



**BIORREACTOR DE DIGESTIÓN ANAEROBIA PARA LA DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL  
BIOQUÍMICO DE METANO (BMP)**

**NIXON DARÍO ALFONSO PACHÓN**

**UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO  
FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL Y AMBIENTAL  
MAESTRÍA EN INGENIERÍA DE BIOPROCESOS  
BOGOTÁ D.C. COLOMBIA  
2022**

**BIORREACTOR DE DIGESTIÓN ANAEROBIA PARA LA DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL  
BIOQUÍMICO DE METANO (BMP).**

**NIXON DARÍO ALFONSO PACHÓN**

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de  
MAGISTER EN INGENIERÍA DE BIOPROCESOS

**DIRECTOR:**

**JUAN DANIEL VALDERRAMA RINCÓN PhD.**

UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO  
FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL Y AMBIENTAL  
MAESTRÍA EN INGENIERÍA DE BIOPROCESOS  
BOGOTÁ D.C. COLOMBIA  
2022

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

El trabajo de grado titulado  
\_\_\_\_\_, Cumple  
con los requisitos para optar  
Al título de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Firma del Tutor

\_\_\_\_\_  
Firma Jurado

\_\_\_\_\_  
Firma Jurado

Ciudad, Día Mes Año

## Contenido

RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	11
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. OBJETIVO GENERAL:.....	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	14
3. JUSTIFICACIÓN.....	15
4. MARCO CONCEPTUAL.....	17
4.1. BIORREACTOR.....	17
4.1.1. Biorreactor en lote o <i>batch</i> .....	17
4.1.2. Biorreactor semicontinuo o <i>fed-batch</i> .....	17
4.1.3. Procesos en Biorreactores continuos.....	17
4.2. BIORREACTOR A ESCALA DE LABORATORIO.....	17
4.3. FUENTES Y CARACTERÍSTICAS DE AGUAS RESIDUALES.....	18
4.4. PRODUCCIÓN DE BIOGÁS.....	18
4.4.1. Cinética de la metanogénesis.....	19
4.5. MICROBIOLOGÍA DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMETANO.....	21
4.6. CONDICIONES ÓPTIMAS PARA LA PRODUCCIÓN DE METANO.....	23
4.6.1. Temperatura óptima.....	23
4.6.2. pH óptimo.....	23
4.6.3. Concentración óptima de Acetato.....	23
4.6.4. Requerimientos nutricionales.....	24
4.6.5. Tiempo de retención hidráulico (TRH).....	24
4.7. TEST DE POTENCIAL DE BIOMETANO (BMP).....	24
4.7.1. Sustrato.....	24
4.7.2. Inóculo.....	25
4.7.4. Medio.....	26
4.7.5. Blancos y controles.....	27
4.7.6. Configuración del ensayo experimental.....	27
4.7.7. Toma de datos.....	27
4.7.8. Interpretación de los datos.....	27
5. METODOLOGÍA.....	29
5.1. MATERIALES.....	29
5.1.1. SOFTWARE.....	29
5.1.2. MATERIAS PRIMAS PARA LA FABRICACIÓN.....	29

5.2.	REALIZAR EL DISEÑO CONCEPTUAL DE UN BIORREACTOR ANAEROBIO A ESCALA DE LABORATORIO PARA LA EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIOMETANO DE DIFERENTES SUSTRATOS; A PARTIR DE MATERIALES DE BAJO COSTO Y FÁCIL ACCESO.....	29
5.2.1.	DISEÑO CONCEPTUAL.....	29
5.2.2.	DIGITALIZACIÓN EN PIEZAS.....	31
5.3.	CONSTRUIR EL PROTOTIPO DISEÑADO DEL BIORREACTOR ANAEROBIO A ESCALA DE LABORATORIO PARA LA EVALUACIÓN DEL TEST BPM.....	31
5.3.1.	CONSTRUCCIÓN DEL BIODIGESTOR Y EL MEDIDOR DE BIOMETANO ..	31
5.3.2.	INÓCULO .....	31
5.3.3.	SUSTRATOS A EVALUAR .....	32
5.4.	EVALUAR EL FUNCIONAMIENTO DEL BIORREACTOR A ESCALA DE LABORATORIO PARA LA REALIZACIÓN DEL TEST BPM EN DIFERENTES SUSTRATOS .....	33
5.4.1.	DETERMINACIÓN TEÓRICA DEL POTENCIAL DE BIOMETANO .....	33
5.4.2.	DETERMINACIÓN DE BIOMETANO.....	33
5.4.4.	TEST BMP.....	34
5.4.5.	VALIDACIÓN DEL TEST .....	34
5.4.6.	The Automatic Methane Potential Test System (AMPTS ®): .....	35
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
6.1.	DISEÑO CONCEPTUAL.....	37
6.2.	DIGITALIZACIÓN EN PIEZAS.....	39
6.3.	CONSTRUCCIÓN DEL BIODIGESTOR Y EL SISTEMA DE MEDICIÓN DE BIOMETANO.....	40
6.4.	REACTIVACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO .....	48
6.5.	CARACTERIZACIÓN DE LOS SUSTRATOS A EVALUAR .....	49
6.7.	DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DE BIOMETANO (BMP) DE LOS SUSTRATOS A EVALUAR.....	51
6.8.	SELECCIÓN FINAL DEL PROTOTIPO .....	57
7.	CONCLUSIONES .....	59
8.	RECOMENDACIONES.....	60
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	61
	ANEXOS.....	67
	ANEXO 1: TABLAS DE SOLUCIONES .....	67

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Grupos metabólicos involucrados en la producción de biogás [3].....	22
Figura 2. Crecimiento microbiano dentro de un digestor anaerobio [43] .....	25
Figura 3. Esquema general del proceso de digestión anaeróbica y la posterior medición de biogás por volumetría.....	30
Figura 4. Unidad de incubación de muestras en reactores tipo Batch.....	35
Figura 5. Unidad de absorción de CO <sub>2</sub> y otros gases obtenidos de la digestión anaeróbica .....	36
Figura 6. Unidad de medición de desplazamiento de gas.....	36
Figura 7. Digitalización sistema para medición BMP.....	39
Figura 8. Operación del sistema de medición de BMP .....	40
Figura 9. Conexión para los recipientes .....	41
Figura 10. Primer prototipo de biodigestor .....	42
Figura 11. Primer prototipo de sistema de medición de biogás .....	43
Figura 12. Dirección del flujo de gas (negro) y desplazamiento del líquido (azul) en el sistema de medición de biogas.....	44
Figura 13. Primer ensamblaje del montaje para la determinación de BMP .....	45
Figura 14. Segundo prototipo de sistema de medición de biogás .....	46
Figura 15. Tipos de tapas para el segundo prototipo.....	47
Figura 16. Prototipos para el test de potencial de biometano .....	48
Figura 17. Curva de calibración sólidos totales vs absorbancia a 675 nm en microalgas .....	49
Figura 18. Determinación de mgDQO/L de los sustratos a evaluar.....	50
Figura 19. Montaje para evaluación del potencial de biometano.....	52
Figura 20. Perfil de producción de biometano en el control negativo .....	53
Figura 21. Perfil de desplazamiento de gas con agua destilada.....	53
Figura 22. Perfil de producción de biometano en glucosa .....	54
Figura 23. Perfil de producción de biometano en Sacarosa .....	55
Figura 24. Perfil de producción de metano en Melaza de caña. ....	55
Figura 25. Perfil de producción de biometano en material vegetal.....	56
Figura 26. Perfil de producción de biometano en microalgas tomadas de fotobiorreactores .....	57

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Objetivos y parámetros necesarios para la fabricación del dispositivo para la medición de BMP.....	37
Tabla 2. Resumen de la Aplicación del procedimiento de Decisión Jerárquica al Diseño del biorreactor de digestión anaeróbica para la determinación de BMP.....	38
Tabla 3. Sólidos volátiles y sólidos totales del inóculo seleccionado.....	48
Tabla 4. Medio del control positivo para la determinación del potencial de biometano.....	50
Tabla 5. Determinación del mejor prototipo para la determinación de BMP.....	58

*A todas las personas que se aventuren a investigar,  
aprender o enseñar.*

*A Paula Homez, mis padres y mis hermanos que son mi  
fuerza para seguir cada día.*

*A todos los amigos que han estado siempre a mi lado,  
principalmente Oswan Mora.*



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Universidad Antonio Nariño por darme la oportunidad de estudiar e investigar en la ciencia e ingeniería.

A cada docente que creyó en mi potencial, al profesor Juan Valderrama quien con sus consejos y paciencia me dirigió en cada dificultad encontrada, enseñándome a ir más allá y ser propositivo. A Héctor Luna que me enseñó a enfrentar retos tanto intelectuales como de ejecución, a Iván Ávila que me dirigió en el conocimiento biológico necesario para el desarrollo del proyecto y Julián Martínez que me aconsejó en el quehacer del ingeniero, enseñándome a entender el desempeño necesario para el desarrollo de los proyectos.

A mis compañeros y amigos de la maestría en ingeniería en bioprocesos de la Universidad Antonio Nariño, ya que me acompañaron en el desarrollo del proyecto. A Oswan Mora, que con sus consejos y apoyo incondicional me dio el empujón necesario para mejorar cada día y me enseñó a superar las dificultades.

También agradezco a mi familia que me dan su acompañamiento en dificultades y su apoyo principalmente con su cariño. Finalmente, agradezco a Paula Homez, quien está conmigo en cada paso del camino y me da fuerzas para seguir.

## RESUMEN

La generación de residuos tanto líquidos como sólidos de diferentes industrias son un problema actual que afecta directamente el medio ambiente. Es por ello por lo que la digestión anaerobia (DA) es importante, ya que se disminuye la carga orgánica de los contaminantes y se produce biogás, el cual tiene concentraciones de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ) y principalmente metano ( $\text{CH}_4$ ) el cual puede utilizarse como biocombustible. La capacidad que tiene un sustrato en condiciones ideales para producir biometano se denomina potencial bioquímico de metano (BMP), por lo cual este trabajo se enfoca en realizar la construcción de un biorreactor anaerobio a escala de laboratorio con el fin de determinar el potencial de biometano de diferentes residuos a partir del método volumétrico por jeringa para la medición del biogás producido por la digestión del sustrato en un tiempo de retención establecido. Para la construcción del dispositivo se procedió a realizar dos prototipos y se evaluaron a partir de la eficiencia de estos para realizar mediciones correctas del desplazamiento gaseoso. El dispositivo es novedoso debido a que cuenta únicamente con dos módulos, sus materiales son accesibles y esto permite que el reactor sea de más fácil acceso para laboratorios de diferentes capacidades adquisitivas, a diferencia del AMPTS II<sup>®</sup> (el cual es el dispositivo comercial para la determinación del potencial de biometano) que tiene tres módulos y mayores dificultades para el acceso. Se determinó el BMP de residuos vegetales de fuentes caseras que fueron de  $124 \text{ NmLCH}_4/\text{gSV}$  y microalgas producidas por fotobiorreactores dando un valor de  $228 \text{ NmLCH}_4/\text{gSV}$ , valores que son cercanos a los encontrados por otros estudios y los valores teóricos calculados estequiométricamente; corroborando de esta manera el correcto funcionamiento del prototipo propuesto.

## ABSTRACT

The generation of both liquid and solid waste from different industries is a current problem that directly affects the environment. That is why anaerobic digestion (AD) is important, since the organic load of pollutants is reduced and biogas is produced, which has concentrations of CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S and mainly CH<sub>4</sub> which can be used as biofuel. The capacity that a substrate has under ideal conditions to produce biomethane is called biochemical methane potential (BMP), for which this work focuses on the construction of an anaerobic bioreactor on a laboratory scale to determine the potential of biomethane. of different residues from the volumetric method by syringe for the measurement of the biogas produced by the digestion of the substrate in a set retention time. For the construction of the device, two prototypes were made, and their efficiency was evaluated to perform the correct detection of gaseous displacement. The device is novel because it only has two modules, its materials are accessible and this allows the reactor to be more easily accessible for laboratories with different purchasing power, unlike the AMPTS II<sup>®</sup> (which is the commercial device for the determination of biomethane potential) which has three modules and greater difficulties for access. BMP will be eliminated from plant residues from household sources that were 124 NmLCH<sub>4</sub>/gSV and microalgae produced by photobioreactors, giving a value of 228 NmLCH<sub>4</sub>/gSV, values that are close to those found by other studies and the theoretical values calculated stoichiometrically, corroborating in this way the correct functioning of the proposed prototype.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Mientras se mantenga el crecimiento de la población, existirá una mayor demanda de varios productos, por ello las industrias continuarán explotando materias primas y realizando procesos de transformación de estas, generando grandes cantidades de residuos [1]. Es por ello por lo que investigar en el tratamiento de aguas residuales contaminadas con diferentes sustratos se vuelve cada vez más urgente [2]. La producción de biogás a partir de residuos es un campo de gran potencial, principalmente por la posibilidad de sustituir, en la industria, combustibles fósiles por combustibles procedentes de procesos biológicos, además de la opción de utilizar como sustrato materia orgánica proveniente de aguas residuales y contaminantes orgánicos sólidos [3].

El biogás es un producto que tiene en su composición una cantidad considerable de metano ( $\text{CH}_4$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ), entre otros [4]. El metano producido por procesos biológicos (denominado también biometano), puede ser obtenido a partir de biorreactores de digestión anaerobia; este proceso es realizado por consorcios de bacterias y archaeas metanogénicas, altamente sensibles a la presencia de oxígeno [3]. El potencial bioquímico de metano (BMP) es un método que permite determinar la producción máxima de biometano en un residuo determinado; sin embargo, existe una gran variedad de metodologías alrededor del mundo para su determinación [5] principalmente métodos manométricos y volumétricos [74]. Es por ello que se propone diseñar y evaluar un sistema para determinación de BMP y un método específico para la obtención del BMP de cualquier sustrato. Los biorreactores encargados de la producción de biogás son estudiados ampliamente a diferentes escalas: escala de laboratorio [6], escala de experimentos semi-industriales [7] y experimentos piloto en instalaciones industriales [8].

El ensayo de BMP es relevante junto con otros ensayos ya que permite estimar el balance energético y condiciones operativas, entre otros parámetros, para determinar cantidad de sustrato y la estrategia de escalado de reactores hacia mayores dimensiones [9]. La investigación de los biorreactores a escala de laboratorio es ampliamente utilizada para analizar la influencia de varios parámetros [10] fisicoquímicos, hidrodinámicos y relaciones sustrato/inóculo (S:I), entre otros [11]. El biorreactor buscó evaluar el rendimiento en la producción de biogás y biometano a partir de muestras que se encuentren entre los 500-2000 mgDQO/L, utilizando desplazamiento de volumen y manteniendo las condiciones óptimas para el mayor rendimiento del inóculo utilizado (temperatura, pH, ausencia de oxígeno, agitación, etc.) realizado con materiales de bajo costo, siendo un equipo de gran accesibilidad para diferentes laboratorios con diversas capacidades adquisitivas; además de contar con la facilidad de ser portátil. Esto es relevante ya que el potencial de biometano permite determinar la viabilidad de un sustrato en la producción de biocombustibles [12].

El problema aquí es que para estudiar el BMP de diferentes sustratos es preferible tener la posibilidad de realizar varias réplicas de los ensayos simultáneamente [13]. Es por ello que

utilizar reactores a escala de laboratorio es ideal para encontrar este parámetro [14]. Adicionalmente, es importante que estos reactores garanticen una forma de operación sencilla y que los materiales en los cuales son fabricados sean de bajo costo y así puedan ser obtenidos por laboratorios con diferentes capacidades adquisitivas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GENERAL:**

Desarrollar un sistema para realizar pruebas estándar de potencial de biometano (BPM) a escala de laboratorio.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1. Realizar el diseño conceptual del biorreactor, el equipo de medición y los accesorios necesarios en la fabricación de un sistema a escala de laboratorio para la evaluación del potencial de biometano de diferentes sustratos, a partir de materiales de bajo costo y fácil acceso.
2. Construir el prototipo diseñado del sistema a escala de laboratorio para la evaluación del test BPM.
3. Evaluar el funcionamiento del sistema a escala de laboratorio para la realización del test BMP en diferentes sustratos.

### 3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, se ha evidenciado como la actividad humana tiene un impacto importante en el medio ambiente [10]; uno de los recursos naturales más afectados son las fuentes hídricas, las cuales suelen ser contaminadas con efluentes industriales y provenientes de las ciudades. Estos efluentes pueden tener contaminantes tanto inorgánicos como orgánicos, siendo esta carga orgánica de gran interés en cuanto a su tratamiento y los posibles bioproductos que pueden ser obtenidos a partir de la degradación de dichos contaminantes [14].

Una de las alternativas para el tratamiento de estas cargas orgánicas es el procesamiento biológico donde, en un proceso de digestión anaerobia (DA) de las aguas residuales, es posible obtener compuestos de interés como el biogás. El biogás tiene una gran concentración de metano, compuesto que puede ser utilizado como biocombustible [10] sustituyendo de esta forma a los combustibles fósiles y, a su vez, se contribuye a la biorremediación de aguas residuales de diferentes fuentes [15]. Las fuentes de las aguas residuales pueden ser tanto residenciales, como industriales; de este último se encuentran en gran medida en las industrias textil [7], agrícola [11] y química [16] entre otras.

La fermentación anaerobia es un proceso de gran eficiencia ya que logra convertir gran cantidad de diferentes contaminantes (efluentes de las industrias papelera, alimentaria, fermentativa, textil, química, etc.) en metano [3]. Los estudios de fuentes de energía están cobrando cada vez mayor atención en la comunidad científica, siendo la DA uno de los procesos de interés, debido a sus beneficios tanto económicos como ambientales [17]. La DA es utilizada para tratar el exceso de biomasa de diferentes fuentes [18]. Es por ello por lo que existen estudios que tienen como objetivo encontrar y analizar el potencial de biometano de varias fuentes orgánicas, buscando establecer la capacidad de estos sustratos para la producción de biogás [12]. El potencial de biometano es la cantidad máxima de metano que puede ser producida a partir de un sustrato por unidad de masa del sustrato orgánico medido en función de sólidos volátiles (VS) o demanda química de oxígeno (DQO). Este ensayo es relevante debido a que establece las condiciones anaerobias específicas necesarias (relación inóculo/sustrato, pH, temperatura, carga orgánica, etc.) [19] para lograr el mejor rendimiento dependiendo del sustrato a evaluar, ya que la producción de biogás, y por tanto de biometano, depende ampliamente de la composición y concentración del sustrato [18]; estableciendo también la presencia de posibles compuestos tóxicos o inhibitorios en la digestión anaerobia, la biodegradabilidad anaerobia y una descripción cinética del proceso [15].

Para determinar con mayor precisión el potencial de biometano es necesario utilizar tres tipos de pruebas: reactores con agua destilada e inóculo (blancos), reactores con inóculo un compuesto con potencial de biometano conocido como control positivo y el reactor con el inóculo y el sustrato. Cada uno de estos reactores debe ser evaluado por triplicado, por lo tanto, es necesario tener, por lo menos, 9 biorreactores (3 blancos, 3 controles positivos, 3 reactores con sustrato) [20]. Al ser este parámetro necesario en una caracterización preliminar del sustrato, es ineficiente el uso de reactores a escala industrial debido a la infraestructura necesaria para realizar este ensayo, además del tiempo recomendado

(aproximadamente 30 días) [17]. Adicionalmente, en los ensayos de BMP, es preferible cumplir con ciertos parámetros: diseño simple, uso de equipos e instalaciones poco sofisticados, bajos consumos de energía y alta eficiencia de producción [14].

Es recomendable entonces el uso de biorreactores a escala de laboratorio o escala mili (milibiorreactores con volúmenes aproximados entre 100-250 mL en el recipiente del reactor), los cuales no sólo tienen un bajo costo de producción, sino que también son portátiles y eficientes en cuanto al uso del espacio y de los reactivos necesarios para su funcionamiento. Esto también es útil en otros contextos de investigación de procesos con sustratos orgánicos [21]. Por otro lado, existen varios parámetros que afectan la velocidad de degradación: humedad, tamaño de partícula del inóculo y del sustrato, densidad de las aguas residuales, recirculación del lecho y neutralización [12]. Estos parámetros son más fácilmente regulados en reactores a escala de laboratorio.

En cuanto al ensayo de BMP, el método tradicional involucra una incubación en reactores tipo *batch*, los cuales son monitoreados con sensores de presión y el gas obtenido es evaluado a partir de cromatografía de gases (GC) [22], lo cual es teóricamente simple, sin embargo es un procedimiento que requiere equipos robustos y una gran dificultad de operación. Es por ello que un dispositivo donde la medición de biogás y biometano sea de forma inmediata y de fácil operación es una alternativa más viable, generalmente utilizando el reactor conectado a un sistema para la absorción de los gases contaminantes [75].



## 4. MARCO CONCEPTUAL

### 4.1. BIORREACTOR

Un biorreactor es un recipiente en el cual los microorganismos al ser cultivados de forma controlada pueden producir un producto, biomasa o en algunos casos particulares, llevar a cabo ciertas reacciones químicas [23]. Los biorreactores son relevantes ya que estos proveen las condiciones óptimas (mezclado, temperatura, suministro de oxígeno, entrada para la adición de nutrientes, control de pH, etc.) para la supervivencia de los microorganismos o la producción del compuesto de interés [24].

El modo de operación de un biorreactor se puede clasificar en tres: procesos en lote o *batch*, biorreactor semicontinuo o *fed-batch* y procesos continuos [25].

#### 4.1.1. Biorreactor en lote o *batch*

Se denomina de esta manera a sistemas parcialmente cerrados en los cuales la mayoría de los materiales deben ser cargados en el biorreactor y son removidos al finalizar la operación. En un bioproceso tipo *batch* el único material adicionado y retirado durante el curso de la operación se debe al intercambio gaseoso, principalmente por aireación. Se suele ajustar las condiciones del medio, en búsqueda de generar un ambiente propicio para la producción del compuesto o compuestos esperados [26].

#### 4.1.2. Biorreactor semicontinuo o *fed-batch*

Se denomina de esta manera a sistemas que se caracterizan por la alimentación de sustrato, la ausencia de efluente en el fermentador y el aumento del volumen progresivamente (acumulación total de masa) [27]. Este tipo de operación se utiliza en mayor medida para optimizar la producción o síntesis de enzimas, e incluso biomasa [76].

#### 4.1.3. Procesos en Biorreactores continuos

En este tipo de operación, el medio fresco es adicionado en el recipiente en la fase exponencial, a su vez retirando el medio de donde se encuentra el producto. El cultivo continuo favorece el equilibrio entre sustratos y productos, con baja fluctuación de nutrientes, metabolitos y número de células o biomasa [28].

### 4.2. BIORREACTOR A ESCALA DE LABORATORIO

Los biorreactores a escala de laboratorio son recipientes que cumplen la misma función que un biorreactor estándar, con una configuración más simple y un volumen que se establece entre 50 mL a 20 L, enfocados principalmente en el monitoreo de las variables involucradas en el proceso. Éstos otorgan facilidad para realizar réplicas, lo cual los establece como una gran herramienta en la investigación [29]. Varios estudios han utilizado este tipo de operación

para determinar tanto las variables de operación óptimas para un sustrato; como también una caracterización del sustrato como potencial para producir un compuesto en específico.

Un biorreactor a escala de laboratorio, para que logre ser funcional, debe cumplir como mínimo con las siguientes características:

- Producción monoséptica por largos períodos de tiempo (en el caso de la DA, no es necesariamente monoséptica debido a que en el biorreactor se encuentra un consorcio complejo de microorganismos) [77].
- Monitoreo y control de los siguiente parámetros: pH, el tipo de mezclado de manera que el cultivo se mantenga en suspensión y con el oxígeno disuelto ( $DO_2$ ) estable, regulación de temperatura y capacidad de muestreo estéril [30].

### 4.3. FUENTES Y CARACTERÍSTICAS DE AGUAS RESIDUALES

Los efluentes de aguas residuales domésticas normalmente contienen materia orgánica de fácil degradación. Estas aguas residuales usualmente no contienen grandes cantidades de sólidos suspendidos los cuales suelen ser de mayor dificultad de degradación, o componentes tóxicos que pueden generar inhibición en el tratamiento anaerobio. En general, estos efluentes contienen compuestos complejos como proteínas y ácidos grasos. Los efluentes de aguas residuales provenientes de fuentes industriales generalmente contienen menos de 2000 mgDQO/L, los cuales normalmente contienen una variedad de componentes biodegradables en bajas concentraciones como ácidos grasos volátiles de bajo peso molecular, alcoholes y carbohidratos, así como proteínas y lípidos en algunos casos [78].

Algunos ejemplos importantes de industrias que generan efluentes de aguas residuales son las industrias cerveceras y de producción de papel, entre otras. [14]

### 4.4. PRODUCCIÓN DE BIOGÁS

La producción de biogás se da principalmente por la DA de residuos orgánicos, gracias a bacterias y arqueas metanogénicas. Este producto está compuesto por dióxido de carbono ( $CO_2$ ), hidrógeno ( $H_2$ ), metano ( $CH_4$ ), sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ) y trazas de otros compuestos. La reacción general de la metanogénesis a partir de acetato se presenta a continuación [31]:



$$\Delta G^\circ = -36kJ/mol$$

Este proceso, desde el punto de vista industrial, es relevante por la obtención de metano a partir de material orgánico residual, además de ser un proceso de alta eficiencia ya que únicamente del 5-10% de la carga orgánica usada como sustrato son transformados en biomasa. El rendimiento de biomasa respecto a sustrato ( $Y_{x/s}$ ) para una amplia gama de sustratos orgánicos durante la producción de metano y dióxido de carbono, se encuentra en el rango de 0.03 a 0.12 kgSV/kg-COD removido desde las aguas residuales [32].

La producción de dicho metano se da por la reducción de la demanda química de oxígeno (DQO) en un sistema metanogénico. En aguas residuales, la eficiencia de transformación de DQO a metano puede estar en el rango de 71-97% [33] y en experimentos realizados en viales, 85-98% del acetato es transformado a metano y bicarbonato [34]. La degradación anaeróbica de residuos orgánicos se da por una serie de reacciones bioquímicas sucesivas realizadas por algunos microorganismos que mantienen una relación de interdependencia fisiológica, donde la necesidad nutricional de unos tipos de microorganismos será el producto metabólico de otros, generando un equilibrio ecológico que permite la reducción de la demanda química y biológica de oxígeno [32]. Este proceso puede ser afectado por diferentes factores: pH, temperatura, concentración de oxígeno, concentración de hidrógeno y concentración de sustrato e inóculo, entre otros [35].

El tipo de compuestos que pueden ser degradados a través de DA son, en general, la mayoría de alifáticos y aromáticos homocíclicos. Incluso, algunos hidrocarburos aromáticos como el tolueno y el o-xileno son completamente fermentados a metano y dióxido de carbono por medio de degradación anaerobia [16]. Los efluentes generados por varias industrias han demostrado tener un gran potencial para generar biogás en condiciones de degradación anaeróbica; por ejemplo, se ha reportado que el tratamiento de las aguas residuales generadas por la industria lechera puede producir un equivalente de 2000 kWh, el cual es una cantidad considerable de energía [36] comparado con el consumo de un hogar estándar que es de 1250 kWh [37]

#### 4.4.1. Cinética de la metanogénesis

En general, la cinética de crecimiento en fermentaciones en reactores tipo *batch* puede ser expresada de la siguiente manera [38]:

$$\frac{dX}{dt} = (\mu - k_d)X \quad (2)$$

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{y_x \mu X} \quad (3)$$

$$\frac{dP}{dt} = -y_p \frac{dS}{dt} \quad (4)$$

Donde,

$\mu$ : Tasa de crecimiento específico

$k_d$ : Velocidad de decaimiento celular

m: Tasa específica de mantenimiento

$y_x$ : Rendimiento de crecimiento celular

$y_p$ : Producción de metano

S: Concentración de sustrato

X: Concentración celular

P puede ser definido como G/V, donde G es la cantidad total de metano producido en un tiempo t y V es el volumen líquido de operación. El mantenimiento (m) puede ser despreciado al igual que el término  $k_d$ . El acetato como sustrato puede llegar a ser inhibitorio, por ello la mejor propuesta es la siguiente [38]:

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S + S^2/K_i} \quad (5)$$

Donde,

$\mu_m$ : Tasa de crecimiento específico máximo alcanzable

$K_s$ : Constante de saturación (g/L)

$K_i$ : Constante relacionada con la inhibición por sustrato (g/L)

Para los casos donde tanto  $k_d$  como m son despreciables comparados con  $\mu$  en la fase exponencial, las ecuaciones pueden ser expresadas como [38]:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{y_x} \frac{dX}{dt} = \frac{1}{y_p} \frac{dP}{dt} = \frac{\mu_m S}{y_x(K_s + S + S^2/K_i)} X \quad (6)$$

Cuando ambos,  $y_x$  y  $y_p$  son constantes, las ecuaciones obtenidas son:

$$X = X_o + y_x(S_o - S) \quad (7)$$

$$P = P_o + y_p(S_o - S) \quad (8)$$

Sustituyendo X:

$$\mu_m t = A \ln \frac{X}{X_o} + B \ln \frac{S}{S_o} + \frac{S - S_o}{K_i} \quad (9)$$

Donde,

$$A = 1 + \frac{K_s}{S_o + X_o/y_x} + \frac{S_o + X_o/y_x}{K_i} \quad (10)$$

$$B = -\frac{K_s}{S_o + X_o/y_x} \quad (11)$$

Solo las condiciones iniciales  $X_o$ ,  $S_o$  y  $P_o$ , y una de las variables dependientes X, S y P son necesarias para estimar los parámetros del modelo establecido en la ecuación (9). X, S y P están relacionadas en las ecuaciones (7) y (8).

Cuando  $k_d$  es despreciable y dt es finito,  $\mu$  es asumido como constante y la ecuación (2) puede ser integrada para llegar a la ecuación:

$$\ln \frac{X_2}{X_1} = \mu(t_2 - t_1) \quad (12)$$

Donde  $X = X_o + y_x G/y_p V$ ; donde  $y_x$ ,  $y_p$ , y V es constante y  $X_o$  es despreciable, la velocidad específica de crecimiento puede ser estimada usando la ecuación:

$$\mu = \frac{\ln(G_2/G_1)}{t_2 - t_1} a S_{12} \quad (13)$$

Donde,

$\mu$ : es la velocidad específica de crecimiento a la concentración de ácido  $S_{12}$

G1 y G2: Cantidades acumuladas de gas metano producidas en el tiempo t1 y t2 respectivamente.

A partir de la ecuación (5) estableciendo la derivada de  $\mu$  respecto a S e igualando a 0 para resolver para S. La concentración óptima de acetato,  $S_{opt}$ , y la velocidad máxima de crecimiento  $\mu_{max}$ , son expresados como se muestra:

$$S_{opt} = (K_S K_i)^{1/2} \quad (14)$$

$$\mu_{max} = \frac{\mu_m S_{opt}}{2K_S + S_{opt}} \quad (15)$$

También se han reportado ecuaciones ligeramente diferentes. La ecuación generalizada es [39]:

$$r = \frac{r_{m\acute{a}x}}{1 + K_S/S + S/K_I} \quad (16)$$

Donde,

r: Velocidad específica de reacción, como la velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ), o velocidad específica de producción de gas (gSV L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>).

$r_{m\acute{a}x}$ : Valor máximo en ausencia de inhibición

$K_S$ : Constante de velocidad media (gDQO L<sup>-1</sup>)

$K_I$ : Constante de inhibición

S: Concentración de sustrato (gDQO L<sup>-1</sup>)

#### 4.5. MICROBIOLOGÍA DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMETANO

Los microorganismos que hacen parte de los consorcios involucrados en los procesos metanogénicos se pueden clasificar en tres grupos metabólicos [3]:

- Bacterias homoacetogénicas (BHA): producen principalmente acetato. Dependiendo de la especie pueden usar hidrógeno (H<sub>2</sub>), azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, alcoholes y bases nitrogenadas como donadores de electrones [79].
- Bacterias sulfato reductoras (BSR): utilizan sulfato (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) como aceptor de electrones.
- Arqueas metanogénicas: único grupo metabólico capaz de obtener energía a partir de compuestos de bajo peso molecular e hidrógeno. La producción biológica de metano se realiza por un grupo de arqueas metanogénicas anaerobias estrictas [35].

Los organismos metanógenos se pueden clasificar en tres grupos, los cuales dependen de la utilización del tipo de sustrato utilizado por las arqueas metanogénicas [40]:

1. Metanógenos hidrogenotróficos: utilizan  $H_2$  como donador de electrones y  $CO_2$  como aceptor de electrones.
2. Metanógenos acetoclásticos: metabolizan el acetato, produciendo grupos metilo proporcionando el potencial para reducirlo a metano; y a carbonilo, el cual es oxidado a  $CO_2$
3. Metanógenos metilotróficos: crecen en compuestos metilados como metanol, metilaminas y metilsulfuro, los cuales pueden actuar tanto como donadores como aceptores de electrones.

Los grupos metabólicos involucrados en la producción de biogás se ilustran a continuación (Figura 1) [3]:

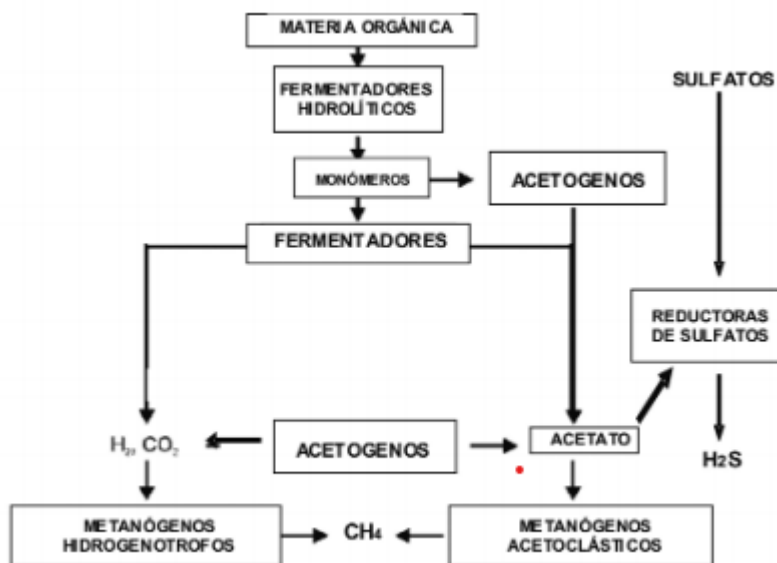


Figura 1. Grupos metabólicos involucrados en la producción de biogás [3]

En la Figura 1 se observa los pasos bioquímicos de transformación de diferentes sustratos, donde los microorganismos involucrados degradan la materia orgánica transformándola finalmente en metano ( $CH_4$ ).

Los metanógenos se pueden clasificar en cinco órdenes taxonómicos principales:

- *Methanosarcinales*
- *Methanomicrobiales*
- *Methanobacteriales*
- *Methanococcales*
- *Methanopyrales*

Siendo entre las metanogénicas las acetoclásticas las de mayor concentración de los microorganismos presentes y, entre éstas, los géneros más recurrentes son *Methanosaetas* y

*Methanosarcina*. *Methanosaeta* es un género de organismos cuya velocidad de crecimiento en un biorreactor puede ascender a 0.08/d a 35°C [34], mientras que *Methanosarcina* es un género muy versátil de metanógenos ya que puede crecer en diferentes sustratos, como son H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, metanol, metilaminas y acetato [41]. Todos los tipos de metanógenos son anaerobios obligatorios, sin embargo, la presencia de oxígeno no resulta fatal pero sí inhibe el crecimiento y la producción de metano [42].

Referente al crecimiento celular, se ha establecido que solamente 1.3-1.8% del acetato consumido por los microorganismos metanogénicos es incorporado en la biomasa [34]. Este crecimiento se puede ver afectado por los nutrientes presentes en el medio de crecimiento si las relaciones C/N, C/P o C/S no son apropiadas [38]

#### **4.6. CONDICIONES ÓPTIMAS PARA LA PRODUCCIÓN DE METANO**

En el consorcio microbiológico formado en los gránulos de los lodos anaerobios los microorganismos involucrados en la etapa metanogénica son los más sensibles a cambios ambientales. Es por ello que para la producción de biometano es necesario controlar parámetros específicos [43] entre ellos se encuentran:

##### **4.6.1. Temperatura óptima**

Los metanógenos acetoclásticos son en su mayoría microorganismos mesofílicos. Gran parte de los organismos del género *Methanosaeta* son mesofílicos, teniendo un rango de temperatura óptima para la producción de metano de 35-40°C [44]. De forma similar, *Methanosarcina sp.* muestra una temperatura óptima de 35-37°C [38].

##### **4.6.2. pH óptimo**

Uno de los factores más importantes asociados con un sistema óptimo en la producción metanogénica es el pH [45]. Existen diversos valores de pH óptimo para los microorganismos involucrados en la producción de biometano, sin embargo, todos se encuentran alrededor de la neutralidad. Así, se reporta que para *Methanosaeta sp.* es óptimo un pH de 7.4-7.8 [42] y para *Methanosarcina sp.* un pH de 6-8, siendo recomendables los valores más cercanos a 7 [38].

##### **4.6.3. Concentración óptima de Acetato**

Algunos estudios han demostrado que concentraciones altas de Acetato pueden ser inhibitorias en la producción de metano; de acuerdo con estos estudios, la concentración óptima de Acetato para el crecimiento de *Methanosarcina sp.* es alrededor de 0.1M (6.0g/L), así, en concentraciones más altas de 0.24M (14.4g/L) el crecimiento de este microorganismo es completamente inhibido [38]. Por otro lado, estudios realizados con *Methanosaeta sp.* sugieren que estos nos son afectados por concentraciones de acetato [42].

#### 4.6.4. Requerimientos nutricionales

Para optimizar el crecimiento y la producción de metano, los metanógenos requieren ciertos nutrientes y metales traza. Todos los metanógenos utilizan amonio como fuente de nitrógeno, y todos los metanógenos también requieren níquel, cobalto y hierro [46]. Se ha reportado también que el fósforo debe encontrarse en forma de  $PO_4^{-3}$ , así como deben proveerse metales traza como magnesio y zinc [47]. Por otro lado, se ha concluido también que el extracto de levadura puede satisfacer algunos requerimientos nutricionales y estimular el aumento en la velocidad de la metanogénesis, sin embargo, la cantidad de metano producido depende principalmente de la cantidad de acetato [48].

#### 4.6.5. Tiempo de retención hidráulico (TRH)

El tiempo de retención hidráulica (TRH) es el tiempo en el cual un compuesto soluble recorre por completo un biorreactor en estado estable [49], este parámetro es relevante ya que dependiendo del tiempo de retención se puede evaluar la eficiencia del proceso metanogénico [50].

#### 4.7. TEST DE POTENCIAL DE BIOMETANO (BMP)

El test de potencial de biometano es una medida en la cual se establece la capacidad de un sustrato específico para la producción de metano a partir de digestión anaeróbica. Los resultados de este tipo de ensayos se dan en mililitros de metano respecto a gramos de sólidos volátiles ( $mL CH_4/g SV$ ). Para encontrar el valor del potencial de biometano se utiliza la expresión de la ecuación (17) [51]:

$$BMP = mL CH_4 / gSV \text{ adicionados} \quad (17)$$

Esta es una medida de gran importancia para la evaluación del diseño, cuestiones económicas y de gestión para la implementación de digestores anaeróbicos a escala industrial [19].

La diferencia entre el test BPM y la actividad metanogénica específica (AME), se basa principalmente en que el test AME se basa en la determinación de la eficiencia máxima encontrada en un lodo anaerobio, mientras que el test BPM se basa en la determinación de la producción máxima de metano de un sustrato específico, utilizando como inóculo un lodo previamente caracterizado [52].

En la estandarización de un protocolo para la obtención del potencial de biometano en diferentes sustratos es necesario caracterizar todas las partes involucradas en el proceso de digestión anaeróbica, los parámetros evaluados principalmente en este test son relación sustrato inóculo (S:I), temperatura, pH, tamaño de partícula del sustrato y agitación [53].

##### 4.7.1. Sustrato

Los sustratos que son recomendados para la generación de biogás en un proceso de digestión anaeróbica son aquellos desechos orgánicos húmedos de origen agrícola, industrial y doméstico [43].



Para la caracterización del sustrato en este tipo de ensayos, se debe realizar una determinación general de la composición [10], además de utilizar parámetros como sólidos totales (TS), sólidos volátiles (VS) y DQO. También se debe determinar nitrógeno y fósforo. Estos parámetros nos sirven para el cálculo de la relación COD/VS, la cual es usualmente utilizada en la caracterización de sustratos.

La caracterización del sustrato es relevante también para la determinación de la posible actividad de la biomasa. Basada en la cinética de Monod, la velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ) depende de la concentración del sustrato (S) [14]:

$$\mu = \frac{\mu_{max} * S}{K_s + S} \quad (18)$$

Donde,

$K_s$ : Constante de saturación

#### 4.7.2. Inóculo

La caracterización del inóculo es relevante ya que dependiendo de la organización del consorcio microbiano que compone los lodos, cambiará la eficiencia en la producción de metano [12]. Entre los posibles problemas encontrados en la producción de biogás se encuentran las altas concentraciones de sulfuro de hidrógeno y los bajos rendimientos de metano; esto es debido a las bacterias sulfato reductoras [3]. El inóculo debe ser tomado de consorcios microbianos previamente conocidos de cualquier tipo de biorreactor anaerobio, como reactores BRM o reactores UASB.

En un biorreactor anaerobio de cualquier tipo, los microorganismos crecen de la forma que se muestra en la figura 2 [54], donde se observan las etapas de arranque, estabilización, estacionaria y declinación.

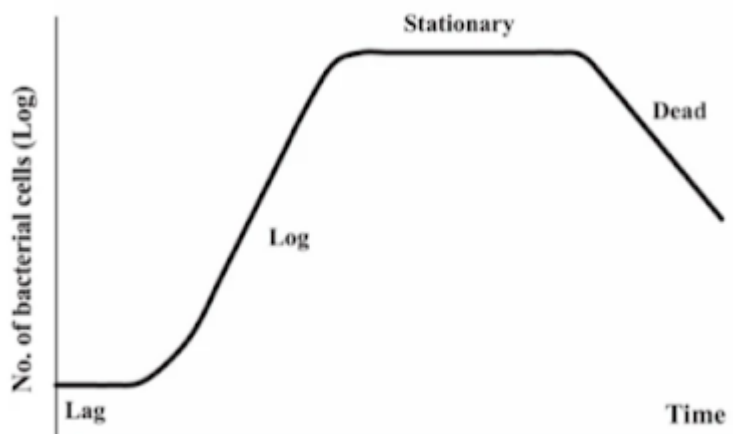


Figura 2. Crecimiento microbiano dentro de un digestor anaerobio [43]

En el caso que el inóculo obtenido provenga de biorreactores con una composición muy simple de alimento, diferentes inóculos deben ser mezclados. Ambos, tanto inóculos mesofílicos como termofílicos, pueden ser utilizados dependiendo de la temperatura del ensayo que será realizado [55].

#### 4.7.3. Actividad del inóculo

La calidad del inóculo puede ser evaluada por test de actividad en acetato y celulosa. Dicho inóculo debe tener un mínimo específico de actividad de 0.1g CH<sub>4</sub>-COD/g VSS\*d para lodos y 0.3g CH<sub>4</sub>-COD/g VSS\*d para lodos granulares [19].

Como sustratos para actividad metanogénica, se sugieren 1 atm H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> y 1g/L de ácido acético para actividad metanogénica hidrogenotrófica y acetoclástica respectivamente. Para la estimación de la actividad acetogénica, 0.5g/L de ácido acético es sugerido, y, para la determinación de la actividad acidogénica, se sugiere 1g/L de glucosa como sustrato, mientras que para la actividad hidrolítica se recomienda 1 g/L tanto para celulosa como para caseína.

El volumen del inóculo puede ser determinado como [10]:

$$V_{inoculo} = \frac{X_{ss}V_{ww}K_h}{VSS_{inoculo} SMA_{inoculo}} \quad (19)$$

donde,

X<sub>ss</sub>: Concentración hidrolizable de sustrato en el agua residual (g/mL).

V<sub>ww</sub>: Volumen de aguas residuales en el recipiente (L)

K<sub>h</sub>: Constante de hidrólisis de primer orden (day<sup>-1</sup>)

VSS inóculo: Cantidad de sólidos volátiles suspendidos (VSS) en el inóculo (gVSS/L)

SMA inóculo: Actividad metanogénica específica del inóculo (CH<sub>4</sub>-COD/g VSS\*day)

La producción de metano, y por lo tanto, la actividad del inóculo se puede ver afectada por temperatura, pH y concentración de acetato producido por las bacterias acetogénicas, ya que en digestores es estimado que aproximadamente el 70% del metano producido es originado del acetato [10]. También son importantes la utilización de nutrientes y la agitación. Hay que tener en cuenta que la inhibición del crecimiento de los microorganismos se ve influenciada por la presencia de oxígeno [18].

#### 4.7.4. Medio

Un medio nutritivo es necesario para el funcionamiento óptimo de los microorganismos anaerobios, por lo tanto, su composición es de vital importancia. Existen varias propuestas de los posibles medios que pueden utilizarse y uno de ellos es el medio básico el cual es preparado a partir de las soluciones observadas en el anexo 1.

Para 975 mL de agua destilada, las anteriores soluciones fueron adicionadas de la siguiente forma: (A) 10 mL, (B) 2 mL, (C) 1 mL, (D) 1 mL, (E) 1 mL. La mezcla es gaseada con 80% N<sub>2</sub> - 20 % CO<sub>2</sub> y 0.5 g de hidrocloreuro de cisteína y 2.6 g de NAHCO<sub>3</sub> son disueltos en 10 mL de agua

destilada. Antes de la inoculación los viales son reducidos con  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  para una concentración final de 0.025% [19]. Se ha encontrado que el pH óptimo para los microorganismos metanogénicos es de 6.8 a 7.4 [10]

#### **4.7.5. Blancos y controles**

Para medir la cantidad de metano real producido durante los ensayos, es necesario realizar ensayos con un blanco; donde se toma únicamente el inóculo en el medio o agua, cuantificando la cantidad de metano producido. Posteriormente se resta el metano producido con el blanco al metano obtenido cuando se encuentra el inóculo y el sustrato.

Tanto los ensayos con los blancos, como los realizados directamente para hallar el potencial de biometano, fueron realizados por triplicado [56].

#### **4.7.6. Configuración del ensayo experimental**

Los ensayos son realizados en recipientes cerrados (entre 100 a 2000mL). Para nuevos sustratos con características de degradación desconocidas, es necesario realizar varias diluciones con agua. Las diluciones aseguran que el potencial de metano de los sustratos no es subestimado, debido a inhibición o sobrecarga. Las muestras deben ser probadas en concentraciones desde 5 a 100%.

Los recipientes (biorreactores a escala de laboratorio) deben ser inyectados con  $\text{N}_2/\text{CO}_2$  (80/20% v/v) antes de agregar el sustrato y el inóculo, este gas suele mantener el pH cercano a la neutralidad (ligeramente ácido debido a la presencia de  $\text{CO}_2$  disuelto en el medio) al comienzo de los ensayos [57].

#### **4.7.7. Toma de datos**

El resultado del test de BPM es la producción de biometano (biogás) a partir de una cantidad específica de sustrato. El gas puede ser medido a partir de diferentes técnicas: volumétricos, manométricos y métodos cromatográficos. Los métodos de obtención de potencial de biometano tienen como característica que se realizan con material de laboratorio estándar, lo cual es teóricamente sencillo, sin embargo, para cada medición es necesario realizar nuevamente el montaje [5].

#### **4.7.8. Interpretación de los datos**

Los resultados de los ensayos de BPM siempre deben ir acompañados de una descripción clara de fuente del inóculo, actividad y cantidad de VS, composición del medio, composición o descripción de las aguas residuales y las diluciones utilizadas. Además, se debe presentar la producción de metano respecto al blanco.

En el reporte se debe tener en consideración los siguientes ítems [10]:

- Fecha de inicio y finalización del ensayo.
- Cantidad y características fisicoquímicas del sustrato a evaluar.
- Origen, actividad y características fisicoquímicas del inóculo.

- Condiciones de experimentación: temperatura, relación sustrato/inóculo (S/I), volumen del recipiente, número de réplicas.
- Resultados del blanco y controles en cuanto a la producción de metano (reporte de gráficas).
- Producción de metano en el triplicado y el promedio relativo y desviaciones estándar para un análisis estadístico completo.
- Producción específica de metano: puede ser reportado como volumen de CH<sub>4</sub> por gramo de SV, CH<sub>4</sub> por gramo de DQO, o CH<sub>4</sub> por gramo de muestra.

Los resultados pueden ser mostrados en una gráfica de producción de metano respecto al tiempo. El inicio de dicha gráfica puede dar suficiente información para determinar la producción final de metano de un sustrato dado. También es posible definir la constante K<sub>h</sub> [10]:

$$\frac{dS}{dt} = -K_h S \quad (20)$$

Donde,

S: Sustrato biodegradable

t: Tiempo

K<sub>h</sub>: Constante de primer orden de hidrólisis.

Una vez las variables son separadas, integradas y es tomada en consideración la relación entre el sustrato biodegradable y la producción de metano; es posible escribir:

$$\ln \frac{B_\infty - B}{B_\infty} = -K_h t \quad (21)$$

Donde B<sub>∞</sub> es el valor de la producción final de metano, mientras que B es la producción de metano en el tiempo *t*. El valor de K<sub>h</sub>, es característico para cada sustrato y proporciona información sobre el tiempo necesario para generar una proporción determinada de potencial final de metano [19].

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. MATERIALES

#### 5.1.1. SOFTWARE

Para la realización del diseño conceptual del biorreactor junto con el sistema de medición de producción de biometano se utilizó el software de modelado en 3D Blender 2.92. (<https://www.blender.org/>) el cual es de código abierto y con él se logró diseñar cada una de las piezas necesarias para la posterior fabricación.

Para el esquema general del proceso que se propone, se decidió usar el software Wondershare EdrawMax (<https://www.edrawsoft.com/es/edraw-max/>) el cual facilita modelar procesos propios de la ingeniería.

El tratamiento de datos (toma, organización, almacenamiento y procesamiento) fue realizado en Excel versión 19.0 a la par con su versión web, además del uso para análisis estadístico y elaboración de gráficas.

#### 5.1.2. MATERIAS PRIMAS PARA LA FABRICACIÓN

Si bien para la fabricación en gran parte tanto del biorreactor como del sistema de medición se utilizaron recipientes y piezas ya fabricadas, se utilizaron diferentes materias primas para la realización de piezas específicas:

- Caucho de silicona líquida (ConstruQuímicos<sup>®</sup>)
- Resina epóxica líquida
- Manguera NPT

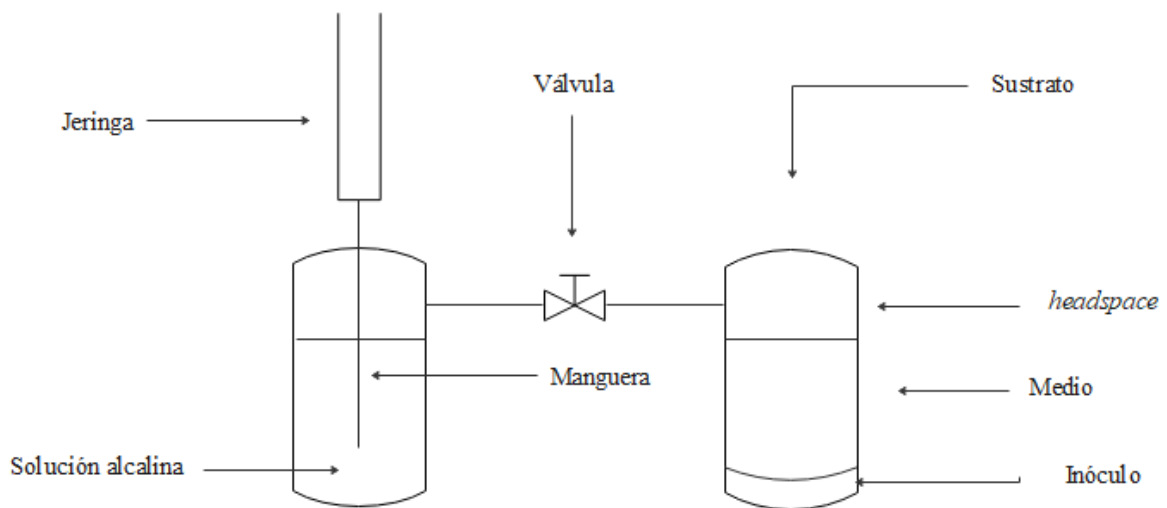
En cuanto a las piezas previamente obtenidas, se utilizó:

- Racores ¼"
- Arandelas, adaptadores machos y hembras y o-ring de ¼"
- Recipientes plásticos termorresistentes (autoclavables) de 300 mL
- Jeringas de 50 mL

### 5.2. REALIZAR EL DISEÑO CONCEPTUAL DE UN BIORREACTOR ANAEROBIO A ESCALA DE LABORATORIO PARA LA EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIOMETANO DE DIFERENTES SUSTRATOS; A PARTIR DE MATERIALES DE BAJO COSTO Y FÁCIL ACCESO.

#### 5.2.1. DISEÑO CONCEPTUAL

Para el diseño conceptual del proceso propuesto, se realizó un esquema general del proceso como se muestra a continuación:



*Figura 3. Esquema general del proceso de digestión anaeróbica y la posterior medición de biogás por volumetría*

El diseño conceptual se basó en la toma de decisiones a partir de una clasificación jerárquica, el cual subdivide el diseño conceptual en pequeñas tareas sencillas de analizar incluyendo detalles específicos respecto a una serie de criterios establecidos a partir del esquema general mostrado en la *Figura 3*, donde se evidencia las piezas necesarias para generar los dos módulos requeridos, el sistema de medición de biogás (izquierda) y el biodigestor (derecha) así, utilizando objetivos específicos de cada una de las piezas se realizó el diseño conceptual, haciendo énfasis en la facilidad de fabricación y los costos subyacentes [58] [59].

El primer paso de la metodología consistió en definir los objetivos a cumplir; de acuerdo a estos objetivos, en el segundo paso se evaluaron los posibles problemas que se podrían encontrar al buscar cumplir dichos objetivos. El tercer paso consistió en seleccionar alternativas para solucionar dichos problemas y los criterios seleccionados para evaluar los diferentes diseños. Estos criterios deben ser específicos para cada decisión. Se asignan factores de ponderación arbitrarios para establecer la importancia de cada criterio seleccionado. Diferentes reuniones con expertos, búsquedas bibliográficas y estudios previos fueron utilizados para llegar a un acuerdo frente a la relevancia en criterios de impacto social, económico y ambiental. El peso de cada criterio frente a los objetivos establecidos es relevante para el diseño conceptual.

Una vez las alternativas de diseño y los criterios fueron seleccionados, se llevó a cabo la evaluación de dichos ítems. Valores entre 0 y 10 fueron usados como puntaje que determina la relevancia de las alternativas con respecto al criterio. Los valores fueron tanto establecidos por los investigadores como calculados en función de otros parámetros.

Finalmente, las alternativas son clasificadas de acuerdo con el puntaje obtenido a partir de la evaluación. La alternativa con el mayor puntaje fue considerada para el diseño, sin embargo la decisión final fue tomada por los investigadores en relación al diseño establecido [59].

Se tuvo en consideración el desarrollo de un biorreactor a escala de laboratorio, por lo tanto el recipiente se diseñó para un volumen entre 250-500mL. A partir del diseño recomendado para ensayos de BPM, se tuvo en cuenta las partes y dimensiones de cada una de sus piezas.

A partir de la consulta en publicaciones y trabajos similares, se realizó la discusión referente a las dimensiones y materiales requeridos para el diseño de un biorreactor a escala de laboratorio, haciendo énfasis en el bajo costo y viabilidad de cada uno de los componentes. También se consideró las dimensiones de las partes requeridas para el recipiente de medición de biometano y las dimensiones de los mismos.

### **5.2.2. DIGITALIZACIÓN EN PIEZAS**

Posterior al diseño conceptual se procedió a realizar la digitalización de las piezas necesarias para la fabricación tanto del biorreactor como del medidor. Para ello se utilizó el software Blender como fue nombrado anteriormente, esto con el fin de determinar la disposición final de cada una de las piezas y sus dimensiones más viables. Para el modelado bidimensional se utilizó el software de Inkscape (<https://inkscape.org/es/>).

## **5.3. CONSTRUIR EL PROTOTIPO DISEÑADO DEL BIORREACTOR ANAEROBIO A ESCALA DE LABORATORIO PARA LA EVALUACIÓN DEL TEST BPM.**

### **5.3.1. CONSTRUCCIÓN DEL BIODIGESTOR Y EL MEDIDOR DE BIOMETANO**

Para la construcción de los equipos se utilizó como referencia el diseño conceptual y la digitalización en piezas. Se fabricaron diferentes propuestas del biodigestor y del medidor de biogás, donde se observó la viabilidad de cada una, seleccionando finalmente la propuesta con menor riesgo de fugas y de mayor eficiencia en cuanto a la medición de biometano producido por los diferentes sustratos.

### **5.3.2. INÓCULO**

#### **SELECCIÓN DEL INÓCULO**

El lodo granular usado en todos los experimentos fue tomado de biorreactores anaeróbicos a escala de laboratorio en la Universidad Antonio Nariño; utilizados para la obtención de biogás y ácidos grasos volátiles [60]. De estos, se caracterizaron los lodos en parámetros como sólidos totales (gSST/L) y sólidos volátiles (gSSV/L) los cuales brindan información referente a la cantidad de biomasa presente en la muestra, y por tanto es un parámetro que puede relacionarse a los microorganismos presentes [61]. De esta caracterización se selecciona el lodo que al ser solubilizado en el sustrato a degradar logre llegar a una concentración entre 1-1.5 gSV/L [62].

## **REACTIVACIÓN DE LODOS GRANULARES**

Los lodos seleccionados fueron tomados de biorreactores utilizados para el tratamiento de aguas residuales de la industria lechera (Colanta), dichos lodos permanecen almacenados a 4°C para evitar actividad metanogénica no deseada [51]. Por esta razón es necesario reactivar los lodos granulares con un sustrato de fácil degradación.

Para ello se tomó como sustrato melaza de caña la cual se preparó para tener una concentración final de 2000 mgDQO/L, además de agregar el inóculo y completar con agua destilada para llegar a la concentración de sólidos volátiles seleccionada (1-1.5 gSV/L) [62]

### **5.3.3. SUSTRATOS A EVALUAR**

Los sustratos a evaluar fueron residuos vegetales, microalgas y microalgas sonicadas; esto con el fin de determinar el potencial de biometano de cada sustrato a partir de los mgDQO/L adicionados al biorreactor.

## **CARACTERIZACIÓN DE LOS SUSTRATOS**

En búsqueda de encontrar las propiedades particulares del sustrato escogido, se realizaron diferentes pruebas de caracterización del sustrato, de esta manera, también se estableció la cantidad de sustrato necesario para el correcto funcionamiento del reactor a escala de laboratorio. Los parámetros a evaluar fueron sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV) humedad, temperatura, pH y DQO [51]

### **SÓLIDOS VOLÁTILES Y SÓLIDOS TOTALES (ST y SV)**

Los sólidos volátiles (SV) y totales (ST) existentes en una muestra son parámetros relevantes para determinar la eficiencia de la degradación anaeróbica, ya que los ST establecen el total de masa seca encontrada en una muestra, mientras que los SV determinan la cantidad aproximada de materia orgánica que se encuentra en dicha masa [63]. Los sólidos se evaluaron utilizando crisoles de cerámica y para realizar el procedimiento se calentó tanto en mufla como en horno.

Inicialmente se determinó la masa de un volumen conocido de la muestra; posteriormente se calienta a 105°C durante 24h y se toma nuevamente la masa, con esta diferencia de masa se determina la cantidad de sólidos totales (gST/L); finalmente esta muestra se calienta en una mufla a 550°C durante 1 h y se determina la masa, esta diferencia de masa con respecto a la masa inicial establece los sólidos volátiles (gSV/L).

### **HÚMEDAD**

Se determinó también el porcentaje de humedad del material vegetal, principalmente con el objetivo de establecer la cantidad de agua necesaria para diluir el material para realizar la digestión anaerobia.

La humedad se evaluó utilizando crisoles tarados, los cuales fueron pesados. Posterior a la determinación de la masa de los crisoles se determinó la masa del material fresco en un volumen específico, y finalmente se determina la masa del material seco; el material se seca



mediante el calentamiento de la muestra en un horno a 105°C durante 24h. La diferencia de masas establece el porcentaje de humedad de la muestra inicial; este protocolo también es útil para determinar los sólidos totales (gST/L).

## **pH**

El pH es un parámetro de gran importancia en la degradación anaerobia y por lo tanto, también en la evaluación del potencial de biometano [51]. El pH óptimo necesario para un proceso de digestión anaerobia se ha encontrado en rangos entre 7.2-8 [64]. Para la determinación del pH se utilizó un medidor de pH HI 2212 Hanna Instruments.

## **DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)**

La demanda química de Oxígeno se define como la cantidad de Oxígeno necesario para oxidar la materia orgánica presente en una muestra, lo cual es indirectamente una medida de la cantidad de materia orgánica [61]. Dependiendo de la dinámica encontrada en el cambio de DQO durante el tiempo, es posible determinar la eficiencia de consumo de materia orgánica durante la degradación anaeróbica [65]. Para la determinación de mgDQO/L se utilizó un kit de rango medio (MR) y alto (HR) de Hanna®.

Los protocolos encontrados en los kits se basan principalmente en la digestión del material orgánico con ácido a una temperatura de 150°C durante 2h y posteriormente se mide su absorbancia, la cual se relaciona con la concentración de DQO en la muestra.

## **5.4. EVALUAR EL FUNCIONAMIENTO DEL BIORREACTOR A ESCALA DE LABORATORIO PARA LA REALIZACIÓN DEL TEST BPM EN DIFERENTES SUSTRATOS**

### **5.4.1. DETERMINACIÓN TEÓRICA DEL POTENCIAL DE BIOMETANO**

Para corroborar el potencial de biometano de los sustratos a evaluar se utilizó el paquete “biogas” para Google Collab, donde a partir de la DQO inicial de los sustratos es posible determinar el BMP teórico. Adicionalmente se calcula el potencial a partir de cálculos estequiométricos basados en la composición principal de cada sustrato.

### **5.4.2. DETERMINACIÓN DE BIOMETANO**

La cantidad de biometano producido fue determinado a partir del desplazamiento volumétrico de un líquido (en este caso una solución alcalina). La descripción de este método se presenta a continuación:

### **5.4.3. DETERMINACIÓN POR VOLUMETRÍA**

Para realizar la medición por volumetría se construyó un prototipo de recipiente en donde el volumen de biogás producido desplaza un líquido, este líquido fue una solución de hidróxido de sodio (NaOH) con fenolftaleína. El desplazamiento de esta solución determinará el

volumen de biometano producido. El contenido de metano será establecido a través de la siguiente ecuación:

$$V_0 = V * \frac{(P_L - P_W) * T_0}{P_0 * T} \quad (23)$$

Donde  $V_0$  es el volumen de biogás en condiciones normales (mL),  $V$  es el volumen de biogás tomado en el instrumento de medida (mL),  $P_L$  es la presión atmosférica al momento de realizar la medición (mbar),  $P_W$  es la presión de vapor del agua (mbar),  $T_0$  es la temperatura estándar en condiciones normales (273 K),  $P_0$  es la presión normal (1013 mbar) y  $T$  es temperatura (K) [55].

#### 5.4.4. TEST BMP

El test de potencial de biometano (BPM) fue realizado en los reactores a escala de laboratorio diseñados y fabricados con anterioridad, estos reactores disponen de un volumen de 330 mL y un volumen de operación de 230 mL. Se usaron muestras vegetales trituradas y caracterizadas, microalgas tomadas de fotobiorreactores a escala de laboratorio y microalgas sonicadas y sustratos de BMP conocido (sacarosa) para realizar el test; cada ensayo se realizó por triplicado. Para la inoculación del biorreactor se usaron lodos anaerobios con una concentración final de 1,5 g SV/L y una concentración del sustrato de 2000 mgDQO/L, adicionando agua para aforar la solución al volumen de operación, manteniendo un *headspace* de 60 mL. Cada recipiente es incubado a 35°C durante 35 días aproximadamente. El ensayo se concluye cuando la producción de biometano durante 3 días es nula [22]. Posterior a la obtención de la producción de biometano, se realiza el cálculo del BMP a partir de la ecuación (17).

#### 5.4.5. VALIDACIÓN DEL TEST

Para validar el test de BMP fue necesario tener en cuenta diferentes aspectos: realizar el test por triplicado, realizar pruebas en el sustrato, el inóculo, blancos y controles positivos. El tiempo del test no se fijó de antemano y sólo se suspendió la prueba cuando el metano producido fue < 1% durante 3 días seguidos, los BMPs son expresados en NmL (metano normalizado)/gSV (sustrato) reportados en condiciones normales de presión y temperatura, el cálculo de la desviación estándar del sustrato respecto al control positivo se calculó de la siguiente forma:

$$BMP_{sustrato/control} = BMP_{promedio,sustrato/control} \quad (22)$$

$$BMP_{sustrato/control} = \pm \sqrt{(SD_{blanco})^2 + (SD_{sustrato/control})^2} \quad (23)$$

Dependiendo de los valores de desviación estándar en el sustrato, control positivo y blanco fue posible descartar los valores encontrados en el test de BMP [9].

#### 5.4.6. The Automatic Methane Potential Test System (AMPTS <sup>®</sup>):

Inicialmente se realizó una búsqueda de los equipos existentes en el mercado similares al equipo propuesto, encontrándose el sistema automático de medición del potencial de biometano de segunda generación AMPTS II, el cual se expone a continuación:

La corporación BPC Instruments desarrolló un instrumento estándar para realizar el test BMP de forma automática en un periodo de 20-30 días llamado *The Automatic Methane Potential Test System (AMPTS <sup>®</sup>)*, este sistema está adaptado para diferentes reacciones tipo *batch* de fermentación anaerobia.

AMPTS II (segunda y última versión del sistema), cuenta con 15 reactores de vidrio para realizar los ensayos, los cuales no se limitan únicamente al test BMP ya que en estos reactores pueden realizarse ensayos de biodegradabilidad anaeróbica, actividad metanogénica específica (SMA) y análisis de potencial de gas residual (RGP). El sistema cuenta con la capacidad de inyectar gas inerte, como Nitrógeno, en los reactores en búsqueda de evitar errores por sobreestimación de gas, adicionalmente cuenta con conexión remota y medición en tiempo real para establecer el comportamiento de la producción de biogás en las condiciones requeridas.

Este equipo utiliza 3 diferentes módulos los cuales son necesarios para la medición del potencial de biometano: una unidad de incubación de muestras (*Figura 4*), una unidad de absorción de CO<sub>2</sub> (*Figura 5*) y una unidad de medición de desplazamiento de gas (*Figura 6*) [66].



*Figura 4. Unidad de incubación de muestras en reactores tipo Batch*



Figura 5. Unidad de absorción de CO<sub>2</sub> y otros gases obtenidos de la digestión anaeróbica



Figura 6. Unidad de medición de desplazamiento de gas

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. DISEÑO CONCEPTUAL

En cuanto al diseño conceptual, se tomó en consideración el diseño y funcionamiento del equipo AMPTS II, buscando mejorar primordialmente la facilidad de operación de este tipo de biorreactores haciendo énfasis también en la viabilidad económica del equipo propuesto. Para el diseño en sí mismo, se tomó como referencia una metodología de decisiones jerárquicas utilizado para el diseño de plantas de tratamiento de aguas residuales [59]. Esta metodología establece 3 pasos principalmente; Inicialmente se procedió a generar una tabla con los objetivos generales y los parámetros requeridos para el cumplimiento de dichos objetivos. La tabla se muestra a continuación:

*Tabla 1. Objetivos y parámetros necesarios para la fabricación del dispositivo para la medición de BMP.*

Diseño de objetivos
<b>OBJ 1: Garantizar la degradación anaerobia de varios sustratos</b>
1. Inóculo anaeróbico
2. Temperatura aproximada de 35°C
3. Sustratos orgánicos con potencial de ser degradados
4. Tamaño de operación y de <i>headspace</i>
<b>OBJ 2: Garantizar la medición del biogás y el biometano producido</b>
1. Reactivo para captura de CO <sub>2</sub>
2. Precisión en la medición de volumen
3. Tiempo de retención y frecuencia de medición
<b>OBJ 3: Minimizar problemas técnicos</b>
1. Hermeticidad
2. pH cercano a la neutralidad
<b>OBJ 4: Minimizar costos de producción y operación</b>
1. Materiales de bajo costo
2. Facilidad de fabricación y operación

Teniendo en cuenta los objetivos establecidos se establecieron una serie de alternativas teniendo en cuenta la literatura y los diseños previamente realizados en el laboratorio de ingeniería ambiental. Así, se tomaron una serie de decisiones de forma jerárquica dando un valor matemático a las decisiones de mayor viabilidad, realizada por etapas, que direccionaron el tipo de fabricación y las piezas requeridas para el correcto funcionamiento del dispositivo propuesto. Estas decisiones, con sus respectivas alternativas se muestran en la *Tabla 2*.

*Tabla 2. Resumen de la Aplicación del procedimiento de Decisión Jerárquica al Diseño del biorreactor de digestión anaeróbica para la determinación de BMP*

Decisión	Alternativas
1. Proveniencia de lodos anaerobios	Biodigestores a escala de laboratorio Biodigestores a escala industrial Biodigestores con lecho fijo
2. Tipo de lodo	Biomasa suspendida Biomasa fija
3. Forma de calentamiento	Termistor Incubadora
4. ¿Se incluye agitación?	Sí No
5. Material de los recipientes	Vidrio Polipropileno
6. Forma de sellar los recipientes	Rosca Resinas
7. ¿Se colocarán sensores?	Sí No

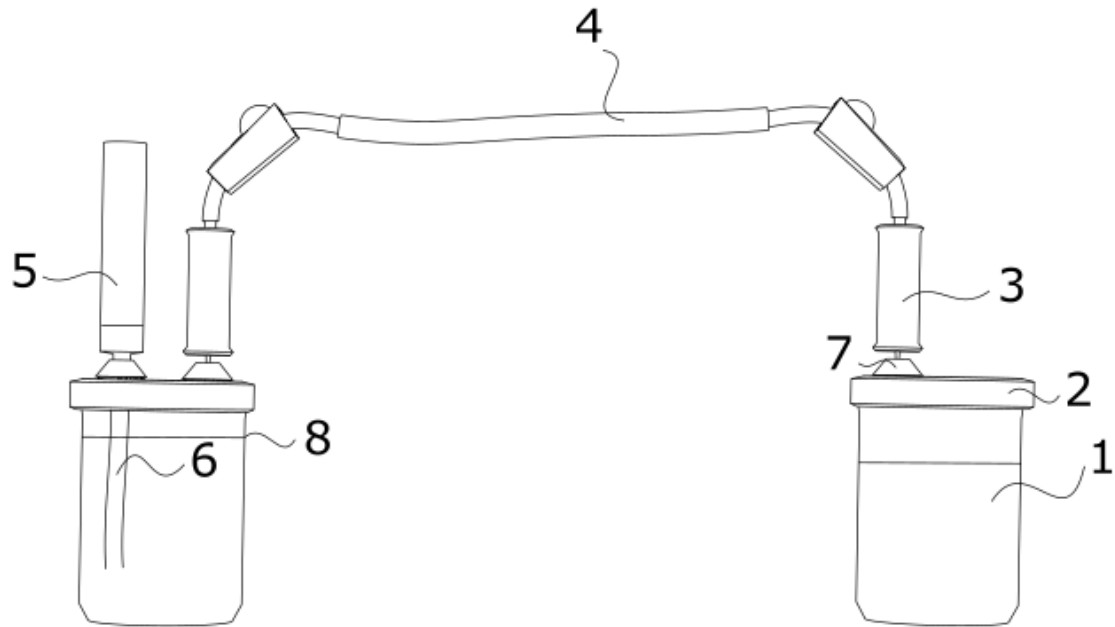
Estas alternativas fueron evaluadas individualmente teniendo en consideración criterios económicos, ambientales y técnicos, basados también en diseños anteriores y estudios encontrados en la literatura. De esta forma se seleccionaron una o más alternativas para el diseño final del biorreactor. Las alternativas finales seleccionadas del reactor fueron las que se muestran a continuación:

1. Proveniencia de los lodos anaerobios: Biodigestores a escala industrial
2. Tipo de lodo: Biomasa fija
3. Forma de calentamiento: Incubadora
4. ¿Se incluye agitación?: No [80]
5. Material de los recipientes: Polipropileno
6. Forma de sellar los recipientes: Rosca
7. ¿Se colocarán sensores?: No

En cuanto al uso de sensores, no se descarta su uso en prototipos futuros, ya que el objetivo final es fabricar un prototipo que sea completamente automático. Con estas decisiones tomadas se procede a digitalizar las piezas requeridas para la fabricación del biodigestor junto con el sistema de medida.

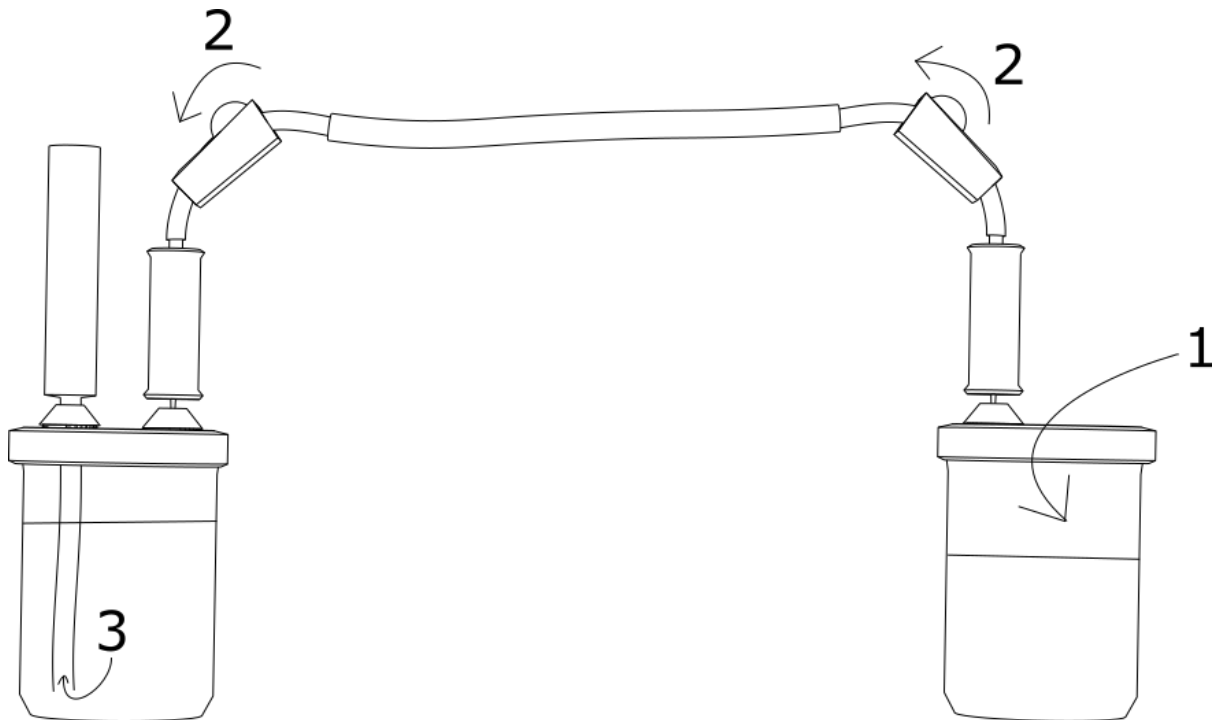
## 6.2. DIGITALIZACIÓN EN PIEZAS

En cuanto a la digitalización en piezas se realizó un modelo tridimensional en Blender<sup>®</sup>, y posteriormente se exportó como un modelo bidimensional en Inkscape. El resultado se observa en *Figura 7*.



*Figura 7. Digitalización sistema para medición BMP. Donde se observa el biorreactor y el medio en el cual se realiza el proceso de DA (1), el reactor y el medidor de gas fueron cerrados con una tapa comercial, donde se colocaron los accesorios necesarios para el funcionamiento del sistema (2), una conexión para la salida de gases, siendo escogido una manguera y válvula de venoclisis de macrogoteo (3), una conexión intermedia entre los dos recipientes (4), la jeringa que tiene como objetivo facilitar la medición del desplazamiento de la solución alcalina (5), una manguera que está sumergida en la solución alcalina (6), el sello particular para realizar las conexiones y asegurar hermetismo (7) y el recipiente seleccionado para el medidor de biogás (8). En el recipiente de la izquierda se encuentra una manguera que está sumergida en la solución que se desplazará hacia la jeringa.*

Así, se establecieron las piezas específicas necesarias para la fabricación del sistema, y a partir de ella se generó la forma de operación tentativa. Este tipo de operación se observa en la *Figura 8*.



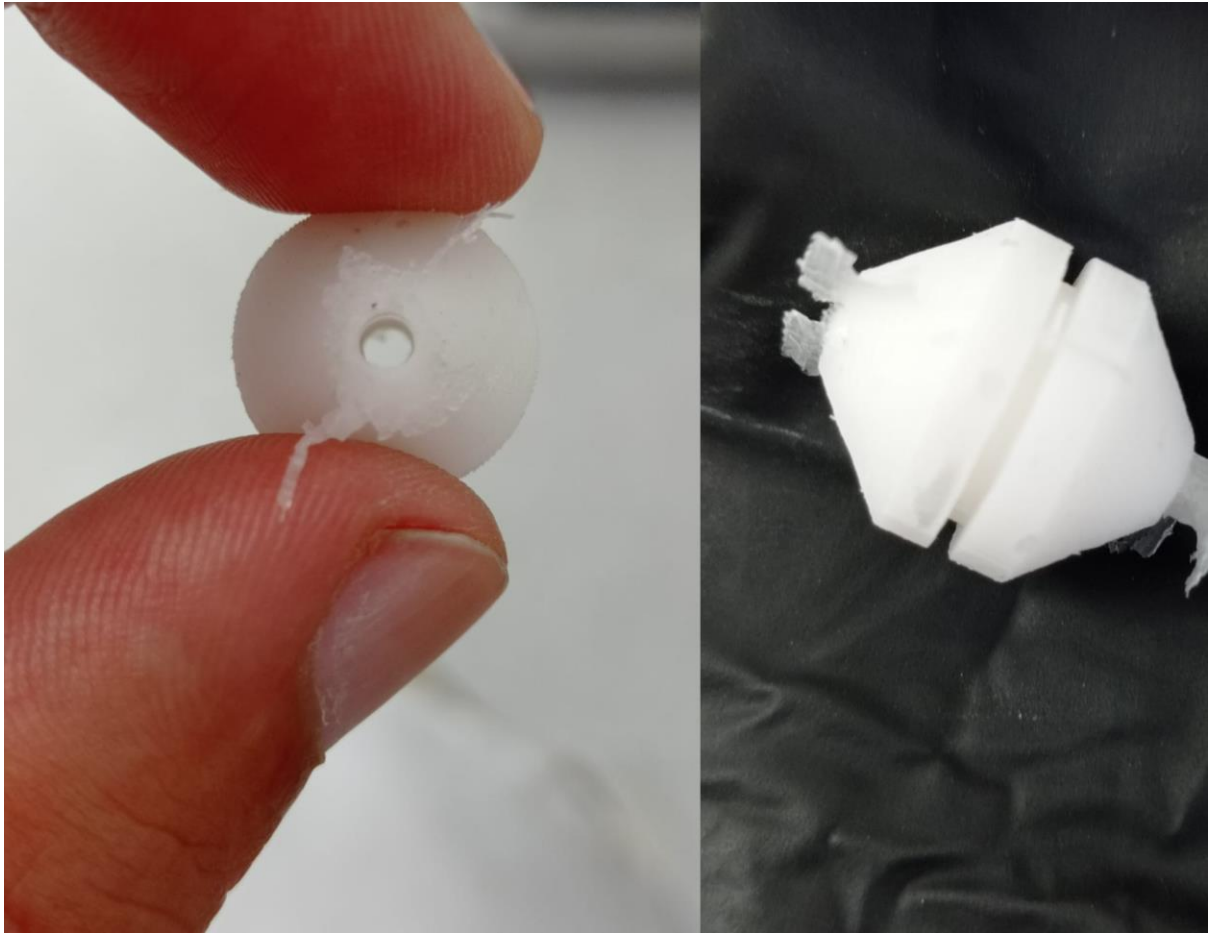
*Figura 8. Operación del sistema de medición de BMP. Se evidencia la serie de pasos a seguir, donde en el paso (1) se agrega la cantidad necesaria de inóculo y sustrato para mantener la relación S:I seleccionada, posteriormente en el paso (2) se abren las válvulas, tanto para el biodigestor como para el medidor de biogás y así permitir el paso de biogás, en algunos casos puede existir únicamente una válvula, finalmente en el paso (3) el biogás genera presión en la superficie del líquido del medidor de gas desplazándose por la jeringa. La diferencia de volumen en la jeringa establecerá la cantidad de biogás producido por el biodigestor.*

Se decide entonces construir el reactor con partes comerciales en los numerales (1), (2), (3), (4), (5), (6) y (8) de la *Figura 7*, siendo únicamente fabricado el componente (7), para la realización de esta pieza inicialmente se imprimió en una impresora 3D Printer III un molde donde posteriormente se sirvió silicona líquida, la pieza obtenida de este procedimiento fue la que se utilizó como sello y conexión entre los recipientes y el componente (3), los cuales fueron mangueras para venoclisis adaptadas y al componente (5) el cual es una jeringa adaptada y abierta para la medición del desplazamiento de líquido.

### **6.3. CONSTRUCCIÓN DEL BIODIGESTOR Y EL SISTEMA DE MEDICIÓN DE BIOMETANO**

Posterior a la digitalización de las piezas necesarias para el biodigestor y para el sistema de medición, se procedió a fabricar estas piezas; siendo la mayoría piezas comerciales adaptadas a la propuesta. Se realizaron varias propuestas de prototipos para la fabricación. En cuanto a la primera propuesta de prototipo, la única pieza que se debió fabricar directamente fue la pieza mostrada en la *Figura 7 componente (7)*. El resultado se observa en la *Figura 8*.

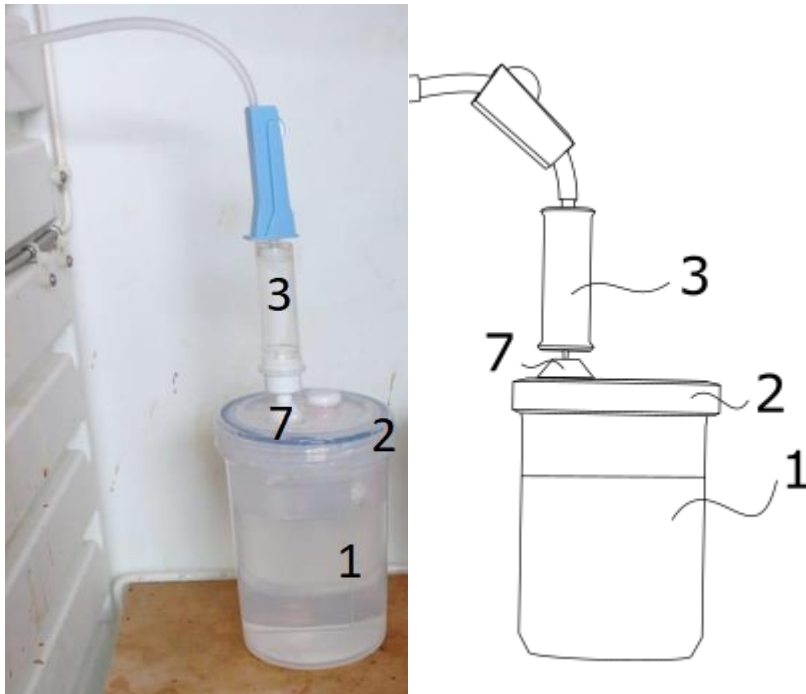




*Figura 9. Conexión para los recipientes*

La pieza observada en la *Figura 9* cumple la función de generar un sello en los recipientes y ser una conexión para las diferentes mangueras y accesorios requeridos. La conexión fue diseñada con un diámetro mayor al encontrado en los recipientes, así al ser de silicona ingresa por presión y crea un sello que evita fugas.

Se ensamblan todas las piezas para el biorreactor anaerobio como se muestra en la *Figura 10*.



*Figura 10. Primer prototipo de biodigestor el recipiente escogido es un recipiente hermético (1) con una tapa que contiene un empaque de silicona (2) adaptado para colocar la conexión de silicona (7) que une al recipiente con una manguera venoclisis normalmente utilizado en medicina para dosificar diferentes fluidos (3).*

En este caso se utilizó para permitir o bloquear el flujo del biogás producido en el biorreactor una venoclisis de macrogoteo. Un ensamblaje similar se utilizó para la fabricación del sistema de medición de biogás, como se observa en la *Figura 11*.

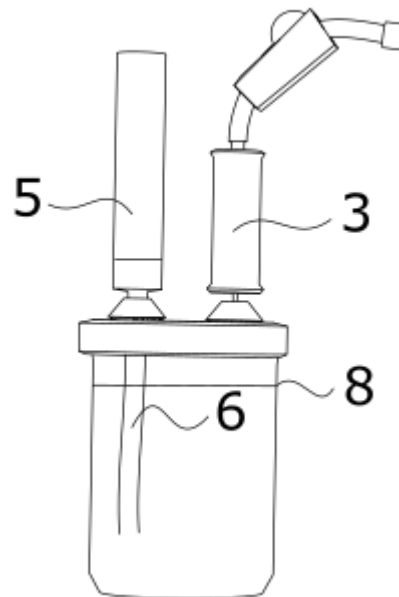
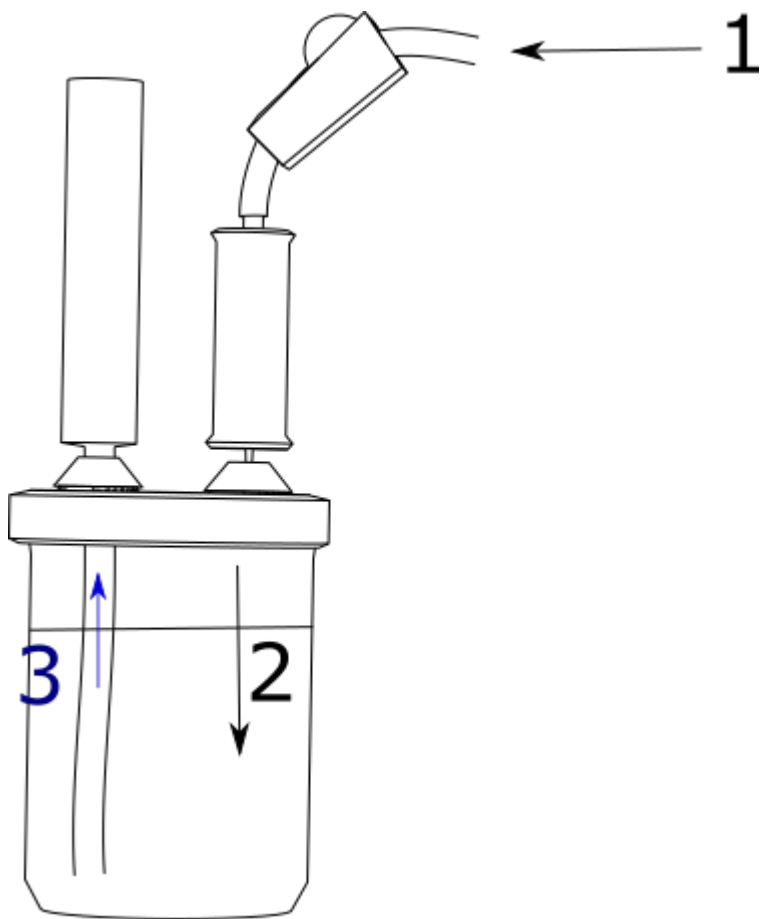


Figura 11. Primer prototipo de sistema de medición de biogás

El sistema de medición de biogás, como se muestra en la *Figura 11*, tiene también una conexión con una manguera procedente de un *kit* de venoclisis en un orificio, mientras que en el otro tiene una conexión con una jeringa de 50 mL (5) que tiene una manguera que se extiende hasta el fondo del recipiente (6) para determinar el desplazamiento del líquido (*Figura 12*). Se decidió utilizar una solución alcalina (NaOH 0.04N con fenolftaleína) para la absorción del CO<sub>2</sub> del biogás, garantizando así la medición del biometano producido.



*Figura 12. Dirección del flujo de gas (negro) y desplazamiento del líquido (azul) en el sistema de medición de biogás*

En la *Figura 12* se ilustra el funcionamiento del sistema de medición del biogás, donde las flechas negras (1) y (2), indican el ingreso de gas y la forma en la que genera presión al líquido del sistema; la flecha azul (3) representa el desplazamiento del líquido, inicialmente la jeringa tiene un volumen conocido y posteriormente se conecta con el biodigestor; debido a que el líquido es una solución alcalina, el  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{S}$  del biogás reaccionan y no generan desplazamiento; sólo el metano genera desplazamiento del líquido. La diferencia de volumen en la jeringa indica el volumen de metano que se encuentra generando presión en el *headspace*.

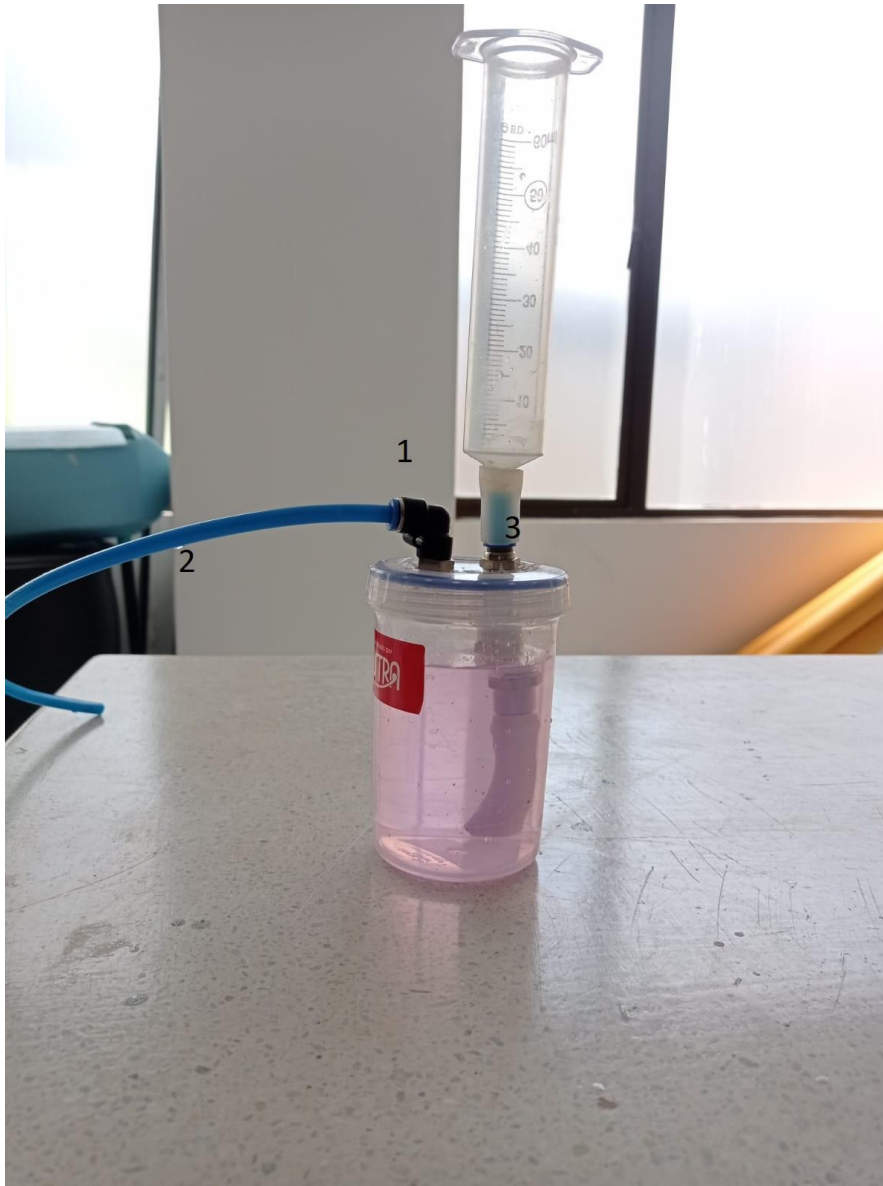
Posterior a la fabricación de ambos prototipos se procedió a ensamblar los dos recipientes para evaluar la eficiencia del sistema completo, tomando como referencia la digitalización de la *Figura 6*. El resultado de este ensamblaje se muestra en la *Figura 13*.



*Figura 13. Primer ensamblaje del montaje para la determinación de BMP*

El montaje completo mostrado en la *Figura 13* fue el primer montaje utilizado para la evaluación inicial del potencial de biometano y así determinar el correcto funcionamiento del sistema completo.

Para el segundo prototipo se decidió cambiar el tipo de conexión en los agujeros realizados en los recipientes, donde se cambia la pieza fabricada por racores ( $\frac{1}{4}$ ' NTP), conectados por una manguera particular para este tipo de conexiones; ésto con el objetivo de disminuir la posibilidad de fugas, lo cual es un importante objetivo establecido en el diseño conceptual. La segunda propuesta de sello se observa en la *Figura 14*.



*Figura 14. Segundo prototipo de sistema de medición de biogás*

En la *Figura 14* se observa las conexiones propuestas, donde se aprovecha la rosca de los racores (1) (3) para generar un sello de mayor eficiencia y en la parte inferior de la tapa se sella con una tuerca de bronce, colocándose un *o-ring* tanto en la parte inferior como en la superior de la tapa. Este prototipo tuvo en algunos casos sellos de silicona y resina epóxica, la fabricación final de las tapas para estos prototipos se observa en la *Figura 15*.

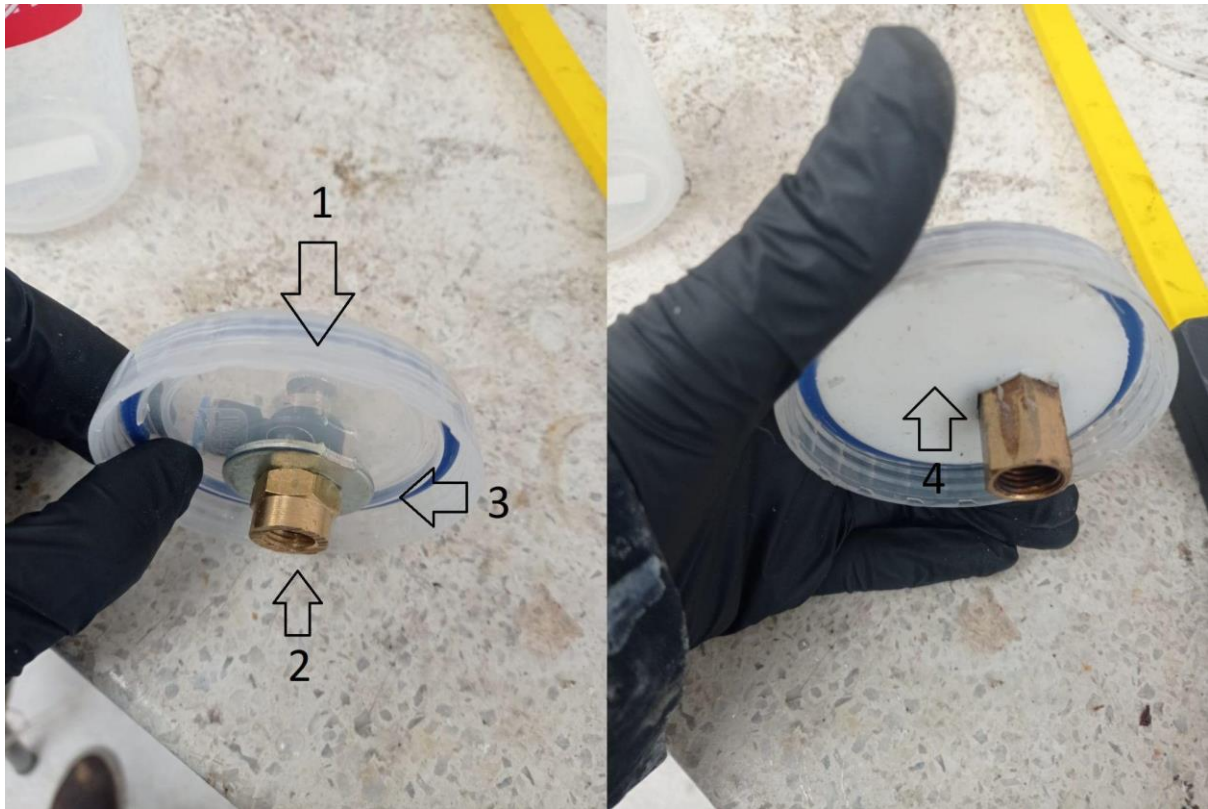


Figura 15. Tipos de tapas para el segundo prototipo

En la *Figura 15* se observa cómo se realizan las conexiones con los racores (1), donde se sella por la tuerca de bronce (2) y el *o-ring* con la arandela metálica (3), para evaluar el sello también se colocó una capa de resina epóxica y una capa de resina de silicona (4).

Ambos prototipos de biodigestores se encuentran en la *Figura 16*, evidenciándose las diferencias de conexión.

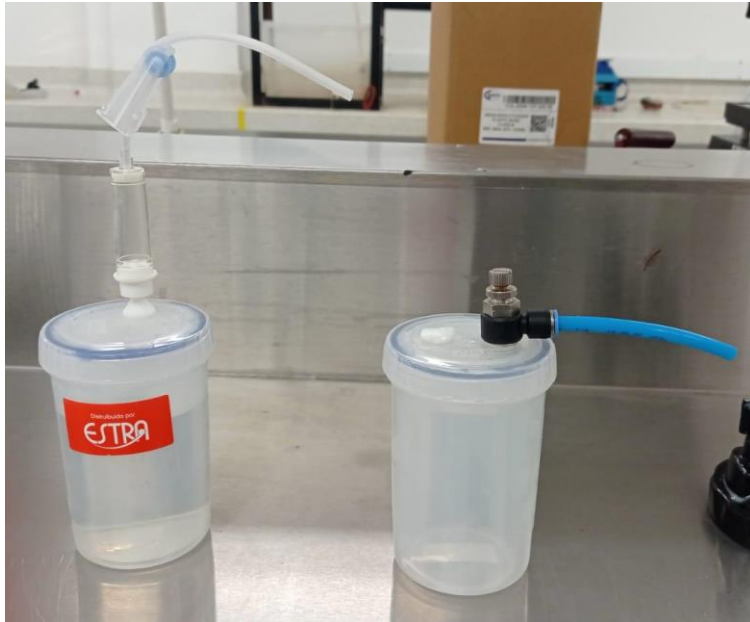


Figura 16. Prototipos para el test de potencial de biometano

#### 6.4. REACTIVACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO

El inóculo seleccionado fue un lodo granular obtenido a partir de biodigestores previamente operados en el laboratorio de ingeniería ambiental de la universidad Antonio Nariño. Éstos fueron reactivados a 37°C con alimentación a partir de melaza de caña ya que es un sustrato complejo que asegura la disponibilidad de nutrientes y micronutrientes de fácil degradación. Posterior a la incubación se observó de forma cualitativa la producción de gas, asegurando de esta forma el correcto funcionamiento y reactivación del inóculo. El montaje de este proceso consistió en un recipiente cerrado deformado que volvió a su forma inicial al aumentar el gas en el *headspace*.

Posteriormente los lodos fueron caracterizados respecto a su contenido de sólidos volátiles (gSV/L) y de sólidos totales (gST/L). Los valores encontrados en la determinación de los sólidos totales se pueden observar en la *Tabla 3*.

Tabla 3. Sólidos volátiles y sólidos totales del inóculo seleccionado

				Media	Desviación estándar
ST (g/L)	37.34	29.5	32.9	33.25	3.93
SV (g/L)	34.42	26.6	30.11	30.38	3.92

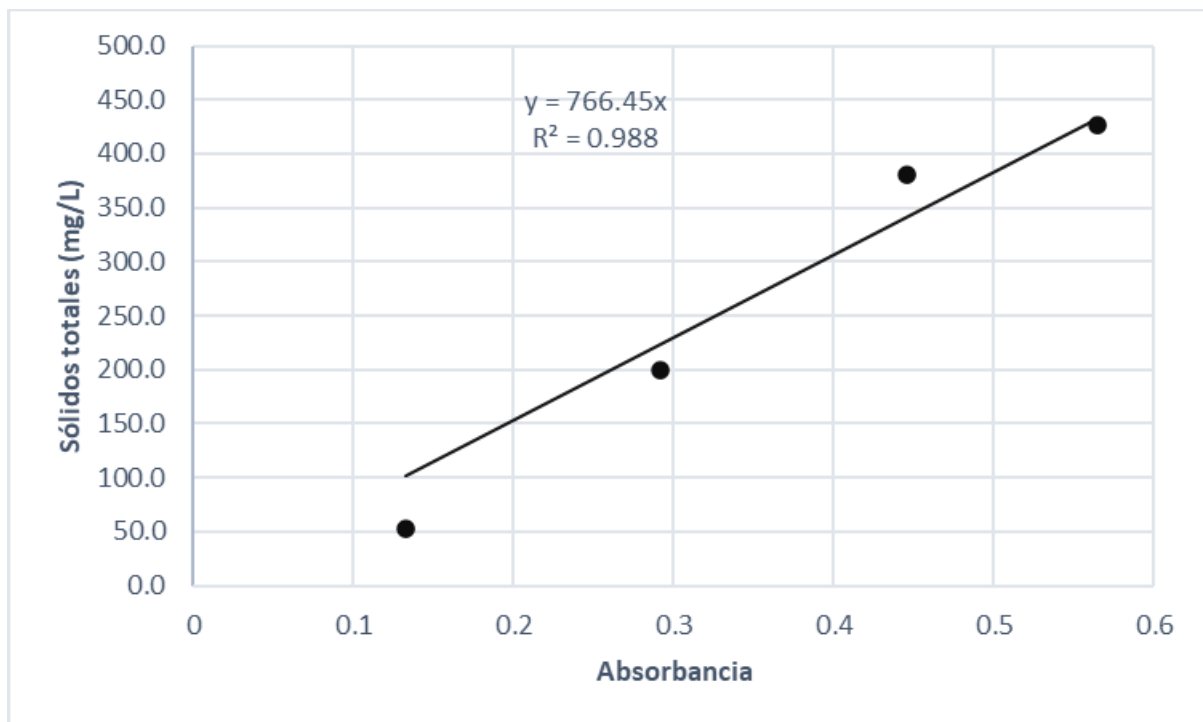


La determinación de sólidos totales y sólidos volátiles se dio por triplicado, dando un promedio de 33.25 gSV L<sup>-1</sup> y 30.38 gST L<sup>-1</sup>, lo cual se encuentra acorde a la recomendación de los sólidos volátiles necesarios para la inoculación de un reactor anaerobio [67]. Teniendo en cuenta estos valores y teniendo el lodo reactivado se procedió a inocular los reactores para la determinación del potencial de biometano de los sustratos.

### 6.5. CARACTERIZACIÓN DE LOS SUSTRATOS A EVALUAR

Los sustratos a evaluar se seleccionaron a partir de residuos producidos en diferentes contextos y así observar el comportamiento de la DA con sustratos de diferentes composiciones. Por esta razón se tomaron como sustratos residuos vegetales de origen doméstico y microalgas producidas en laboratorio con fotobiorreactores ya que se ha observado que las microalgas pueden ser utilizadas como sustrato para la producción de biogás, sin embargo su degradación no es tan eficiente [68].

Para caracterizar estos sustratos previo al test de BMP's se realizaron protocolos de determinación de sólidos totales, volátiles, DQO como se muestra en la *Figura 18* y humedad dependiendo del sustrato; para el caso de las microalgas se utilizó una curva de calibración realizada en triplicado, donde el valor promedio de cada punto se utilizó como el valor de la regresión lineal que relaciona la absorbancia obtenida con los sólidos totales, esta curva de calibración se observa en la *Figura 17*.



*Figura 17. Curva de calibración sólidos totales vs absorbancia a 675 nm en microalgas*

Así, se estableció que el material vegetal tuvo una humedad promedio de 89.93% y valores de sólidos de 19.96 gST L<sup>-1</sup>, 18.68 gSV L<sup>-1</sup> lo cual es menor a lo determinado en la literatura

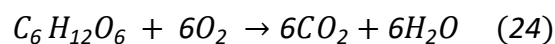
[51] por lo cual el BMP puede ser menor al encontrado por estos estudios (118.07 mL CH<sub>4</sub> gSV<sup>-1</sup>). Por otro lado, las microalgas, con una absorbancia de 0.9 mostraron unos sólidos totales de 0.689 gST L<sup>-1</sup>.



Figura 18. Determinación de mgDQO/L de los sustratos a evaluar (Tonalidad más cercana a verde muestra mayor concentración)

Así, se preparó una suspensión del material vegetal con una concentración de 12 g/L de peso seco y de allí se realizaron diluciones con factores de dilución de 1/2, 1/6 y 1/12 con valores de DQO de 1223 mg/L DQO, 500 mg/L DQO y 236 mg/L DQO, respectivamente; dando como resultado una DQO en la mezcla inicial de 2446 mg/L DQO.

Por otra parte, para los experimentos con microalgas, la suspensión tenía una concentración final de sólidos totales de 0.29 gST/L. Como control positivo se utilizó una solución de glucosa, teniendo en consideración la estequiometría de la oxidación completa de este compuesto (24) y la ecuación de producción de biometano (1).



A partir de estas relaciones se tomó una cantidad de glucosa equivalente a 1700 mgDQO/L y se preparó un medio con micronutrientes suficientes para mantener una buena relación C/N y un pH cercano a la neutralidad, el medio utilizado se observa en la *Tabla 4*.

Tabla 4. Cantidades necesarias para realizar 1 L de medio del control positivo para la determinación del potencial de biometano

Reactivo	Cantidad (g)
Glucosa	1.87
Bicarbonato	1
Cloruro de amonio	0.5
Tiosulfato de sodio	1.7

## 6.6. PREDICCIÓN TEÓRICA DEL POTENCIAL DE BIOMETANO

Para la predicción del BPM de los diferentes sustratos se utilizó el paquete “biogas” [69] para Google Collab, donde se utiliza el valor de DQO previamente obtenido para generar una predicción teórica de la producción de biogás y biometano de cada sustrato.

Se predijo una producción de biometano con relación a los sólidos volátiles agregados de  $198.1 \text{ mL } CH_4 / g \text{ SV}$  a partir de una DQO de 452 mg/L y una masa de material vegetal de 660 mg, los cuales fueron los valores escogidos para realizar el test experimental. Por otro lado, para la determinación del potencial de biometano de forma teórica se utilizó el valor de DQO obtenido y se utilizó una relación estequiométrica de la oxidación del ácido acético, el cual es el sustrato más comúnmente utilizado por las bacterias metanogénicas [70] y junto con la ecuación de gases ideales se calculó el volumen de metano que podría producir el sustrato particular. De esta forma se determinó que el material vegetal con un DQO de 452 mg/L debería tener un potencial de biometano de  $264 \text{ mL } CH_4 / g \text{ SV}$ . La diferencia principal entre este resultado y el encontrado por la herramienta recae principalmente en que el valor calculado toma como referencia las variables encontradas en Bogotá y en la incubadora en la cual se llevó a cabo la digestión. Estas variables fueron una temperatura de 35°C (308.15 K) y una presión atmosférica de 1.011 atm.

## 6.7. DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DE BIOMETANO (BMP) DE LOS SUSTRATOS A EVALUAR

Para la determinación del potencial de biometano se utilizaron ambos prototipos propuestos y se inocularon con los lodos previamente caracterizados, alimentados con los sustratos a evaluar. Un ejemplo de esta incubación se observa en la *Figura 19* donde se colocaron los reactores incubados con el sustrato a evaluar, conectados con el sistema de medición, el cual fue el mismo para cada todos los reactores.



*Figura 19. Montaje para evaluación del potencial de biometano*

Se tomó diariamente el desplazamiento de gas en el sistema de medición, generando así el perfil de producción de biometano en cada sustrato. Inicialmente, se realizó el ensayo del potencial de biometano de agua destilada como control negativo durante un tiempo de 30 días. Este tiempo fue escogido ya que es aproximadamente durante este periodo que se produce la mayor cantidad de metano en reactores con las condiciones establecidas [1]. Esta incubación se realizó para determinar el posible desplazamiento gaseoso por evaporación del agua en la temperatura de incubación y por los sustratos remanentes encontrados en los lodos anaerobios, el perfil de producción de biometano para el caso del control negativo se encuentra en la *Figura 20*.

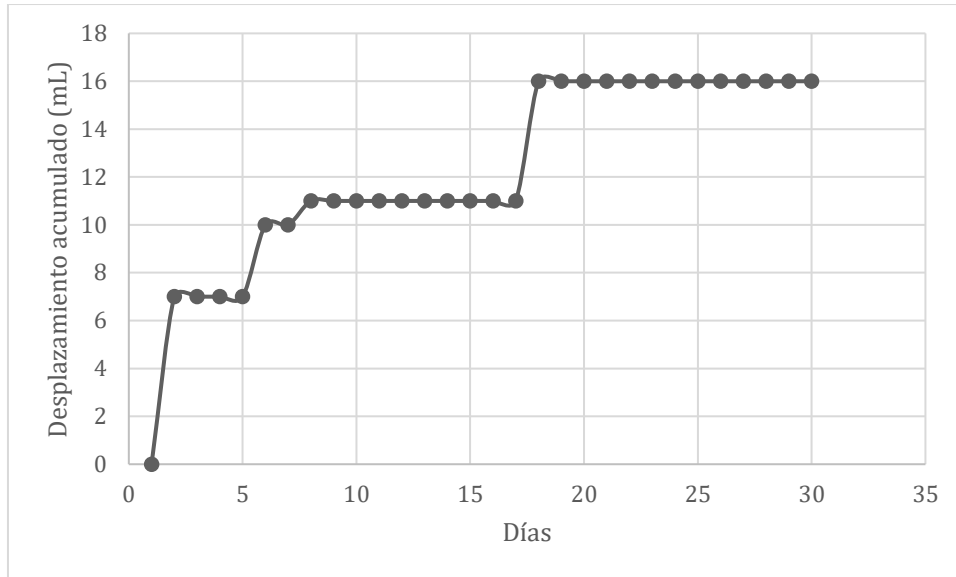


Figura 19. Perfil de producción de biometano en el control negativo

Así, se observa en la *Figura 20* unos picos de desplazamiento de gas debido tanto a la evaporación del agua como de la producción de biogás de los lodos por sustratos remanentes, dando una producción máxima de 16 mL de biometano en el periodo establecido; este valor fue descartado en todos los demás ensayos buscando establecer el biogás producido únicamente por el sustrato evaluado. Otro control negativo que se tomó en consideración fue un biorreactor inoculado únicamente con agua destilada, así se puede establecer la cantidad de desplazamiento generado únicamente por la evaporación del agua en las condiciones de incubación, el resultado de este ensayo se encuentra en la *Figura 21*.

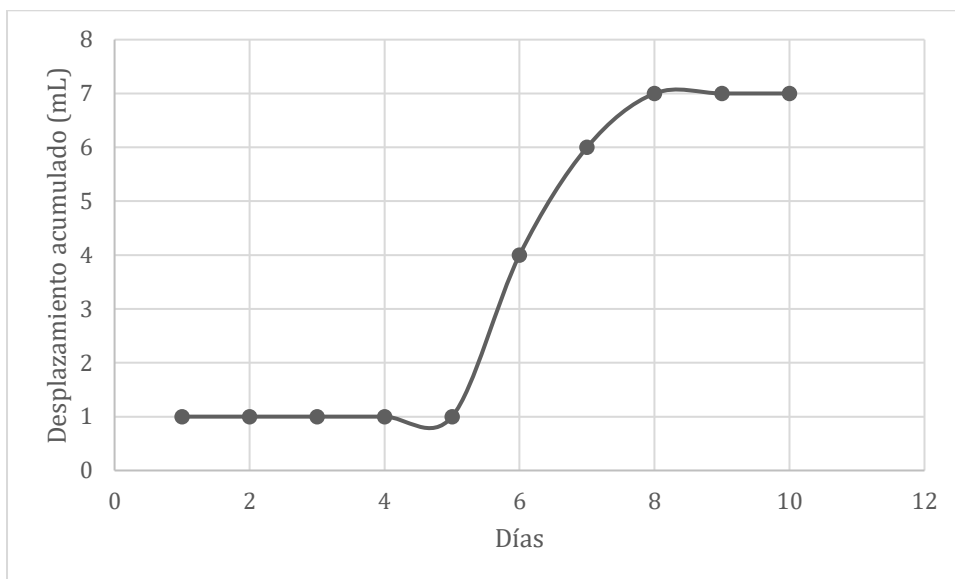
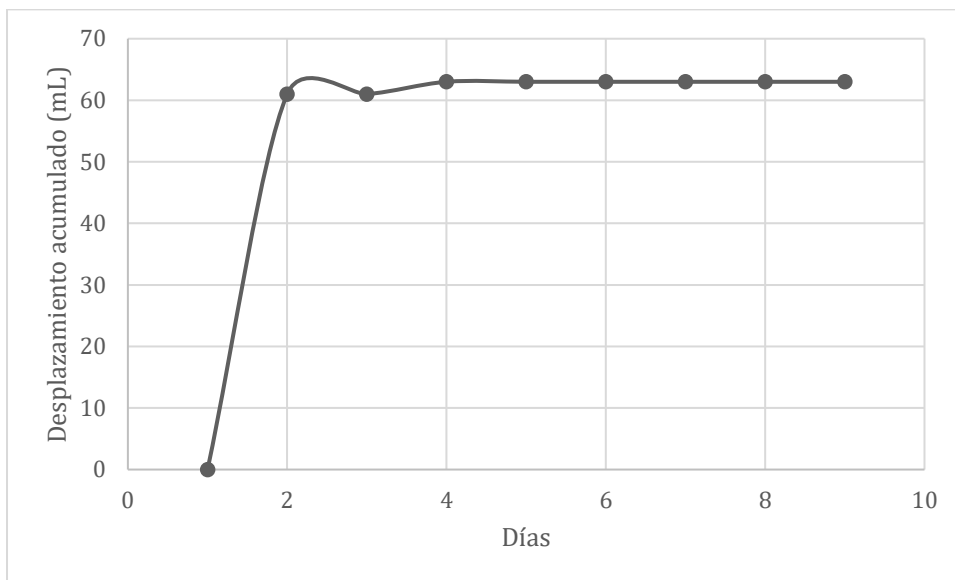


Figura 20. Perfil de desplazamiento de gas con agua destilada

Se observa entonces en la *Figura 22* el ensayo de control negativo, en este caso, se tomó un tiempo de retención de 10 días, esto debido a que en los últimos 3 días no se observó ningún desplazamiento, dando así fin al ensayo. En cuanto al ensayo, se evidencia que existe un desplazamiento de gas por evaporación de agua, en total se observa un desplazamiento de 7 mL, por lo tanto, teniendo en cuenta el control negativo de la *Figura 21* se establece que el metano producido directamente por sustratos remanentes en los lodos es de 9 mL.

Como controles positivos se utilizaron 3 tipos diferentes de sustratos: Glucosa, Sacarosa y Melaza de caña. Para el caso de la glucosa se utilizó un medio como se muestra en la *Tabla 4* el perfil de producción de metano en este sustrato se observa en la *Figura 23*.



*Figura 21. Perfil de producción de biometano en glucosa*

Para la glucosa, como es observado en la *Figura 22* se evidenció un aumento abrupto en la producción de biometano, este es el comportamiento esperado para una buena degradación en sustratos que se encuentran disponibles para los microorganismos. Este sustrato se encuentra en una concentración de 1793 mgDQO/L con un BMP teórico de 171 NmLCH<sub>4</sub>/gSV. Se encontró entonces de forma práctica un BMP de 150 NmLCH<sub>4</sub>/gSV, este resultado se puede explicar por una inhibición debido al pH [71], ya que al revisar este parámetro se encontró un valor cercano a 5, teniendo en cuenta que el pH adecuado para la DA es de valores cercanos a la neutralidad [51].

Como otro control positivo, se usó sacarosa, donde se tomó 300 mg con una concentración de 450 mg SV/L y un volumen final de 270 mL con un medio similar en cuanto a micronutrientes encontrados en la *Tabla 4*. El perfil de biometano de este control positivo se observa en la *Figura 23*.

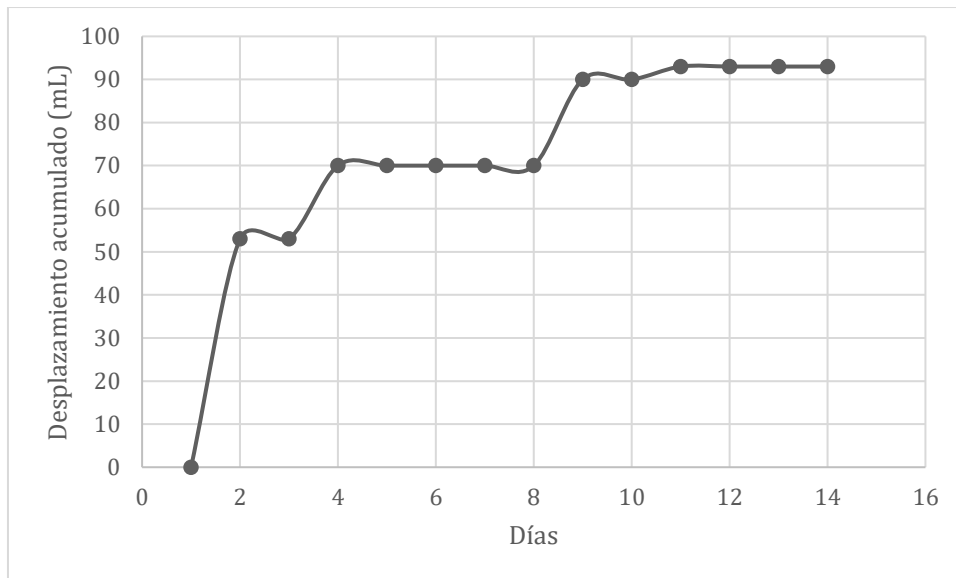


Figura 22. Perfil de producción de biometano en Sacarosa

Teniendo en consideración la Sacarosa como control positivo como se observa en la *Figura 23* el aumento de la producción de biometano es más paulatino, sin embargo, se evidencia un aumento considerable en cuanto al volumen producido. Se realizó una alimentación en el biorreactor con una concentración de 2000 mgDQO/L y un BMP teórico de 462 NmLCH<sub>4</sub>/gSV. Se encontró un volumen de biometano de 93 mL en un tiempo de retención de 15 días, con un potencial de biometano de 210 NmLCH<sub>4</sub>/gSV y un rendimiento del 67%, mostrando como la falta de micronutrientes en los medios evita la eficiencia total de la digestión anaerobia. Finalmente, en cuanto a los controles positivos se incubó melaza de caña con una masa de 735 mg diluida en 270 mL, sin agregar micronutrientes con el fin de observar el comportamiento del consumo de este sustrato. El perfil encontrado en este ensayo se observa en la *Figura 24*.

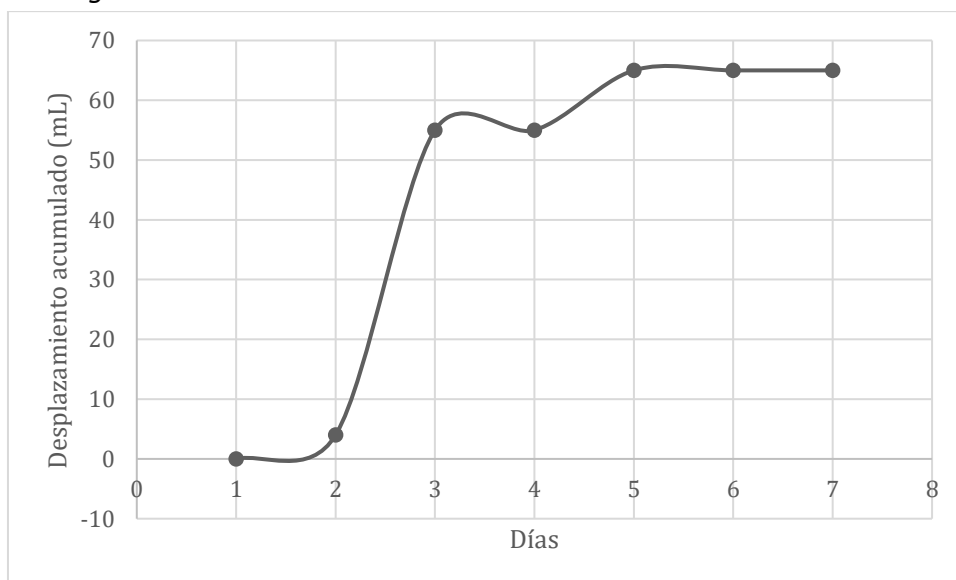
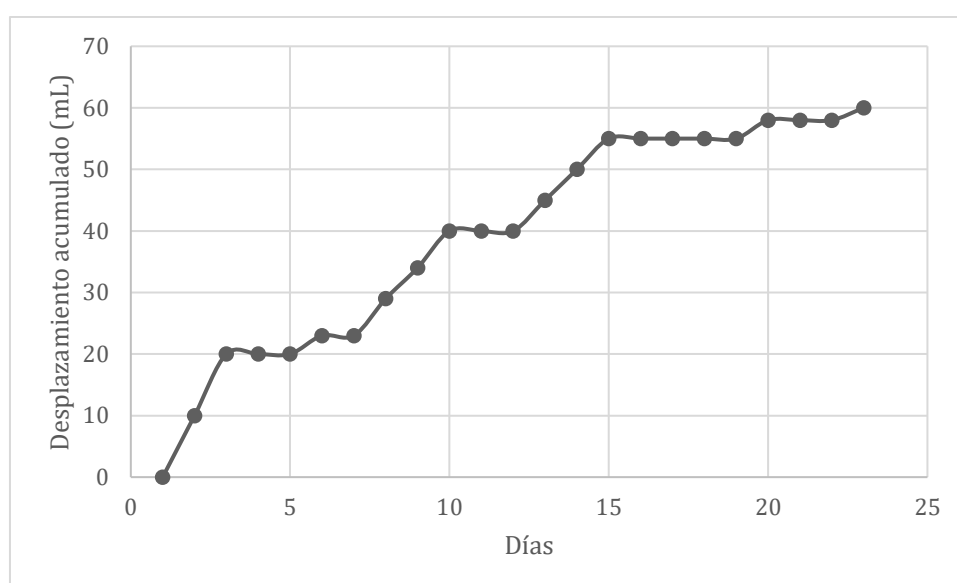


Figura 23. Perfil de producción de metano en Melaza de caña.

Al observar la *Figura 24* se evidencia una producción de biometano en grandes cantidades en corto tiempo (7 días de tiempo de retención) lo cual implica una fácil degradación del sustrato. Este sustrato tuvo una DQO de 1000 mgDQO/L iniciales, y un BMP teórico de 161 NmLCH<sub>4</sub>/gSV, así, al evaluar los resultados se encontró un desplazamiento total de 65 mL y un BMP de 67 NmLCH<sub>4</sub>/gSV, este resultado se puede explicar a partir de la relación C/N, ya que la melaza tiene una gran cantidad de carbono orgánico en relación al nitrógeno, lo que evita una degradación correcta del sustrato [72].

En el caso del ensayo de BMP realizado en el material vegetal como sustrato, el perfil de producción de biometano se observa en la *Figura 25*, el tiempo de operación en este caso fue de 18 días, ya que según el protocolo estándar el ensayo debe terminar cuando se produzca una cantidad de < 2% de biogás [9] Y la melaza, al ser un sustrato de fácil degradación produce su cantidad máxima de biogás en un tiempo menor en contraste a sustratos más recalcitrantes. Para la alimentación con el sustrato, se realizó una dilución para una concentración de 3 g/L de peso seco.



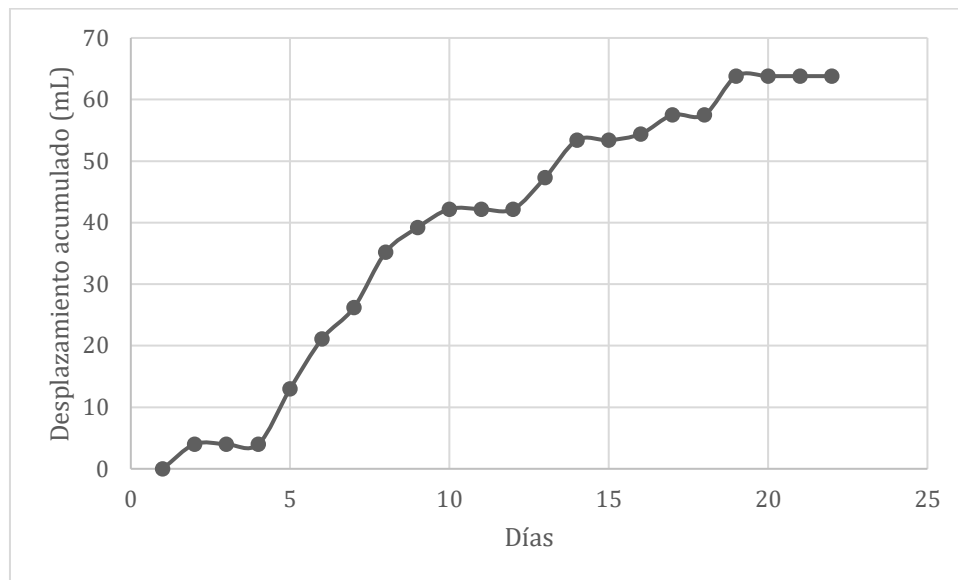
*Figura 24. Perfil de producción de biometano en material vegetal.*

Así, en la *Figura 25* se observa la producción de biometano del material vegetal en una incubación con un DQO inicial de 450 mgDQO/L y un tiempo de retención de 23 días. Encontrándose una producción de 60 mL de CH<sub>4</sub> durante este tiempo. Aplicando la ecuación (17) se determinó el potencial de biometano de este sustrato en particular, siendo de 124 NmLCH<sub>4</sub>/gSV, lo cual difiere del BMP teórico de 198.1 NmL CH<sub>4</sub> / g SV ya que el material lignocelulósico encontrado en el residuo vegetal es de difícil consumo para los consorcios microbianos y esto disminuye la producción total de metano, por ello en estudios experimentales se reportan valores de 120 NmL CH<sub>4</sub> / g SV [51] siendo cercano a lo encontrado por el ensayo experimental. Por otro lado, la forma del perfil de producción de



biometano y su tendencia se asemeja a la gráfica típica cuando no existe una relación correcta inóculo/sustrato [5].

En cuanto al BMP de las microalgas, se realizó el ensayo con algas no tratadas tomadas directamente de fotobiorreactores. El perfil de producción de metano para las algas tomadas directamente de los fotobiorreactores se puede observar en la *Figura 26*.



*Figura 25. Perfil de producción de biometano en microalgas tomadas de fotobiorreactores*

Para las microalgas se realizó una alimentación con 200 mgDQO/L de microalgas, los cuales tienen un BMP teórico de 275 NmLCH<sub>4</sub>/gSV. Al realizar el ensayo se encontró un BMP de 228 NmLCH<sub>4</sub>/gSV lo cual se encuentra en los rangos reportados en la literatura que son de 188 a 395 NmLCH<sub>4</sub>/gSV [73], esto se explica por la difícil degradación de la pared celular de las microalgas, sin embargo, el consorcio microbiano degradó el sustrato con una eficiencia de 79%.

## 6.8. SELECCIÓN FINAL DEL PROTOTIPO

Aunque ambos prototipos demostraron capacidad para incubar los lodos anaerobios y realizar la digestión anaeróbica, la eficiencia de cada uno difiere claramente; esto es debido a que ambos sistemas tienen posibilidades de fuga. Para realizar la selección del prototipo de mejor funcionamiento se observaron los sistemas que tuvieron fugas mientras se realizaron las pruebas de BMP's descritas anteriormente, seleccionando finalmente el prototipo que generó mayor eficiencia en los ensayos. La cantidad de recipientes fabricados y con fugas se observan en la *Tabla 5*.

*Tabla 5. Determinación del mejor prototipo para la determinación de BMP*

<b>Prototipos</b>	<b>Reactores fabricados</b>	<b>Reactores sin fugas</b>	<b>Porcentaje</b>
Prototipo 1	9	3	33.3
Prototipo 2	12	9	75

Así, se estableció como prototipo más eficiente calculado a partir de los reactores con menor cantidad de pérdidas al Prototipo 2 debido al funcionamiento de los racores NTP, los cuales están diseñados para conexiones relacionadas con gases, lo que permite una mejor conexión y evita fugas.

## 7. CONCLUSIONES

Se desarrollaron dos prototipos de sistemas para medición del potencial de biometano (BMP) con una gran facilidad para inocular, operar y evaluar. Se seleccionó el prototipo 2 ya que tiene unas conexiones tipo racor que se ajustan con tuercas y demuestran menor posibilidad de generar fugas.

En cuanto a la evaluación de los prototipos se evidenció que es posible determinar el BMP de diferentes sustratos, corroborando el comportamiento de producción de biogás en relación a la concentración de mgDQO/L, pH, composición y relación C/N. Se encontró también que el BMP teórico difiere del práctico, principalmente por diferencias en los medios de crecimiento, pH y tiempos de retención.

Se estableció un BMP de 124 NmLCH<sub>4</sub>/gSV para el material vegetal, mostrando la influencia del material lignocelulósico de difícil degradación y un valor de 228 NmLCH<sub>4</sub>/gSV para las microalgas, lo que evidencia la dificultad de DA por la pared celular. El comportamiento de estos sustratos es el esperado debido a la composición y los datos reportados previamente.

## 8. RECOMENDACIONES

En comparación con el equipo comercial AMPTS II<sup>®</sup>, el sistema desarrollado tiene materiales de fácil acceso, demostrando la posibilidad de funcionar de una forma similar; es por ello que se propone continuar el desarrollo del prototipo con sensores de presión y desplazamiento de líquido para que la lectura se realice automáticamente.

Ya que el sistema puede determinar la producción tanto de biogás como de biometano por la neutralización con solución alcalina, se propone para futuros estudios utilizar el dispositivo para otro tipo de ensayos, donde se varíe temperatura, mezclado, *headspace* con los mismos sustratos y ensayos de actividad metanogénica específica (AME).

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- [1] E. Balaguer, «Estudio de la influencia del tiempo de retención hidráulico en un reactor biológico secuencial (SBR) de depuración de aguas residuales procedentes de una tenería y optimización de la fase de sedimentación», Universitat Politècnica de València, 2012. [En línea]. Disponible en:  
[https://m.riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/15367/TRABAJO\\_M%C3%81STER\\_FINAL\\_Esther\\_Balaguer.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://m.riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/15367/TRABAJO_M%C3%81STER_FINAL_Esther_Balaguer.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- [2] B. Ruffino *et al.*, «Improvement of anaerobic digestion of sewage sludge in a wastewater treatment plant by means of mechanical and thermal pre-treatments: Performance, energy and economical assessment», *Bioresour. Technol.*, vol. 175, pp. 298-308, Enero 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2014.10.071.
- [3] Y. Ferrer y H. Pérez, «Los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás. Consideraciones en la elección del inóculo para el mejoramiento de la calidad y el rendimiento», *ICIDCA Sobre Los Deriv. Caña Azúcar*, vol. 43, pp. 9-20, 2010.
- [4] A. Hilkih Igoni, M. J. Ayotamuno, C. L. Eze, S. O. T. Ogaji, y S. D. Probert, «Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid-waste», *Appl. Energy*, vol. 85, n.º 6, pp. 430-438, jun. 2008, doi: 10.1016/j.apenergy.2007.07.013.
- [5] P. Bres, M. E. Beily, y D. Crespo, *Ensayo potencial bioquímico metanogénico: Una metodología clave para conocer la energía de las biomasas*. INTA, 2022.
- [6] G. Kafle, «Ensiling of fish industry waste for biogas production: A lab scale evaluation of biochemical methane potential (BMP) and kinetics», Accedido: 7 de marzo de 2021. [En línea]. Disponible en:  
[https://www.academia.edu/5540402/Ensiling\\_of\\_fish\\_industry\\_waste\\_for\\_biogas\\_production\\_A\\_lab\\_scale\\_evaluation\\_of\\_biochemical\\_methane\\_potential\\_BMP\\_and\\_kinetics](https://www.academia.edu/5540402/Ensiling_of_fish_industry_waste_for_biogas_production_A_lab_scale_evaluation_of_biochemical_methane_potential_BMP_and_kinetics)
- [7] K. Opwis *et al.*, «Semi-industrial production of methane from textile wastewaters», *Energy Sustain. Soc.*, vol. 2, n.º 1, p. 1, ene. 2012, doi: 10.1186/2192-0567-2-1.
- [8] P. Kaparaju, L. Ellegaard, y I. Angelidaki, «Optimisation of biogas production from manure through serial digestion: Lab-scale and pilot-scale studies», *Bioresour. Technol.*, vol. 100, n.º 2, pp. 701-709, ene. 2009, doi: 10.1016/j.biortech.2008.07.023.
- [9] C. Holliger *et al.*, «Towards a standardization of biomethane potential tests», *Water Sci. Technol.*, vol. 74, n.º 11, pp. 2515-2522, sep. 2016, doi: 10.2166/wst.2016.336.
- [10] M. A. Barlaz, R. K. Ham, D. M. Schaefer, y R. Isaacson, «Methane production from municipal refuse: A review of enhancement techniques and microbial dynamics», *Crit. Rev. Environ. Control*, vol. 19, Accedido: 31 de marzo de 2021. [En línea]. Disponible en:  
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643389009388384>
- [11] A. Adebayo, S. Jekayinfa, y B. Linke, «Effect of Co-Digestion on Anaerobic Digestion of Cattle Slurry with Maize Cob at Mesophilic Temperature», vol. 3, pp. 47-54, ene. 2013.
- [12] V. A. Vavilin y I. Angelidaki, «Anaerobic degradation of solid material: Importance of initiation centers for methanogenesis, mixing intensity, and 2D distributed model», *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 89, n.º 1, pp. 113-122, 2005, doi:  
<https://doi.org/10.1002/bit.20323>.
- [13] F. Rodriguez-Sanchez, A. J. Pérez-Luque, I. Bartomeus, y S. Varela, «Ciencia reproducible: qué, por qué, cómo», *Ecosistemas*, vol. 25, n.º 2, Art. n.º 2, jul. 2016, doi: 10.7818/ECOS.2016.25-2.11.
- [14] M. T. Kato, *The anaerobic treatment of low strength soluble wastewaters*.
- [15] K. Koch, S. D. Hafner, S. Weinrich, S. Astals, y C. Holliger, «Power and Limitations of

- Biochemical Methane Potential (BMP) Tests», *Front. Energy Res.*, vol. 8, 2020, doi: 10.3389/fenrg.2020.00063.
- [16] E. Edwards A., «Anaerobic degradation of toluene and o-xylene by a methanogenic consortium - PubMed», 1994. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8117084/> (accedido 2 de abril de 2021).
- [17] A. Kasprzycka y J. Kuna, «Methodical Aspects of Biogas Production in Small-Volume Bioreactors in Laboratory Investigations», *Energies*, vol. 11, n.º 6, Art. n.º 6, jun. 2018, doi: 10.3390/en11061378.
- [18] K. A. Taconi, «Methanogenic Generation of Biogas from Synthesis-Gas Fermentation Wastewaters», sep. 2020, Accedido: 31 de marzo de 2021. [En línea]. Disponible en: <https://ir.library.msstate.edu/handle/11668/20206>
- [19] I. Angelidaki *et al.*, «Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays», *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.*, vol. 59, n.º 5, pp. 927-934, 2009, doi: 10.2166/wst.2009.040.
- [20] C. Holliger *et al.*, «Requirements for measurement and validation of biochemical methane potential ( BMP ) \* Requirements for BMP measurement Analysis of substrate and inoculum», pp. 1-5, 2020.
- [21] S. D. Hafner y S. Astals, «Systematic error in manometric measurement of biochemical methane potential: Sources and solutions», *Waste Manag.*, vol. 91, pp. 147-155, may 2019, doi: 10.1016/j.wasman.2019.05.001.
- [22] J. McEniry y P. O'Kiely, «Anaerobic methane production from five common grassland species at sequential stages of maturity», *Bioresour. Technol.*, vol. 127, pp. 143-150, Enero 2013, doi: 10.1016/j.biortech.2012.09.084.
- [23] R. Singh, A. Pandey, y C. Larroche, *Advances in Industrial Biotechnology*. 2014.
- [24] Y. (OEA) Ertola, «Microbiología industrial», 1994.
- [25] M. Spier, L. Vandenberghe, A. Medeiros, y C. Soccol, «Application of different types of bioreactors in bioprocesses», *Bioreact. Des. Prop. Appl.*, pp. 53-87, ene. 2011.
- [26] A. Cinar, G. Birol, S. Parulekar, y C. Ündey, *Batch Fermentation: Modeling: Monitoring, and Control*. 2003. doi: 10.1201/9780203911358.
- [27] Dunn, IJ, «Biological Reaction Engineering: Dynamic Modelling Fundamentals with Simulation Examples, 2nd, Completely Revised Edition | Wiley», *Wiley.com*. <https://www.wiley.com/en-us/Biological+Reaction+Engineering%3A+Dynamic+Modelling+Fundamentals+with+Simulation+Examples%2C+2nd%2C+Completely+Revised+Edition-p-9783527603053> (accedido 11 de marzo de 2021).
- [28] S. Liu, *Bioprocess engineering: kinetics, sustainability, and reactor design*, Second edition. Amsterdam Boston Heidelberg: Elsevier, 2017.
- [29] A. Durand, D. de la Broise, y H. Blachère, «Laboratory scale bioreactor for solid state processes», *J. Biotechnol.*, vol. 8, n.º 1, pp. 59-66, may 1988, doi: 10.1016/0168-1656(88)90068-5.
- [30] B. McNeil y L. M. Harvey, *Practical fermentation technology*. Chichester, England ; Hoboken, NJ: Wiley, 2008.
- [31] J. G. Ferry, «Methane from acetate.», *J. Bacteriol.*, vol. 174, n.º 17, pp. 5489-5495, sep. 1992, doi: 10.1128/jb.174.17.5489-5495.1992.
- [32] R. Kleerebezem y H. Macarie, «Treating industrial wastewater: anaerobic digestion comes of age: anaerobic treatment systems offer important advantages over conventionally applied aerobic processes for removing organic pollutants from water-

- based streams. (Cover Story)», *Chem. Eng.*, vol. 110, n.º 4, pp. 56-65, abr. 2003.
- [33] M. T. Kato, J. A. Field, y G. Lettinga, «Methanogenesis in granular sludge exposed to oxygen», *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 114, n.º 3, pp. 317-323, dic. 1993, doi: 10.1111/j.1574-6968.1993.tb06592.x.
- [34] A. J. B. Zehnder, B. A. Huser, T. D. Brock, y K. Wuhrmann, «Characterization of an acetate-decarboxylating, non-hydrogen-oxidizing methane bacterium», *Arch. Microbiol.*, vol. 124, n.º 1, pp. 1-11, ene. 1980, doi: 10.1007/BF00407022.
- [35] O. R. Kotsyurbenko, «Trophic interactions in the methanogenic microbial community of low-temperature terrestrial ecosystems», *FEMS Microbiol. Ecol.*, vol. 53, n.º 1, pp. 3-13, jun. 2005, doi: 10.1016/j.femsec.2004.12.009.
- [36] BioCycle, «The Art And Science Of Codigestion On Dairy Farms», *BioCycle*, 12 de octubre de 2020. <https://www.biocycle.net/the-art-and-science-of-codigestion-on-dairy-farms/> (accedido 5 de abril de 2021).
- [37] IEA, «Defining energy access: 2020 methodology», *IEA*, 2020. <https://www.iea.org/stats/index.asp> (accedido 18 de abril de 2021).
- [38] S. T. Yang y M. R. Okos, «Kinetic study and mathematical modeling of methanogenesis of acetate using pure cultures of methanogens», *Biotechnol. Bioeng.*, 1987, doi: <https://doi.org/10.1002/bit.260300510>.
- [39] L. Morvai, P. Miháلتz, L. Czakó, M. Péterfy, y J. Holló, «The influence of organic load on granular sludge development in an acetate-fed system», *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 33, n.º 4, pp. 463-468, jul. 1990, doi: 10.1007/BF00176667.
- [40] U. Deppenmeier, «The unique biochemistry of methanogenesis», en *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, vol. 71, Academic Press, 2002, pp. 223-283. doi: 10.1016/S0079-6603(02)71045-3.
- [41] M. Jetten, A. Stams, y Z. Alexander, «Methanogenesis from acetate: a comparison of the acetate metabolism in *Methanothrix soehngenii* and *Methanosarcina* spp.», *FEMS Microbiol. Rev.*, 1992, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb04987.x>.
- [42] B. A. Huser, K. Wuhrmann, y A. J. B. Zehnder, «*Methanothrix soehngenii* gen. nov. sp. nov., a new acetotrophic non-hydrogen-oxidizing methane bacterium», *Arch. Microbiol.*, vol. 132, n.º 1, pp. 1-9, jul. 1982, doi: 10.1007/BF00690808.
- [43] M. T. Varnero, *Manual de Biogás*. Santiago de Chile: FAO, 2011.
- [44] G. B. Patel, L. A. Roth, y B. J. Agnew, «Death rates of obligate anaerobes exposed to oxygen and the effect of media prereduction on cell viability», *Can. J. Microbiol.*, vol. 30, n.º 2, 1984, doi: <https://doi.org/10.1139/m84-034>.
- [45] A. Bhadra, S. N. Mukhopadhyay, y T. K. Ghose, «A kinetic model for methanogenesis of acetic acid in a multireactor system», *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 26, n.º 3, pp. 257-264, mar. 1984, doi: 10.1002/bit.260260310.
- [46] K. Jarrell y M. Kalmokoff, «Nutritional requirements of the methanogenic archaeobacteria», *Can. J. Microbiol.*, vol. 34, pp. 557-576, feb. 2011, doi: 10.1139/m88-095.
- [47] R. E. Speece, «Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment», *Environ. Sci. Technol.*, 1983, doi: <https://doi.org/10.1021/es00115a001>.
- [48] L. Baresi, R. A. Mah, D. M. Ward, y I. R. Kaplan, «Methanogenesis from acetate: enrichment studies.», *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 36, n.º 1, pp. 186-197, jul. 1978.
- [49] Metcalf y Eddy, *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, Fourth Edition. McGraw-Hill, Inc., 2003.
- [50] J. K. Kim, B. R. Oh, Y. N. Chun, y S. W. Kim, «Effects of temperature and hydraulic

- retention time on anaerobic digestion of food waste», *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 102, n.º 4, pp. 328-332, oct. 2006, doi: 10.1263/jbb.102.328.
- [51] C. Sánchez-Reyes *et al.*, «Determinación del potencial bioquímico de metano (PBM) de residuos de frutas y verduras en hogares», *Rev. Int. Contam. Ambient.*, vol. 32, n.º 2, pp. 191-198, may 2016, doi: 10.20937/RICA.2016.32.02.05.
- [52] R. G. Guerra, S. M. González, A. P. Trupiano, y M. E. Figueroa, «PERFILES DE ACTIVIDAD METANOGÉNICA ESPECÍFICA EN UN REACTOR UASB (REACTOR ANAERÓBICO DE FLUJO ASCENDENTE Y MANTO DE LODOS) UTILIZADO PARA EL TRATAMIENTO DE LÍQUIDOS CLOACALES PRE-SEDIMENTADOS», p. 6.
- [53] M. Lesteur *et al.*, «Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review», *Process Biochem.*, vol. 45, n.º 4, pp. 431-440, abr. 2010, doi: 10.1016/j.procbio.2009.11.018.
- [54] A. Choudhary, «Physical Parameters for Bacterial Growth and Growth Curve : Pharmaceutical Guidelines», 2008.  
<https://www.pharmaguideline.com/2007/02/physical-parameters-for-bacterial-growth-and-growth-curve.html> (accedido 7 de mayo de 2022).
- [55] T. Edwiges *et al.*, «Influence of chemical composition on biochemical methane potential of fruit and vegetable waste», *Waste Manag.*, vol. 71, pp. 618-625, ene. 2018, doi: 10.1016/j.wasman.2017.05.030.
- [56] Claudian Sánchez-Reyes, M. E. Patiño-Iglesias, J. L. Alcántara-Flores, Y. Reyes-Ortega, M. A. Pérez-Cruz, y E. Ortíz-Muñoz, «Determinación del potencial bioquímico de metano (PBM) de residuos de frutas y verduras en hogares».  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992016000200191](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992016000200191) (accedido 7 de marzo de 2021).
- [57] A. Colos Arango, «Relación entre el potencial bioquímico de metano y la actividad enzimática medida con la técnica de Miller en inóculos anaerobios de purín de vacuno», Universitat Politècnica de València, Valencia, 2015. [En línea]. Disponible en: <https://m.riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/63794/Relaci%C3%B3n%20entre%20el%20potencial%20bioqu%C3%ADmico%20de%20metano%20y%20la%20actividad%20enzim%C3%A1tica%20medida%20con%20la%20t%C3%A9cnica%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [58] M. S. Ray, *Chemical Process Design*, vol. 3. New York: McGraw-Hill, Inc., 1995. Accedido: 10 de mayo de 2021. [En línea]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/apj.5500030107>
- [59] N. Vidal, R. Bañares-Alcántara, I. Rodríguez-Roda, y M. Poch, «Design of Wastewater Treatment Plants Using a Conceptual Design Methodology», *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 41, pp. 4993-5005, 2002, doi: <https://doi.org/10.1021/ie010652b>.
- [60] S. Pérez y D. Velandia, «EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS EN UN REACTOR METANOGÉNICO ESCALONADO (RME) USANDO CENIZAS DE CASCARILLA DE ARROZ COMO MATERIAL ADSORBENTE PARA DIFERENTES CARGAS ORGÁNICAS», Fundación Universitaria de América, Facultad de Ingenierías, 2020.
- [61] E. W. Rice, R. B. Baird, y A. D. Eaton, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2017.
- [62] M. C. Díaz-Báez, S. E. Espitia Vargas, y F. Molina Pérez, *Digestión Anaerobia: una aproximación a la tecnología*. Universidad Nacional de Colombia, 2002.
- [63] R. Zhang *et al.*, «Characterization of food waste as feedstock for anaerobic



- digestion», *Bioresour. Technol.*, vol. 98, n.º 4, pp. 929-935, mar. 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2006.02.039.
- [64] F. Raposo, C. Banks, I. Siegert, S. Heaven, y R. Borja, «Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests», *Process Biochem. - PROCESS BIOCHEM*, vol. 41, jun. 2006, doi: 10.1016/j.procbio.2006.01.012.
- [65] S. E. Nayono, C. Gallert, y J. Winter, «Co-digestion of press water and food waste in a biowaste digester for improvement of biogas production», *Bioresour. Technol.*, vol. 101, n.º 18, pp. 6987-6993, sep. 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2010.03.123.
- [66] BPC Instruments, «Automatic Methane Potential Test System from BPC Instruments», 6 de abril de 2020.  
[https://bioprocesscontrol.com/bpc\\_products/automatic-methane-potential-test-system/](https://bioprocesscontrol.com/bpc_products/automatic-methane-potential-test-system/) (accedido 11 de noviembre de 2021).
- [67] S. D. Hafner, H. Fruteau de Laclos, K. Koch, y C. Holliger, «Improving Inter-Laboratory Reproducibility in Measurement of Biochemical Methane Potential (BMP)», *Water*, vol. 12, n.º 6, p. 1752, jun. 2020, doi: 10.3390/w12061752.
- [68] J. Ramos, «PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE BIOMASA DE LA MICROALGA *Scenedesmus* sp. PROCEDENTE DE DIFERENTES PROCESOS», UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID, ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS AGRÓNOMOS, 2014. [En línea]. Disponible en: [https://oa.upm.es/28957/1/JUAN\\_LUIS\\_RAMOS\\_SUAREZ.pdf](https://oa.upm.es/28957/1/JUAN_LUIS_RAMOS_SUAREZ.pdf)
- [69] S. D. Hafner, C. Rennuit, C. Justesen, N. Lojborg, y J. Mortensen, «Package 'biogas'». CRAN, 2020. [En línea]. Disponible en: <https://cran.r-project.org/web/packages/biogas/biogas.pdf>
- [70] R. Y. Stanier y J. R. Villanueva, *Microbiología*. Reverte, 1996.
- [71] S. Weinrich Schöfer, Franziska, J. Liebetrau, G. Bochmann, U. Baier Murphy, Jerry D., y T. E. from B. International Energy Agency, *Value of batch tests for biogas potential analysis method comparison and challenges of substrate and efficiency evaluation of biogas plants*. 2018. Accedido: 9 de mayo de 2022. [En línea]. Disponible en: <https://edocs.tib.eu/files/e01fn19/1682125734.pdf>
- [72] A. Salakkam, P. Plangklang, S. Sittijunda, M. Kongkeitkajorn, S. Lunprom, y A. Reungsang, «Bio-hydrogen and Methane Production from Lignocellulosic Materials», 2019. doi: 10.5772/intechopen.85138.
- [73] M.E. Alzate, R. Muñoz, F. Rogalla, F.Fdz-Polanco y S.I. Pérez-Elvira. *Biochemical methane potential of microalgae: Influence of substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment*. 2012. doi: 10.1016/j.biortech.2012.06.113
- [74] Esposito G, Frunzo L, Liotta F, Panico A, Pirozzi F. Bio-methane potential tests to measure the biogas production from the digestion and co-digestion of complex organic substrates. *Open Environ Engine J*. 2012;5:1-8
- [75] Aquino SF, Chernicharo CA, Foresti E, Santos MLF, Monteggia LO. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Eng sanit ambient*. 2007;12(2):192-201.
- [76] Jafarinejad, «Recent developments in the application of sequencing batch reactor (SBR) technology for the petroleum industry wastewater treatment», *Chem. Int.*, pp. 342-350, may 2022.
- [77] T. Tikhomirova, M. Taraskevich, y O. Ponomarenko, «The role of laboratory-scale bioreactors at the semi-continuous and continuous microbiological and biotechnological processes», *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 102, sep. 2018, doi: 10.1007/s00253-018-9194-z.

- [78] T. Tervahauta, T. Hoang, L. Hernández, G. Zeeman, y C. Buisman, «Prospects of Source-Separation-Based Sanitation Concepts: A Model-Based Study», *Water*, vol. 5, pp. 1006-1035, sep. 2013, doi: 10.3390/w5031006.
- [79] L. C. Corrales, D. M. Antolínez Romero, J. A. Bohórquez Macías, y A. M. Corredor Vargas, «Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta», *Nova*, vol. 13, n.o 24, pp. 55-81, jul. 2015

## ANEXOS

### ANEXO 1: TABLAS DE SOLUCIONES

Solución A:

Compuesto	Concentración (g/L)
NH <sub>4</sub> Cl	100
NaCl	10
MgCl <sub>2</sub> *6H <sub>2</sub> O	10
CaCl <sub>2</sub> *2H <sub>2</sub> O	5

Solución B:

5K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *3H <sub>2</sub> O	200
-----------------------------------------------------	-----

Solución C:

Resazurina	0.5
------------	-----

Metales traza y solución de selenita (Solución D) :

Compuesto	Concentración (g/L)
FeCl <sub>2</sub> *4H <sub>2</sub> O	2
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.05
ZnCl <sub>2</sub>	0.05
CuCl <sub>2</sub> *2H <sub>2</sub> O	0.038
MnCl <sub>2</sub> *4H <sub>2</sub> O	0.05
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> *4H <sub>2</sub> O	0.05
AlCl <sub>3</sub>	0.05

CoCl <sub>2</sub> *6H <sub>2</sub> O	0.05
NiCl <sub>2</sub> *6H <sub>2</sub> O	0.092
ethylenediaminetetraacetate	0.5
HCl concentrado	1mL
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> *5H <sub>2</sub> O	0.1

Mezcla de vitaminas (Solución E):

Compuesto	Concentración (mg/L)
Biotina	2
Ácido fólico	2
pyridoxine acid	10
riboflavina	5
thiamine hydrochloride	5
cyanocobalamine	0.1
nicotinic acid	5
P-aminobenzoic acid	5
lipoic acid	5
DL-pantothenic acid	5

# Biorreactor de digestión anaerobia para la determinación del potencial bioquímico de metano (BMP)

<sup>1</sup>Nixon D. Alfonso

<sup>1</sup> laboratorio de ingeniería ambiental. Universidad Antonio Nariño. Bogotá

**RESUMEN:** En este estudio se evalúa la construcción de un biorreactor anaerobio a escala de laboratorio con el fin de determinar el potencial de biometano de diferentes residuos a partir del método volumétrico por jeringa para la medición del biogás producido por la digestión del sustrato en un tiempo de operación establecido. Para la construcción del dispositivo se procedió a realizar dos prototipos y se evaluaron a partir de la eficiencia de estos para realizar mediciones correctas del desplazamiento gaseoso. El dispositivo es novedoso debido a que cuenta únicamente con dos módulos, sus materiales son accesibles y esto permite que el reactor sea de más fácil acceso para laboratorios de diferentes capacidades adquisitivas, siendo contrastado con el dispositivo AMPTS II ®. Se determinó el BMP de residuos vegetales de fuentes caseras que fueron de 124 NmLCH<sub>4</sub>/gSV y microalgas producidas por fotobiorreactores dando un valor de 228 NmLCH<sub>4</sub>/gSV, valores que son cercanos a los encontrados por otros estudios y los valores teóricos calculados estequiométricamente; corroborando de esta manera el correcto funcionamiento del prototipo propuesto.

**ABSTRACT:** In this study, the construction of an anaerobic bioreactor on a laboratory scale is evaluated to determine the biomethane potential of different residues from the volumetric method by syringe for the measurement of the biogas produced by the digestion of the substrate in a time of operation. established. For the construction of the device, two prototypes were made, and they were evaluated based on their efficiency to make correct measurements of gas displacement. The device is novel because it only has two modules, its materials are accessible and this allows the reactor to be more easily accessible for laboratories of different purchasing power, being contrasted with the AMPTS II ® device. The BMP of vegetable residues from household sources was determined to be 124 NmLCH<sub>4</sub>/gSV and microalgae produced by photobioreactors giving a value of 228 NmLCH<sub>4</sub>/gSV, values that are close to those found by other studies and theoretical values calculated stoichiometrically, corroborating in this way the correct functioning of the proposed prototype.

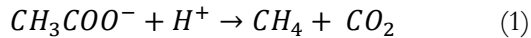
**PALABRAS CLAVE:** Test de potencial de biometano (BMP), Biodigestor, Escala de laboratorio, Operación *Batch*.

**KEY WORDS:** Biomethane potential test (BMP), Biodigester, Laboratory scale, Batch Operation.

## 1. INTRODUCCIÓN

La generación de residuos tanto líquidos como sólidos de diferentes industrias son un problema actual que afecta directamente el medio ambiente (Lettinga, 1995). Es por ello por lo que la digestión anaerobia (DA) es importante, ya que se disminuye la carga orgánica de los contaminantes y se produce biogás, el cual tiene concentraciones de dióxido de

carbono (CO<sub>2</sub>), sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) y principalmente metano (CH<sub>4</sub>) el cual puede utilizarse como biocombustible (Stronach et al. 2012) Gran parte de los contaminantes orgánicos utilizados como sustratos son transformados bioquímicamente a acetato, es por ello que la reacción general de este proceso se observa en la ecuación (1) (Ferry. 1992).



Este proceso se da por una serie de reacciones bioquímicas sucesivas realizadas por microorganismos que mantienen una relación de interdependencia fisiológica, donde la necesidad nutricional de unos tipos de microorganismos será el producto metabólico de otros, generando un equilibrio ecológico que permite la reducción de la demanda química de oxígeno (DQO) y la demanda biológica de oxígeno (DBO) (Kleerebezem et al. 2003). Los microorganismos involucrados en la DA se pueden

La DA puede ser afectada por diferentes factores: pH, temperatura, concentración de oxígeno, concentración de hidrógeno y relación en la concentración sustrato-inóculo (S:I) entre otros (Holliger et al. 2016). El pH óptimo se encuentra alrededor de la neutralidad (Huser et al. 1982), por otro lado, gran parte de los organismos metanogénicos son mesofílicos, teniendo un rango de temperatura óptima de 35-37°C (Yang et al. 1987).

El test de potencial bioquímico de metano (BMP) es un método que permite determinar la producción máxima de biometano en un residuo determinado (Browne et al. 2013), este tipo de ensayos se reportan en mililitros normales de metano respecto a gramos de sólidos volátiles (NmL CH<sub>4</sub>/gSV) utilizando la ecuación (2) (Sánchez-Reyes et al. 2016).

$$BMP = NmL CH_4 / gSV \text{ adicionados} \quad (2)$$

El parámetro BMP es relevante ya que permite establecer la viabilidad de un sustrato en la producción de biocombustibles (principalmente biometano) (Vavilin et al. 2005); sin embargo, existe una gran variedad de metodologías alrededor del mundo para su determinación (Bres et al. 2022).

El método más ampliamente utilizado involucra la incubación en reactores tipo *Batch*, los cuales son monitoreados con sensores de presión y el gas obtenido es evaluado a partir de cromatografía de gases (GC) (McEniry et al. 2012) esta metodología

tiene una alta precisión, sin embargo, requiere de equipos robustos y reactores fabricados directamente por el laboratorio, lo que puede implicar dificultades en la operación.

Por esta razón se propone diseñar y evaluar un sistema para determinación de BMP y un método específico para la obtención del BMP de cualquier sustrato que sea de operación intuitiva y asegure una DA óptima.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Diseño conceptual y digitalización en piezas

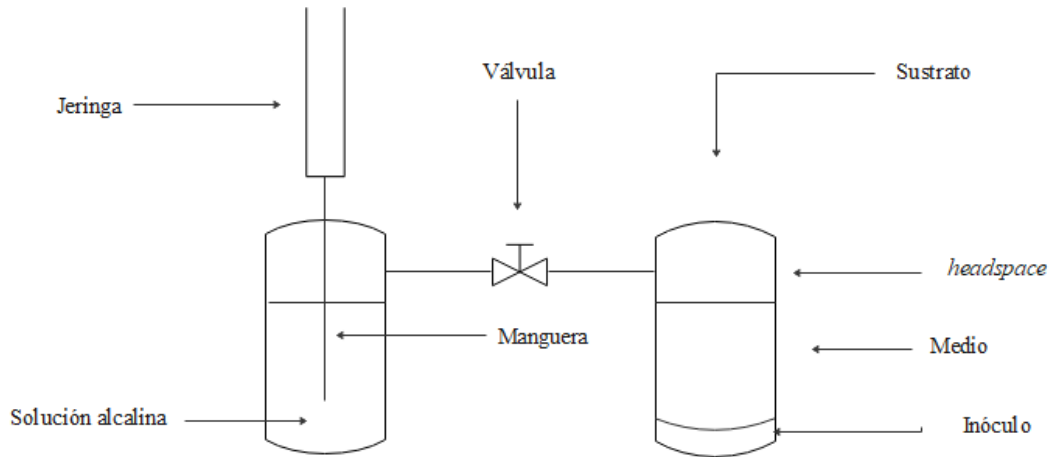
Para el diseño conceptual se utilizó una metodología por decisiones jerárquicas principalmente usada para el diseño de plantas de aguas residuales (Vidal et al. 2002). Esta metodología se basa en los objetivos de diseño establecidos y posteriormente tomando decisiones sobre el diseño y la configuración del reactor y el sistema de medición de biogás.

Se tuvo en consideración el desarrollo de un biorreactor a escala de laboratorio, por lo tanto, el recipiente se diseñó para un volumen entre 250-500mL. A partir del diseño recomendado para ensayos de BMP, se tuvo en cuenta las partes y dimensiones de cada una de sus piezas.

Posterior al diseño conceptual se procedió a realizar la digitalización de las piezas necesarias para la fabricación tanto del biorreactor como del medidor, se tomó como referencia un esquema general del sistema observado en la Figura 1.

Para la digitalización se utilizó el software Blender, esto con el fin de determinar la disposición final de cada una de las piezas y sus dimensiones más viables. Para el modelado bidimensional se utilizó el software Inkscape (<https://inkscape.org/es/>).

Figura 1. Esquema general del proceso de digestión anaerobia y medición del biometano por volumetría.



## 2.2. Construcción del biodigestor y el medidor de biometano

Para la construcción de los equipos se utilizó como referencia el diseño conceptual y la digitalización en piezas. Se fabricaron diferentes propuestas del biodigestor y del medidor de biogás, donde se observó la viabilidad de cada una, seleccionando finalmente la propuesta con menor riesgo de fugas y de mayor eficiencia en cuanto a la medición de biometano producido por los diferentes sustratos.

## 2.3. Evaluación del sistema

Para evaluar el sistema fabricado se realizaron ensayos de BMP bajo condiciones óptimas a diferentes sustratos los cuales fueron contrastados con los valores reportados en la literatura y teóricos establecidos por estequiometría tomando en consideración la ecuación (1).

El inóculo usado para estos ensayos fueron lodos granulares tomados de biorreactores anaeróbicos a escala de laboratorio en la Universidad Antonio Nariño, estos fueron caracterizados en términos de sólidos totales (gST/L) y sólidos volátiles (gSV/L) como se establece en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. A partir de

esta caracterización se agrega en el biorreactor la cantidad de inóculo necesaria para garantizar una concentración de 1-1.5 gSV/L (Díaz-Báez et al. 2002).

Los sustratos evaluados fueron glucosa, residuos vegetales domésticos y microalgas. Estos fueron caracterizados en términos de gSV/L, gST/L de la misma forma que el inóculo, pH con un HI 2212 Hanna Instruments y DQO utilizando un kit Medium Range y High Range de Hanna ®. En base a esta caracterización se procedió a agregar el sustrato al reactor con una concentración final de 2000 mgDQO/L (McEniry et al. 2013).

La determinación del biometano producido se realizó por medio del método volumétrico con jeringa (Bres et al. 2022) utilizando una solución 0.01N de NaOH con fenolftaleína. El contenido de metano se estableció a partir de la siguiente ecuación:

$$V_0 = V * \frac{(P_L - P_W) * T_0}{P_0 * T} \quad (3)$$

Donde  $V_0$  es el volumen de biogás en condiciones normales (mL),  $V$  es el volumen de biogás tomado en el instrumento de medida (mL),  $P_L$  es la presión atmosférica al momento de realizar la medición (mbar),  $P_W$  es la presión

de vapor del agua (mbar),  $T_0$  es la temperatura estándar en condiciones normales (273 K),  $P_0$  es la presión normal (1013 mbar) y  $T$  es temperatura (K) (Edwiges et al. 2018).

El ensayo se concluye cuando la producción de biometano durante 3 días es nula (McEniry et al. 2013) El BMP se calcula con el acumulado de la producción de biometano durante el periodo del ensayo, usando la ecuación (2).

### 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

#### 3.1. Diseño conceptual y digitalización

Se realizó una tabla en donde se establecieron los principales objetivos de diseño que deben cumplir tanto el biodigestor como el sistema de medición de desplazamiento gaseoso, estos objetivos fueron

establecidos en base al funcionamiento de otros equipos comerciales, como el AMPTS II ® y la forma de operación de equipos fabricados previamente en el laboratorio de ingeniería ambiental de la Universidad Antonio Nariño. Estos objetivos se observan en la Tabla 1.

Los objetivos 1 y 2 fueron establecidos como las características mínimas que deben cumplirse para el funcionamiento correcto de un dispositivo que pretenda ser usado en el test de BMP, haciendo énfasis en los parámetros y la forma de operación del prototipo, por otro lado, los objetivos 3 y 4 se establecieron como objetivos de diseño que le dan mayor interés a la fabricación de un nuevo prototipo, mejorando las formas de operación y fabricación.

**Tabla 1. Objetivos necesarios para la fabricación del dispositivo de medición de BMP**  
**DISEÑO DE OBJETIVOS**

<b>OBJ 1.</b> Garantizar la degradación anaerobia de diversos sustratos. <ol style="list-style-type: none"><li>1. Inóculo anaerobio</li><li>2. Temperatura aproximada de 35°C</li><li>3. Sustratos orgánicos con potencial de ser degradados</li><li>4. Tamaño de operación y <i>headspace</i> óptimo</li></ol>
<b>OBJ 2.</b> Garantizar la medición de biometano producido <ol style="list-style-type: none"><li>1. Reactivo para la captura de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S</li><li>2. Precisión en la medición de volumen</li><li>3. Tiempo de operación y frecuencia de medición</li></ol>
<b>OBJ 3.</b> Minimizar problemas técnicos <ol style="list-style-type: none"><li>1. Hermeticidad</li><li>2. pH cercano a la neutralidad</li></ol>
<b>OBJ 4.</b> Minimizar costos de producción y operación <ol style="list-style-type: none"><li>1. Materiales de bajo costo</li><li>2. Facilidad de fabricación y operación.</li></ol>

Para cumplir estos objetivos, se discutieron una serie de decisiones con diferentes alternativas teniendo en consideración la literatura y diseños previamente realizados.

Estas decisiones y sus respectivas alternativas se observan en la Tabla 2.

Estas alternativas fueron evaluadas individualmente seleccionándose una o más alternativas de diseño para la digitalización y posterior construcción del prototipo.

Las alternativas finales seleccionadas del reactor fueron las que se muestran a continuación:

1. Proveniencia del inóculo: Biodigestores a escala industrial
2. Tipo de lodo: Biomasa fija
3. Calentamiento: Incubadora
4. ¿Se incluye agitación?: No (Ghanimeh et al. 2018)
5. Material de los recipientes: Polipropileno
6. Forma de sellar los recipientes: Rosca
7. Uso de sensores: No

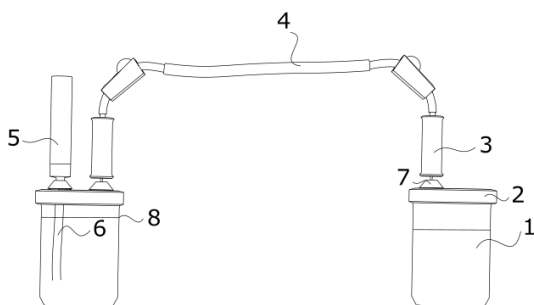


**Tabla 2. Aplicación del procedimiento de Decisión Jerárquica al Diseño del biorreactor de digestión anaeróbica para la determinación de BMP.**

DESICIÓN	ALTERNATIVAS
1. Proveniencia del inóculo	Biodigestores a escala de laboratorio Biodigestores a escala industrial
2. Tipo de lodo	Biomasa suspendida (lodos floculentos) Biomasa fija (lodos granulares)
3. Calentamiento	Resistencia Incubadora
4. ¿Se incluye agitación?	Sí No
5. Material de los recipientes	Vidrio Polipropileno
6. Forma de sello	Rosca Resinas
7. Uso de sensores	Sí No

A partir de las decisiones tomadas, se digitalizó el sistema propuesto con la configuración seleccionada, esta digitalización se evidencia en la Figura 2.

**Figura 2. Digitalización sistema para medición BMP**



Las partes encontradas en la Figura 2 son el biorreactor y el medio en el cual se realiza el proceso de DA (1), el reactor y el medidor de gas fueron cerrados con una tapa comercial, donde se colocaron los accesorios necesarios para el funcionamiento del sistema (2), una conexión para la salida de gases, siendo escogido una manguera y válvula de venoclisis de macrogoteo (3), una conexión intermedia entre los dos recipientes (4), la jeringa que tiene como objetivo facilitar la medición del desplazamiento de la solución alcalina (5), una manguera que está sumergida en la solución alcalina

(6), el sello particular para realizar las conexiones y asegurar hermetismo (7) y el recipiente seleccionado para el medidor de biogás (8). En el recipiente de la izquierda se encuentra una manguera que está sumergida en la solución que se desplazará hacia la jeringa.

### 3.2. Fabricación y evaluación del prototipo.

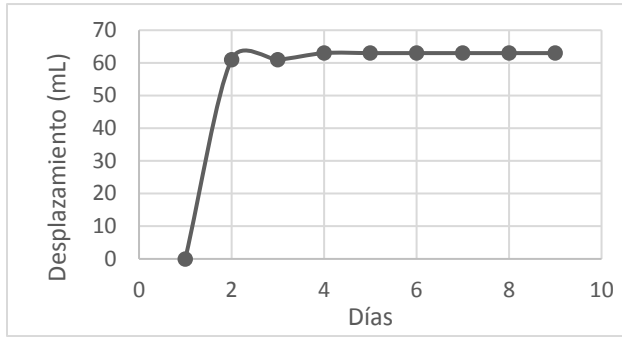
Se fabricó el prototipo con piezas comerciales utilizadas en otras industrias para el flujo de aire y gas (racores acoplados a tuercas, accesorios y manguera NPT) buscando evitar pérdidas por presión de gas, el biodigestor y el sistema de medición se observan en la Figura 3.

**Figura 3. Montaje para la determinación de BMP**



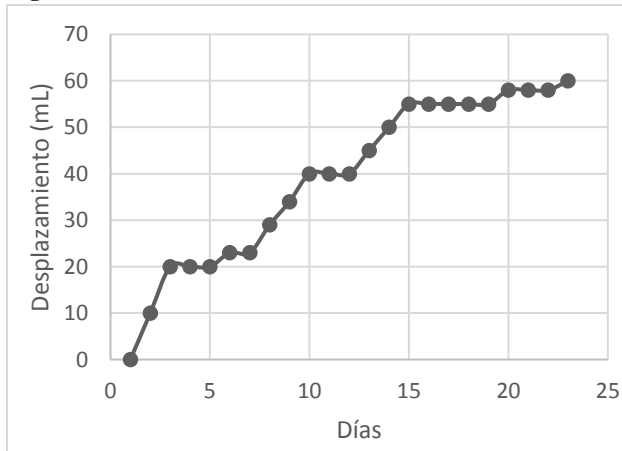
Para la evaluación del prototipo se mantuvieron las condiciones óptimas de temperatura y pH requeridos para la DA teniendo una frecuencia de medición diaria y por triplicado, observando el comportamiento del sustrato a partir del perfil de producción de biometano de cada uno de ellos, relacionándolos con lo reportado en la literatura. Como control positivo del correcto funcionamiento del prototipo se utilizó glucosa con una concentración de 1793 mgDQO/L (Figura 4).

Figura 4. Perfil de producción de biometano en glucosa



En el caso de la glucosa se evidenció un aumento abrupto en la producción de biometano, este es el comportamiento esperado para una buena degradación en sustratos que se encuentran disponibles para los microorganismos. Este sustrato tenía un BMP teórico de 171 NmLCH<sub>4</sub>/gSV y de forma práctica se encontró un valor de 150 NmLCH<sub>4</sub>/gSV. Se encontró entonces que el dispositivo era adecuado para la medición de desplazamiento de la producción de biometano por lo cual se evaluaron residuos vegetales con una concentración de 450 mgDQO/L y se estableció la producción de biometano como se muestra en la Figura 5.

Figura 5. Perfil de producción de biometano en material vegetal

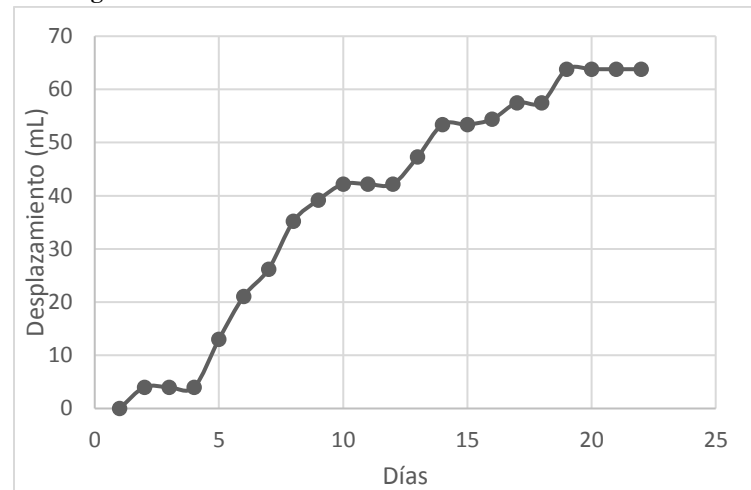


El comportamiento del material vegetal es cercano a las tendencias reportadas en la literatura para sustratos complejos (Bres et al. 2022) ya que el material lignocelulósico encontrado en el residuo hace que exista mayor dificultad de degradación (Edwiges et al. 2018). Se estimó para este sustrato

un BMP teórico de 198 NmLCH<sub>4</sub>/gSV, mientras que de forma práctica se encontró un valor de 124 NmLCH<sub>4</sub>/gSV, lo cual se acerca más a lo reportado en la literatura, ya que para residuos vegetales se establecieron valores de alrededor de 120 NmLCH<sub>4</sub>/gSV (Sánchez-Reyes et al. 2016).

Finalmente se realizó la determinación del BMP de microalgas cultivadas en laboratorio en fotobiorreactores, con una concentración de 200 mgDQO/L, el perfil de producción se observa en la Figura 6.

Figura 6. Perfil de producción de biometano en microalgas



Al realizar el ensayo se encontró un BMP de 228 NmLCH<sub>4</sub>/gSV, cercano al BMP teórico de 275 NmLCH<sub>4</sub>/gSV lo cual se encuentra en los rangos reportados en la literatura que son de 188 a 395 NmLCH<sub>4</sub>/gSV (Alzate et al. 2012), esto se explica por la difícil degradación de la pared celular de las microalgas, sin embargo, el consorcio microbiano degradó el sustrato con una eficiencia de 79%.

#### 4. CONCLUSIONES

Se desarrolló un prototipo de sistemas para medición del potencial de biometano (BMP) con una gran facilidad para inocular, operar y evaluar. Se seleccionó este prototipo ya que tiene unas conexiones tipo racor que se ajustan con tuercas y demuestran menor posibilidad de generar fugas.

En cuanto a la evaluación de los prototipos se evidenció que es posible determinar el BMP de diferentes sustratos, corroborando el comportamiento de producción de biogás en relación con la concentración de mgDQO/L, pH, composición y relación C/N. Se encontró también que el BMP teórico difiere del práctico, principalmente por diferencias en los medios de crecimiento, pH y tiempos de operación.

Se estableció un BMP de 124 NmLCH<sub>4</sub>/gSV para el material vegetal, mostrando la influencia del material lignocelulósico de difícil degradación y un valor de 228 NmLCH<sub>4</sub>/gSV para las microalgas, lo que evidencia la dificultad de DA por la pared celular. El comportamiento de estos sustratos es el esperado debido a la composición y los datos reportados previamente.

## 5. BIBLIOGRAFIA

Lettinga, G. (1995). Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. Antonie van Leeuwenhoek.  
<https://doi.org/10.1007/BF00872193>

J. G. Ferry, «Methane from acetate. », J. Bacteriol., vol. 174, n.o 17, pp. 5489-5495, sep. 1992, doi: 10.1128/jb.174.17.5489-5495.1992.

R. Kleerebezem y H. Macarie, «Treating industrial wastewater: anaerobic digestion comes of age: anaerobic treatment systems offer important advantages over conventionally applied aerobic processes for removing organic pollutants from water-based streams. (Cover Story)», Chem. Eng., vol. 110, n.o 4, pp. 56-65, abr. 2003.

C. Holliger et al., «Towards a standardization of biomethane potential tests», Water Sci. Technol., vol. 74, n.o 11, pp. 2515-2522, sep. 2016, doi: 10.2166/wst.2016.336.

S. T. Yang y M. R. Okos, «Kinetic study and mathematical modeling of methanogenesis of acetate using pure cultures of methanogens»,

Biotechnol. Bioeng., 1987, doi: <https://doi.org/10.1002/bit.260300510>.

C. Sánchez-Reyes et al., «Determinación del potencial bioquímico de metano (PBM) de residuos de frutas y verduras en hogares», Rev. Int. Contam. Ambient., vol. 32, n.o 2, pp. 191-198, may 2016, doi: 10.20937/RICA.2016.32.02.05.

Vavilin, V.A., Angelidaki, I., «Anaerobic degradation of solid material: Importance of initiation centers for methanogenesis, mixing intensity, and 2D distributed model», Biotechnology and Bioengineering., vol. 89, pp. 113-122, 2005, <https://doi.org/10.1002/bit.20323>.

B. A. Huser, K. Wuhrmann, y A. J. B. Zehnder, «Methanotrix soehngenii gen. nov. sp. nov., a new acetotrophic non-hydrogen-oxidizing methane bacterium», Arch. Microbiol., vol. 132, n.o 1, pp. 1-9, jul. 1982, doi: 10.1007/BF00690808.

Browne, James D., Allen E., Murphy, J., «Evaluation of the biomethane potential from multiple waste streams for a proposed community scale anaerobic digester», Environmental Technology, vol. 34, pp. 2027-2038, 2013-07-01, <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.812669>

P. Bres, M. E. Beily, y D. Crespo, Ensayo potencial bioquímico metanogénico: Una metodología clave para conocer la energía de las biomasas. INTA, 2022.

J. McEniry y P. O'Kiely, «Anaerobic methane production from five common grassland species at sequential stages of maturity», Bioresour. Technol., vol. 127, pp. 143-150, Enero 2013, doi: 10.1016/j.biortech.2012.09.084.

E. W. Rice, R. B. Baird, y A. D. Eaton, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2017.

N. Vidal, R. Bañares-Alcántara, I. Rodríguez-Roda, y M. Poch, «Design of Wastewater Treatment Plants Using a Conceptual Design Methodology», *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 41, pp. 4993-5005, 2002, doi: <https://doi.org/10.1021/ie010652b>.

M. C. Díaz-Báez, S. E. Espitia Vargas, y F. Molina Pérez, *Digestión Anaerobia: una aproximación a la tecnología*. Universidad Nacional de Colombia, 2002.

T. Edwiges et al., «Influence of chemical composition on biochemical methane potential of fruit and vegetable waste», *Waste Manag.*, vol. 71, pp. 618-625, ene. 2018, doi: [10.1016/j.wasman.2017.05.030](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.030).

M.E. Alzate, R. Muñoz, F. Rogalla, F.Fdz-Polanco y S.I. Pérez-Elvira. Biochemical methane potential of microalgae: Influence of substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment. 2012. doi: [10.1016/j.biortech.2012.06.113](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.113)