

Identificación de una variable de respuesta asociada a la calidad de diversos consorcios microbianos frente al potencial de biometano

María Isabel Osorio Mina

UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
PROGRAMA DE QUÍMICA

Santiago de Cali

2018

Identificación de una variable de respuesta asociada a la calidad de diversos consorcios microbianos frente al potencial de biometano

María Isabel Osorio Mina

PROYECTO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE PREGRADO EN
QUÍMICA

María Francisca Villegas Torres Ph.D

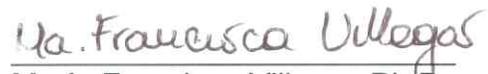
Santiago de Cali

2018



APROBADO POR:


Giovanni Rojas Ph.D
Evaluador


María Francisca Villegas Ph.D
Tutora del Proyecto.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por todas las bendiciones recibidas a lo largo de mi vida, por darme sabiduría y paciencia para culminar esta carrera.

A mi familia, especialmente a mis padres Luz Helena y Germán Libardo por ser mi polo a tierra, por apoyarme en todas mis decisiones y a quienes les debo la persona que soy hoy; todos mis logros son para ellos. A mis hermanos Germán y Lizeth, los que nunca me fallan y siempre están en los buenos y malos ratos.

A la Universidad Icesi por la oportunidad de realizar mis estudios y formarme como una profesional.

A mi tutora María Francisca Villegas por darme la oportunidad de desarrollarme en el grupo de investigación, por todos los conocimientos aportados, su tiempo y paciencia para el desarrollo de este proyecto.

A mis amigos, quienes me han acompañado en el transcurso de ésta carrera y con quienes he podido acumular un sin número de experiencias académicas y personales.

Tabla de contenido

RESUMEN DEL PROYECTO	5
ABSTRACT	6
1. INTRODUCCIÓN	7
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	9
2.1 Planteamiento del problema de investigación, necesidades y pertinencia del proyecto	9
2.2 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	10
2.2.1 El proceso de digestión anaerobia	10
2.2.2 El biogás: composición y aplicaciones.....	13
2.2.3 Potencial bioquímico de metano.....	14
2.2.3 El inóculo: características requeridas para la prueba de BMP	15
2.3 OBJETIVOS	16
2.3.1 Objetivo general	16
2.3.2 Objetivos específicos.....	16
2.4 METODOLOGÍA.....	16
2.4.1 Origen de los consorcios microbianos	16
2.4.2 Caracterización de los consorcios microbianos	17
2.4.3 Sustrato.....	18
2.4.4 Determinación de la producción de biogás	18
2.4.5 Cuantificación de metano en biogás	19
2.4.6 Análisis estadístico.....	20
2.4.7 Matriz de marco lógico	20
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
2.5.1 Caracterización de los consorcios microbianos	23
2.5.2 Determinación de la producción de biogás	24
2.5.3 Cuantificación de metano en biogás	27
2.6 CONCLUSIONES.....	29
2.7 RECOMENDACIONES	30
2.8 REFERENCIAS	31

Lista de tablas

Tabla 1. Composición química del biogás y propiedades de los componentes. (Surendra, et al., 2014)	13
Tabla 2. Matriz de marco lógico.....	21
Tabla 3. Porcentaje de sólidos volátiles y pH de los consorcios microbianos empleados	23
Tabla 4. Concentración de ácidos grasos volátiles en los consorcios microbianos empleados	23
Tabla 5. Resultados de RBP obtenidos para cada uno de los consorcios microbianos en estudio	26
Tabla 6. Resultados de la cuantificación de metano en cada una de las muestras, reportado en términos de mililitro por gramo de sólidos volátiles añadidos y en porcentaje	27
Tabla 7. Resultados obtenidos del coeficiente de correlación de Pearson.....	28

Lista de gráficas

- Gráfica 1.** Rendimiento de biogás para los consorcios microbianos obtenidos de PTAR durante los 11 días de estudio utilizando como sustrato celulosa. Cada punto representa el promedio de la medición de dos biodigestores.25
- Gráfica 2.** Rendimiento de biogás para los consorcios microbianos durante los 11 días de estudio utilizando como sustrato celulosa. Cada punto representa el promedio de la medición de tres biodigestores.....25

Lista de figuras

Figura 1. Etapas de la digestión anaerobia y microorganismos: 1) Bacterias hidrolíticas-acidogénicas; 2) Bacterias acetogénicas; 3) Bacterias homoacetogénicas; 4) Bacterias metanogénicas hidrogenófilas; 5) Bacterias metanogénicas acetoclásticas. (IDAE, 2007)	11
Figura 2. Consorcios microbianos obtenidos de Levapan S.A y de la PTAR.....	17
Figura 3. Consorcio microbiano obtenido del Ingenio.	17
Figura 4. Reacción para identificación de ácidos orgánicos mediante el método de esterificación.....	18
Figura 5. Montaje experimental para la producción de biogás	19
Figura 6. Equipo analizador de biogás, BIOGAS 5000.	20

RESUMEN DEL PROYECTO

El potencial de biometano (BMP, por sus siglas en inglés) mide la producción total de metano a partir de diferentes materiales orgánicos. Se trata de un procedimiento donde se lleva a cabo la digestión anaerobia de un residuo, gracias a la acción de un consorcio microbiano. El consorcio microbiano es muy importante en el proceso de digestión, ya que dependiendo de qué microorganismos y que tan activos estén, se podrá producir una mayor cantidad de metano. Por lo anterior, es muy importante identificar herramientas que permitan predecir la calidad del mismo.

Este proyecto tiene por objetivo evaluar el BMP de diferentes consorcios microbianos obtenidos de plantas de tratamiento industriales, para identificar una variable de respuesta (pH, sólidos volátiles, ácidos grasos volátiles y potencial de biogás residual) que permita predecir su calidad frente a la producción total de metano. En ese orden de ideas, se determinó en los consorcios microbianos el pH, el cual osciló en un rango entre 7,1 y 8,0 unidades; la concentración de ácidos grasos volátiles que tuvo valores entre 22 y 566 mg/L; el porcentaje de sólidos volátiles entre 2,27 y 5,85% y la producción de biogás residual que tuvo un mínimo de 61 mL biogás/ g SV. Adicionalmente, se cuantificó la cantidad total de metano producido por cada uno de los consorcios microbianos, en donde se obtuvo un máximo de 662 mL CH₄/ g SV. Finalmente, se empleó el coeficiente de correlación de Pearson, r , para determinar la relación entre el BMP y los parámetros evaluados, en ese sentido, se evidenció que la variable de respuesta más influyente en la producción total de metano es el pH, el cual obtuvo un valor r de -0,903.

Mediante los resultados obtenidos, se espera proveer información sobre la variabilidad de un consorcio microbiano en las pruebas de BMP, aplicable al proceso de digestión anaerobia para generación de metano como una fuente de energía.

Palabras claves: Digestión anaerobia, potencial bioquímico de metano BMP, consorcios microbianos

ABSTRACT

The biochemical methane potential (BMP) measures the total methane production from different organic materials. It is a procedure where the anaerobic digestion of waste is carried out, thanks to the action of a microbial consortium. The microbial consortium is very important in the digestion process, since it depends on which microorganisms and how active they are, a greater amount of methane can be produced. Therefore, it is very important to identify tools that can predict the quality of them.

The objective of this project is to evaluate the BMP of different microbial consortia obtained from industrial treatment plants, in order to identify a response variable (pH, volatile solids, volatile fatty acids and residual biogas potential) that allows to predict their quality against total production of methane. In this order of ideas, the pH was determined in the microbial consortia, which oscillates in a range between 7.1 and 8.0 units; the concentration of volatile fatty acids that had values between 22 and 566 mg / L; The percentage of volatile solids between 2.27 and 5.85% and the production of residual biogas that had a minimum of 61 mL of biogas / g SV. Additionally, the total amount of methane produced by each of the microbial consortia was quantified, where a maximum of 662 mL of CH₄ / g SV was obtained. Finally, the Pearson correlation coefficient, r , was used to determine the relationship between the BMP and the parameters evaluated, in this sense, it was evidenced that the most influential response variable in the total methane production is the pH, which obtained a r value of -0.903.

Through the results obtained, it is expected to provide information on the variability of microbial consortia in the BMP tests, applicable to the anaerobic digestion process for the generation of methane as a source of energy.

Keywords: Anaerobic digestion, biochemical methane potential BMP, microbial consortia

1. INTRODUCCIÓN

La digestión anaerobia es un proceso biológico de gran interés en la actualidad, debido a que constituye una alternativa tecnológica para el control de la contaminación ambiental, el aprovechamiento y valorización de diferentes residuos, dadas las características de los subproductos que se generan (Cárdenas, et al., 2015). El biogás, con un alto potencial energético debido al contenido de gas metano (CH_4), puede ser aprovechado para la generación de combustible; y el material digerido, con un alto potencial agrícola, puede ser utilizado como fertilizante o acondicionador de suelos (Nkoa, 2014).

El potencial bioquímico de metano (BMP), definido como el volumen máximo de metano producido por gramo de sólidos volátiles de sustrato (Esposito, 2012), es un indicativo de la capacidad de biodegradabilidad de un sustrato y su potencial para producir metano a través de la digestión anaerobia (Angelidaki I. , 2009). La prueba de BMP es la técnica más utilizada para determinar la efectividad del proceso de digestión anaerobia; es un ensayo que se emplea a nivel mundial y se caracteriza por su simplicidad, rapidez relativa y bajo costo (Cárdenas, et al., 2015).

Los ensayos de BMP han sido ampliamente utilizados para determinar el rendimiento de CH_4 de diferentes sustratos orgánicos en el proceso de digestión anaerobia (Nielfa, et al., 2015), pues a lo largo de los años se han publicado una gran cantidad de trabajos sobre pruebas de biodegradabilidad anaerobia para sustratos de diferentes orígenes (Angelidaki I. , 2009), lo cual es menos frecuente con los consorcios microbianos.

Los consorcios microbianos son los principales protagonistas en el proceso de digestión anaerobia (Cárdenas, et al., 2015), puesto que constituyen el conjunto de microorganismos que trabajan sinérgicamente al llevar a cabo las diferentes etapas bioquímicas en el proceso de producción de metano: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Cobos & Sierra, 2007).

Ahora bien, en la actualidad existen diferentes protocolos de las pruebas de BMP, los cuales representan una guía describiendo aspectos importantes para implementar la prueba de BMP, por ejemplo, las características del consorcio microbiano a emplear. Sin embargo, a la fecha no se han encontrado publicaciones que reporten potenciales de metano centrados en el estudio del consorcio microbiano y la identificación de parámetros o herramientas que permitan predecir su calidad frente a la producción total de metano.

Por lo anterior, el presente estudio se basa en la evaluación del BMP de diferentes consorcios microbianos obtenidos de plantas de tratamiento industriales, con el objetivo de identificar una variable de respuesta que permita predecir su calidad frente a la producción de metano. La finalidad es proporcionar información sobre la

variabilidad de los consorcios microbianos en las pruebas de BMP, aplicable al proceso de digestión anaerobia para generación de metano como una fuente de energía.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

2.1 Planteamiento del problema de investigación, necesidades y pertinencia del proyecto

El potencial de biometano (BMP) mide la producción total de metano a partir de diferentes materiales orgánicos. Es un procedimiento donde se lleva a cabo la digestión anaerobia de residuos orgánicos, pero controlando factores de interés como la cantidad de sólidos volátiles (SV) de la muestra, la relación SV de inóculo frente al sustrato y las condiciones experimentales en general, como temperatura y agitación (Holliger, et al., 2016).

Actualmente, existen diversas normas determinadas a la cuantificación de las pruebas de BMP, entre las cuales se puede mencionar DIN 38414 TL8 (1985), ASTM D 5511 (1994), ISO 11734 (1995) e ISO 15985 (2004) (Holliger, et al., 2016). Dichos reportes, representan una guía que describe aspectos importantes para llevar a cabo una prueba de BMP de manera adecuada, por ejemplo las características del inóculo o consorcio microbiano a emplear.

El consorcio microbiano se encarga de llevar a cabo las diferentes etapas bioquímicas en el proceso de producción de metano: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Cobos & Sierra, 2007). Entre los principales criterios de calidad cabe mencionar que debe ser fresco y debe provenir de un reactor anaerobio activo, así mismo, debe poseer una variedad microbiana para que ningún sustrato presente problemas al momento de ser digerido (Holliger, et al., 2016). De igual manera, su actividad debe ser comprobada empleando acetato o celulosa como sustrato para verificar que esté llevando a cabo una actividad metanogénica. Finalmente, los controles que deben llevarse a cabo incluyen la concentración de los ácidos grasos volátiles, el pH y los sólidos volátiles. Los ácidos grasos representan el precursor principal en la metanogénesis (Lorenzo & Obaya, 2005), el pH por su parte influye en la actividad metabólica de los microorganismos del proceso (Angelidaki & Sanders, 2004) y los sólidos volátiles son un indicativo de la cantidad de materia orgánica presente en la muestra.

No obstante, aunque se han establecido los criterios de calidad para emplear consorcios microbianos en pruebas de BMP, no es del todo posible predecir el comportamiento del mismo frente al potencial de producción de biometano. Es por esto que este proyecto pretende evaluar el BMP de diferentes consorcios microbianos obtenidos de plantas de tratamiento industriales, para identificar que variable de respuesta entre el pH, sólidos volátiles, ácidos grasos volátiles y potencial de biogás residual, es la que más influye frente a la producción de metano. La finalidad es proporcionar información sobre la variabilidad de los consorcios

microbianos en las pruebas de BMP, aplicable al proceso de digestión anaerobia para generación de metano como una fuente de energía.

2.2 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

2.2.1 El proceso de digestión anaerobia

La digestión anaerobia es uno de los procesos biológicos más eficientes para tratar tanto la fracción orgánica de sólidos residuales como los efluentes líquidos (Borzacconi, et al., 1995). En este proceso los materiales orgánicos se descomponen mediante la acción microbiana en un ambiente en ausencia de oxígeno o cualquier agente oxidante fuerte. Los productos finales de la digestión anaerobia son la recuperación de energía, debido a la producción de biogás, el cual consiste en una mezcla de gases, principalmente metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2), con trazas de otros elementos (Vasco Correa, 2017) y biosólidos con buenas características fisicoquímicas para ser utilizados como mejoradores de suelos o fertilizantes orgánicos (Yu, et al., 2002).

La digestión anaerobia es un proceso biológico realizado por un conjunto de microorganismos que desempeñan diferentes funciones en las fases de conversión de la materia orgánica en biogás: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Durante la fase de hidrólisis, las moléculas orgánicas complejas y de mayor peso molecular como los carbohidratos, lípidos y proteínas se hidrolizan en monómeros o compuestos solubles tales como aminoácidos, azúcares y ácidos grasos mediante la acción de enzimas extracelulares de las bacterias. En la acidogénesis o etapa fermentativa, los compuestos solubles producidos durante la hidrólisis son convertidos en ácidos grasos volátiles (AGV), los cuales son transformados posteriormente en ácido acético, CO_2 , y H_2 , por medio de las bacterias acetogénicas durante la etapa de acetogénesis. Finalmente, en la fase de metanogénesis las bacterias metanogénicas toman el ácido acético y algo de H_2 dentro de sus células, convirtiéndolos en CH_4 y excretándolo fuera de la célula. Este es un periodo de digestión intensiva, caracterizado por la producción de sales de ácidos orgánicos y volúmenes de gas, en una mezcla donde hay principalmente un alto porcentaje de CH_4 y el resto corresponde a CO_2 y nitrógeno (Olaya & Octavio, 2009). La figura 1 representa las etapas descritas anteriormente.

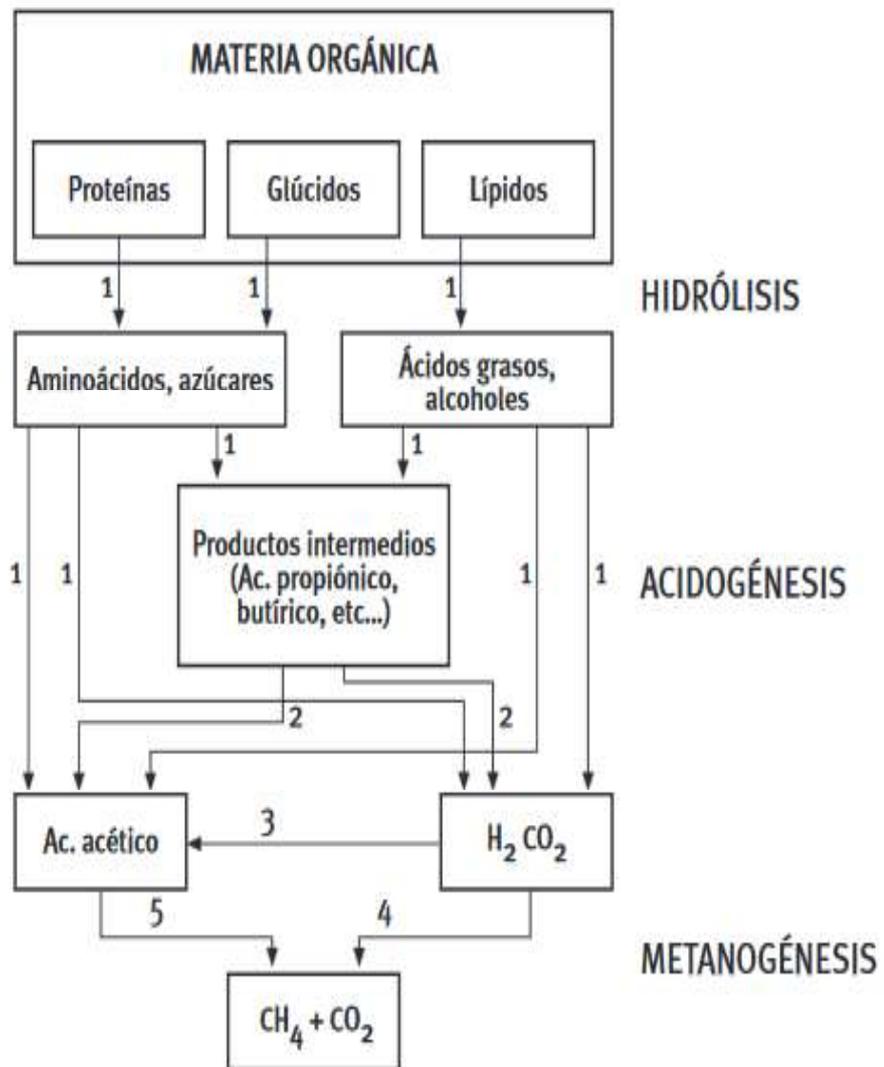


Figura 1. Etapas de la digestión anaerobia y microorganismos: 1) Bacterias hidrolíticas-acidogénicas; 2) Bacterias acetogénicas; 3) Bacterias homoacetogénicas; 4) Bacterias metanogénicas hidrogenófilas; 5) Bacterias metanogénicas acetoclásticas. (IDAE, 2007)

El proceso de digestión anaerobia se lleva a cabo en biodigestores, tanques completamente cerrados en los cuales se almacena una mezcla de materia orgánica y agua que al descomponerse en ausencia de aire generan biogás (Olaya & Octavio, 2009). Aunque estos equipos son considerados principalmente como una herramienta para producir energía alterna, los biodigestores pueden brindar muchos

otros beneficios, como lo es el reciclado de nutrientes para la obtención de fertilizantes de alta calidad (Olga, 2018).

Los procesos de descomposición de la materia orgánica se pueden llevar a cabo mediante la forma continua o discontinua. En un sistema continuo la entrada de los residuos orgánicos al digester es continua, al igual que la salida. Este tipo de sistemas son muy útiles en procesos donde el sustrato no puede acumularse por mucho tiempo; sin embargo, tiene como desventaja que si hay problemas en los procesos anteriores a la digestión, al necesitarse una entrada constante, ésta puede ser interrumpida con los posibles inconvenientes que esto puede acarrear en el proceso. Los sistemas discontinuos, por su parte, suelen ser empleados en casos en los que el volumen de residuos a tratar es pequeño. En este sistema se carga el digester con los residuos a tratar y se inocula con residuos ya tratados (biomasa aclimatada) (Sánchez Ferrer, 2014).

Los sistemas continuos se pueden dividir en sistemas de una etapa o de dos (o más) etapas. En los primeros, la digestión anaerobia se lleva a cabo en un único reactor. El principal problema en este tipo de sistemas es que todos los procesos ocurren bajo las mismas condiciones de operación a pesar de que las bacterias involucradas en los procesos biológicos tengan tasas de crecimiento y valores óptimos de pH diferentes. En los sistemas de dos o más etapas, los procesos biológicos ocurren en al menos dos reactores. Los sistemas típicos consisten en un primer reactor en donde se lleva a cabo la hidrólisis y la acidificación, y un segundo reactor en donde sucede la metanogénesis gracias al producto obtenido del primer reactor. Una de las ventajas de estos sistemas es que son capaces de obtener una producción de metano similar a los sistemas de una etapa con un tiempo de retención hidráulico menor (Díaz A. , 2013).

En las últimas décadas el uso de la tecnología de digestión anaerobia para la producción de biogás ha sido ampliamente utilizado en los países desarrollados, donde la legislación promueve y apoya proyectos de producción de biogás (Parra, 2014). La mayoría de la producción de biogás se origina especialmente en los Estados Unidos y Europa, aunque otras regiones también están desplegando cada vez más la tecnología, por ejemplo, varios países en Asia como la China, la India y Vietnam tienen grandes programas para la producción nacional de biogás. En cuanto a América Latina, la Red de Biodigestores en América Latina y el Caribe (RedBioLAC) promueve el desarrollo de pequeños biodigestores en Bolivia, Costa Rica, Ecuador, México, Nicaragua y Perú (Scarlat, et al., 2018).

Por su parte, en Colombia la digestión anaerobia se ha direccionado al tratamiento de los residuos agroindustriales, muestra de ello son los 80 reactores que tratan alrededor de 855 L/s. Estas instalaciones se emplean en el tratamiento de efluentes de procesos industriales, agroindustriales y actividades domésticas (Díaz, et al., 2002).

2.2.2 El biogás: composición y aplicaciones

La composición del biogás varía según el tipo de materia prima y las condiciones de funcionamiento del digester. Generalmente, el biogás consiste en 50-75% de CH₄ y 25-50% de CO₂, junto con otros componentes traza como el vapor de agua (H₂O), sulfuro de hidrógeno (H₂S) y amoníaco (NH₃) (Surendra, et al., 2014). En la Tabla 1 se presenta la composición típica de biogás y las propiedades de los componentes.

Tabla 1. Composición química del biogás y propiedades de los componentes. (Surendra, et al., 2014)

Componentes	Concentración	Propiedades
CH₄	50-75% (v/v)	Portador de energía.
CO₂	25-50% (v/v)	Disminuir el calentamiento. Corrosivo en presencia de humedad.
H₂S	0-5000 ppm (v/v)	Corrosivo. Emisión de dióxido de azufre durante la combustión.
NH₃	0-500 ppm (v/v)	Emisiones de NO _x durante la combustión.
N₂	0-5% (v/v)	Disminuir el calentamiento.
Vapor de agua	1-5% (v/v)	Facilita la corrosión en presencia de CO ₂ y dióxido de azufre (SO ₂).

El biogás puede ser empleado en diversas aplicaciones a nivel doméstico e industrial. En ese orden de ideas, a escala doméstica se pueden utilizar generalmente para aplicaciones de cocción, calefacción e iluminación. En la escala industrial, el biogás puede emplearse como fuente de energía térmica, en plantas de ciclo combinado para cogeneración de calor y electricidad o como combustible de transporte, cabe aclarar que algunas de estas aplicaciones requieren la

purificación del biogás para eliminar los gases diferentes al metano (Acosta & Pasqualino, 2014).

2.2.3 Potencial bioquímico de metano

El potencial bioquímico de biometano (BMP, por sus siglas en inglés) es un parámetro utilizado en la evaluación de la producción total de metano de materiales orgánicos. El BMP a menudo se define como el volumen máximo de CH₄ producido por gramo de sólidos volátiles de sustrato (Esposito, et al., 2012). Además, es un indicativo de la biodegradabilidad de un sustrato y su potencial para producir CH₄ a través de la digestión anaerobia (Sell, et al., 2010).

La prueba de BMP es la técnica más utilizada para determinar la efectividad del proceso de digestión anaerobia y biodegradabilidad del sustrato. Es un ensayo en batch a escala de laboratorio que suele durar entre 30 a 100 días de digestión anaerobia de muestra (Godin, et al., 2015) y cuyo volumen total puede variar entre 100 mL y 2 L; se emplea a nivel mundial y se caracteriza por su simplicidad, rapidez relativa y bajo costo (Cárdenas, et al., 2015).

La primera propuesta metodológica o protocolo para el ensayo de BMP fue desarrollada en 1979 por Owen y colaboradores para determinar la biodegradabilidad de materiales orgánicos bajo condiciones operacionales definidas durante un período de 30 días, analizando el efecto del acondicionamiento alcalino sobre el valor del BMP. Owen y colaboradores afirmaron que su configuración empleada para el monitoreo de la producción acumulada de metano, basada en el método manométrico, puede utilizarse en cualquier laboratorio, además, establecieron la necesidad de realizar estudios más detallados para analizar más variables que intervienen en el proceso (Owen, et al., 1979). En este sentido, posteriormente se desarrollaron nuevos procedimientos de BMP que parten de diferentes modificaciones realizadas al protocolo propuesto por Owen y colaboradores. Entre los métodos comúnmente utilizados en la actualidad se encuentran el método estándar de laboratorio del Instituto Alemán de Normalización o Deutsches Institut für Normung (DIN) 38414-17 y el Sistema Automatizado de Pruebas de Potencial de Metano II (AMPTS).

El método DIN 38414-17, es un procedimiento estándar utilizado en muchas partes del mundo; requiere de material de vidrio especializado, es laborioso, pero permite la medición tanto de la cantidad como de la calidad del biogás. Este método emplea un dispositivo de vidrio denominado eudiómetro que mide los cambios en el volumen de gas, lo cual permite la evaluación de la producción de biogás durante un periodo de seis semanas. El método de prueba BMP AMPTS es un procedimiento desarrollado en Suecia, que utiliza un sistema que mide de manera automática la producción de biogás en biodigestores de tipo batch. El contenido de metano presente en el biogás se calcula teniendo en cuenta la cantidad de dióxido de carbono producida en el proceso, puesto que, este método emplea un dispositivo

de fijación de dióxido de carbono que se une al CO₂ (uno de los productos principales del proceso de digestión anaerobia) a medida que el biogás es producido, de esta manera, la cantidad de metano se determina mediante la diferencia entre la cantidad de CO₂ y la cantidad total de biogás producido. A diferencia del método DIN, esta técnica proporciona cantidad de biogás, pero no calidad, además, la prueba se realiza en un periodo de tiempo más corto (Kleinheinz & Hernández, 2016).

2.2.3 El inóculo: características requeridas para la prueba de BMP

El inóculo constituye la biomasa que aporta el consorcio microbiano encargado de llevar a cabo las diferentes etapas bioquímicas en el proceso de producción de metano: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Cobos & Sierra, 2007). El consorcio microbiano es muy importante en el proceso de digestión, ya que dependiendo de qué microorganismos y que tan activos estén, se podrá producir una mayor cantidad de metano (Esposito, et al., 2012). En ese orden de ideas, para llevar a cabo una prueba de BMP de manera adecuada es importante tener en cuenta las características que debe cumplir un consorcio microbiano.

El consorcio debe ser fresco y debe provenir de un reactor anaerobio activo, con el fin de proveer una diversa comunidad microbiana que sea capaz de digerir diferentes moléculas orgánicas (Holliger, et al., 2016). Los inóculos más empleados han sido los lodos anaerobios procedentes del tratamiento de agua residual doméstica, debido principalmente a su amplia disponibilidad; también se reporta el uso de otros inóculos como estiércol de animales, lodos industriales, rumen y extracto de suelos (Neves, et al., 2010). Además, debe ser desgasificado para eliminar el material orgánico residual presente que pueda alterar la medición del BMP. La desgasificación debe realizarse a la misma temperatura que la temperatura del proceso de donde se originó el consorcio (Holliger, et al., 2016). En este punto es importante aclarar que la temperatura del ensayo BMP, mesófila o termófila, suele ser la misma que la temperatura de funcionamiento del digestor del consorcio microbiano (Angelidaki, et al., 2009).

Otro indicador de la buena calidad del inóculo es su actividad con diferentes sustratos estándar tales como glucosa, propionato, butirato, acetato (Holliger, et al., 2016). También, tener una baja producción de metano endógeno, lo que significa que debe existir poco sustrato residual que pueda transformarse en biogás (Angelidaki, et al., 2009).

El consorcio microbiano debe ser estrechamente representativo como el tomado del biodigestor, y no debe lavarse para eliminar el material de sustrato residual y los compuestos de carbono inorgánico. Una alternativa al uso de un inóculo específico es mezclar inóculos de diferentes fuentes para aumentar la diversidad de la comunidad microbiana (Angelidaki, et al., 2009).

Finalmente, controles de calidad que pueden llevarse a cabo incluyen análisis del pH, la concentración de sólidos volátiles y los ácidos grasos volátiles. El pH siempre se debe medir antes de configurar una prueba de BMP, y los demás parámetros se pueden analizar con menos frecuencia si la fuente del inóculo es siempre la misma (Holliger, et al., 2016).

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 Objetivo general

Identificar una variable de respuesta asociada a la calidad de diferentes consorcios microbianos obtenidos a partir de plantas de tratamiento industriales, frente a la producción total de metano.

2.3.2 Objetivos específicos

1. Determinar en los consorcios microbianos el pH, la concentración de sólidos volátiles y los ácidos grasos volátiles.
2. Determinar en cada uno de los consorcios microbianos la producción de biogás residual.
3. Cuantificar la cantidad total de metano producido por cada uno de los consorcios microbianos utilizando como sustrato celulosa, y su correlación con los parámetros evaluados.

2.4 METODOLOGÍA

2.4.1 Origen de los consorcios microbianos

Los consorcios microbianos para el desarrollo de ésta investigación son lodos anaerobios provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales industriales obtenidos de Levapan S.A, Emcali y un Ingenio azucarero.



Figura 2. Consorcios microbianos obtenidos de Levapan S.A y de la PTAR



Figura 3. Consorcio microbiano obtenido del Ingenio.

2.4.2 Caracterización de los consorcios microbianos

Para el análisis de los sólidos volátiles se secó una fracción de cada muestra en el horno a una temperatura de 110 °C durante 24 horas, posteriormente, se llevó a una mufla a una temperatura de 500 °C por 24 horas. De esta manera, los sólidos volátiles se calcularon por diferencia de peso. La determinación del pH de cada uno de los consorcios se estableció por medio de un pH-metro. Las pruebas mencionadas se realizaron por duplicado.

Los ácidos grasos volátiles se determinaron por el método de esterificación, cuyo principio se basa en la formación de ésteres de los ácidos grasos, que, tras una reducción mediante sales de hierro (III) forman complejos de color rojo que se evalúan mediante fotometría (HACH) (ver Figura 4). Se empleó el kit comercial LCK 365 para ácidos orgánicos de HACH®, siguiendo las especificaciones de uso del fabricante. Inicialmente, se recolectó una fracción de cada una de las muestras de estudio, en seguida, las muestras a ser analizadas se centrifugaron durante 10 minutos a una velocidad de 5000 rpm, posteriormente, se filtraron empleando un filtro de 0.22 μm de poro. A continuación, se realizó una dilución 10^{-3} del filtrado de la muestra Levapan, por ser una muestra altamente concentrada. Finalmente, se empleó un espectrofotómetro DR2800 de la misma marca comercial HACH®, el cual identifica la concentración de ácido orgánico presente en cada muestra a una longitud de onda de 497 nm. Se ejecutó un total de dos preparaciones para cada muestra y se determinaron los valores de ácido orgánico por triplicado.

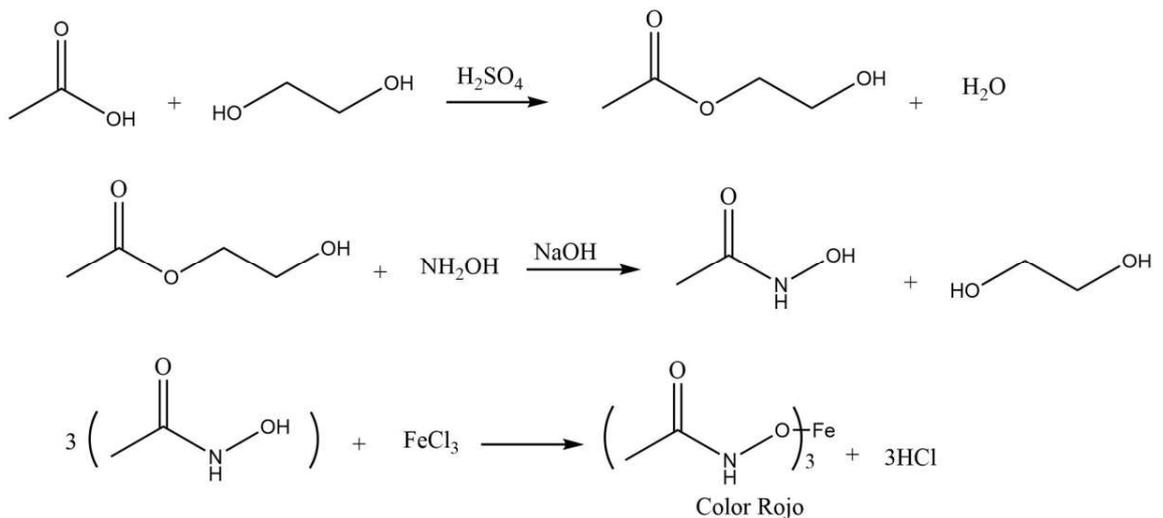


Figura 4. Reacción para identificación de ácidos orgánicos mediante el método de esterificación

2.4.3 Sustrato

Se empleó como sustrato un control positivo de celulosa, debido a que ésta involucra todas las etapas de degradación en el proceso de digestión anaerobia. Además, es de bajo costo y es posible conseguirla como un producto de alta pureza. (Holliger, et al., 2016).

2.4.4 Determinación de la producción de biogás

Inicialmente, se calculó el porcentaje de sólidos volátiles de cada uno de los consorcios microbianos y del sustrato a emplear con el fin de establecer una relación 1:6 de sólidos volátiles de sustrato respecto al consorcio en el reactor, lo anterior para generar una buena interacción entre sustrato e inóculo y, adicionalmente, evitar problemas de inhibición debido a la acumulación de productos intermedios. Los sólidos volátiles se calcularon siguiendo la metodología reportada en la sección **2.4.2**.

Una vez establecido el cálculo de sólidos volátiles en cada uno de los consorcios, se procedió a realizar el montaje de cada reactor escala laboratorio (ver Figura 5) con la cantidad de sustrato y consorcio estimada mediante una plantilla en Excel. El montaje experimental consistió en 24 biodigestores escala laboratorio con 1 L de capacidad dispuestos a baño maría a una temperatura de 35 °C, durante un periodo de 11 días con un sistema de agitación que permite la homogenización constante. Para que el experimento sea representativo, el proceso de digestión se llevó a cabo por triplicado en cada una de las muestras empleadas.

La producción de biogás en cada uno de los reactores es medida directamente por el sistema. En ese orden de ideas, para determinar el volumen de gas producido se proporcionó una celda que contenía agua acidificada por cada reactor y que cuenta con un interruptor que gira al completar un volumen específico. A través de las celdas pasa el gas producido, el cual es medido cada vez que el interruptor es activado. Cabe aclarar que cada celda fue inicialmente calibrada para establecer cuál es el volumen en cada una y de esta manera poder determinar cuánto gas se produce cada vez que el interruptor sea activado.

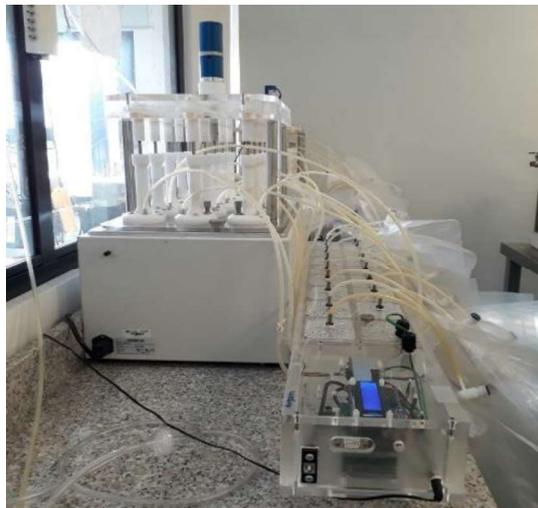


Figura 5. Montaje experimental para la producción de biogás

2.4.5 Cuantificación de metano en biogás

El gas producido por cada reactor fue recolectado por unas bolsas colectoras de biogás. La cantidad de metano presente en el biogás producido se midió empleando un analizador de biogás portable BIOGAS 5000 (ver Figura 6), el cual determina la proporción de metano en el biogás al absorber el contenido de cada bolsa.

El metano se cuantifica según el principio de absorción infrarroja de doble haz (Geotech, 2016). En ese orden de ideas, se bombea una muestra de gas a la celda de medición donde la radiación de una fuente infrarroja de banda ancha pasa a través del gas hacia un detector; se usa un haz de referencia separado para compensar cualquier deriva instrumental (CSA Group, 2014). Cabe resaltar que el dispositivo posee una válvula de salida, la cual fue conectada a un extractor para retirar el gas del laboratorio.



Figura 6. Equipo analizador de biogás, BIOGAS 5000.

2.4.6 Análisis estadístico

Para identificar la correlación existente entre cada uno de los parámetros evaluados y el potencial de producción de metano se empleó el coeficiente de correlación de Pearson, el cual es una medida de la relación o asociación entre dos variables aleatorias y se denota por la letra r (Restrepo B & González L, 2007) .

2.4.7 Matriz de marco lógico

Tabla 2. Matriz de marco lógico

Objetivo general: Identificar una variable de respuesta asociada a la calidad de diferentes consorcios microbianos obtenidos a partir de plantas de tratamiento industriales, frente a la producción total de metano.			
Objetivos	Actividades	Supuestos	Indicadores
1. Determinar en los consorcios microbianos el pH, la concentración de sólidos volátiles y los ácidos grasos volátiles.	<ul style="list-style-type: none"> - Recolección de los consorcios microbianos a evaluar. -Medición del pH en cada uno de los consorcios recolectados. -Medición de la concentración de sólidos volátiles. -Medición de los ácidos grasos volátiles. 	<ul style="list-style-type: none"> -Disponibilidad de los consorcios microbianos requeridos de las plantas de tratamiento de las industrias. -Disponibilidad del pH-metro. -Disponibilidad del kit comercial LCK 365 para ácidos orgánicos de HACH®. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Concentración de sólidos volátiles presente en los consorcios determinada. ✓ pH de los consorcios determinado. ✓ Ácidos grasos volátiles en los consorcios determinados.
2. Determinar en cada uno de los consorcios microbianos la producción de biogás residual.	<ul style="list-style-type: none"> -Realización del montaje de los biorreactores a escala de laboratorio. - Medición de la producción total de biogás en cada uno de los consorcios. 	<ul style="list-style-type: none"> -Disponibilidad de los biorreactores escala laboratorio. -Buen funcionamiento de los biorreactores durante el desarrollo del proyecto. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Potencial de biogás residual por consorcio microbiano determinado.
3. Cuantificar la cantidad total de metano producido por cada uno de los consorcios	<ul style="list-style-type: none"> -Realización de una revisión bibliográfica 	<ul style="list-style-type: none"> -Disponibilidad del control positivo de 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Cantidad de metano producido por consorcio cuantificada.

<p>microbianos utilizando como sustrato celulosa, y su correlación con los parámetros evaluados.</p>	<p>sobre ensayos de BMP.</p> <p>-Cuantificación de la producción total de metano de cada uno de los consorcios microbianos utilizando como sustrato celulosa.</p> <p>- Realización del análisis de datos de los parámetros evaluados mediante el uso de Excel, para establecer la correlación entre éstos y la cantidad de metano producido por cada uno de los consorcios.</p>	<p>sustrato estándar de celulosa.</p> <p>-Buen funcionamiento del analizador de biogás.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Comparación de la cantidad de metano producido por cada uno de los consorcios realizada. ✓ Análisis de datos de los parámetros evaluados realizado. ✓ Correlación entre los parámetros evaluados y la cantidad de metano producido por los consorcios determinada.
--	---	---	--

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1 Caracterización de los consorcios microbianos

El análisis de los sólidos volátiles (SV) y la determinación del pH en cada uno de los consorcios microbianos se llevó a cabo de acuerdo a lo descrito en la metodología. En ese orden de ideas, en la tabla 3 se presenta el promedio de los porcentajes obtenidos en SV y el promedio de las mediciones de pH.

Tabla 3. Porcentaje de sólidos volátiles y pH de los consorcios microbianos empleados

Muestra	SV (%p/p)	pH
PTAR 1	5,66	7,2
PTAR 2	2,65	7,1
Levapan	2,27	8,0
Ingenio	5,85	7,6

De igual manera, se llevó a cabo la determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) en cada uno de los consorcios microbianos mediante el método de esterificación. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Concentración de ácidos grasos volátiles en los consorcios microbianos empleados

Muestra	AGV (mg AGV/ L)
PTAR 1	394
PTAR 2	61
Levapan	22
Ingenio	566

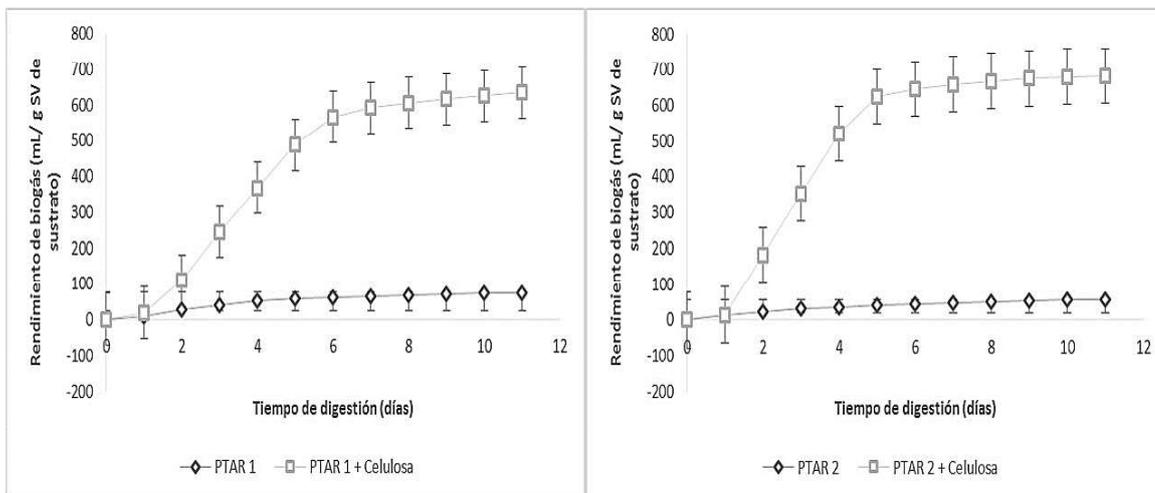
De acuerdo a la literatura, en cada paso del proceso de digestión anaerobia la producción de biogás y las tasas de descomposición de la materia orgánica son

influenciadas por diferentes factores, entre éstos los SV, el pH y los AGV (Deublein & Steinhauser, 2008). En primer lugar, en los consorcios microbianos los sólidos volátiles representan el material orgánico residual, que teóricamente debe ser convertido a metano (producción de metano endógeno) (Varnero, 2011). Por su parte, el pH condiciona el buen funcionamiento de las diferentes poblaciones microbianas que intervienen en el proceso, debido a que influyen en la actividad metabólica de las mismas (Angelidaki & Sanders, 2004); de hecho, algunos autores hacen referencia a que el pH óptimo para la producción de CH₄ debe estar entre 6,8 y 8 unidades (Chernicharo, 2007) o entre 7 y 8,5 unidades (Angelidaki & Sanders, 2004). Finalmente, los AGV constituyen el precursor principal de la metanogénesis, en efecto, se ha reportado que la concentración de AGV que proporciona un consorcio de buena calidad no debe sobrepasar 1,0 g AGV/L (Holliger, et al., 2016).

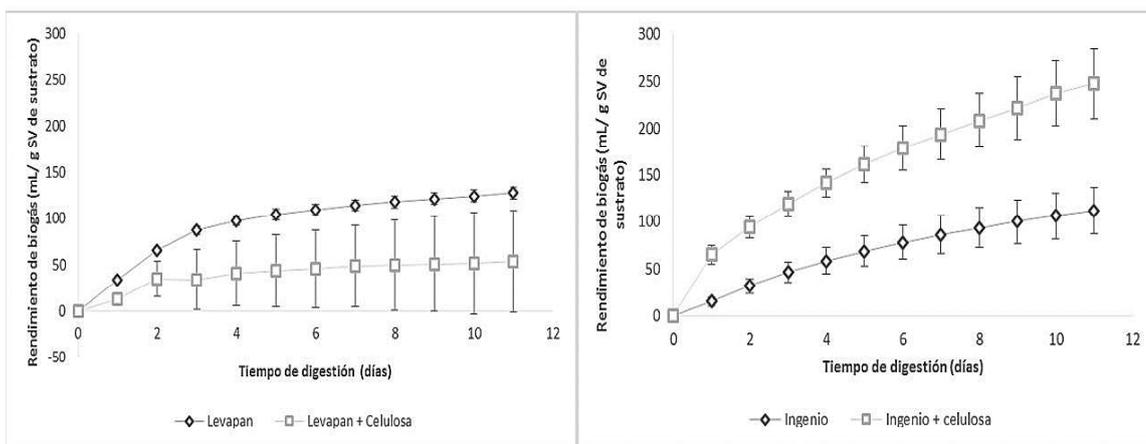
Ahora bien, de acuerdo a los resultados obtenidos expresados en las tablas 3 y 4 es posible inferir que las muestras en estudio pueden ser empleadas para generar buenos rendimientos de biogás en presencia de un sustrato durante el proceso de digestión anaerobia. Por un lado, las muestras poseen una baja cantidad de materia orgánica residual (medida en términos de SV) susceptible a ser degradada que pueda alterar la medición de la producción total de metano, además, los valores de pH y concentración de AGV se encuentran dentro de los rangos ideales reportados para los consorcios microbianos.

2.5.2 Determinación de la producción de biogás

La producción de biogás obtenido durante los 11 días de estudio para cada uno de los consorcios microbianos empleados, utilizando como sustrato estándar un control positivo de celulosa se representan en las gráficas 1 y 2. La celulosa es un polisacárido compuesto únicamente por moléculas de glucosa y cuya propiedad polimérica comprende todas las etapas de degradación en el proceso de digestión anaerobia (Holliger, et al., 2016), lo cual lo convierte en un sustrato ideal para su uso como control positivo en el estudio de generación de biogás.



Gráfica 1. Rendimiento de biogás para los consorcios microbianos obtenidos de PTAR durante los 11 días de estudio utilizando como sustrato celulosa. Cada punto representa el promedio de la medición de dos biodigestores.



Gráfica 2. Rendimiento de biogás para los consorcios microbianos durante los 11 días de estudio utilizando como sustrato celulosa. Cada punto representa el promedio de la medición de tres biodigestores.

Los resultados observados en las gráficas 1 y 2 evidencian que la producción de biogás posee un incremento continuo a medida que transcurren los días de estudio, comportamiento debido a que los microorganismos presentes en el consorcio microbiano empiezan a degradar la materia orgánica (sustrato) generando como resultado un aumento significativo en la producción de biogás. En cuanto a la caracterización de las muestras presentadas en las tablas 3 y 4, los resultados ilustrados en las gráficas 1 y 2 demuestran la conducta esperada para los inóculos obtenidos de PTAR e Ingenio, dado que se observa que el rendimiento de biogás

en ausencia de celulosa, es mucho menor que la generada en presencia de la misma. En ese orden de ideas, en la gráfica 1 se evidencia que los inóculos con mayor producción de biogás a partir de celulosa son aquellos rotulados como PTAR 1 y PTAR 2, los cuales alcanzan un valor acumulado de 634 y 683 mL/ g SV, respectivamente. Por otra parte, en la gráfica 2 se observa que el consorcio que proviene de Levapan produce un menor rendimiento de biogás cuando se le añade el sustrato estándar de celulosa, sugiriendo la inviabilidad del inóculo, puesto que según la literatura, la celulosa no presenta propiedades inhibitorias (Holliger, et al., 2016).

Por otro lado, para establecer el valor del potencial de biogás residual (RBP, por sus siglas en inglés) generado por cada uno de los consorcios microbianos en estudio se tuvo en cuenta el límite cuando los días tienden a infinito de cada una de las curvas creadas a partir de los valores de rendimiento de biogás en mL/ g SV. En este sentido, inicialmente se obtiene la ecuación de la curva que representa el comportamiento de las muestras en términos del tiempo de digestión en días y volumen de gas producido y a continuación, se procede a calcular el límite cuando los días tienden a infinito de las ecuaciones obtenidas. Los resultados adquiridos se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Resultados de RBP obtenidos para cada uno de los consorcios microbianos en estudio

Muestra	RBP (mL biogás/ g SV)
PTAR 1	82
PTAR 2	61
Levapan	127
Ingenio	154

De acuerdo a los resultados expuestos en la tabla 5, las muestras correspondientes a PTAR 1 y PTAR 2 poseen los menores valores de RBP, lo cual concuerda con el comportamiento evidenciado en la gráfica 1. Según la literatura, se espera que los consorcios microbianos presenten una baja producción de metano endógeno, debido a que deben contener poco material orgánico residual que pueda transformarse en biogás (Angelidaki I. , 2009) y alterar la medición del BMP (Holliger, et al., 2016).

2.5.3 Cuantificación de metano en biogás

El porcentaje de CH₄ en el biogás en cada una de las muestras en estudio se midió al final del experimento de determinación de biogás residual mediante el dispositivo de medición BIOGÁS 5000. Se sabe que los productos principales del proceso de digestión anaerobia son el CH₄ y el CO₂, por ende, en los inóculos analizados se cuantificaron ambos gases y se obtuvo el porcentaje total de CH₄ como el cociente entre el %CH₄ y el %CH₄ más el %CO₂.

Una vez obtenida la cantidad de CH₄ en el biogás, se evaluó el BMP mediante la expresión mL CH₄/g SV adicionados al biodigestor; cabe destacar que la producción de biogás y metano está directamente relacionada a la cantidad de materia orgánica añadida al reactor en función de los sólidos volátiles, es por esto que el BMP suele indicarse en función de estos parámetros en la unidades mencionadas anteriormente (Córdoba, et al., 2014). Los resultados obtenidos de la cuantificación de CH₄ en biogás se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados de la cuantificación de metano en cada una de las muestras, reportado en términos de mililitro por gramo de sólidos volátiles añadidos y en porcentaje

Muestra	BMP (mL CH ₄ / g SV)	Total %CH ₄
PTAR 1	662	82
PTAR 2	492	66
Levapan	49	65
Ingenio	92	76

Los resultados presentados en la tabla 6 reflejan que las muestras con mayor producción total de metano a partir de celulosa son aquellas tituladas como PTAR, lo cual es consistente con el comportamiento evidenciado en la gráfica 1, pues éstas poseen el mayor rendimiento de biogás a partir de celulosa. Por su parte, la muestra de Levapan posee el menor valor de BMP, lo cual es consistente con lo observado en la gráfica 2 y por ende, permite inferir que éste consorcio es de baja calidad.

Para establecer la correlación existente entre la producción total de metano en cada uno de los inóculos en estudio y los parámetros evaluados en esta investigación, se empleó el coeficiente de correlación de Pearson, el cual es una medida de la relación o asociación entre dos variables aleatorias y se denota por la letra r (Restrepo B & González L, 2007). En ese orden de ideas, en la tabla 7 se expresan los resultados obtenidos del análisis de coeficiente de correlación de Pearson.

Tabla 7. Resultados obtenidos del coeficiente de correlación de Pearson

Parámetros		Coeficiente de correlación
BMP (mL CH ₄ / g SV)	SV (%p/p)*	0,221
	pH	-0,903
	AGV (mg AGV/ L)	0,027
	RBP (mL biogás/ g SV)	-0,853

*Porcentaje de sólidos volátiles de los consorcios microbianos.

Para interpretar los resultados obtenidos es importante saber que el coeficiente r puede tomar un rango de valores de +1 a -1. En donde, un valor de 0 indica que no hay asociación entre las dos variables; un valor mayor que 0 indica una asociación positiva, es decir, a medida que aumenta el valor de una variable, también lo hace el valor de la otra variable; un valor menor que 0 indica una asociación negativa, es decir, a medida que el valor de una variable aumenta, el valor de la otra variable disminuye. En ese orden de ideas, los resultados presentados en la tabla 7 reflejan que existe una relación positiva entre la producción total de metano (BMP) y el porcentaje de sólidos volátiles, al igual que el BMP y los ácidos grasos volátiles; por su parte, tanto el pH como el potencial de biogás residual presentan una relación negativa respecto al BMP.

De acuerdo a la literatura, el valor del BMP está limitado por la cantidad de material orgánico (medido en términos de SV) que puede ser usado como alimento por los microorganismos (Morales, 2005), dicho material orgánico está determinado por el tipo de sustrato adicionado al inóculo. Desde el punto de vista de los consorcios microbianos, los sólidos volátiles son una medida del material orgánico residual que no es empleado como alimento por los microorganismos en el proceso de producción de biogás, por lo tanto, es de esperarse que el porcentaje de sólidos volátiles de consorcios microbianos no tenga gran influencia en la determinación del BMP, resultado que efectivamente se evidencia en la tabla 7.

Por su parte, la baja relación entre los AGV y el potencial de biometano mostrada en los resultados de la tabla 7 indican que a pesar que los AGV influyen en el

proceso de digestión anaerobia por ser el precursor principal de la metanogénesis, no es una medida determinante en la producción de biometano desde el punto de vista del consorcio microbiano, puesto que aunque la concentración de AGV puede encontrarse en el rango óptimo reportado para inóculos, éstos últimos pueden no generar una buena producción total de metano.

Por otro lado, los resultados presentes en la tabla 7 muestran que el RBP es un parámetro que influye considerablemente en la producción total de metano, un valor bajo de RBP significa una baja producción de metano endógeno, es decir, poca presencia de sustrato residual que pueda alterar la medición del BMP (Angelidaki I. , 2009). Por tanto, es consistente esperar una asociación negativa fuerte, pues valores bajos de RBP reflejan mayores mediciones de BMP.

Finalmente, en la tabla 7 se observa que la variable de respuesta que más influye en la producción total de metano es el pH. El pH afecta de manera directa la actividad metabólica de los microorganismos, seres encargados de la descomposición del material orgánico y su transformación en biogás (Morales, 2005), además es una de las variables que regula la coexistencia de las poblaciones de microorganismos, dado que son pocos los microorganismos que pueden soportar condiciones extremas como pH altos y pH bajos (Cendales, 2011). Por tanto, es consistente esperar que un valor de pH muy aislado de los rangos óptimos requeridos para el proceso anaerobio pueda inhibir completamente la actividad del microorganismo, causando por ende la baja producción de metano y, en el peor de los casos la no producción de metano. En ese orden de ideas, es posible deducir que la medición del pH es un parámetro que permite verificar la calidad de los consorcios microbianos, con la ventaja de que se requiere una menor cantidad de tiempo para su determinación. Sin embargo, considerando los valores de pH de los consorcios utilizados en esta investigación, se puede concluir que el rango más adecuado para la producción de metano oscila entre 7,0 y 7,6 unidades, puesto que se evidenció que los consorcios que mejor producción de BMP generaron tenían estos valores de pH, por el contrario, mediante el consorcio de Levapan se comprobó que aunque se obtiene un valor de pH apropiado de acuerdo a la literatura, no se generó una buena producción total de metano. No obstante, vale la pena realizar un análisis empleando consorcios microbianos con un rango más amplio de pH debido a que los inóculos empleados se encontraron en un rango muy específico (entre 7 y 8 unidades).

2.6 CONCLUSIONES

- Se realizó la caracterización de diversos consorcios microbianos obtenidos de plantas de tratamiento industriales en términos de sólidos volátiles, ácidos grasos volátiles y pH, y se evidenció que cada uno de los consorcios puede generar buenos rendimientos de biogás, debido a que los datos obtenidos

para este análisis se encuentran dentro de los rangos ideales reportados para los consorcios microbianos.

- Se determinó el potencial de producción de biogás residual para cada uno de los consorcios microbianos en estudio y se evidenció que las muestras rotuladas como PTAR 1 y PTAR 2 poseen los menores valores de RBP, por lo tanto, estas muestras contienen una menor cantidad de material orgánico residual capaz de transformarse en biogás, lo que se traduce en una menor producción de metano endógeno que pueda afectar la medición del BMP.
- Se cuantificó la producción total de metano a partir de celulosa en los consorcios microbianos obtenidos de plantas de tratamiento industriales. Se obtuvo un valor máximo de 662 mL CH₄/ g SV en BMP.
- Se identificó mediante un análisis de correlación que la variable de respuesta más influyente en la producción total de metano es el pH.

2.7 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la cuantificación de metano mediante la técnica de cromatografía de gases, debido a que aunque el BIOGÁS 5000 es un dispositivo capaz de proveer resultados precisos, tiene como desventaja la necesidad de recolectar un volumen de biogás de aproximadamente 1 L para ejecutar la lectura.
- Se recomienda ejecutar estudios posteriores empleando consorcios microbianos con un rango más amplio de pH, para determinar la influencia sobre la producción total de metano, debido a que los inóculos empleados en el desarrollo de este estudio se mueven dentro de un rango de pH muy específico (entre 7 y 8 unidades).

2.8 REFERENCIAS

- Acosta, M., & Pasqualino, J. (2014). Potencial de uso de biogás en Colombia. *TEKNOS*, 27-33.
- Angelidaki, I. (2009). *Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays*. .
- Angelidaki, I., & Sanders, W. (2004). Assesment of the anaerobic biodegradability of macropollutants . *Environmental Science and Bio/Technology*, 117-129.
- Borzacconi, L., López, I., & Viñas, M. (1995). Application of anaerobic digestion to the treatment of agroindustrial effluents in Latin America. *Water Sci. Technol.*, 105-111.
- Cárdenas, L. M., Parra, B. A., Torres, P., & Vásquez, C. H. (2015). *Perspectivas del ensayo de Potencial Bioquímico de Metano - PBM para el control del proceso de digestión anaerobia de residuos*. Universidad del Valle , Facultad de Ingeniería , Cali .
- Cendales, D. (2011). *Producción de biogás mediante la codigestión anaeróbica de la mezcla de residuos cítricos y estiércol bovino para su utilización como fuente de energía renovable*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Chernicharo, C. A. (2007). Anaerobic Reactors. Biological Wastewater Treatment Series. *IWA Publishing* , 26-27.
- Córdoba, V., Fernández, M., & Santalla, E. (2014). *INFLUENCIA DEL INÓCULO EN LA DIGESTION ANAEROBICA DE PURÍN DE CERDO*. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Buenos Aires.
- CSA Group. (25 de Febrero de 2014). *PRODUCT CONFORMITY CERTIFICATE*.
Obtenido de <http://www.csagroupuk.org/wp-content/uploads/2015/07/MC13024002.pdf>
- Deublein, D., & Steinhauser, A. (2008). *Biogas from waste and renewable resources. An Introduction*. Weinheim: WILEY-VCH.
- Díaz, A. (2013). *Diseño, construcción y puesta en marcha de un biodigestor anaerobio con residuos orgánicos generados en el mercado de Tiquipaya (Bolivia)* .
- Díaz, B. M., Espitia, V. S., & Molina, P. F. (2002). Digestión Anaerobia: Una aproximación a la tecnología. 63.

- Esposito, G. (2012). *Biomethane potential tests to measure the biogas production from the digestion and co-digestion of complex organic substrates*.
- Geotech. (2016). *BIOGAS 5000 Gas analyser operating manual*. Obtenido de <http://www.geotechuk.com/site/wp-content/uploads/2016/01/BIOGAS-5000-Operating-Manual.pdf>
- Godin, B., Mayer, F., Agneessens, R., Gerin, P., Dardenne, P., Delfosse, P., & Delcarte, J. (2015). Biochemical methane potential prediction of plant biomasses: comparing chemical composition versus near infrared methods and linear versus non-linear models. *Bioresource Technology* , 382-390.
- HACH. (s.f.). *LCK 365*. Obtenido de file:///C:/Users/EVOLUTION/Downloads/14793144_AE_365_H_Druckf_schwarz.pdf
- Holliger, C., Madalena, A., Diana, A., Irimi, A., Sergi, A., Urs, B., . . . Marta, C. (2016). *Towards a standardization of biomethane potential tests*.
- IDAE. (2007). *Biomasa: Digestores anaerobios*. Madrid.
- Kleinheinz, G., & Hernández, J. (2016). Comparison of two laboratory methods for the determination of biomethane potential of organic feedstocks. *Journal of Microbiological Methods*, 54-60.
- Koch, K., Fernández, Y., & Drewes, J. (2015). Influence of headspace flushing on methane production in biochemical methane potential (BMP) tests. *Bioresource Technology*, 173-178.
- Lorenzo, Y., & Obaya, M. C. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. *ICIDCA*, 35-48.
- Morales, P. (2005). *Digestión anaerobia de lodos de plantas de tratamiento de aguas y su aprovechamiento*. Universidad de las Américas Puebla, Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Puebla.
- Neves, L., Ferreira, R., Oliveira, R., & Alves, M. (2010). Influence of inoculum acclimation in the biodegradation rate and estimated biodegradability of cow manure, food waste and oil. *Environmental Engineering & Management Journal* , 327-334.
- Nielfa, A., Cano, R., & Fdz-Polanco, M. (2015). Theoretical methane production generated by the co-digestion of organic fraction municipal solid waste and biological sludge. *Biotechnology Reports* , 14-21.

- Nkoa, R. (2014). Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: A review. *Agron Sustain Dev*, 473-492.
- Olaya, Y., & Octavio, L. (2009). *Fundamentos para el diseño de biodigestores*. Palmira.
- Olga, Z. (20 de Marzo de 2018). *civilgeeks.com*.
- Owen, W., Stuckey, D., Healy, J., Young, L., & McCarty, P. (1979). Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Water Research*, 485-492.
- Parra, B. (2014). *Producción de metano a partir de la digestión anaerobia de biorresiduos de origen municipal*. Universidad del Valle, Cali.
- Restrepo B, L. F., & González L, J. (2007). De Pearson a Spearman . *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 183-192.
- Sánchez Ferrer, A. (2014). *De residuo a recurso, el camino hacia la sostenibilidad*. Barcelona: Mundi-prensa.
- Scarlat, N., Dallemand, J.-F., & Fahl, F. (2018). Biogas: developments and perspectives in Europe. *Renewable Energy*, 1-49.
- Sell, S., Burns, R., Raman, D., & Moody, L. (2010). *Approaches for selecting Anaerobic Digestion Co-Substrates for a Full-Scale Beef Manure Digester Using Biochemical Methane Potentials and Anaerobic Toxicity Assays*. Dallas.
- Surendra, K., Takara, D., Hashimoto, A. G., & Kumar Khanal, S. (2014). Biogas as a sustainable energy source for developing countries: Opportunities and challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* , 846-859.
- Varnero, M. T. (2011). Manual de biogás . *FAO*, 1-119.
- Vasco Correa, J. (2017). *Anaerobic digestion for bioenergy production: Global status, environmental and techno-economic implications, and government policies*. The Ohio State University. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.004>
- Yu, H., Samani, Z., Hanson, A., & Smith, G. (2002). Energy recovery from grass using two phase anaerobic digestion. *Waste Management*, 1-5.