	7,54	7,47	7,51	7,51 ± 0,04	0,47
60	7,65	7,66	7,62	7,64 ± 0,02	0,27

FUENTE: las autoras

Según lo reportado por Zhang y colaboradores, 2010, y Pavlostathis y colaboradores, 1991, mantener el pH dentro del rango 6-8,5 mejora la solubilidad del sustrato y por lo tanto la etapa de hidrólisis se hace más rápida y efectiva, en esos valores específicos de pH el crecimiento de las bacterias aumenta, esto se puede observar en la Tabla 5, donde todos los datos se reportaron con su respectiva información estadística (DS,  $\bar{x}$ , CV), la cual asegura la aceptación de estos resultados.

Para indicar la estabilización del proceso, fue necesario comparar los SVT y la producción de CH<sub>4</sub>, como se muestra en la Figura 19. Esto se relaciona con el momento en el cual la materia orgánica del LS disminuye y la producción de biogás presenta menor variabilidad en sus resultados, con lo cual se puede establecer que la producción de CH<sub>4</sub> finaliza paralelamente a la estabilización de los SVT.

**Figura 19.** Producción de metano vs degradación de los SVT.



FUENTE: las autoras

En la Tabla 6 los sólidos volátiles totales presentan una tendencia a la disminución, a excepción del día 30 donde se presenta un aumento, debido a errores de medición. Los resultados indican el consumo de materia orgánica correspondiente al LS a lo largo del período de la Co-DA. La reducción de SVT, desde el primer hasta el último día, fue de un 34%; este porcentaje indica una degradación del 87% de los SVT correspondientes al LS.

**Tabla 6.** Valores de SVT obtenidos a lo largo del proceso de Co-DA.

Tiempo (días)	Valor 1 (g/L)	Valor 2 (g/L)	Valor 3 (g/L)	$\bar{x}$	CV (%)
1	48,38	50,90	44,57	47,95±3,19	6,65
5	38,43	41,41	42,21	40,68±1,99	4,90
10	38,23	40,25	38,49	38,99±1,10	2,82
15	33,98	35,60	34,01	34,53±0,93	2,68
20	34,58	35,97	35,63	35,39±0,72	2,05
25	34,40	33,80	34,18	34,13±0,30	0,89
30	35,77	35,34	34,60	35,24±0,59	1,68
35	34,19	33,71	33,88	33,93±0,24	0,72
40	34,81	36,84	32,86	34,83±1,99	5,71
45	30,93	31,82	33,61	32,12±1,36	4,25
50	31,75	30,57	31,01	31,11±0,60	1,92
55	31,34	32,97	30,28	31,53±1,36	4,30

FUENTE: las autoras

La estabilización en el proceso de Co-DA (estabilización de la materia orgánica), se corroboró calculando el valor de la pendiente menor a uno, para la gráfica de producción de CH<sub>4</sub> (Figura 19). Los valores de la pendiente, entre los días 40-50, fueron 0,78 indicando una producción constante.

Al comparar lo anterior con el porcentaje de coeficiente de variación entre los resultados, para la producción de CH<sub>4</sub> (0,21%) y SVT (1,61%), se determinó que a partir del día 45 el proceso de Co-DA se estabilizó.

### **6.3.2 Caracterización del lodo antes y después de la co-digestión anaerobia.**

Los resultados de la caracterización fisicoquímica y microbiológica del lodo (EBA + LS) se presenta en las Tablas 7, 8, 9 y 10. Al comparar los valores reportados en estas tablas, correspondientes a los SVT, ST, AGV y ART, hay una notable disminución, lo que indica la transformación de la materia orgánica en biogás. Lo anterior también se relaciona con la DQO, la cual disminuye considerablemente, con un porcentaje de reducción de 54%.

La alcalinidad, al igual que el pH, fue requerido como parámetro de control en el proceso de co-digestión. Este permitió conocer información sobre el consumo y formación de los ácidos grasos volátiles, porque cuando se producen más AGV de los que se consumen, el ion bicarbonato disminuye y el medio tiende a acidificarse. Según los resultados obtenidos (ver Tablas 7 y 9) estos dos parámetros se encuentran en un rango aceptable gracias al comportamiento del pH.

Para los nutrientes presentes en la mezcla (N, P, K y Na) el % de reducción fue del 6% y 11% aproximadamente, lo que indica una permanencia de estos durante el proceso de Co-DA. Estos resultados son una señal favorable para el aprovechamiento agrícola de la biomasa residual.

**Tabla 7.** Caracterización fisicoquímica antes de la Co-DA.

Parámetros	Unidades	Co-DA inicial	CV (%)
DQO	g/L	70 ± 8,5	12,1
SVT	g/L	47,95 ± 3,2	6,6
ST	g/L	65,98 ± 5,1	7,8
pH	-	8,07	0,0
Alcalinidad	mg/L	166 ± 9,79	5,9
AGV	g/L	2x10 <sup>-4</sup> ± 0,01	3,5
ART	g/L	9,83 ± 0,30	3,1
Nitrógeno NTK	g N/L	1,5 ± 0,01	0,7
Fósforo	g P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /L	1,09 ± 19,65	4,1
Potasio	g K <sub>2</sub> O/L	0,42 ± 6,34	2,0
Sodio	g Na/L	0,7 ± 0,001	0,2

FUENTE: las autoras

**Tabla 8.** Caracterización microbiológica antes de la Co-DA (Servicios técnicos prestados por el laboratorio SIAMA Ltda.).

Parámetros	Unidades	Co-DA inicial
Coliformes totales	NMP/g	2300
Coliformes fecales	NMP/g	2200
<i>Salmonella spp.</i>	Neg/25 g	-

**Tabla 9.** Caracterización fisicoquímica después de la Co-DA.

Parámetros	Unidades	Co-DA final	CV (%)
DQO	g/L	32 ± 5,7	17,7
SVT	g/L	31,53 ± 1,36	4,30
ST	g/L	56,27 ± 0,49	0,87
pH	-	7,87 ± 0,01	0,13
Alcalinidad	mg/L	323 ± 9,79	3,03
AGV	g/L	7x10 <sup>-5</sup> ± 0,01	9,17
ART	g/L	0,84 ± 0,04	4,96
Nitrógeno NTK	mg N/L	1,3 ± 0,0002	0,02

**Tabla 9.** (Continuación)

Parámetros	Unidades	Co-DA final	CV (%)
Fosforo	g P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /L	1,03 ± 22,27	4,93
Potasio	g K <sub>2</sub> O/L	0,37 ± 28,56	8,35
Sodio	g Na/L	0,7 ± 0,07	9,8

FUENTE: las autoras

**Tabla 10.** Caracterización microbiológica después de la Co-DA (Servicios técnicos prestados por el laboratorio SIAMA Ltda.).

Parámetros	Unidades	Co-DA final
Coliformes totales	NMP/g	2500
Coliformes fecales	NMP/g	1800
<i>Salmonella spp.</i>	Neg/25 g	-

#### 6.4 ESTABILIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA BIOMASA RESIDUAL

De acuerdo con lo establecido en la EPA No. 530-R-99-009 para conseguir una reducción significativa de microorganismos patógenos es necesario elevar el pH a valores superiores de 12 unidades por un período mínimo de 2 horas, una vez transcurrido este período se debe mantener un valor aproximado de 11 para el pH, por un rango de tiempo mínimo de 72 horas y a una temperatura de 52 °C por aproximadamente 12 horas.<sup>32</sup>

Atendiendo a lo anterior, la estabilización alcalina se realizó adicionando 24,2 g de CaO (25 %p/v) al lodo efluente de la Co-DA. La Tabla 11 muestra las condiciones alcanzadas durante la estabilización.

**Tabla 11.** Condiciones de la estabilización alcalina.

	pH		Temperatura
	$\bar{x}$	CV (%)	
1 h	12,26 ± 0,03	0,22	49
24 h	12,46 ± 0,02	0,14	28
48 h	12,57 ± 0,02	0,17	26
72 h	12,63 ± 0,01	0,12	26

FUENTE: las autoras

Luego de realizar el tratamiento alcalino se solicitó nuevamente el servicio técnico

de análisis microbiológico al laboratorio SIAMA Ltda. con el propósito de observar el porcentaje de disminución de los microorganismos patógenos.

**Tabla 12.** Análisis microbiológico de la mezcla al final de la Co-DA y después de la estabilización alcalina.

Parámetros	Unidades	Biomasa residual después de Co-DA	Biomasa residual estabilizada
Coliformes totales	NMP/g	2500	130
Coliformes fecales	NMP/g	1800	20
<i>Salmonella spp.</i>	Neg/25 g	-	-

FUENTE: SIAMA Ltda.

Al comparar los resultados presentados en la Tabla 12 se observa un porcentaje de reducción del 95% para coliformes totales y un 99% para coliformes fecales, lo cual indica la alta eficiencia de la estabilización alcalina. De acuerdo a lo planteado por Silva y colaboradores, 2013, esta reducción se justifica por la acción del pH sobre las estructuras bacterianas. La temperatura ideal para la inactivación (52 °C) no se alcanzó, posiblemente por el estado líquido de la biomasa residual (Figura 13), esto de acuerdo a lo reportado por autores como Silva,<sup>14</sup> Torres,<sup>2</sup> Wong,<sup>33</sup> Samaras<sup>63</sup> y colaboradores donde fue realizado un secado térmico o deshidratación antes de la estabilización alcalina.

## 6.5 ALTERNATIVAS DE USO PARA LA BIOMASA RESIDUAL ESTABILIZADA

Con base en el Decreto 1287, su posible clasificación, después de ser estabilizada, sería biosólido clase A. Al comparar lo obtenido con lo estipulado en el Decreto esta cumple con los requisitos para ser tipo A, de esta forma, el biosólido obtenido podría ser aplicado en cobertura de rellenos sanitarios, revegetación, jardines y cultivos de alimentos, es decir, que no presenta ninguna restricción para su uso.

Al relacionar los requisitos estipulados en la Norma Técnica Colombiana 5167 y las características de la biomasa residual obtenida (Tabla 11), no es posible una clasificación de este biosólido entre las clases de abonos o fertilizantes que allí se mencionan, debido a que no se cumple con ninguno de los valores de los parámetros a caracterizar exigidos en esta norma.

**Tabla 13.** Comparativo entre la Norma Técnica Colombiana 5167 y los resultados obtenidos.

Clasificación del producto	Parámetro	Valor	Resultados obtenidos
Abono orgánico mineral líquido	N total + P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> + K <sub>2</sub> O	Mínimo 40 g/L	2,75 g/L
	Riqueza máxima potasio (K <sub>2</sub> O)	50 g/L	0,37 g/L
	Elementos menores	Reportar en g/L	-
	Contenido de sodio (Na)	Reportar	0,7 g/L
	pH	Reportar	12,63

Sin embargo, teniendo en cuenta las características de la biomasa residual (Tabla 8) y las condiciones en las que fue estabilizada, esta puede usarse como acondicionador de suelo, puesto que puede mejorar la productividad de este, enmendar problemas de acidez y reparar balances nutricionales con el fin de obtener mejores rendimientos en su producción, esto según lo planteado por Blanco, 2011.<sup>76</sup> Por consiguiente esta es una alternativa viable para el tratamiento de lodos efluentes de digestión.

Otras ventajas de usar la biomasa residual como acondicionador de suelos son el reciclado de materia orgánica, uso de tecnología convencional y bajo consumo energético.

Con relación a las proporciones de nutrientes (N, P, K y Na) presentes en la biomasa residual es evidente el bajo contenido de estos, sin embargo Prazeres y colaboradores, 2013<sup>77</sup> emplearon su efluente, proveniente de digestión anaerobia de LS con características similares o inferiores a las reportadas en este proyecto, en cultivo de tomate, comprobando que aun teniendo baja capacidad de aporte nutricional y altas concentraciones de Na que el LS aporta a la biomasa residual, como se observa en la Tabla 8, es posible emplearlo como mejorador o acondicionador de suelo.

En resumen, las alternativas de uso del residuo de la co-digestión anaerobia entre el lactosuero y el estiércol bovino aclimatado, indican que es posible utilizar no sólo el subproducto generado de la elaboración de queso para producir energía, sino que también el residuo del proceso de co-digestión podría ser aprovechado en la producción de un mejorador de suelos. En este sentido, los resultados evidencian la utilización y estabilización de los residuos en los diferentes procesos estudiados.

## 7. CONCLUSIONES

- ✓ El tiempo de aclimatación del inóculo y la producción de biogás, dentro de los parámetros establecidos en el proyecto, tienen una relación directamente, es decir, al aumentar el tiempo de aclimatación del EB se aumenta también la producción de CH<sub>4</sub>, de esta manera el volumen de metano acumulado para EB-0, EBA-30 y EBA-60 días de aclimatación fue de 79,3 mL, 324,2 mL y 411 mL, respectivamente.
- ✓ Durante el proceso de co-digestión anaerobia se obtuvo una alta producción de metano, la cual, se ve reflejada con el rendimiento obtenido de 575,3 mL CH<sub>4</sub>/g DQO.
- ✓ La co-digestión anaerobia del LS realizada por un período de tiempo de 60 días evidenció la estabilización de la materia orgánica, esto se refleja en la reducción del 34% de los SVT, coherente con la adición de LS a la mezcla del proceso de Co-DA, dado que el aporte de SVT de este, es de un 39%. Lo anterior también se puede relacionar con la reducción de la DQO (54%) y la producción de metano.
- ✓ Con los parámetros fisicoquímicos analizados antes y después de la co-digestión anaerobia fue posible evidenciar que las concentraciones nutricionales aportadas por el LS y el EBA a la biomasa residual no presentan una reducción significativa durante este proceso.
- ✓ El encalado de la biomasa residual (25% p/v de CaO) permitió una adecuada estabilización microbiológica al reducir en un 95% los coliformes totales y en un 99% los coliformes fecales, por lo tanto se puede clasificar como biosólido tipo A.
- ✓ De acuerdo con las concentraciones nutricionales y propiedades microbiológicas de la biomasa residual, la mejor alternativa de uso de esta es como acondicionador de suelos ácidos con posibles fines como: cobertura de rellenos sanitarios, revegetación, uso en jardines y cultivos de alimentos.
- ✓ El aprovechamiento del LS en la co-digestión anaerobia es un proceso amigable con el ambiente, que permite su uso como fuente de energía alternativa y emplear el residuo, luego de su estabilización, como mejorador o acondicionador de suelos que contribuye así al cierre del ciclo de vida de estos residuos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Colombia. Ministerio de vivienda, ciudad y territorio. Decreto 1287 (10, Julio, 2014). Criterios para el uso de los biosólidos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales municipales. Bogotá. D.C.: El Ministerio, **2014**, pp 15.
2. Torres, P.; Madera, C.; Silva, J. “Eliminación de patógenos en biosólidos por estabilización alcalina”. En: *Acta Agronómica* **2009**, 58, 197-205.
3. Lozano, S.J. Estabilización de la materia orgánica presente en el lactosuero mediante el proceso de co-digestión anaerobia. Tesis Maestría, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia, **2013**, pp 47-52.
4. Real academia española. Diccionario de la lengua española (citado en Julio 15, 2014).
5. Parra, R.A. “Lactosuero: importancia en la industria de alimentos”. En: *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* **2009**, 62, 4967-4982.
6. Carvalho, F.; Prazeres, A.; Rivas, J. “Cheese whey wastewater: characterization and treatment”. En: *Science of the Total Environment* **2013**, 385-396.
7. Gelegenis, J.; Samarakou, M. “Use of detailed kinetics for the prediction of methane production rate in anaerobic digestion. Case study of whey/manure co-digestion”. En: *WSEAS Transactions on Systems* **2007**, 6, 499-506.
8. Prazeres, A.; Carvalho, F.; Rivas, J.; Patanita, M.; Dores, J. “Cheese whey management: a review”. En: *Journal of Environmental Management* **2012**, 110, 48-68.
9. Demirel, B.; Yenigun, O.; Onay, T. “Anaerobic treatment of dairy wastewaters: a review”. En: *Process Biochemistry* **2005**, 40, 2583-2595.
10. Comino, E.; Riggio, V.; Rosso, M. “Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey”. En: *Bioresource Technology* **2012**, 114, 46-53.
11. Nuchdang, S.; Phalakornkule, C. “Anaerobic digestion of glycerol and co-digestion of glycerol and pig manure”. En: *Journal of Environmental Management* **2012**, 101, 164-172.

12. Sánchez, M.; Gomez, X.; Barriocanal, G.; Cuetos, M.J.; Morán, A. "Assessment of the stability of livestock farm wastes treated by anaerobic digestion". En: *International Biodeterioration & Biodegradation* **2008**, 62, 421-426.
13. Shilton, A.; Powel, N.; Broughton, A.; Pratt, C.; Pepper C. "Enhanced biogas production using cow manure to stabilize co-digestion of whey and primary sludge". En: *Environmental Technology* **2013**, 34, 2491-2496.
14. Silva, J.; Bedoya, D.; Torres, P. "Efecto del secado térmico y el tratamiento alcalino en las características microbiológicas y químicas de biosólidos de planta de tratamiento de aguas residuales domésticas". En: *Química Nova* **2013**, 36, 207-214.
15. Kavacik, B.; Topaloglu, B. "Biogas production from co-digestion of a mixture of cheese whey and dairy manure". En: *Biomass and Bioenergy* **2010**, 34, 1321-1329.
16. Londoño, M.; Sepúlveda, J.; Hernández, M.; Parra, J. Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. En: *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* **2008**, 61, 4409-4421.
17. Jaramillo, A.R.; Areiza, A.M. Estudios de mercado: análisis del mercado de la leche y derivados lácteos en Colombia [en línea]. Colombia. Superintendencia de industria y comercio, **2012** (citado en Mayo 23, 2014).
18. Ministerio de Medio Ambiente. Formulación de planes de pretratamiento de efluentes industriales. Guía Ambiental. Programa Fortalecimiento Institucional para la Gestión Ambiental Urbana- FIGAU. Colombia: Fotolito América Ltda. **2002**. pp 44-45.
19. Malaspina, F.; Cellamare, C.; Stante, L.; Tilche, A. "Anaerobic treatment of cheese whey with a downflow-upflow hybrid reactor". En: *Bioresource Technology* **1996**, 95, 131-139.
20. Patel, C.; Madamwar, D. "Biomethanation of salty cheese whey an anaerobic rotating biological contact reactor". En: *Journal of Fermentation and Bioengineering* **1997**, 83, 502-504.
21. Stamatelatou, K.; Giantsiou, N.; Diamantis, V.; Alexandridis, C.; Alexandridis, A.; Aivasidis, A. "Anaerobic Digestion of cheese whey

wastewater through a two stage system". *3rd International Conference on Industrial and Hazardous Waste Management 2012*, 1-8.

22. Koutinas, A.; Papapostolou, H.; Dimitrellou, D.; Kopsahelis, N.; Katechaki, E.; Bekatorou, A.; Bosnea, L. "Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production". En: *Bioresource Technology* **2009**, 100, 3734-3739.
23. Kalyuzhnyi, S.; Perez, E.; Rodriguez, J. "Anaerobic treatment of high-strength cheese-whey wastewaters in laboratory and pilot UASB-Reactors". En: *Biosource Technology* **1997**, 60, 59-65.
24. Comino, E.; Riggio, V.; Rosso, M. "Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey". En: *Bioresource Technology* **2012**, 114, 46-53.
25. Nuchdang, S.; Phalakornkule, C. "Anaerobic digestion of glycerol and co-digestion of glycerol and pig manure". En: *Journal of Environmental Management* **2012**, 101, 164-172.
26. Estevez, M.; Sapci, Z.; Linjordet, R.; Schnürer, A.; Morken, J. "Semi-continuous anaerobic co-digestion of cow manure and steam-exploded *Salix* with recirculation of liquid digestate". En: *Journal of Environmental Management* **2014**, 136, 9-15.
27. Patel, P.; Desai, M.; Madamwar, D. "Biomethanation of cheese whey using anaerobic upflow fixed film reactor". En: *Journal of Fermentation and Bioengineering* **1995**, 79, 398-399.
28. Bertin, L.; Grilli, S.; Spagni, A.; Fava, F. "Innovative two-stage anaerobic process for effective codigestion of cheese whey and cattle manure". En: *Bioresource Technology* **2013**, 128, 779-783.
29. Parra, R. "Digestión anaerobia de lactosuero: efecto de altas cargas puntuales". En: *Revista Facultad Nacional Agronomía Medellín* **2010**, 63, 5385-5394.
30. Mosquera, J.; Martinez, B. Evaluación de la digestión anaerobia como alternativa de estabilización de biosólidos producidos en la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Tecnológica de Pereira. Trabajo de grado Tecnólogo Químico. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de tecnología, **2012**. pp 40-42.

31. Foster, T. Digestión anaerobia termofílica seca de residuos sólidos urbanos: estudio de las variables del proceso en el arranque y estabilización del bio-reactor. Tesis Doctoral en Ingeniería Química. España: Universidad de Cádiz. Departamento de ingeniería química, **2005**. pp 72-75.
32. EPA. Environmental Protection Agency. Biosolids generation, use, and disposal in the United States. Municipal and Industrial solid Waste Division. Estados Unidos, **1999**. pp 7-11.
33. Wong, J.; Selvam, A. "Reduction of indicator and pathogenic microorganisms in pig manure through fly ash and lime addition during alkaline stabilization". En: *Journal of Hazardous Materials* **2009**, 169, 882-889.
34. Frigon, J.; Breton, J.; Bruneau, T.; Moletta, R.; Guiot S. "The treatment of cheese whey wastewater by sequential anaerobic and aerobic steps in a single digester at pilot scale". En: *Bioresource Technology* **2009**, 100, 4156-4163.
35. Mockaitis, G.; Ratusznei, S.; Rodrigues, J.; Zaiat, M.; Foresti, E. "Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity". En: *Journal of Environmental Management* **2006**, 79, 198-206.
36. Vanguardia Liberal. Foto archivo Vanguardia Liberal. Publicada el 13 de Julio de 2012 (citado en Agosto 11,2014).
37. Panesar, P.S.; Kennedy, J.F.; Gandhi, D.N.; Bunko, K. "Bioutilisation of whey for lactic acid production". En: *Food Chemistry* **2007**, 105, 1-14.
38. Gannoun, H.; Khelifi, E.; Bouallagui, H.; Touhami, Y.; Hamdi, M. "Ecological clarification of cheese whey prior to anaerobic digestion in upflow anaerobic filter". En: *Bioresource Technology* **2008**, 99, 6105-6111.
39. Chen, Y.; Cheng, J.; Creamer, K. "Inhibition of anaerobic digestion process: A review". En: *Bioresource Technology* **2008**, 99, 4044-4064.
40. Sowards, J.; Holder, A. "Disposal of dairy whey by two stage biological treatment. I. Kinetic studies of the aerobic stage". En: *Water Research* **1975**, 9, 409-416.

41. Kelleher, B.; Leahy, J.J.; Henihan, A.M.; O'Dwyer, T.F. "Advances in poultry litter disposal technology-a review". En: *Bioresource Technology* **2002**, *83*, 27-36.
42. El-Mashad, H.; Zhang, R. "Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste". En: *Bioresource Technology* **2010**, *101*, 4021-4028.
43. Gelegenis, J.; Georgakakis, D.; Angelidaki, I.; Mavris, V. "Optimization of biogas production by co-digestion whey with diluted poultry manure". En: *Renewable Energy* **2007**, *32*, 2147-2160.
44. Ecuación de búsqueda usada. (TITLE-ABS-KEY(co-digestion of whey) AND PUBYEAR > 1973). Búsqueda realizada el 25 de Abril de 2014, en la base de datos *Scopus* (Elsevier B.V. 2014).
45. Labatut, R.A.; Scott, N.R. Experimental and predicted methane yields from the anaerobic co-digestion of animal manure with complex organic substrates. *ASABE Annual Meeting Paper*, Providence, Rhode Island, Junio 29-Julio 2, **2008**, pp 1-15.
46. Azbar, N.; Keskin, T.; Yuruyen, A. "Enhancement of biogas production from olive mill effluent (OME) by co-digestion". En: *Biomass and Bioenergy* **2008**, *32*, 1195-1201.
47. Spajjic, R.; Burns, R.T.; Moody, L.; Kralik, D.; Poznic, V.; Bishop, G. "Anaerobic digestion of swine manures with different types of food industry waste". En: *American Society of Agricultural and Biological Engineers* **2009**, *10*, 6137-6149.
48. Kacprzak, A.; Krzystek, L.; Ledakowicz, S. "Co-digestion of agricultural and industrial wastes". En: *Chemical papers* **2010**, *64*, 127-131.
49. Hidalgo, D.; Sastre, E.; Gómez, M.; Nieto, P. "Evaluation of pre-treatment processes for increasing biodegradability of agro-food wastes". En: *Environmental Technology* **2012**, *33*, 497-503.
50. Yamashiro, T.; Lateef, S.; Ying, C.; Beneragama, N.; Lukic, M.; Masahiro, I.; Ihara, I.; Nishida, T.; Umetsu, K. "Anaerobic co-digestion of dairy cow manure and high concentrated food processing waste". En: *Journal of Materials Cycles and Waste Management* **2013**, *15*, 539-547.

51. Kacprzak, A; Krzystek, L; Stanislaw, L. "Anaerobic co-digestion of agricultural products and industrial wastes". En: *Environment Protection Engineering* 2009, 35, 215-224.
52. Kacprzak, A; Krzystek, L; Pazdzior, K; Ledakowicz, S. "Investigation of kinetics of anaerobic digestion of canary grass". En: *Chemical Papers* 2012, 66, 550-555.
53. Orozco, J.A. *Bioenergía de aguas residuales: teoría y diseño*. Asociación Colombiana de ingeniería sanitaria y ambiental: Colombia, **2005**, pp 97-99.
54. Gavala, H.; Lyberatos G. "Influence of anaerobic culture acclimation on the degradation kinetics of various substrates". En: *Biotechnology and Bioengineering* 2001, 74, 181-195.
55. Wilson, L.; Loetscher, L.; Sharvelle, S.; De Long, S. "Microbial community acclimation enhances waste hydrolysis rates under elevated ammonia and salinity conditions". En: *Bioresource Technology* 2013, 146, 15-22.
56. Pavlostathis, S.G.; Giraldo, G.E. "Kinetics of anaerobic treatment". En: *Water Science Technology* 1991, 24, 35-59.
57. Perle, M.; Kimchie, S.; Shelef, G. "Some biochemical aspects of the anaerobic degradation of dairy wastewater". En: *Water Research* 1995, 29, 1549-1554.
58. Vidal, G.; Carvalho, A.; Méndez, R.; Lema, J.M. "Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters". En: *Bioresource technology* 2000, 74, 231-239.
59. Blanco, C.D. Tratamiento biológico aerobio-anaerobio-aerobio de residuos ganaderos para la obtención de biogás y compost. Tesis doctorado. Universidad de León, España, **2011**, pp 9-20.
60. Badui, D.S. *Química de los alimentos*; Pearson Educación: México, 2006; cuarta edición, pp 495, 608.
61. Escalante, H.; Guzmán, C.; Ortiz, C. *Biogás a partir de bagazo de fique*; Ediciones Universidad Industrial de Santander: Colombia, **2012**; pp 39.
62. Díaz, M.C.; Espitia, S.E.; Molina, F. *Microbiología de la digestión anaerobia. Digestión anaerobia: una aproximación a la tecnología*, 1; Universidad nacional de Colombia: Bogotá, **2002**; pp 43-59.

63. Samaras, P.; Papadimitriou, C.A.; Haritou, I; zouboulis, A.I. "Investigation of sewage sludge stabilization potential by the addition of fly ash and lime". En: *Journal of Hazardous Materials* 2008, 154, 1052-1059.
64. Calfina S.A. Proceso de la cal (citado en Agosto 11,2014).
65. Sánchez, M.; Gomez, X.; Barriocanal, G.; Cuetos, M.J.; Morán, A. "Assessment of the stability of livestock farm wastes treated by anaerobic digestion". En: *International Biodeterioration and Biodegradation* 2008, 62, 421-426.
66. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Productos para la industria agrícola, productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas de suelo. NTC 5167. Segunda actualización. Bogotá, Colombia: **2011**. pp 2-3.
67. Quinchía A.M., Carmona D.M. "Factibilidad de disposición de los biosólidos en una planta de tratamiento de aguas residuales combinada". En: *Revista EIA* 2004, 2, 89-108.
68. Vélez, J.A. "Los biosólidos: ¿una solución o un problema?". En: *Producción + Limpia*. 2007, 2, 57-71.
69. Jiménez, B.E. Procesamiento de los residuos sólidos. *La contaminación ambiental en México: Causas, efectos y tecnología apropiada*. LIMUSA: México, **2001**, pp 305-306.
70. Manual de métodos. Laboratorio de biotecnología ambiental. Escuela ingeniería bioquímica. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Chile **2009**, pp 16-18, 26, 33.
71. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. Díaz de Santos: España, **2009**; pp 3-12, 3-142, 3-166, 4-163. 4-199.
72. Zhang, X. Anaerobic Co-digestion of municipal primary sludge and whey. Master dissertation, Massey University, Palmerston North, New Zealand, **2010**, pp 12-27.
73. Quintero, M.C.; Rondón, Y.P. Estudio preliminar de la producción de biogás a partir de la digestión anaerobia del mucilago de café utilizando lodo

estiércol de cerdo como inoculo. Tesis ingeniero químico, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia, **2012**, pp 22-25.

74. Luo, G.; Angelidaki, I. "Co-digestion of manure and whey for in situ biogas upgrading by the addition of H<sub>2</sub>: process performance and microbial insights". En: *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2013**, 97, 1373-1381.
75. Bezerra, R.A.; Rodrigues, J.A.; Ratusznei, S.M.; Zaiat, M.; Foresti, E. "Effects of feed time, organic loading and shock loads in anaerobic whey treatment by an AnSBBR with circulation". En: *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2009**, 157, 140-158.
76. Blanco, J.O. Acondicionadores y mejoradores del suelo. Ministerio de agricultura y desarrollo rural programa nacional de transferencia de tecnología agropecuaria – pronatta. (citado en Agosto 13, 2014).
77. Prazeres, A. R., Carvalho, F., Rivas, J., Patanita, M., & Dores, J. "Pretreated cheese whey wastewater management by agricultural reuse: Chemical characterization and response of tomato plants *Lycopersicon esculentum Mill.* under salinity conditions". En: *Science of the Total Environment* **2013**, 943-951.
78. Walton, H.F.; Reyes, J. Análisis químico instrumental moderno. Reverté: España, 2005; pp 251.

## ANEXOS

**Anexo 1.** Principios y reacciones generales de los métodos usados en la caracterización fisicoquímica.

- **SVT.** Empleando este método se permite calcular aproximadamente la cantidad de materia orgánica presente en la fracción sólida de la mezcla.<sup>71</sup>
- **D.Q.O.** La demanda química de oxígeno es útil para determinar el consumo de oxígeno requerido para degradar la materia orgánica presente en la muestra. El método tiene como principio el uso de un oxidante fuerte, específicamente las sales del ion dicromato ( $K_2Cr_2O_7$ ), en presencia de un catalizador ( $AgSO_4$ ) a condiciones ácidas y elevada temperatura.

El remanente del oxidante fuerte es titulado con una solución de sulfato ferroso de amonio (FAS), empleando como indicador el complejo ferroso de ortofenantrolina.<sup>53</sup>

- **ART.** El método DNS consiste en la reducción del ácido 3,5-dinitrosalicílico a 3,5-amino nitrosalicílico, por los grupos funcionales aldehído y cetona de los azúcares reductores, formando un complejo el cual es medido a 540 nm en un espectrofotómetro.
- **P.** El fósforo presente en la muestra es determinado por el método colorimétrico del ácido ascórbico, desarrollado en dos etapas, la primera una digestión que convierte el fósforo presente a ortofosfatos, con una mezcla  $H_2SO_4-HNO_3$ , y oxida la materia orgánica presente en la muestra.

La segunda etapa consiste en la determinación colorimétrica del ortofosfato disuelto, donde la concentración de fósforo en la muestra está dada por la reacción del molibdato de amonio y el tartrato de antimonio y potasio en medio ácido formando un ácido fosfomolibdico que se reduce por el ácido ascórbico a un complejo de molibdeno de color azul intenso.

- **Na.** El fundamento del método usado para la determinación de Na está dado por la atomización de la muestra en una llama, donde la intensidad de la luz emitida es medida a ciertas longitudes de onda. Partiendo de concentraciones conocidas se puede realizar una curva de calibración, la cual proporciona una ecuación que relaciona absorbancia y concentración, con esto se puede hallar la concentración del elemento en la muestra.<sup>78</sup>

- **K.** La determinación de K en la muestra presenta el mismo principio que el Na, por ser el mismo procedimiento aplicado.<sup>78</sup>
- **N.** El método Kjeldahl es aplicado para determinar el N presente en muestras orgánicas. Mediante reactivos como: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y HgSO<sub>4</sub>, el N amino, el amoníaco libre y el nitrógeno-amonio se transforman en (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La digestión favorece la formación del complejo mercurio amonio que se descompone por la acción del tiosulfato de sodio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), una vez ocurre esto se destila en medio alcalino y el ácido es absorbido. El amoníaco es determinado por titulación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0,02 N.<sup>71</sup>

Parámetro	Reacciones
<b>DQO</b> <sup>53</sup>	$M.O + K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4 \xrightarrow[150^\circ C]{AgSO_4} CO_2 + Cr^{+3} + H_2O$
	$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6Fe^{2+} \rightarrow 2Cr^{3+} + 6Fe^{3+} + 7H_2O$
	$Fe(C_{12}H_8N_6)_3^{3+} + e \leftrightarrow Fe(C_{12}H_8N_6)_3^{2+}$
<b>N</b>	$C, H, N (orgánicos) + H_2SO_4 \xrightarrow{\Delta} (NH_4)_2SO_4 + CO_2 + H_2O$
	$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \rightarrow 2NH_3 + Na_2SO_4 + H_2O$
	$3NH_3 + H_3BO_3 \rightarrow (NH_4)_3BO_3$
	$(NH_4)_3BO_3 + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_3SO_4 + H_2BO_3$
<b>P</b>	$H_3PO_4 + Mo_7O_{24} \cdot (NH_4)_6 \rightarrow PO_4. 12MoO_3(NH_4)_3 \rightarrow Mo(V)(Azul\ de\ molibdeno)$

## Anexo 2. Resultados de los parámetros microbiológicos.



SERVICIOS INTEGRADOS PARA LA  
INDUSTRIA DE ALIMENTOS Y EL  
MEDIO AMBIENTE  
NIT. 804.016.152-8



### REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 12 de Febrero de 2014	No. 054993
Solicitante: ERIKA CESPEDES	Tipo de muestra: Lodo
Dirección: Cra 7 No 42-53 Alfonso Lopez	Identificación: MEZCLA DE ESTIERCOL BOVINO Y LACTOSUERO
Teléfono: 6957203-3164316243	Descripción: //
Lugar de muestreo: UNIVERSIDAD UIS	Responsable de muestreo: Solicitante
Fecha de muestreo: 07 de febrero de 2014	Procedimiento de muestreo: Solicitante
Fecha de recepción: 07 de febrero de 2014	Tamaño de la muestra: 100 ml
Fecha de análisis: 07 - 11 de febrero de 2014	Envase o empaque: Vidrio
Análisis solicitado: Microbiológico	Lote: //
Condiciones de la muestra: Adecuadas	

### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
COLIFORMES TOTALES	NTC 4458	23x10 <sup>2</sup> NMP / g	
COLIFORMES FECALES	NTC 4458	22x10 <sup>2</sup> NMP/ g	
Salmonella spp	NTC 4574	Neg/ 25 g	

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.



*Catalina Infante Villate*

Elaboró: CATALINA INFANTE VILLATE  
COORDINADOR MICROBIOLOGIA Y MUESTREO  
MICROBIOLOGA REG. FOLIO 14348 LIBRO C-4

*SANDRA PINZON RUEDA*

Revisó: SANDRA PINZON RUEDA  
DIRECTOR MICROBIOLOGIA  
MICROBIOLOGA REG. 47708 FOLIO 177

Código: R - 051 Versión: 0.1 Fecha: 22/05/09 Página: 1 de 1



## REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 24 de Abril de 2014	No. 058847
Solicitante: ERIKA CESPEDES	Tipo de muestra: Lodo
Dirección: Cra 7 No 42-53 Alfonso Lopez	Identificación: MEZCLA DE ESTIERCOL BOVINO Y LACTOSUERO ESTABILIZADO
Teléfono: 6957203-3164316243	Descripción: //
Lugar de muestreo: UNIVERSIDAD UIS	Responsable de muestreo: Solicitante
Fecha de muestreo: 16 de abril de 2014	Procedimiento de muestreo: Solicitante
Fecha de recepción: 16 de abril de 2014	Tamaño de la muestra: 100 ml
Fecha de análisis: 16 - 24 de abril de 2014	Envase o empaque: Vidrio
Análisis solicitado: Microbiológico	Lote: //
Condiciones de la muestra: Adecuadas	

### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
COLIFORMES TOTALES	NTC 4458	25X10 <sup>2</sup> UFC / g	
COLIFORMES FECALES	NTC 4458	18X10 <sup>2</sup> UFC/ g	
Salmonella spp	NTC 4574	Neg/ 25 g	

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

*Catalina Infante Villate*

Elaboró: CATALINA INFANTE VILLATE  
COORDINADOR MICROBIOLOGIA Y MUESTREO  
MICROBIOLOGA REG. FOLIO 14348 LIBRO C-4

*SANDRA MILENA PINZÓN*

Revisó: SANDRA PINZON RUEDA  
DIRECTOR MICROBIOLOGIA  
MICROBIOLOGA REG. 47708 FOLIO 177

Código: R - 051 Versión: 0.1 Fecha: 22/05/09 Página: 1 de 1



### REPORTE DE RESULTADOS

Ciudad y Fecha de emisión: Bucaramanga, 24 de Abril de 2014	No. 058648
Solicitante: ERIKA CESPEDES	Tipo de muestra: Lodo
Dirección: Cra 7 No 42-53 Alfonso Lopez	Identificación: MEZCLA DE ESTIERCOL BOVINO Y LACTOSUERO FINAL
Teléfono: 6957203-3164316243	Descripción: //
Lugar de muestreo: UNIVERSIDAD UIS	Responsable de muestreo: Solicitante
Fecha de muestreo: 11 de abril de 2014	Procedimiento de muestreo: Solicitante
Fecha de recepción: 11 de abril de 2014	Tamaño de la muestra: 100 ml
Fecha de análisis: 12 – 16 de abril de 2014	Envase o empaque: Vidrio
Análisis solicitado: Microbiológico	Lote: //
Condiciones de la muestra: Adecuadas	

### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

ANÁLISIS	MÉTODO	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA
COLIFORMES TOTALES	NTC 4458	13X10 UFC / g	
COLIFORMES FECALES	NTC 4458	20 UFC/ g	
Salmonella spp	NTC 4574	Neg/ 25 g	

Los resultados son válidos para la muestra analizada. No se pueden reproducir sin la previa autorización de SIAMA.

*Catalina Infante Villate*  
Elaboró: CATALINA INFANTE VILLATE  
COORDINADOR MICROBIOLOGIA Y MUESTREO  
MICROBIOLOGA REG. FOLIO 14348 LIBRO C-4

*SANDRA AILENA PINZÓN*  
Revisó: SANDRA PINZON RUEDA  
DIRECTOR MICROBIOLOGIA  
MICROBIOLOGA REG. 47708 FOLIO 177

Código: R - 051 Versión: 0.1 Fecha: 22/05/09 Página: 1 de 1