

Biodegradación de residuos orgánicos de plazas de mercado

Biodegradation of organic solid wastes from market places

Carlos Ariel Cardona Alzate^{}, Óscar Julián Sánchez Toro^{**}, Julián Andrés
Ramírez Arango^{***}, Luis Eduardo Alzate Ramírez^{***}*

RESUMEN

En el presente trabajo se caracterizaron, clasificaron y acondicionaron los residuos orgánicos de la plaza de mercado de Manizales (Caldas), analizándose los posibles tratamientos para su conversión en productos de valor agregado. Se eligió transformar el almidón y la celulosa presentes en los residuos. Se establecieron las mejores condiciones de temperatura, pH y dosificación de enzima para transformar los polisacáridos en azúcares reductores. Para la transformación del almidón y la celulosa se utilizaron glucoamilasa y celulasas comerciales. La conversión de almidón alcanzó valores del 60% a 50 °C, y un pH de 6,0. La conversión de celulosa fue de un 4% a 60 °C y un pH de 4,0. Se llevó a cabo el estudio cinético de la hidrólisis de almidón con base en el modelo de Michaelis-Menten. A partir de la nueva materia prima (azúcares reductores) se obtuvo etanol. Igualmente se evaluó la producción de biogás y compost a partir de los residuos sólidos estudiados. En la producción de biogás se determinó que por cada kilogramo de residuos tratados se producen, en el rango de temperatura mesofílica, aproximadamente 4 L de biogás. A pesar de los valores relativamente bajos de la relación C/N para los residuos vegetales, se evidenció la posibilidad de llevar a cabo un proceso de compostaje para este tipo de desechos.

Palabras clave: hidrólisis enzimática, etanol, biogás, compostaje, almidón.

ABSTRACT

In this research, the organic wastes from local market place were characterized, classified and conditioned. Feasible conversion treatments into added value products were analyzed. The transformation of starch and cellulose contained in wastes was chosen. The best conditions of temperature, pH and enzyme doses were established in order to transform the polysaccharides into reducing sugars. Commercial glucoamylase and cellulases for converting starch and cellulose were used. Starch conversion reached 60% at 50 °C and pH of 6.0. Cellulose conversion was of 4% at 60 °C and pH of 4,0. The kinetic research of starch hydrolysis based on Michaelis-Menten model was carried out. Ethanol was obtained from new-formed raw material (reducing sugars). In the same way, biogas and compost production was evaluated. It was determined that from each kilogram of treated wastes can be produced approximately 4 L of biogas at mesophilic range of temperature. It was recognized the possibility to carry out a composting process of plant wastes, despite their relatively low values of C/N ratio.

Key words: Enzyme hydrolysis, ethanol, biogas, composting, starch.

* Ingeniero químico, M. Sc., Ph. D., profesor asistente Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales, Calle 27 No. 64-60, Manizales, Colombia. Correo electrónico: ccardona@nevado.manizales.unal.edu.co.

** Ingeniero químico, M. Sc., profesor asistente, Departamento de Ingeniería, Universidad de Caldas. Calle 65 No. 26-10, Manizales, Colombia. Profesor catedrático, Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales. Correo electrónico: osanchez@ucaldas.edu.co.

*** Ingeniero químico.

Recibido: abril 16 de 2004. **Aceptado:** octubre 25 de 2004.

INTRODUCCIÓN

En el mundo se producen aproximadamente 1600 millones de toneladas por año de residuos sólidos (Skinner, 2000), los cuales generan graves problemas, no sólo por el deterioro progresivo del medio ambiente, sino también desde el punto de vista económico puesto que los costos de recolección, transporte y disposición final son cada vez mayores. Se estima que los servicios de disposición, tratamiento y aprovechamiento de los residuos sólidos mueven mundialmente un mercado anual de 100000 millones de dólares, de los cuales 43000 millones corresponden a Norteamérica, 42000 millones a la Unión Europea y sólo 6000 millones a Suramérica, siendo la producción de residuos de 250, 200 y 150 millones de toneladas por año respectivamente (Skinner, 2000).

En el caso de Colombia, las cifras del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial indican que en un día el país produce 27300 toneladas de basura de las cuales el 65% son residuos orgánicos y el 35% inorgánicos. Los componentes que constituyen la fracción orgánica de las basuras colombianas son residuos de alimentos, papel, cartón, madera y residuos de jardín (Stoecklein y Suárez, 1998). Sólo el 40% de los residuos sólidos municipales tiene un manejo adecuado, el 50% es manejado de forma indebida y el 10% es recuperado gracias al reciclaje. En Manizales, ciudad intermedia de Colombia, y cuya área metropolitana cuenta con una población estimada de 426000 habitantes (DANE, 2004), la producción de residuos sólidos en el año 2002 fue de 92000 toneladas equivalentes a 252 toneladas diarias, según estadísticas generadas por la empresa local encargada de la recolección de basuras (Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2004).

La mayor parte del comercio mayorista de productos agrícolas de consumo humano, y gran parte del minorista, se lleva a cabo en las centrales de abasto de las ciudades colombianas. En el caso de Manizales, la comercialización se realiza en la central de abastos (galería) que en conjunto con los expendios ambulantes circundantes conforman el sector de la plaza de mercado local. Los residuos sólidos que se producen diariamente en este sector son sobre todo de origen vegetal y están constituidos por frutas y verduras que no alcanzan la calidad necesaria para su comercialización debido, por ejemplo, a

su alto estado de madurez; igualmente estos residuos están constituidos por diferentes estructuras vegetales de desecho (cáscaras, tallos, semillas, etc.). Los polisacáridos contenidos en este tipo de materiales pueden ser aprovechados por medio de la transformación enzimática de los complejos amiláceos (Guzmán y Paredes, 1995) y celulósicos (Howard *et al.*, 2003) en azúcares que posteriormente son fermentados hasta alcohol u otros productos de valor agregado.

La mayoría de investigaciones sobre residuos orgánicos realizadas tanto en los países desarrollados como en Colombia, han concentrado sus esfuerzos en la transformación de estos residuos a biogás y compost (Castillo *et al.*, 2003; Farías *et al.*, 1999; Hamzawi *et al.*, 1999; Salas y Giraldo, 1996; Tchobanoglous *et al.*, 1994; Cecchi y Traverso, 1988). Igualmente, se han llevado a cabo estudios para el diseño de procesos de conversión de residuos sólidos municipales a alcohol, algunos de los cuales han sido patentados para su implementación a nivel comercial (Titmas, 1999). En particular, se ha reportado que la compañía Masada Resource Group planea iniciar en 2004 la operación de la primera planta productora de etanol en Estados Unidos a partir de residuos sólidos municipales mediante la hidrólisis ácida de la celulosa contenida en los mismos (Ames y Werner, 2003). Sin embargo, la mayoría de estos procesos se limita al tratamiento de la celulosa mediante hidrólisis ácida y no explora la utilización de enzimas ni la potencialidad de hidrolizar el almidón presente en los residuos sólidos de origen vegetal.

El presente trabajo tuvo por objeto estudiar en forma preliminar diferentes estrategias para el aprovechamiento integral de los desechos orgánicos de origen vegetal producidos en una plaza de mercado mediante procesos biológicos de degradación: tratamiento enzimático, conversión en productos de valor agregado por fermentación, digestión anaeróbica y compostaje.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pretratamiento de residuos orgánicos. Se tomó un total de nueve muestras aleatorias de residuos orgánicos de las unidades de almacenamiento del sector de la plaza de mercado de Manizales durante nueve días diferentes. Los materiales que componían las muestras fueron separados, clasificados cualitativamente y pesados. Se determinaron los

porcentajes en peso de los diferentes materiales presentes en las muestras. Posteriormente los materiales fueron mezclados y sometidos a un pretratamiento que consistió en su molienda y licuado, procedimiento que fue realizado en tres oportunidades hasta la obtención de un lodo fluido de $1,22 \pm 0,2$ g/mL. Se llevó a cabo la caracterización físico-química del lodo realizando determinaciones de humedad, almidón, azúcares reductores y celulosa.

Hidrólisis enzimática. La hidrólisis enzimática del almidón y la celulosa presentes en los residuos orgánicos se realizó en un reactor enchaquetado de hierro de 1 L con un revestimiento hidrolítico y posterior niquelado superficial acoplado a un termostato tipo MLW de 0-100 °C. Al reactor se le adaptó un agitador mecánico MLW tipo MR 25 con un rango de 30-2500 rpm.

La hidrólisis del almidón se llevó a cabo utilizando una glucoamilasa comercial (Naturalzyme GA-300®). Se evaluaron tres diferentes niveles de temperatura (50, 55 y 60 °C) y de pH (6,0; 6,5 y 7,0) con tres repeticiones para cada tratamiento. En cada tratamiento se tomaron 600 g de residuos orgánicos pretratados de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente, y se determinó su contenido de humedad y de almidón. Se estableció una relación constante de almidón a agua de 1:8, adicionándose agua en caso de necesidad, y se ajustó el pH con bicarbonato de sodio. El almidón de la mezcla se gelatinizó a temperaturas mayores de 70 °C durante no menos de 15 min, regulando la agitación para permitir una adecuada homogeneización. Esta mezcla no se esterilizó. Luego de este proceso se enfrió la mezcla hasta la temperatura definida y se adicionó la glucoamilasa. Cuando fue necesario, se ajustó de nuevo el pH a los valores predefinidos para cada tratamiento inmediatamente antes de la adición de la enzima; a partir de este momento el pH no se controló. La reacción de hidrólisis se llevó a cabo durante 90 min con agitación. Se midió la concentración de azúcares reductores al final de la reacción así como la de almidón, evaluándose su conversión, definida como la cantidad de almidón transformada con respecto al contenido inicial de almidón (en porcentaje). El análisis estadístico se realizó mediante el software Statgraphics Plus 2.0 usando herramientas de estadística descriptiva y de inferencia estadística (Montgomery, 1991).

Para la determinación de la dosificación óptima de la enzima se empleó el diseño experimental de la

regla de oro (Édgar *et al.*, 2001) en el rango 10-100 $\mu\text{L}/\text{kg}$ siendo el valor recomendado en la ficha técnica de la enzima 70 $\mu\text{L}/\text{kg}$ de materia prima, midiéndose la concentración de azúcares reductores al final de la reacción. El criterio empleado en estos estudios para la selección de las condiciones óptimas de la hidrólisis enzimática se asoció a la maximización de la conversión de almidón presente y de la formación de azúcares reductores.

La hidrólisis de celulosa se llevó a cabo empleando un complejo enzimático comercial con actividad celulásica (Celulasa TR-5000®), evaluándose dos niveles de temperatura (55 y 60 °C) y tres de pH (4,0; 5,0 y 6,0) con dos repeticiones por tratamiento. Debido a que la lignina presente en el material vegetal recubre la celulosa y no permite que actúen las celulasas (Whitaker, 1994), se realizó un pretratamiento adicional a la mezcla inicial agregando hidróxido de sodio al 1% en peso a una temperatura de 80 °C durante 1,5 h con una relación de materia prima a álcali de 1:5 (Osorio y Lasso, 1996; Ríos, 1996). Esta mezcla no se esterilizó. Luego del pretratamiento el pH fue ajustado con ácido acético inmediatamente antes de la adición de la enzima; a partir de este momento el pH no se controló. Se determinó la concentración de azúcares reductores al inicio y al final del proceso de hidrólisis. La determinación de la dosificación óptima de la enzima se llevó a cabo con el mismo procedimiento aplicado a la hidrólisis del almidón. El rango de variación de la dosis fue de 100-1000 ppm. Para el análisis estadístico se empleó igualmente el software Statgraphics Plus 2.0.

Estudio cinético de la hidrólisis de almidón. La cinética de la reacción de hidrólisis enzimática del almidón se realizó llevando a cabo diferentes experimentos por lotes variando la concentración inicial del sustrato. Para ello se emplearon cinco soluciones preparadas a partir de la mezcla inicial de residuos orgánicos pretratados considerando el contenido inicial de humedad de la misma; las soluciones correspondieron a las siguientes proporciones de almidón y agua (en peso): 1:8, 1:9, 1:10, 1:11, 1:12. Se utilizaron las mejores condiciones determinadas de temperatura, pH y dosificación de enzima. Durante el transcurso de la hidrólisis se tomaron muestras cada 3 minutos al inicio de la reacción, y cada 15 minutos al final hasta completar un tiempo de 2 h. Se simuló la cinética de la hidrólisis de almidón empleando el modelo de Michaelis-Menten descrito ampliamente en la literatura (Bailey y Ollis, 1984)

con ayuda de los paquetes MS Excel y Simulink v. 1.3c de Matlab v. 4.2c.

Fermentación alcohólica. El producto de las reacciones de hidrólisis fue sometido a fermentación alcohólica en reactores de porcelana de 1 L de capacidad. Se garantizaron las condiciones de fermentación utilizadas industrialmente (32 °C y pH entre 3,5 y 4,0). Se prepararon siete medios con diferentes concentraciones iniciales de sustrato que correspondieron a 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 23 °Brix. Para preparar los medios de cultivo con altos valores de °Brix, se procedió a evaporar el agua contenida en los hidrolizados. Se utilizó levadura comercial (levadura activada Fleischman, 1 g/L) y se adicionaron al medio urea (0,48 g/L) y sulfato de amonio (0,24 g/L). La fermentación se llevó a cabo durante 8 días. Se determinó la concentración de azúcares reductores al principio y al final del cultivo. El contenido de etanol se estableció al término del proceso.

Producción de biogás y compost. La digestión anaeróbica para la obtención de biogás (metanogénesis) a partir de los residuos orgánicos sometidos a molienda y licuado se realizó en botellones de vidrio inerte, utilizando un volumen de trabajo de 8 L correspondientes a 9,8 kg de residuos pretratados, los cuales fueron llevados a valores neutros de pH adicionando bicarbonato de sodio, y mantenidos en este rango durante todo el proceso. Se utilizó un inóculo preparado a partir de digestiones anaeróbicas anteriores realizadas en el Laboratorio de Aguas de la Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales. El porcentaje de inóculo empleado fue del 15% (v/v). El volumen de biogás producido fue medido por el desplazamiento de agua en una botella invertida garantizando la hermeticidad del sistema y realizando una purificación del biogás resultante mediante la remoción de CO₂ por absorción en una solución de hidróxido de calcio. En todos los casos, la medición del volumen de biogás recolectado se hizo a presión atmosférica y a temperatura ambiental, registrándose la misma con el fin de expresar los resultados a presión y temperatura normales. Para la metanogénesis se fijó un rango de temperatura criofílica correspondiente a la temperatura ambiente de la ciudad de Manizales (18 °C en promedio) y otro de temperatura mesofílica (37 °C) en condiciones anaeróbicas. La metanogénesis mesofílica se desarrolló en un digestor con serpentín integrado a un termostato. Para el proceso criofílico se tomaron datos durante

85 días, mientras que para las condiciones mesofílicas se tomaron datos durante 25 días.

El proceso de compostaje de los residuos orgánicos sometidos a molienda y licuado se realizó en un recipiente de porcelana sellado con un agitador manual para el mezclado periódico de los residuos. Se utilizaron 2 kg de materia prima. El inóculo utilizado consistió en una suspensión de estiércol bovino, excretas de cerdo y suelo adicionado a razón de un 2% en peso a la masa de residuos. Las condiciones fueron aeróbicas y la agitación se llevó a cabo cada dos horas. Se hizo el seguimiento tanto a la temperatura como al pH durante 70 h. Para la producción de compost se evaluó la relación inicial y final de carbono a nitrógeno (C/N), así como el contenido de nitrógeno orgánico a los 10 días de haberse iniciado el proceso.

Técnicas analíticas. La determinación de la humedad se realizó por el método de pérdida de peso (AOAC, 1990a). El contenido de almidón se determinó por el método de Von Asboth, el de azúcares reductores por el método de Lane-Eynon y el de etanol por destilación simple (Pearson y Cox, 1976). La cuantificación de la concentración de celulosa se desarrolló por el método de Updegraff (1969). El contenido de nitrógeno orgánico se determinó por el método de Kjeldahl modificado (AOAC, 1990b) y el carbono orgánico por el método de pérdidas durante la volatilización de la muestra a 430 °C (Navarro *et al.*, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La clasificación cualitativa de los residuos orgánicos procedentes de la plaza de mercado local arrojó que la mayor parte de los mismos corresponde a tubérculos y frutas enteras de mala calidad o con diferente grado de descomposición (papas, naranjas, mandarinas, papaya) con porcentajes que en promedio fueron mayores al 20%. Los residuos son así mismo ricos en cáscaras de papa, yuca, plátano, frutas (naranja, banano, papaya) y hortalizas (cebolla, repollo) con porcentajes superiores al 15%; cabe destacar el elevado contenido de cáscaras de papa que en algunas muestras alcanzó porcentajes mayores al 40%. Finalmente, se encontraron en menor proporción frutas y verduras no aptas para su consumo como tomate, piña (pulpa y cáscara), mango, papayuela, pepino, así como diferentes desechos como bagazo de plátano y de choclo, pasto y ramas.

De la clasificación realizada se puede inferir que estos residuos tienen un mayor contenido de almidón que de celulosa, lo que se comprobó al realizar su caracterización físico-química.

En la tabla 1 se relacionan los resultados de las pruebas de caracterización realizadas a los residuos orgánicos. Se observa que el almidón y la celulosa se constituyen en los mayores componentes de los desechos, lo que justifica su posterior aprovechamiento como fuente de azúcares fermentables.

Hidrólisis enzimática. En la tabla 2 se relacionan los resultados logrados para la hidrólisis enzimática del almidón presente en el homogeneizado obtenido luego de la molienda y el licuado de los residuos sólidos. Se

observa que se alcanza la mayor conversión cuando la hidrólisis se lleva a cabo a 50 °C y a un pH de 6,0. Así mismo, los datos obtenidos indican la pérdida progresiva de la actividad enzimática con el aumento de la temperatura y del pH. Como estrategia para aumentar la conversión de almidón se plantea evaluar el empleo de enzimas que aceleren la licuefacción de este biopolímero (como la α -amilasa), aumentando de esta manera la efectividad del proceso de sacarificación con glucoamilasa.

Para realizar el análisis de la interacción de los factores se utilizó el programa Statgraphics Plus 2.0. Los resultados que arroja el análisis correspondiente se aprecian en la tabla 3 para un nivel de significancia del 5%.

De los datos de la tabla 3 se observa relevancia en el efecto tanto de la temperatura como del pH, así como de la interacción de estas dos variables. Se verifica así la importancia de mantener estos parámetros en un nivel constante durante el proceso de hidrólisis.

Los resultados obtenidos en la determinación de la mejor dosificación de la glucoamilasa contenida en el preparado enzimático Naturalzyme GA-300® para la hidrólisis del almidón se muestran en la tabla 4. La dosificación óptima del agregado enzimático es de 88 μ L por

Tabla 1. Caracterización de la materia prima

Componente o propiedad	Promedio aritmético	Error estándar
Humedad	81%	0,4083
Almidón	10,327 g /100 g de residuos	0,4137
Azúcares reductores	1,243 g / 100 mL	0,0933
Celulosa*	3,16 g/100 g de residuos	0,12355
pH	4,3	0,0528
Densidad	1,22 g / mL	0,213

* Porcentaje en base seca.

Tabla 2. Hidrólisis enzimática del almidón presente en los residuos orgánicos

T, °C	pH	Media de la Concentración de AR, g/100 mL	Desviación estándar	Varianza de la muestra	Conversión (%)
50	6,0	6,762	0,2508	0,0629	58,8
50	6,5	3,908	0,3694	0,1364	33,98
50	7,0	2,015	0,1928	0,0372	17,52
55	6,0	3,914	0,2105	0,0442	34,04
55	6,5	1,688	0,3012	0,0907	14,68
55	7,0	1,121	0,3160	0,0998	9,84
60	6,0	2,120	0,4602	0,2118	18,43
60	6,5	1,082	0,0917	0,0084	9,41
60	7,0	0,306	0,1145	0,0131	2,66

AR: Azúcares Reductores.

Tabla 3. Interacción de los factores para la hidrólisis de almidón

Factores independientes e interactuantes	Suma de cuadrados	Relación F	Valor p
A	38,1086	380,19	0,000
B	39,5966	395,03	0,000
A*A	1,30298	13,00	0,002
A*B	6,07271	6,58	0,000
B*B	1,42905	14,56	0,0014
Bloques	0,193437	0,96	0,3990

 $R^2 = 0,98$; error estándar: 0,3166

A: Temperatura; B: pH

kg de residuos sólidos, debido a que dosis mayores no representan un aumento considerable en el porcentaje de azúcares reductores obtenido. Como puede observarse, la dosis óptima determinada es un 26% mayor a la recomendada por la ficha técnica de la enzima. El costo del biocatalizador se estimó en \$5/kg de residuos tratados.

En la tabla 5 se relacionan los resultados obtenidos para la hidrólisis enzimática de la celulosa presente en el homogeneizado obtenido luego de la molienda y el licuado de los residuos sólidos. La mayor conversión en la hidrólisis de celulosa se obtiene a una temperatura de 60 °C y un pH de 4,0. Se puede observar la baja formación de azúcares reductores a pesar de los diferentes tratamientos efectuados, aunque aumenta su concentración a medida que se incrementa la temperatura y se disminuye el pH en los intervalos estudiados. Una de las posibles causas de la baja conversión del sustrato puede residir en el pretratamiento de la biomasa lignocelulósica presente en los residuos orgánicos, por lo que se recomienda profundizar en el mejoramiento del proceso químico y explorar el tratamiento con vapor vivo con una posterior despresurización, evaluando los costos inherentes a este proceso.

Para realizar el análisis de la interacción de los factores de nuevo se utilizó el programa Statgraphics Plus 2.0. Los resultados que arroja el análisis correspondiente se aprecian en la tabla 6 para un nivel de significancia del 5%. Se observa que el pH es el factor estadísticamente más significativo. La interacción entre los dos factores

Tabla 4. Dosificación óptima de enzima para la hidrólisis del almidón

Dosificación de enzima, $\mu\text{L}/\text{kg}$	Azúcares reductores, g AR/100 mL de hidrolizado
40	1,80
64	2,31
79	2,86
87	3,07
88	3,17
93	3,19
103	3,23
167	3,24

Tabla 5. Hidrólisis enzimática de la celulosa presente en los residuos orgánicos

T, °C	PH	Media de la concentración de AR, g/100 mL	Desviación estándar	Varianza de la muestra	Conversión(%)
55	4,0	0,624	0,013	0,00062	3,90
55	5,0	0,563	0,003	0,000002	3,52
55	6,0	0,324	0,016	0,000200	2,02
60	4,0	0,770	0,008	0,000060	4,81
60	5,0	0,550	0,006	0,000050	3,43
60	6,0	0,272	0,009	0,000080	1,70

AR: Azúcares reductores.

Tabla 6. Análisis estadístico para la hidrólisis de celulosa

Factores independientes e interactuantes	Suma de cuadrados	Relación F	Valor p
A	0,0021	0,06	0,8102
B	0,3188	93,77	0,0000
A*A	0,053	0,7762	0,4575
A*B	1,2083	2,9529	0,0161
B*B	0,196	9,4891	0,0000
Bloques	0,0021	0,06	0,8102

R²: 0,9096; error estándar: 0,0595028
 A: Temperatura; B: pH

también representa un aspecto influyente en la transformación.

En la tabla 7 se relacionan los resultados que permitieron determinar la mejor dosificación de Celulasa TR-5000®, la cual correspondió a 367 ppm. Este valor está por fuera del intervalo recomendado en la ficha técnica del complejo enzimático (30-150 ppm). El costo del biocatalizador se estimó en \$2/kg de residuos tratados.

Las bajas concentraciones de azúcares obtenidas no permitieron el estudio cinético del proceso de degradación enzimática de la celulosa, tanto más difícil si se tiene en cuenta que el preparado enzimático utilizado corresponde a un complejo conformado por varias endo y exoenzimas, las cuales hidrolizan el sustrato de diferente manera y con diferentes velocidades de reacción.

Tabla 7. Dosificación óptima de enzima para la hidrólisis de celulosa

Dosificación de enzima, ppm	Azúcares reductores, g AR/100 mL de hidrolizado
100	0,20
344	0,79
367	1,03
405	1,05
556	1,06
1000	1,07

Estudio cinético de la hidrólisis del almidón.

El estudio cinético de la hidrólisis enzimática del almidón presente en el homogeneizado de residuos orgánicos permitió el modelamiento matemático de este proceso. Para ello se obtuvieron las curvas cinéticas experimentales de formación de azúcares reductores en función del tiempo para diferentes valores de concentración inicial de almidón en los residuos orgánicos (figura 1).

Con los datos obtenidos para cada una de las concentraciones iniciales de almidón obtenidas de acuerdo con las diferentes diluciones del homogeneizado de residuos orgánicos, se construyeron cuatro curvas cinéticas adicionales como las de la figura 1. Cada una de las curvas se ajustó a una ecuación polinomial de regresión. Al derivar cada una de las ecuaciones obtenidas y evaluarlas en el tiempo inicial, se obtuvo el valor de la velocidad inicial de la reacción enzimática de acuerdo con la definición dada por la ecuación (1):

$$\frac{dP}{dt} \Big|_{t=0} = v_0 \tag{1}$$

donde *P* es la concentración del producto (azúcares reductores), *t* es el tiempo y *v*₀ es la velocidad inicial de la reacción enzimática. Los valores obtenidos de las

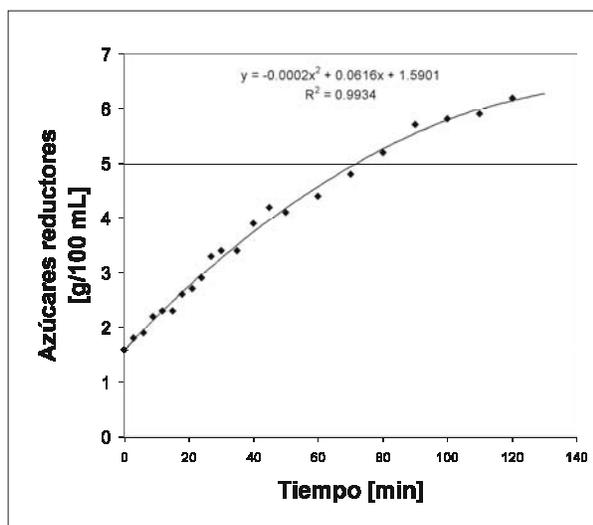


Figura 1. Formación de azúcares reductores durante el transcurso de la hidrólisis enzimática del almidón presente en una mezcla de residuos orgánicos con una concentración inicial de sustrato de 13,26 g de almidón/100 mL (proporción de almidón-agua de 1:8).

velocidades iniciales de la reacción se graficaron contra las concentraciones iniciales de almidón (ver figura 2). Se asumió una velocidad inicial de cero para una concentración nula de sustrato.

Con el fin de modelar la cinética de la hidrólisis enzimática del almidón de acuerdo con la ecuación de Michaelis-Menten, se determinaron los parámetros cinéticos de esta ecuación ($V_{m\acute{a}x}$ y K_M) mediante tres procedimientos de linearización: Lineweaver-Burk, Langmuir (tambi3n llamado de Hanes) y Eadie-Hofstee, descritos ampliamente en la literatura (Blanch y Clark, 1997; Doran, 1995). Los resultados se compilan en la tabla 8, en donde es evidente que los valores calculados por cada m3todo de linearizaci3n son muy similares, siendo el m3s efectivo en este caso el m3todo de Langmuir.

De esta manera, se complet3 el modelo de Michaelis-Menten de acuerdo con la siguiente ecuaci3n:

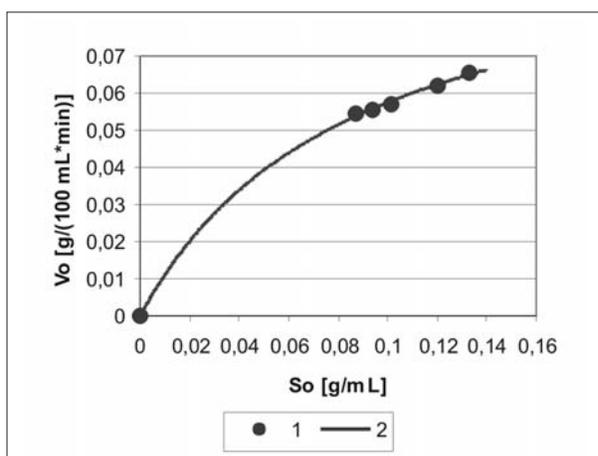


Figura 2. Dependencia de la velocidad inicial de la reacción de hidrólisis enzimática (v_0) en función de la concentración inicial de almidón (S_0). 1) datos experimentales (•); 2) curva calculada de acuerdo con el modelo de Michaelis-Menten (—).

Tabla 8. Determinación de los parámetros cinéticos de la ecuación de Michaelis-Menten

Procedimiento de linearización	Coefficiente de regresión	K_M , g/mL	$V_{m\acute{a}x}$ g/(100 mL*min)
Lineweaver - Burk	0,9781	0,08205	0,1048
Langmuir	0,9882	0,0865	0,1073
Eadie - Hofstee	0,9366	0,0815	0,1045

$$v_0 = \frac{0,1073S_0}{0,0865 + S_0} \quad (2)$$

donde S_0 corresponde a la concentración inicial de sustrato (almid3n) en g/mL y v_0 es la velocidad inicial de la reacción enzimática en g/(100 mL*min). En la figura 2 se muestra la curva calculada por el modelo y se confronta con los datos experimentales, observándose una buena aproximación.

Aplicando el concepto seg3n el cual la velocidad de la reacción enzimática en un reactor por lotes corresponde al ritmo de consumo de sustrato con respecto al tiempo ($v = -dS / dt$), y considerando las ecuaciones (1) y (2), se pueden derivar las expresiones matemáticas necesarias para simular el consumo de sustrato y la formación de producto con respecto al tiempo de reacción, así como la conversión de almid3n y el rendimiento del producto durante el transcurso de la hidrólisis. La simulación arroj3 una concentración de azúcares reductores de 4,8 g/100mL y de almid3n remanente de 4,4 g/100 mL para una concentración inicial de almid3n de 10,16 g/100 mL (dilución 1:10) y un tiempo de reacción de 120 min, siendo los valores experimentales determinados para estas condiciones de 5,0 g/100 mL de azúcares reductores y de 4,5 g/100 mL de almid3n. Igualmente, la simulación predice una conversión de aproximadamente la mitad del almid3n presente en la mezcla inicial de residuos orgánicos para tiempos de reacción entre 80-100 min, lo que se ve corroborado por los datos experimentales correspondientes a las mejores condiciones de temperatura, pH y dosificación de enzima. Lo anterior indica que el modelo de Michaelis-Menten es adecuado para describir el comportamiento de la hidrólisis enzimática del almid3n contenido en los residuos orgánicos en los rangos de concentraciones estudiados.

Producción de etanol. Considerando el contenido en azúcares reductores de la solución lograda a partir de la hidrólisis enzimática de los residuos orgánicos, se evalu3 el comportamiento del hidrolizado en calidad de sustrato como materia prima para la obtención de etanol. En la tabla 9 se observan los resultados obtenidos, en donde se evidencia el incremento en la cantidad de alcohol etílico producido con el aumento en la disponibilidad de azúcares reductores del hidrolizado. La mayor conversión obtenida (28%) correspondió al medio de cultivo con 23 °Brix,

Tabla 9. Resultados de la fermentación alcohólica de los medios de cultivo preparados a partir de los hidrolizados de residuos orgánicos

°Bx	AR al inicio de la fermentación, g/100 mL	AR al fina de la fermentación, g/100 mL	Etanol, % (v/v)
4	2,34	1,83	0,15
6	3,08	2,57	0,17
8	3,96	3,29	0,27
10	4,84	4,1	0,34
12	5,17	4,38	0,36
14	5,5	4,01	0,75
23	9,95	7,15	1,44

AR: Azúcares reductores.

preparado a partir de la evaporación del hidrolizado de residuos orgánicos hasta un valor de aproximadamente 10 g/100 mL de azúcares reductores.

Los bajos niveles de etanol obtenido pueden explicarse considerando la gran heterogeneidad de los residuos orgánicos utilizados, los cuales pueden contener sustancias inhibitoras del crecimiento de las levaduras, así como microorganismos que pudieran competir por las fuentes de carbono presentes. Se recomienda profundizar en el estudio de la fermentación alcohólica de los hidrolizados de residuos orgánicos evaluando factores como las condiciones ambientales, el volumen del inóculo y la adición de complementos nutricionales al mosto obtenido. Sin embargo, los resultados son perspectivas al demostrar la viabilidad de obtener un producto de valor agregado a partir de desechos de frutas y verduras empleando procedimientos no intensivos en energía, como sí lo es la hidrólisis ácida a altas temperaturas.

Producción de biogás. En las tablas 10 y 11 se relacionan los volúmenes obtenidos de biogás cuando los residuos orgánicos pretratados de la plaza de mercado local fueron

sometidos a metanogénesis en condiciones estrictamente anaeróbicas y a diferentes temperaturas. La formación de biogás en condiciones criofílicas se verificó hasta los 70 días, al cabo de los cuales se estanca la formación de gas, mientras en condiciones mesofílicas los volúmenes producidos son mayores obteniéndose casi la mitad del biogás producido a los 4 días. Para la metanogénesis mesofílica se produjo un agotamiento en la producción del gas alrededor del día 20 y se determinó que por cada kilogramo de residuos sometido a metanogénesis se producen 3,25 L de biogás. Evidentemente la temperatura juega un papel crucial en este proceso, por lo que se recomienda llevar a cabo la optimización de esta variable, así como del pH, evaluando a su vez la composición y el contenido calórico de los gases obtenidos.

Producción de compost. Para el homogeneizado de residuos orgánicos de origen vegetal se determinó una relación C/N de 23,8, siendo el contenido de nitrógeno orgánico de 3,14% en base seca. Esta relación se considera baja para fines de compostaje

Tabla 10. Volumen de biogás obtenido durante la metanogénesis criofílica (18 °C)

Día	Gas, cm ³						
0	0	16	3090	33	5980	61	10440
1	0	17	3370	34	6190	63	10470
2	380	18	3590	35	6190	64	10670
3	490	19	3840	39	6950	65	10840
4	640	20	3920	41	7460	66	11000
5	860	21	4090	42	7640	68	11140
6	1160	22	4240	46	8020	69	11280
7	1370	23	4400	47	8320	70	11340
8	1500	25	4700	48	8560	72	11420
9	1540	26	4950	49	8940	74	11610
10	1980	27	5150	50	9100	75	11640
11	2090	28	5190	52	9420	76	11680
12	2370	29	5340	54	9540	79	11720
13	2540	30	5500	57	9960	82	11730
14	2740	31	5720	58	10120	84	11730
15	2760	32	5900	60	10280	85	11730

Tabla 11. Volumen de biogás obtenido durante la metanogénesis mesofílica (37 °C)

Día	Gas, cm ³	Día	Gas, cm ³	Día	Gas, cm ³
0	0	7	7670	16	11590
1	1200	9	8850	17	11970
2	1540	10	9210	18	12010
3	5490	11	9330	22	12600
4	6230	14	10550	25	12800

debido a que la mayoría de microorganismos utilizan óptimamente 30 partes de carbono por una de nitrógeno (Monroy y Viniegra, 1990), aunque se encuentra cerca del rango inferior recomendado para el inicio de este proceso que es de 25-40 (Richard, 1992). Después de 10 días se presentó un aumento del nitrógeno orgánico hasta un valor de 4,17%, disminuyéndose la relación C/N a 16,6, lo cual está en consonancia con los resultados obtenidos por Farías *et al.* (1999) para el compostaje de residuos agroindustriales de la poscosecha y cultivo de rosas, así como para residuos sólidos urbanos. La temperatura del compost aumentó hasta alcanzar un valor de 50 °C a los 10 días correspondiente a un rango mesofílico considerado como óptimo para la formación de compost. Por su parte, el pH se incrementó al principio de la fermentación hasta valores de 7,6 debido al desprendimiento de amoníaco característico para valores bajos de la relación C/N. Después de 26 horas se inicia la disminución del pH como consecuencia de la producción de ácido láctico, neutralizando el amoníaco y alcanzando valores de 6,0 a las 70 horas de proceso.

Para compensar los valores relativamente bajos de la relación C/N, se recomienda mezclar los residuos orgánicos de frutas y hortalizas con materiales ricos en carbono como paja, pasto, aserrín o papel hasta alcanzar los valores óptimos requeridos. Sin embargo, se demuestra que el compostaje de los residuos orgánicos estudiados tiene un comportamiento muy similar al de otros tipos de desechos orgánicos urbanos y de residuos agroindustriales que han demostrado su efectividad en la obtención de compost de alta calidad.

CONCLUSIONES

La caracterización de los residuos sólidos urbanos de origen vegetal mostró que sus principales componentes corresponden al almidón y la celulosa contenidos en productos tales como papa, naranja, mango y desechos relacionados, presentes en forma mayoritaria en los residuos analizados. Estos componentes son biopolímeros que se constituyen en la materia prima necesaria para diferentes procesos de biodegradación conducentes a la obtención de productos de valor agregado como jarabes azucarados y etanol, y a la estabilización y tratamiento de los residuos orgánicos con generación de biogás y compost.

El presente trabajo demostró la factibilidad de los procesos de biodegradación enzimática de los residuos orgánicos procedentes de una plaza de mercado, al probarse la obtención de cantidades significativas de azúcares mediante un proceso simple de hidrólisis enzimática del almidón y la celulosa presente en estos residuos utilizando glucoamilasa y celulasas comerciales. En particular, el grado de transformación del almidón alcanzó el 60% a 50 °C y un pH de 6,0. Sin embargo, se hace necesario aumentar la conversión de los sustratos, en especial de la celulosa, para optimizar el proceso. En este punto se requiere mejorar y desarrollar nuevos procedimientos para el pretratamiento de los residuos lignocelulósicos, lo que indudablemente aumentará su grado de hidrólisis y el rendimiento en la obtención de azúcares reductores.

A partir del seguimiento de las curvas biocinéticas de sustrato y formación de productos para el caso de la hidrólisis enzimática del almidón, se pudo llevar a cabo el modelamiento del proceso con base en la ecuación de Michaelis-Menten. La simulación subsiguiente, corroborada experimentalmente, permitió determinar el comportamiento en el tiempo de la transformación enzimática a diferentes concentraciones de sustrato presente en los residuos orgánicos, entre otros aspectos de crucial importancia para el posterior diseño y escalamiento de este bioproceso. De esta manera, el modelamiento matemático de la cinética enzimática puede constituirse en una herramienta útil al momento de desarrollar un proceso de biodegradación de residuos de origen vegetal a nivel industrial.

El presente estudio muestra la posibilidad de obtener un producto de valor agregado como el alcohol etílico a partir de un material tan heterogéneo como los desechos vegetales. La estrategia de hidrolizar enzimáticamente los polisacáridos más relevantes de los mismos, permitió suministrar la materia prima necesaria (en forma de azúcares fermentables) para la acción de las levaduras. Se precisa, por tanto, profundizar en la definición de las mejores condiciones de la fermentación alcohólica, considerando la complejidad en la composición del medio de cultivo utilizado. El avance en esta directriz de trabajo contribuirá sin duda al desarrollo de nuevas alternativas en la obtención de biocombustibles con todas las ventajas ambientales y socioeconómicas que ello implica.

Con este trabajo se estableció en forma preliminar que los desechos sólidos urbanos de una plaza de mercado pueden ser sometidos a digestión anaeróbica con el objetivo de producir biogás. Al respecto, el rango mesofílico de temperaturas (para este caso, cercanas a 37 °C) mostró ser el más efectivo en cuanto a los volúmenes obtenidos. Se requiere llevar a cabo trabajos posteriores en donde se determine la composición cuantitativa del gas generado y su contenido calórico con el fin de evaluar su posible uso como combustible.

Finalmente, el compostaje de los residuos orgánicos vegetales arrojó un comportamiento muy similar al de los residuos orgánicos urbanos en su conjunto y al de los residuos agroindustriales. Sin embargo, y de acuerdo con los valores de la relación carbono a nitrógeno del homogeneizado de los residuos, se recomienda mezclarlos con materiales que aumenten dicha relación como paja, pasto y madera, y llevar a cabo de esta manera el proceso de compostaje en condiciones óptimas.

Los resultados de este trabajo constituyen una primera etapa de recolección de datos a nivel de laboratorio y de banco tendiente al diseño de una estrategia integral de aprovechamiento y tratamiento de residuos orgánicos de origen vegetal por medios biotecnológicos y, por tanto, ecológicamente limpios. Se demuestra la posibilidad de implementar un esquema de biodegradación del cual, además del tratamiento y estabilización de una amplia gama de desechos, se pueden obtener valiosos insumos para otros sectores industriales como los azúcares y el etanol. Adicionalmente, el compost obtenido puede desempeñar un

papel importante en el sector agrícola en calidad de un abono de bajo costo, y el biogás producido puede contribuir a disminuir los costos energéticos del proceso integral de biodegradación. Estos aspectos deben ser abordados en posteriores estudios.

BIBLIOGRAFÍA

- Ames, J.; Werner, C. 2003. Reaching the Environmental Community: Designing an Information Program for the NREL Biofuels Program. Golden, Colorado, EUA: National Renewable Energy Laboratory. 93 p.
- AOAC. 1990a. Official Methods of Analysis. Method 925.45D. Arlington, EUA: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC. 1990b. Official Methods of Analysis. Method 988.05. Arlington, EUA: Association of Official Analytical Chemists.
- Bailey, J.; Ollis, D. 1984. Biochemical Engineering Fundamentals. México: McGraw Hill. 753 p.
- Blanch, H. W.; Clark, D. S. 1997. Biochemical engineering. Nueva York: Marcel Dekker. 702 p.
- Castillo, E. F.; Cristancho, D. E.; Arellano, V. 2003. Estudio de las condiciones de operación para la digestión anaerobia de residuos sólidos urbanos. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 5(2).
- Cecchi, F.; Traverso, P. G. 1988. State of the art of research and development in the anaerobic digestion process of municipal solid waste in Europe. *Biomass*. 26 (4).
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística. 2004. Proyecciones Municipales. Disponible en: =proyecciones (visitada en mayo de 2004).
- Doran, P. M. 1995. Bioprocess engineering fundamentals. Londres: Academic Press. 439.
- Édgar, T. F.; Himmelblau, D. M.; Lasdon, L. S. 2001. Optimization of chemical processes. Boston: McGraw-Hill. 651 p.
- Fariás, D. M.; Ballesteros, M. I.; Bendeck, M. 1999. Variación de parámetros fisicoquímicos durante un proceso de compostaje. *Revista Colombiana de Química*. 28 (1): 75-86.
- Guzmán, H.; Paredes, O. 1995. Amylolytic enzymes and products derived from starch: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 35: 373-403.
- Hamzawi, N.; Kennedy, K. J.; McLean, D. D. 1999. Review of Applications of High Solids Anaerobic Digestion to Solid Waste Management. *Journal of Solid Waste Technology and Management*. 26 (3,4).
- Howard, R. L.; Abotsi, E.; Jansen van Rensburg, E. L.; Howard, S. 2003. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *African Journal of Biotechnology*. 2 (12): 602-619.
- Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 2004. Observatorios Ambientales Urbanos. Manizales. Disponible en: <http://web.minambiente.gov.co/oau/nivel3.php?indicador=GTRS&observ=6> (visitada en marzo de 2004).

- Monroy, O.; Viniestra G. 1990. Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos. México: AGT. 260 p.
- Montgomery, D. C. 1991. Diseño y análisis de experimentos. México: Iberoamericana. 528 p.
- Navarro, A. F.; Cegarra, J.; Roig, A.; García, D. 1993. Relationships between organic matter and carbon contents of organic wastes. *Bioresource Technol.* 44: 203-207.
- Osorio, I.; Lasso, J. 1996. Degradación de pulpas de mango por tratamiento enzimático. Manizales: Universidad Nacional de Colombia. 120 p.
- Pearson, D.; Cox, H. E. 1976. The chemical analysis of foods. Edingburg: Churchill Livingstone. 575 p.
- Richard, T. L. 1992. Municipal solid waste composting: physical and biological processing. *Biomass and Bioenergy.* 3 (3-4): 163-180.
- Ríos, J. 1996. Obtención de etanol a partir del bagazo de caña. Manizales: Universidad Nacional de Colombia. 128 p.
- Salas, J. E.; Giraldo, E. 1996. Aprovechamiento económico de los desechos sólidos municipales: modelo de análisis para la evaluación financiera: reciclaje y compostación aeróbica vs. reciclaje y digestión anaeróbica alta en sólidos. *Memos de Investigación* No. 257, marzo. Santafé de Bogotá.
- Skinner, J. H. 2000. Worldwide MSW Market Reaches \$100 Billion: A Report from the ISWA World Congress 2000. Swana CEO Report. Swana Newsletter. Septiembre.
- Stoecklein, A.; Suárez, C. 1998. Gestión integral de residuos sólidos. Primer Seminario Regional de Capacitación en Residuos Sólidos. Pereira. 17-84.
- Tchobanoglous, G.; Theisen, H.; Vigil, S. 1994. Gestión integral de residuos sólidos. Madrid: McGraw Hill. 1107 p.
- Titmas, J. A. 1999. U.S. Patent 5,879,637.
- Updegraff, D. M. 1969. Semimicro determination of cellulose in biological materials. *Anal. Biochem.* 32: 420-424.
- Whitaker, J. 1994. Principles of enzymology for the food sciences. Nueva York: Marcel Dekker. 625 p.