

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METANO A PARTIR DE
LAS AGUAS MIELES DEL BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ
MEDIANTE DIGESTIÓN ANAEROBIA”**

Presentada por:

Fuilen Espíritu Acarley García

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERO AMBIENTAL

Lima – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METANO A PARTIR DE
LAS AGUAS MIELES DEL BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ
MEDIANTE DIGESTIÓN ANAEROBIA”**

Presentada por:

Fuilen Espíritu Acarley García

Tesis para Optar el Título Profesional de:

INGENIERO AMBIENTAL

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado

Dra. Rosemary Vela Cardich

PRESIDENTE

Mg. Sc. Wilfredo Baldeón Quispe

MIEMBRO

Blgo. Juan Juscamaita Morales

MIEMBRO

Ing. Lawrence Quipuzco Ushñahua

ASESOR

AGRADECIMIENTOS

Al ingeniero Lawrence Quipuzco *Ushñahua*, profesor de la Facultad de Ingeniería Ambiental de la Universidad Nacional Agraria la Molina; por su apoyo total como asesor de tesis.

Al Sr. Hans Brack, dueño del Fundo Santa Teresa (Villa Rica), el cual brindó con toda amabilidad la información requerida y facilitó la toma de muestras de los efluentes de su planta de beneficio húmedo de café.

A los profesores Lizardo Visitación Figueroa y Paola Jorge Montalvo por su apoyo en el desarrollo de los ensayos de cromatografía de gases en el Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología Ambiental (CIQTOBIA) del Departamento Académico de Química de la Facultad de Ciencias de la UNALM,

Al biólogo Eder Apumayta, por su total colaboración en el desarrollo de la metodología para la medición de ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases.

A Edgar Giraldo, responsable del Laboratorio de Ingeniería Ambiental, por brindar las facilidades para el uso de los equipos de laboratorio.

A mis amigos por darme la mano y apoyarme cuando lo necesité.

A mis padres por aconsejarme y motivarme siempre.

A Dios porque él tiene el control sobre todas las cosas.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISION DE LITERATURA	4
2.1.	SECTOR CAFETALERO EN EL PERÚ	4
2.2.	BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ	5
2.2.1.	RESIDUOS GENERADOS	9
2.2.2.	ALTERNATIVAS PARA EL MANEJO DE RESIDUOS	11
2.3.	DIGESTION ANAEROBIA Y BIOGÁS	12
2.3.1.	ETAPAS DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA	14
2.3.2.	VARIABLES DE LA DIGESTIÓN ANEROBIA	18
2.3.3.	PARÁMETROS OPERACIONALES	25
2.4.	ENSAYOS DE BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA	29
2.4.1.	SUSTRATO	29
2.4.2.	INÓCULO	30
2.4.3.	MEDIO	34
2.4.4.	BLANCOS Y CONTROLES	34
2.4.5.	CONFIGURACIÓN DEL ENSAYO EXPERIMENTAL	34
2.4.6.	ENSAYOS EN CONTINUO Y EN DISCONTINUO	35
2.4.7.	DIGESTION EN DOS ETAPAS	43
2.4.8.	EXPERIENCIAS EN LA PRODUCCIÓN DE BIOGAS A PARTIR DE RESIDUOS DEL CAFÉ.	43

III. MATERIALES Y MÉTODOS	48
3.1. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL SUSTRATO.....	48
3.1.1. RECONOCIMIENTO DE CAMPO.....	48
3.1.2. TOMA DE MUESTRA	48
3.1.3. PRETRATAMIENTO	50
3.1.4. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA	51
3.2. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL INÓCULO	59
3.2.1. TOMA DE MUESTRA	59
3.2.2. PRETRATAMIENTO	60
3.2.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA	61
3.3. DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METANO MEDIANTE LA PRUEBA DEL POTENCIAL BIOQUÍMICO DEL METANO (PBM)	66
3.3.1. MATERIALES.....	66
3.3.2. PROCEDIMIENTO	66
3.3.3. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS	69
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	73
4.1. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL SUSTRATO.....	73
4.1.1. RECONOCIMIENTO DE CAMPO.....	73
4.1.2. TOMA DE MUESTRA	80

4.1.3.	PRETRATAMIENTO	84
4.1.4.	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA	86
4.2.	EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL INÓCULO	90
4.2.1.	TOMA DE MUESTRA	90
4.2.2.	PRETRATAMIENTO	91
4.2.3.	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA	91
4.3.	DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METANO MEDIANTE LA PRUEBA DEL POTENCIAL BIOQUÍMICO DEL METANO (PBM).....	94
V.	CONCLUSIONES	108
VI.	RECOMENDACIONES	109
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Identificación de impactos al ambiente debido al proceso de beneficiado húmedo del café.....	7
Tabla 2: Alternativas para el tratamiento de las aguas mieles.....	11
Tabla 3: Sustratos sugeridos para la determinación de las actividades de diferentes grupos tróficos en un reactor de biogás.....	31
Tabla 4: Actividad metanogénica aproximada de varias fuentes.....	32
Tabla 5: Lista de parámetros y técnicas adecuadas para su preservación.....	49
Tabla 6: Lista de parámetros para caracterización del sustrato.....	51
Tabla 7: Parámetros para la caracterización del inóculo.....	61
Tabla 8: Parámetros para la caracterización del inóculo.....	62
Tabla 9: Proporciones de relación Sustrato – Inóculo utilizadas en la prueba PBM.....	67
Tabla 10: Producción promedio de café por campaña.....	81
Tabla 11: Producción de café diaria y gasto de agua diario.....	82
Tabla 12: Caracterización fisicoquímica del sustrato.....	86
Tabla 13: Caracterización fisicoquímica del sustrato (continuación).....	86
Tabla 14: Caracterización fisicoquímica del inóculo.....	91
Tabla 15: Resultados de Potencial Bioquímico de Metano.....	102
Tabla 16: Resultados de PBM según la relación sustrato/inoculo de investigaciones en común.....	103

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Composición del fruto del café	6
Figura 2: Etapas de producción de grano de café.....	8
Figura 3: Esquema del proceso de digestión anaerobia.....	17
Figura 4: Almacenamiento correcto del inóculo para un ensayo PBM.....	33
Figura 5: Configuración (a) para un método volumétrico de determinación del PBM.....	37
Figura 6: Configuración (b) para un método volumétrico de determinación del PBM.....	38
Figura 7: Configuración (c) para un método volumétrico de determinación del PBM.....	38
Figura 8: Configuración (a) para un método manométrico de determinación del PBM.	40
Figura 9: Configuración (b) para un método manométrico de determinación del PBM.....	40
Figura 10: Configuración para un método de determinación del PBM por cromatografía de gases	41
Figura 11: Pretratamiento del sustrato.....	50
Figura 12: Cromatógrafo de gases (CIQTOBIA-UNALM)	57
Figura 13: Cromatograma de un estándar de ácidos grasos volátiles.....	58
Figura 14: Preparación del inóculo.....	61
Figura 15: Equipo para la determinación de la AME del inóculo	64
Figura 16: Preparación de las muestras en el Sistema OxiTop	67
Figura 17: Monitoreo continuo en el Sistema OxiTop	69
Figura 18: Vista lateral de la planta de beneficio de café.....	73
Figura 19: Cerezo del café.....	74
Figura 20: Proceso de despulpado del cerezo del café	74
Figura 21: Área de fermentación y lavado	75
Figura 22: Área de fermentación y lavado	76
Figura 23: Área de cascarillas	76

Figura 24: Reservorio de agua para el lavado del café.....	77
Figura 25: Secado al sol de las semillas de café.....	78
Figura 26: Planta de proceso seco	78
Figura 27: Café pergamino seco.....	79
Figura 28: Efluente del beneficio húmedo del café o aguas mieles	79
Figura 29: Pozas de sedimentación	80
Figura 30: Producción promedio de café por campaña	81
Figura 31: Toma de muestras de aguas mieles	83
Figura 32: Muestras de agua miel.....	84
Figura 33: Composición en porcentaje del contenido de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) en las aguas mieles	90
Figura 34: Determinación de la Actividad Metanogénica Específica del Inóculo	94
Figura 35: Variación promedio de la producción de metano cada 4 horas	96
Figura 36: Variación promedio de la producción de metano diaria	98
Figura 37: Potencial bioquímico del metano (PBM) calculado para cada repetición	100
Figura 38: Potencial bioquímico del metano (PBM) promedio para cada proporción de sustrato/inóculo.....	101
Figura 39: Contenido de AGV en los efluentes de los tratamientos	105

RESUMEN

Los efluentes del beneficio húmedo del café, comúnmente conocidos como aguas mieles, son generalmente desechados al ambiente sin tratamiento alguno y presentan una alta carga orgánica. En función a estos factores se eligieron como sustrato para la producción de biogás. Específicamente se evaluó la producción de gas metano a través del proceso de digestión anaerobia, utilizando como inóculo estiércol vacuno fresco. Para esto se llevó a cabo el ensayo del Potencial Bioquímico del Metano (PBM) utilizando básicamente un equipo manométrico de monitoreo continuo denominado OxiTop® Control. Se evaluaron dos proporciones sustrato/ inóculo, obteniéndose como resultado un PBM de 481.2 ml CH₄/g SV sustrato (329.0 ml CH₄/g DQO sustrato) para la relación igual a 0,25 g SV sustrato/ g SV inóculo y un PBM de 377.0 ml CH₄/g SV sustrato (257.7 ml CH₄/g DQO sustrato) para la relación igual a 0,5. El ensayo no se realizó a una temperatura controlada (promedio de 16°C) con el objetivo de simular las condiciones de campo. Con este ensayo a nivel laboratorio se demostró que las aguas mieles son un sustrato capaz de degradarse de manera anaerobia para la posterior producción de biogás.

Palabras Clave

Digestión anaerobia, potencial bioquímico del metano, agua miel, café, biogas.

SUMMARY

The effluents of the humid benefit of coffee, commonly known as honey water, are generally discarded to the environment without any treatment and have a high organic load. Based on these factors, they were chosen as a substrate for the production of biogás (methane). The production of methane gas was evaluated through the anaerobic digestion process using fresh cow dung as an inoculum. Biochemical Methane Potential (BMP) test was carried out using a continuous monitoring manometric equipment called OxiTop® Control. Two substrate / inoculum ratios were evaluated, resulting in a BMP of 481.2 ml CH₄ / g SV substrate (329.0 ml CH₄ / g COD substrate) for the ratio equal to 0.25 g SV substrate / g SV inoculum and a PBM of 377.0 ml CH₄ / g SV substrate (257.7 ml CH₄ / g COD substrate) for the ratio equal to 0.5. Temperature was not controlled (average of 16 ° C) in order to simulate the field conditions. This laboratory-level test demonstrate that honey waters are a suitable substrate for anaerobic digestion in order to produce biogas.

Keywords

Anaerobic digestion, biochemical potential of methane, honey water, coffee, biogas

I. INTRODUCCIÓN

Toda actividad productiva genera residuos, ya sean sólidos, líquidos o gaseosos, por lo tanto, constituyen un problema global. Según Suarez (2012) en la agroindustria del café solamente se utiliza el 9.5 por ciento del peso total del fruto en la preparación de bebidas y el 90.5 por ciento restante son subproductos. Los subproductos líquidos son generalmente vertidos a los cuerpos de agua, generando contaminación y disminuyendo la posibilidad de vida de los ecosistemas; en el caso de los subproductos sólidos suelen almacenarse durante la época de recolección para luego ser retirados de las instalaciones y dispuestos sobre el terreno, contaminando de esta forma el suelo.

El procesamiento industrial del fruto del café es realizado con el objeto de separar el grano de café, para esto se debe remover la cáscara y la parte mucilaginosa. En los procesos industriales una gran cantidad de pulpa de café es producida como primer subproducto. Los residuos de café y subproductos producidos durante el procesamiento constituyen una fuente de contaminación alta y generan serios problemas ambientales en ciudades productoras de café (Corro *et al.*, 2014).

Además de residuos sólidos como la pulpa y el mucílago, se generan efluentes líquidos conocidos como *aguas mieles*. Estas se caracterizan por su alto contenido de materia orgánica, generalmente altos contenidos de glucosa y sacarosa, de concentración y caudal variable (Cárdenas y Ramos, 2009).

Dichos residuos deberían ser reutilizados e integrados a la cadena de producción, por lo que es necesario que este problema sea abordado por autoridades del sector público, privado y la

población. En ese contexto, el presente proyecto contribuirá ofreciendo una evaluación del potencial de producción de metano de las aguas mieles del café. Al determinar a nivel de laboratorio cuáles son las ventajas y desventajas de utilizar estos efluentes para la producción de biogás se podrá desarrollar posteriormente una evaluación a nivel piloto en el área de estudio. La *digestión anaerobia* constituye una manera sostenible de manejar esta gran cantidad de material orgánico residual pues hace posible un ambiente menos contaminado y genera energía en forma de biogás y además fertilizantes naturales.

El café es el principal producto agrícola de exportación en el Perú y es el que ocupa mayor extensión territorial. Su producción directa genera 43 millones de jornales al año, a los que se suman 5 millones de jornales generados por los servicios de comercio, industria y transporte, que participan en la cadena productiva del café. Hoy en día, el café peruano se está posicionando favorablemente en el mercado mundial. Hace diez años ocupaba el puesto 15 en la contienda exportadora, pero en el 2006 subió hasta el puesto 6 (Junta Nacional del Café, 2016).

Por lo tanto, los granos de café pueden llegar a ser más competitivos en el mercado internacional si se disminuye la huella de carbono que se genera en su producción. Esto se logrará si se consigue el máximo aprovechamiento de los residuos generados y el reemplazo total o parcial de los combustibles convencionales por biogás (Quipuzco, 2016).

La *digestión anaerobia* ofrece una oportunidad viable de aprovechamiento de estos residuos orgánicos mediante un proceso de degradación bioquímica en ausencia de oxígeno, el cual genera como producto principal *gas metano*. Este biogás puede servir como una fuente energética *in situ* para las poblaciones que se dedican a la producción del café.

La digestión anaerobia se aplica a escala industrial en reactores UASB, EGSB, etcétera; mientras que a escala rural se opta por un mecanismo más sencillo y económico denominado

biodigestor. Es necesario evaluar las características y el desempeño tanto de los sustratos como de las comunidades bacterianas a utilizar en estos reactores. Dicha evaluación se realiza comúnmente mediante la prueba del Potencial Bioquímico de Metano (PBM) y la prueba de Actividad Metanogénica Específica (AME) en el laboratorio. Estas pruebas permiten tener idea general del comportamiento que tendrá nuestro reactor a escala real pues las condiciones de trabajo suelen ser bastante variables en comparación a las condiciones ideales configuradas en el laboratorio.

De acuerdo a la introducción presentada, el objetivo general de la presente investigación es:

- Determinar el potencial de producción de metano de las aguas mieles del beneficio húmedo del café.

Asimismo, se consideraron los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar las características fisicoquímicas del inóculo (estiércol de ganado vacuno).
- Evaluar las características fisicoquímicas del sustrato (aguas mieles del beneficio húmedo del café).
- Determinar la producción de metano mediante la prueba del *Potencial Bioquímico del Metano* (PBM).

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. SECTOR CAFETALERO EN EL PERÚ

El IV Censo Nacional Agropecuario (2012) indica que el cultivo que ocupa la mayor superficie es el café, con 425 416 hectáreas, las cuales constituyen el 10,2 por ciento de la superficie cultivada. Dieciocho años antes del censo (1994), el área constituía solo la mitad.

Dos millones de personas participan de la actividad diseminada en 15 departamentos, 57 provincias y 338 distritos. La mayor concentración del área cafetalera se encuentra en los departamentos de Junín, San Martín, Cajamarca, Cusco y Amazonas, representando todas ellas el 89 por ciento del área productiva (MINAGRI, 2016).

La producción de café en la última década ha fluctuado entre 180 mil y 330 mil toneladas, con una tendencia general creciente. Así, se tiene una productividad promedio por hectárea de 13 quintales o 600 Kg. Esta condición ha permitido que el Perú se ubique entre los seis primeros países productores de café a nivel mundial, detrás de Brasil, Vietnam, Indonesia, Colombia e India. No obstante, a pesar de tener competitividad en términos de volumen de producción y contar con condiciones de producción propicias, el rendimiento de la producción nacional de café se encuentra rezagado en comparación con otros países de similares características, tales como Honduras y Costa Rica (MINAGRI, 2016).

La variabilidad y bajo nivel del rendimiento en la producción que se presentó durante el periodo 2011 - 2014, responde a una diversidad de factores, entre los que puede considerarse la falta de asistencia técnica, la asimilación de la tecnología por los caficultores y la incidencia de plagas como la roya amarilla. De acuerdo con cifras del IV CENAGRO, correspondientes al año 2012,

alrededor del 86 por ciento de hectáreas de café no ha contado con asistencia técnica, lo cual redundaría directamente en un bajo desempeño de la producción. Cabe resaltar que los departamentos que concentran más del 90 por ciento de la producción (Amazonas, Cajamarca, Cusco, Junín y San Martín) evidencian altos niveles de hectáreas sin asistencia técnica (MINAGRI, 2016).

En la actividad cafetalera están involucradas más de 223 mil familias de pequeños productores y, de ellos, el 95 por ciento es propietario de cinco hectáreas o menos. Del total, solamente el 7 por ciento tiene acceso a crédito, el 30 por ciento pertenece a alguna organización y el 20 por ciento logra exportar su café de manera directa (MINAGRI, 2016). Según Marapi (2013) el reconocimiento mundial que ha obtenido el café peruano, orgánico y especial, en los últimos años, se ha debido sobre todo a que los pequeños caficultores han decidido apostar por la asociatividad a través de las cooperativas agrarias.

2.2. BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ

El beneficio húmedo del café es uno de los procesos que tiene enorme influencia en la calidad del grano de café y finalmente en la taza, elementos muy importantes para establecer los precios internacionales que proporcionan las divisas necesarias para el desarrollo económico de los países productores; pero al mismo tiempo juega un rol preponderante al aportar cantidades significativas de contaminación para el medio ambiente, ya que los desechos sólidos (pulpa y cascarilla) y líquidos (aguas mieles) son descargados directa o indirectamente a las fuentes de agua y generalmente la cercanía de estas últimas está estrechamente ligada con el funcionamiento del beneficio mismo (Orozco *et al.*, 1992).

A continuación se presenta la composición del fruto del café se indica en la Figura 1.

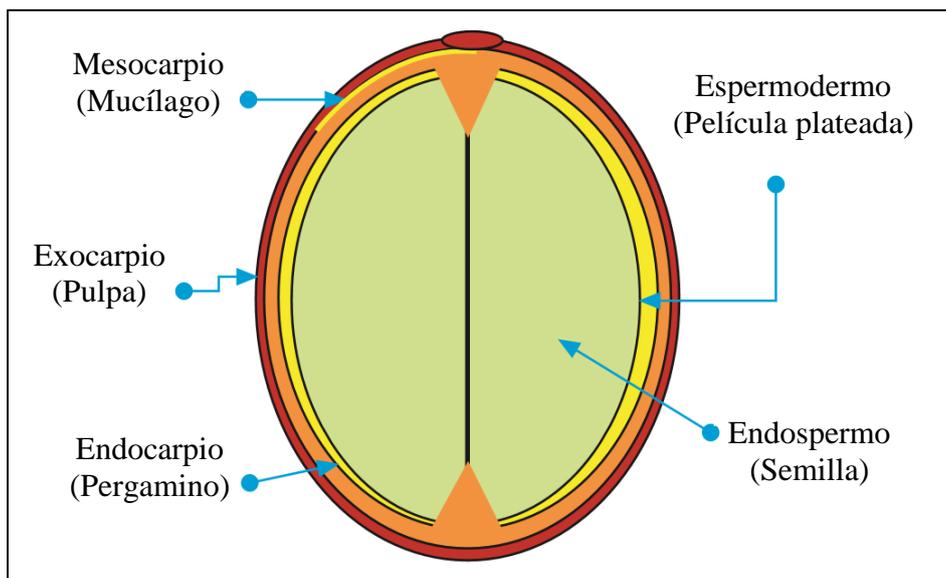


Figura 1: Composición del fruto del café

FUENTE: Red de Técnicos en Beneficiado de PROMECAFE, 2010

Es importante aclarar que existen dos tipos de beneficios del café: por proceso seco y por proceso húmedo, ambos tienen como objetivo remover las envolturas que cubren la semilla del fruto del café.

El beneficiado seco consiste en someter los frutos recolectados a secado inmediato, deshidratándolos con el objeto de preservar los granos de café (almacenamiento) y trillarlos después, removiendo en una sola operación todas las coberturas deshidratadas (exocarpio, mesocarpio, endocarpio y parte del espermodermo) para dejar la semilla (endospermo o grano oro) y someterla después al proceso de torrefacción (tostado) y posterior preparación de bebidas u otro proceso industrial. Este beneficiado del café se emplea en la preparación de cafés robustas, que tienen poco mucílago (Guerrero, 2007).

El beneficiado húmedo se realiza en dos fases denominadas vía húmeda y vía seca, la primera debe su nombre al uso de agua para el proceso y la segunda a raíz de efectuarse las operaciones

en ausencia total de agua. En la fase húmeda se efectúa el despulpe del café donde se remueve la cáscara del fruto, luego se realiza la separación del mucílago a través de fermentación natural o remoción mecánica (desmucilaginado), para después deshidratar los granos de café pergamino y preservarlos durante un período de almacenamiento temporal. La fase seca se realiza para remover de la semilla el pergamino y parte de la película plateada para realizar después el proceso de torrefacción (tostado) y posterior preparación de bebidas u otro proceso industrial. Este beneficiado del café se emplea en la preparación de cafés arábicas, que tienen mucílago (Guerrero, 2007).

Armas *et al.* (2008) identifican los impactos al medio ambiente por el proceso del beneficiado húmedo del café señalados en el Tabla 1.

Tabla 1: Identificación de impactos al ambiente debido al proceso de beneficiado húmedo del café

Actividad	Componente	Identificación del impacto o efecto
Despulpe del fruto de café fresco	Agua	Contaminación del agua (agua de despulpe y escurridos de la pulpa)
	Aire y suelo	Residuos sólidos: olor en la pulpa de café
Eliminación del mucílago y lavado del café	Agua	Residuos sólidos producidos por el mucílago
	Aire y suelo	Contaminación como producto de las aguas mieles, así como malos olores producidos por éstas bajo el efecto de fermentación

FUENTE: Armas *et al.*, 2008.

En la fase húmeda del beneficio se utiliza agua para efectuar el despulpe, la remoción del mucílago, clasificación del café y el lavado; contaminándose en el proceso y cambiando su estado natural de agua limpia a agua residual o contaminada (Guerrero, 2007). En la Figura 2, se observan las diferentes etapas del proceso de producción de granos de café. Como ya se mencionó anteriormente, las etapas de despulpado, fermentación y lavado son las que generan los efluentes líquidos, denominados comunmente aguas mieles.

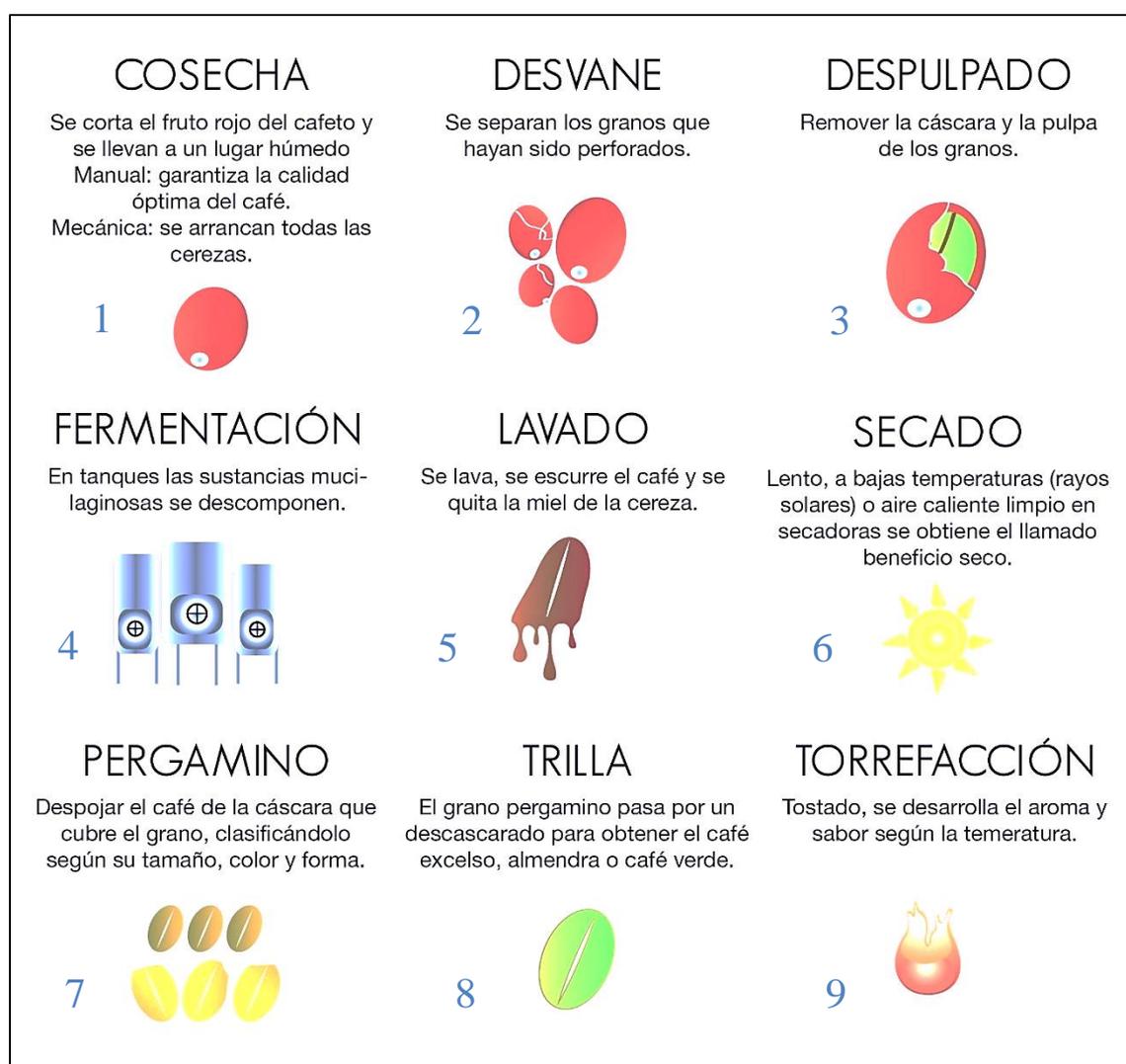


Figura 2: Etapas de producción de grano de café

FUENTE: Tapia, 2014. (Modificado con propósitos del proyecto)

2.2.1. RESIDUOS GENERADOS

a) PULPA

Es un subproducto sólido, el que mayor volumen y peso representa. Según datos indican, la pulpa representa el 40 por ciento del peso en fresco del fruto de café maduro. La composición química de este residuo aporta una carga contaminante de 0.44 kilogramos DQO por kilogramo de café oro producido (García, 2014).

Según Armas *et al.* (2008), algunos de los riesgos al ambiente que genera la pulpa del café son los siguientes: contaminación del suelo por los ácidos orgánicos que se generan por su descomposición, constituye un sustrato ideal para la proliferación de larvas de moscas, emite olores desagradables a los núcleos poblacionales cercanos, genera exudados con alto grado de DQO y DBO los cuales no se depositan en fosas de almacenamiento generando así otros focos de contaminación, por otro lado puede producir combustión instantánea debido a la emisión de metano originado por la descomposición y fermentación de la materia orgánica.

b) MUCÍLAGO

Es un hidrogel (sistema coloidal líquido liofílico) que posee una carga contaminante equivalente a 0.075 kilogramo DQO por kilogramo de café oro producido, representa entre el 15.5 y 20 por ciento del peso del fruto, y constituye un contaminante potencial por su alto contenido de azúcares, pectinas y ácidos orgánicos. El pH del mucílago en café maduro es de 5.6 a 5.75 (García, 2014).

Según Armas *et al.* (2008), algunos de los riesgos al ambiente que genera el mucílago del café son: el incremento de vectores como moscas, zancudos y mosquitos, los cuales pueden causar enfermedades a las poblaciones cercanas, emite olores putrefactos que causan cefalea, vértigos, náusea y vómitos a los pobladores, filtran aguas con alta carga de DQO y DBO

dañando los mantos acuíferos de la zona y contaminan el suelo por las altas cargas de sustancias acidificantes de origen orgánico

Tanto la pulpa como el mucílago representan aproximadamente el 60 por ciento del peso del fruto de café y ocasionan el 90 por ciento de la contaminación que genera esta actividad. Esta contaminación expresada en términos de la Demanda Química de Oxígeno y de Sólidos Suspendidos Totales equivale a 0.57 kg DQO/kg café pergamino seco y 0.27 kg SST/kg café pergamino seco respectivamente (Armas *et al.*, 2008)

c) **AGUA MIEL**

La naturaleza química de este subproducto está relacionada con la composición fisicoquímica de la pulpa y el mucílago, debido a que estos dos elementos proporcionan partículas y componentes durante el contacto turbulento e intenso con el agua limpia, aportando de esta manera, materia orgánica, fósforo, nitrógeno, carbohidratos no fermentados, alcoholes, ácidos orgánicos, taninos, cafeína, ácido caféico y ácido clorogénico. Contiene una alta cantidad de sólidos sedimentables, azúcares, materia soluble y en general materia orgánica en abundancia, lo que la hace altamente contaminante (García, 2014).

La concentración en materia orgánica de las aguas mieles vertidas depende del volumen de agua utilizado por el Beneficio, y en particular si hay recirculación de agua o no. Esta concentración se ubica entre 5000 y 10000 mg/L de DQO. Al comparar la concentración en materia orgánica de las aguas mieles con la concentración del agua negra urbana (entre 500 a 1000 mg/L de DQO), la primera resulta ser diez veces mayor (Armas *et al.*, 2008).

2.2.2. ALTERNATIVAS PARA EL MANEJO DE RESIDUOS

En el presente proyecto se evaluará el uso de las aguas mieles como sustrato en reactores anaerobios. Como se observa en el Tabla 2 dentro de las ventajas del proceso se encuentran que posee una buena remoción de materia orgánica, produce biogás, pero también posee algunos inconvenientes en cuanto a su complejidad y sus costos.

Tabla 2: Alternativas para el tratamiento de las aguas mieles

Alternativa	Mecanismo de funcionamiento	Eficiencia observada	Observaciones
Riego de cultivos	Infiltración en terrenos de cultivo. Aprovechar materia orgánica en el agua.	-	Afecta los cultivos por quema.
Disposición en el terreno	Evaporación e infiltración de las aguas.	En dependencia de factores climáticos y del terreno.	Barato, pero existe el riesgo de contaminar el manto freático.
Tamizado/ Sedimentación	Eliminación de los sólidos en suspensión	Bastante eficiente; eliminación sólidos de mayor tamaño.	-
Tratamiento químico	Eliminación de sólidos en suspensión, a través de coagulación/floculación y sedimentación.	Bastante eficiente, elimina los sólidos y malos olores presentes en el agua.	-
Lagunaje facultativo o anaerobio	Eliminación de material disuelto y en suspensión, a través de actividad biológica (algas y bacterias).	Poca materia orgánica removida por procesos biológicos.	Las lagunas fácilmente se acidifican y crean un ambiente ácido no apto para las bacterias descontaminantes.
Reactores anaerobios	Eliminación de material disuelto y en suspensión a través de actividad biológica (bacterias anaerobias)	Buena remoción de materia orgánica. Producción de gas metano que puede ser aprovechado	Manejo complejo y caro, en cuanto a inversión y operación.

FUENTE: García (2014).

2.3. DIGESTION ANAEROBIA Y BIOGÁS

La digestión anaerobia es un proceso microbiológico de descomposición de la materia orgánica, en la ausencia de oxígeno, común en diversos ambientes naturales y ampliamente aplicado actualmente para producir biogás en reactores anaerobios, comúnmente llamados digestores.

Una amplia gama de microorganismos está involucrada en los procesos anaeróbicos, los cuales tienen dos principales productos finales: biogás y biosol. El biogás es un combustible gaseoso compuesto de metano, dióxido de carbono y pequeñas cantidades de otros gases y elementos traza. El biosol es el sustrato descompuesto, rico en macro y micro nutrientes, este es apropiado para ser utilizado como fertilizante (Al Seadi *et al.*, 2008).

Así como en el gas natural de origen fósil, el principal componente del biogás, el cual determina el contenido de energía del mismo, es el metano el cual es inflamable (CH_4). Dependiendo del sustrato que es digerido en la planta de biogás, el contenido de metano fluctúa entre 50 y 75 por ciento. El segundo componente principal del biogás es el dióxido de carbono (CO_2) el cual se encuentra entre un 25 y 50 por ciento. Otros componentes del biogás son el agua (H_2O), hidrógeno (H_2) y trazas de azufre (S_2) y sulfuro de hidrogeno (H_2S) (Da Costa, 2013).

El biogás es usualmente limpiado, en este proceso se remueven los sulfuros y la humedad, y luego es conducido a través de tuberías hasta su punto de uso. La mayoría de plantas de biogás usan unidades CHP (Combined Heat and Power) para producir electricidad para la red nacional y calor para el uso local. Dichos motores combinados convierten la energía mecánica en electricidad (Gerlach *et al.*, 2013).

Diferentes tipos de biomasa pueden ser usadas para la producción de biogás. En el caso de plantas de biogás agrícolas, el material de alimentación o sustrato usado incluye: material vegetal fresco o ensilado, excrementos de animales, residuos de la producción agrícola o de

alimentos, materiales residuales. Las capacidades tecnológicas y microbiológicas de la planta, la disponibilidad del sustrato, condiciones legales, y la estrategia de los operadores influyen en la elección del sustrato (Gerlach *et al.*, 2013).

Es importante tener en cuenta que las bacterias formadoras de metano están presentes cuando se utiliza estiércol de ganado como sustrato, pero estas requieren un largo tiempo para multiplicarse hasta conformar una población productora de metano eficiente. Con la finalidad de reducir el tiempo para que dichas bacterias se establezcan en un nuevo digestor, es recomendable que se utilice una población microbiana activa, denominada inóculo, que provenga de otro reactor anaerobio en funcionamiento (Boopathy, 1987).

Cabe señalar que la producción y colección de biogás como proceso biológico fue documentado por primera vez en el Reino Unido en 1895. Desde ese entonces, el proceso fue desarrollado y ampliamente aplicado para el tratamiento de aguas residuales y estabilización de lodos. La crisis energética de los años setenta generó conciencia acerca del uso de energías renovables, incluyendo la generación de biogás por digestión anaerobia. El interés en el biogás se ha incrementado actualmente debido a los esfuerzos globales por desplazar el uso de combustibles fósiles y por la necesidad de encontrar soluciones sostenibles para el tratamiento y reciclaje de estiércol y residuos orgánicos (Al Seadi *et al.*, 2008).

Existe preocupación por parte de los expertos en cuanto al uso del biogás como fuente de energía sustentable. Básicamente debido a que existe una gran brecha entre los dos diferentes orígenes de los sustratos con los cuales son alimentadas las plantas de biogás: residuos agrícolas o cultivos energéticos. La reserva sin explotar de residuos orgánicos a escala mundial es enorme, sin embargo, también existen enormes áreas de tierra disponibles para sembrar cultivos

energéticos (Da Costa, 2013). Es importante tener en cuenta este punto pues los gobiernos deben velar por la seguridad alimentaria de su población.

Se pueden señalar muchas ventajas de la aplicación de la digestión anaerobia para producción de biogás, entre los principales beneficios para la sociedad se encuentran: reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero y mitigación del calentamiento global, provisión de energía renovable, reducción de la dependencia de combustibles fósiles, reducción de la cantidad de residuos, generación de puestos de trabajo, no se requieren grandes cantidades de agua y además su uso es flexible y eficiente. Por otro lado, también se pueden señalar varios beneficios para los agricultores entre los cuales se encuentran: obtención de una ganancia adicional, obtención de un excelente fertilizante, cierra el ciclo de nutrientes, los materiales de alimentación son flexibles y se reducen los olores, mosquitos y enfermedades (Al Seadi *et al.*, 2008).

2.3.1. ETAPAS DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

a) HIDRÓLISIS

Esta es la primera etapa en los procesos de digestión anaerobia e involucra enzimas mediadoras de la transformación de materiales orgánicos solubles y componentes de masa molecular mas grande como lípidos, polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos, entre otros. Esta etapa es generalmente el paso limitante de la digestión anaeróbica cuando se utiliza materia orgánica sólida como sustrato. La hidrólisis es llevada a cabo por anaerobios estrictos como bacterioides, clostridium y bacterias facultativas como estreptococos. Esta primera etapa es muy importante debido a que las grandes moléculas orgánicas no pueden ser absorbidas debido a su tamaño, y tampoco pueden ser utilizadas directamente por los microorganismos como sustrato/fuente de alimento. La velocidad de descomposición

durante la etapa de hidrólisis depende de la naturaleza del sustrato. La transformación de la celulosa y hemicelulosa generalmente es más lenta que la descomposición de proteínas (Parra, 2015).

b) ACIDOGÉNESIS

Los monómeros producidos en la fase hidrolítica son tomados por diferentes bacterias facultativas y anaeróbicas obligatorias, y son degradados en ácidos orgánicos de cadenas más pequeñas como el ácido butírico, propiónico, acético; alcoholes, hidrógeno y dióxido de carbono. La concentración de hidrógeno formada como un producto intermedio en esta etapa influencia el tipo final de producto durante el proceso de fermentación. Por ejemplo, si la presión parcial de hidrógeno fuere muy alta, esto podría disminuir la cantidad de componentes reducidos. En general, durante esta fase, azúcares simples, ácidos grasos y aminoácidos son convertidos en ácidos orgánicos y alcoholes (Adecúenle y Okoile, 2015).

c) ACETOGÉNESIS

Los productos obtenidos en la fase acidogénica sirven de sustratos para los microorganismos activos en esta tercera fase. En la acetogénesis, los productos que no pueden ser directamente convertidos a metano por las arqueas metanogénicas son convertidos en sustratos metanogénicos. Es importante que los microorganismos que llevan a cabo las reacciones de oxidación anaeróbica en esta etapa colaboren con el siguiente grupo, los microorganismos formadores de metano; esta colaboración depende de la presión parcial de hidrógeno presente en el sistema. Bajo condiciones anaeróbicas, los protones son usados como aceptores finales de electrones lo que conlleva a la producción de H_2 . Sin embargo, estas reacciones de oxidación solo pueden ocurrir si la presión parcial de hidrogeno es baja, lo que explica por qué la colaboración con los metanógenos es muy importante, ya que continuarán consumiendo el H_2 para producir metano (Adekunle y Okoile, 2015).

d) METANOGENESIS

En la fase metanogénica, la producción de metano y dióxido de carbono a partir de productos intermedios se lleva a cabo por arqueas metanogénicas bajo condiciones anaeróbicas estrictas. La metanogénesis es un paso crítico en la totalidad del proceso de digestión anaeróbica, ya que es la reacción bioquímica más lenta del proceso. El ácido acético, H₂ y CO₂ son transformados en CH₄ por dos tipos de microorganismos: metanógenos acetotróficos, los cuales utilizan ácido acético como sustrato y producen el 70 por ciento de metano en la digestión anaeróbica, entre ellos tenemos a *Methanosaeta concili* o *Methanosarcina acetivorans* y metanógenos hidrogenotróficos, los cuales utilizan CO₂ e H₂ como sustratos, como por ejemplo *Metanobacterium bryantii* o *Metanobrevibacter arboriphilus*. La metanogénesis es la fase limitante en la degradación anaerobia de sustratos fácilmente degradables (Parra, 2015).

En la Figura 3 se presenta un esquema de todas las etapas de la digestión anaerobia, anteriormente mencionadas.

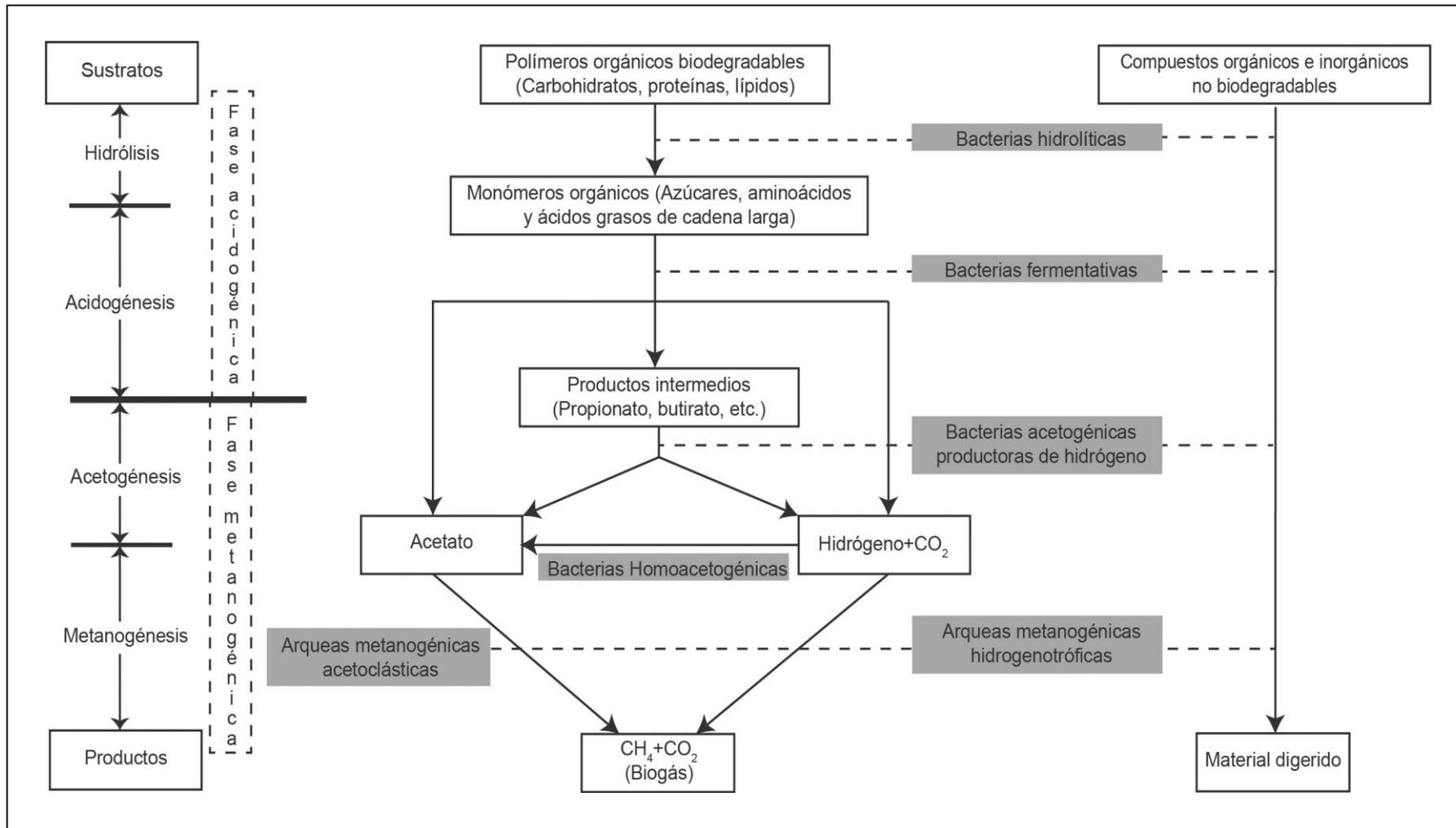


Figura 3: Esquema del proceso de digestión anaerobia

FUENTE: Cárdenas *et al.* (2016)

2.3.2. VARIABLES DE LA DIGESTIÓN ANEROBIA

a) POTENCIAL DE HIDRÓGENO (pH)

El pH representa el grado de acidez presente en el biodigestor, su valor óptimo oscila entre 6,6 y 7,6, con valores de pH por debajo de 5 y por encima de 8 se corre el riesgo de inhibir el proceso de digestión anaerobia o incluso detenerlo (Bautista, 2010). Es importante mantener este parámetro constante debido a que la actividad de la población metanogénica es altamente vulnerable a los cambios de pH comparado con las demás poblaciones microbianas presentes en los lodos (Quintero y Rondón, 2012). Si el pH fuera menor a 6 produciría un biogás pobre en metano, de esta forma tendría cualidades energéticas menores (Martí, 2006).

El valor del pH en reactores anaeróbios es principalmente controlado por el sistema buffer del bicarbonato. Asimismo, el valor del pH dentro de los digestores depende de la presión parcial de CO₂ y de la concentración de componentes alcalinos y ácidos en la fase líquida. Si ocurre la acumulación de una base o ácido, la capacidad buffer contrarresta los cambios de pH hasta cierto nivel. Cuando la capacidad buffer de un sistema es excedida ocurren cambios drásticos de pH inhibiendo completamente el proceso de digestión anaerobia. Por esta razón no es recomendado monitorear aisladamente el pH (Al Seadi *et al.*, 2008).

Como se mencionó anteriormente, muchos autores afirman que la degradación anaerobia es más eficiente a valores de pH cercanos a la neutralidad, sin embargo, diferentes estudios sobre la influencia del pH indican que no se puede generalizar, aspectos como las características fisicoquímicas del sustrato pueden aportar capacidad buffer al sistema, asimismo, se debe considerar que cada grupo microbiano implicado en la degradación anaerobia tiene un rango de pH óptimo específico (Parra, 2015).

b) TEMPERATURA

Como regla general, la velocidad de reacción se incrementa con el aumento de temperatura. Los procesos biológicos, sin embargo, poseen temperaturas óptimas, debido a que las estructuras orgánicas son propensas a perder estabilidad y funcionalidad cuanto la temperatura aumenta. Los procesos anaeróbicos son esencialmente divididos en dos rangos de temperatura: mesofílico, aproximadamente entre 37 a 43°C, y termofílico, aproximadamente entre 50 a 60°C (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, 2010).

La temperatura influye considerablemente en el crecimiento y supervivencia de microorganismos, sin embargo, el tratamiento anaeróbico es posible en todos los rangos de temperatura, aunque cabe señalar que a bajas temperaturas declina la velocidad de crecimiento y actividad de los metanógenos. Es importante señalar que la estructura de las comunidades microbianas activas a temperaturas mesofílicas y termofílicas es bastante diferente. Un cambio de temperatura mesofílica a termofílica (o viceversa) puede resultar en una disminución marcada en la producción de biogás. Incluso pequeños cambios en temperatura, de 35°C a 30°C o de 30°C a 32°C han demostrado reducir la velocidad de producción de biogás (Parra, 2015).

c) ÁCIDOS GRASOS VOLATILES (AGV)

La estabilidad del proceso de degradación anaerobia es reflejada por la concentración de productos intermedios como los AGV. Los AGV son componentes intermedios (ácido acético, propiónico, butírico, láctico, etc.) producidos durante la acidogénesis. En muchos casos la inestabilidad del proceso puede llevar a la acumulación de AGV dentro del digestor observándose posteriormente una caída en el valor del pH. Sin embargo, la acumulación de AGV no siempre va a ser expresado como una caída en el valor de pH, debido a la capacidad buffer del digestor, la cual va a ser función del tipo de biomasa contenida en él. El estiércol,

por ejemplo, tiene una cantidad extra de alcalinidad, lo que significa que la acumulación de AGV deberá exceder cierto nivel antes de que sea detectado en el pH. En ese punto la concentración de AGV será demasiado alta e inhibirá severamente el proceso (Al Seadi *et al.*, 2008).

d) ALCALINIDAD

Concentraciones altas de alcalinidad, por encima de 6500 mg/L y valores de pH superiores a 7.4 sugieren que la actividad bacteriana podría verse afectada debido a efectos tóxicos atribuidos a la alcalinidad. La utilización de algunas sales en los digestores para el control de pH es común, sin embargo, algunas de ellas como las sales de potasio y amonio causan efectos tóxicos. Es importante señalar que durante el proceso de degradación anaerobia se genera alcalinidad, tal es el caso de las proteínas que se encuentran en las aguas residuales, las cuales producen amonio y sales orgánicas. Sin embargo se suelen añadir agentes alcalinos para incrementar la capacidad buffer del medio (Parra, 2015).

Asimismo, se debe tener en cuenta que los iones libres incrementan la presión osmótica del medio, por lo que un medio más salino puede provocar la deshidratación y posterior muerte de las bacterias (Ortiz, 2011).

El monitoreo de la alcalinidad en reactores anaerobios es más eficiente que el monitoreo de pH, principalmente debido a que la alcalinidad es expresada en escala lineal, mientras que el pH es expresado en escala logarítmica. Por lo tanto, una pequeña disminución de pH implica un gran consumo de alcalinidad (Parra, 2015).

El método más común para determinar la alcalinidad se realiza mediante una titulación hasta un pH de 4.3, sin embargo no solamente se mide la capacidad buffer del bicarbonato sino también la capacidad buffer de los ácidos grasos volátiles presentes como sales. Dado que

el ácido acético y propiónico tienen un pKa de 4,7 y 4,9 respectivamente, no presentan una capacidad buffer útil ya que el digestor opera a un pH neutro. Para prevenir incluir la medida de la alcalinidad ocasionada por los ácidos grasos, Jenkins *et al.* (1983) propone una titulación hasta un pH de 5,75, argumenta que a este pH se titula el 80 por ciento del bicarbonato y menos del 20 por ciento de los ácidos grasos volátiles (Ripley *et al.*, 1986).

e) **NUTRIENTES**

Los microelementos (elementos traza), como el hierro, níquel, cobalto, selenio, molibdeno o tungsteno, son tan importantes para el crecimiento y supervivencia de los microorganismos, como los macronutrientes (se considera una relación C: N: P: S adecuada de 600:15:5:1). Una insuficiente provisión de nutrientes y elementos traza, así como una alta degradabilidad del sustrato puede causar inhibición o perturbaciones en el proceso de digestión anaerobia (Al Seadi *et al.*, 2008).

f) **INHIBIDORES**

- **Amoniac**

El amoniac es formado durante el proceso de biodegradación de las proteínas u otros sustratos orgánicos ricos en nitrógeno y principalmente existe en la forma de ion amonio (NH_4^+) y como amoniac libre (NH_3). Puede ser utilizado como un nutriente esencial para el crecimiento bacteriano, pero también puede funcionar como un tóxico microbiano cuando está presente en altas concentraciones. En general se considera que el amoniac está en concentraciones bajas cuando la proporción de C/N del sustrato es mayor a 30, resultando en una pobre eficiencia del proceso de digestión anaerobia. Muchos estudios han reportado que el amoniac puede neutralizar a los AGV formados durante la digestión anaerobia, por lo tanto, contribuye a mejorar la capacidad buffer del proceso, pero a pesar

de esto se ha probado que el amoniaco inhibe muchas bacterias a altas concentraciones. Los metanógenos acetoclásticos, que convierten el ácido acético en CH_4 y CO_2 , son mucho más sensibles al amonio que los metanógenos hidrogenotróficos. La concentración de amoniaco libre se incrementa con la temperatura y el pH. Para condiciones de pH 7 y 35°C , menos del 1 por ciento del amoniaco total está en la forma de amoniaco libre. Sin embargo, a la misma temperatura, el amoniaco libre se incrementa en un 10 por ciento a un pH de 8 (Zhang *et al.*, 2014).

Para un sistema de digestión que no está adaptado a altas concentraciones de nitrógeno, el umbral de inhibición está en un rango desde 80 a 250 mg/L de NH_3 , dependiendo del pH y la temperatura eso equivale a una concentración de 1.7-4 g/l de NH_4^+ . La experiencia señala que la inhibición por nitrógeno en el proceso de producción de biogás debe ser esperada a una concentración total de nitrógeno amoniacal de 3000-3500 mg/L (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, 2010). Por otro lado, también se afirma que el rango de concentración de amoniaco que causa inhibición depende de los diferentes sustratos, inóculos, condiciones ambientales (ej.: temperatura y pH) y periodos de aclimatación (Zhang *et al.*, 2014).

- **Sulfuro de Hidrógeno**

El sulfuro de hidrógeno disuelto puede inhibir el proceso de descomposición actuando como una citotoxina en concentraciones tan bajas como 50 mg/L. A medida que el valor del pH disminuye, la proporción de H_2S aumenta, incrementando el riesgo de inhibición. Una posible solución para reducir la concentración de H_2S es por precipitación como sulfuros (S^{2-}) con la ayuda de iones hierro o incluso puede reaccionar con otros metales pesados. Sin embargo, el azufre es un importante macronutriente. Una adecuada

concentración de azufre es necesaria para la formación de enzimas (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, 2010).

- **Metales pesados**

Los metales pesados pueden estar presentes en concentraciones relativamente altas si es que se usan residuos industriales, y en algunas ocasiones cuando se usan lodos municipales. Los metales no son degradados por lo que existe el riesgo de que se acumulen en niveles tóxicos en el reactor. El grupo de metales tóxicos incluyen al plomo, mercurio, cadmio y uranio, e incluso metales vitales como el hierro, zinc, cobre, cromo, manganeso, molibdeno, níquel y selenio. Los metales poseen un efecto inhibitorio cuando interfieren con el sistema enzimático de los organismos, sin embargo, bajas concentraciones de ciertos metales pesados son necesarias para la actividad microbiana. Cobalto, molibdeno y níquel son metales pesados importantes para la actividad de los productores de metano y sus enzimas (Schnürer y Jarvis, 2010).

Es difícil de definir que concentraciones de metales pesados causan inhibición y cuales metales son tóxicos debido a que muchos de los resultados reportados en la literatura varían considerablemente. El rango es amplio en términos de concentraciones umbrales para varios de los metales pesados, pero están en ordenes de 100 mg/L. Algunos metales, como el hierro, son relativamente no tóxicos y pueden aparecer en el proceso en concentraciones de cientos de gramos por litro sin causar ningún problema. Una buena explicación para esto es que los metales se unen a diferentes compuestos orgánicos (formando quelatos) en el proceso o forman precipitados como los sulfuros. El nivel en el cual la inhibición ocurre es incluso afectado por el hecho de que diferentes metales combinados pueden tener efectos antagónicos y sinérgicos entre ambos (Schnürer y Jarvis, 2010).

- **Antibióticos y detergentes**

El proceso de producción de biogás puede ser perturbado por el hecho de que, por ejemplo, bacterias fermentativas o formadoras de ácido acético sean inhibidas, y eso no permite la producción de sustrato para los productores de metano. Si los productores de ácido acético son inhibidos, pueden acumularse los AGV, y el proceso será interrumpido debido a la disminución en el pH. Ciertos antibióticos inhiben directamente a los productores de metano, por ejemplo, el cloranfenicol y la clortetraciclina, estos han demostrado que pueden disminuir en un 50 por ciento la producción de metano en concentraciones de 20 y 40 mg/L. El tianfenicol también ha demostrado un efecto inhibitorio disminuyendo en un 60 por ciento la generación de metano a una concentración de 80 mg/L. Diferentes antibióticos pueden ser encontrados en estiércol animal si es que el ganado ha sido tratado por una infección. Algunas veces los animales reciben antibióticos directamente en su alimento para estimular su crecimiento. Este grupo de antibióticos incluye, por ejemplo, monesin y rumensin, ambos tienen un efecto inhibitorio fuerte en el proceso de producción de biogás. Los antibióticos pueden incluso estar presentes en las aguas residuales de plantas de tratamiento (Schnürer y Jarvis, 2010).

En el caso de los detergentes, estos son compuestos usados para disminuir la tensión superficial y pueden ser encontrados en los lodos de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Algunos de estos pueden inhibir el proceso de producción de biogás. Uno de los más comunes detergentes es el surfactante LAS (linear alkybenzenes sulphonates). LAS inhibe tanto bacterias productoras de metano y además es lentamente degradado en el proceso anaerobio. El grado de inhibición depende de la concentración de la biomasa y el nivel máximo propuesto es de 14 mg LAS/ g SV (Schnürer y Jarvis, 2010).

2.3.3. PARÁMETROS OPERACIONALES

a) CARGA ORGANICA Y TIEMPO DE RETENCIÓN

La construcción y operación de una planta de biogás es una combinación de consideraciones económicas y técnicas. Obtener el rendimiento máximo de biogás a través de una completa digestión del sustrato puede requerir a un largo periodo de tiempo del sustrato dentro del digestor y correspondientemente un tamaño mayor del digestor. En la práctica, la elección del diseño del sistema (tamaño y tipo de digestor) o el tiempo de retención esta siempre basado en un compromiso entre obtener el mayor rendimiento y haber justificado económicamente la planta. En ese contexto, la carga orgánica es un parámetro operacional importante, el cual indica cuanta materia seca puede ser alimentada dentro del digestor por unidad de tiempo y de volumen usados (Al Seadi *et al.*, 2008). Hay que tener en cuenta que se puede provocar una inhibición bacteriana debido a una alta velocidad de carga orgánica ya que provoca mayor actividad en las etapas de hidrólisis/acidogénesis que en la etapa metanogénica, de esta manera se incrementa la cantidad de AGV, lo cual eventualmente provocará una acidificación irreversible (Mao *et al.*, 2015).

Por otro lado, el tiempo de retención hidráulico se define como el intervalo de tiempo promedio durante el cual el sustrato permanece dentro del digestor. El tiempo de retención debe ser suficientemente largo para asegurar que la cantidad de microorganismos removidos con el efluente no sea mayor que la cantidad de microorganismos reproducidos dentro del digestor. La velocidad de duplicación de las bacterias anaeróbicas es usualmente 10 días o más. Un período de retención hidráulico más corto provee una buena velocidad de flujo de sustrato, pero un menor rendimiento de gas. Es entonces importante adaptar el tiempo de retención a la específica tasa de descomposición de los sustratos usados (Al Seadi *et al.*, 2008).

Según Al Seadi *et al.* (2008) la carga orgánica puede determinarse con la siguiente formula:

Carga Orgánica

$$B_R = \frac{m * c}{V_R * 100}$$

$$B_R = \text{Carga orgánica} \left(\frac{\text{kg SV}}{\text{dia} * \text{m}^3} \right)$$

m = masa de sustrato alimentada por unidad de tiempo $\left(\frac{\text{kg}}{\text{dia}} \right)$

c = concentración de la materia orgánica (porcentaje SV)

V_R = volumen del digestor (m^3)

Según Al Seadi *et al.* (2008) el tiempo de retención hidráulico puede determinarse con la siguiente formula:

Tiempo de Retención Hidráulico

$$\text{TRH} = \frac{V_R}{V}$$

TRH = Tiempo de retención hidráulico (dias)

V_R = volumen del digestor (m^3)

V = volumen del sustrato alimentado por unidad de tiempo $\left(\frac{\text{m}^3}{\text{dia}} \right)$

b) PRODUCTIVIDAD, RENDIMIENTO Y GRADO DE DEGRADACIÓN

Según Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (2010), la productividad (P_{CH_4}), el rendimiento (A_{CH_4}) y el grado de degradación (n_{vs}) son parámetros apropiados para describir el desempeño de una planta de biogás.

Si la producción es dada en relación al volumen del digestor, nos estamos refiriendo a la productividad de la planta. Esta es definida como la cantidad diaria de gas producido por volumen de reactor, es consecuentemente un indicador de la eficiencia de la planta. La

productividad puede estar referida a la producción de biogás o de metano, y está dada en $\text{Nm}^3/\text{m}^3 \cdot \text{día}$.

La productividad puede determinarse con la siguiente formula:

Productividad

$$P_{\text{CH}_4} = \frac{V_{\text{CH}_4}}{V_R}$$

$$P_{\text{CH}_4} = \text{Productividad de metano} \left(\frac{\text{Nm}^3}{\text{m}^3 \cdot \text{día}} \right)$$

$$V_{\text{CH}_4} = \text{producción de metano por unidad de tiempo} \left(\frac{\text{Nm}^3}{\text{día}} \right)$$

$$V_R = \text{volumen del digestor} (\text{m}^3)$$

La producción de gas expresada en relación al ingreso de materiales es el rendimiento. El rendimiento puede igualmente ser referido a la producción de biogás o de metano. Esta es definida como la cantidad de volumen de gas producido por la cantidad de materia orgánica añadida, y está dado en $\text{Nm}^3/\text{SV} \cdot \text{día}$.

El rendimiento puede determinarse con la siguiente formula:

Rendimiento

$$A_{\text{CH}_4} = \frac{V_{\text{CH}_4}}{m_{\text{SV}}}$$

$$A_{\text{CH}_4} = \text{Rendimiento de metano} \left(\frac{\text{Nm}^3}{\text{SV} \cdot \text{día}} \right)$$

$$V_{\text{CH}_4} = \text{producción de metano por unidad de tiempo} \left(\frac{\text{Nm}^3}{\text{día}} \right)$$

$$m_{\text{SV}} = \text{solidos volatiles añadidos por unidad de tiempo} \left(\frac{\text{t}}{\text{día}} \right)$$

Ambos parámetros individualmente tienen un valor informativo relativamente pequeño, debido a que no incluyen la carga efectiva al digestor. El grado de degradación provee

información acerca de la eficiencia con la cual los sustratos son convertidos. El grado de degradación puede ser determinado tomando como base los sólidos volátiles (SV) o la demanda química de oxígeno (DQO). Dentro de los métodos analíticos comúnmente usados en la práctica se suele determinar el grado de degradación de los sólidos volátiles.

El grado de degradación puede determinarse con la siguiente formula:

Grado de degradación

$$n_{SV} = \frac{SV_a * m_a - (SV_d * m_d)}{SV_a * m_a} * 100 \text{ por ciento}$$

n_{SV} = grado de degradación de la biomasa

SV_a = contenido de sólidos volátiles en la materia alimentada $\left(\frac{\text{kg}}{\text{t}}\right)$

m_a = cantidad de materia alimentada (t)

SV_d = contenido de sólidos volátiles en la descarga del digestor $\left(\frac{\text{kg}}{\text{t}}\right)$

m_d = cantidad de digestato (t)

c) GRADO DE MEZCLA

Con el objetivo de obtener altos niveles de producción de biogás es necesario proveer un intenso contacto entre las bacterias y el sustrato, lo cual es generalmente logrado por medio del mezclado del tanque de digestión. En caso no exista una mezcla en el digestor, luego de cierto tiempo se podrá observar la formación de capas. Esto es atribuible a la diferencia de densidades de los constituyentes del sustrato e incluso al empuje hacia arriba por la formación del gas. En este evento la mayoría de la masa bacteriana se almacenará en la capa más baja debido a su mayor densidad, mientras que el sustrato a ser descompuesto tenderá a concentrarse en la capa superior. En dicho caso el área de contacto es limitada a la zona entre las dos capas, y se produce poca degradación. Más adelante, algunos sólidos flotarán en la parte superior formando una capa de nata que impedirá el escape del gas. Es importante

entonces promover el contacto entre los microorganismos y el sustrato a través del mezclado del tanque. Sin embargo, debe evitarse un excesivo grado de mezcla. Específicamente las bacterias de la fase acetogénica y las arqueas de la fase metanogénica forman una comunidad biótica que es enormemente importante en el proceso de producción de biogás. Si esta comunidad biótica es destruida por excesiva remoción por el mezclado, la descomposición anaeróbica será afectada. Generalmente se alcanza un grado de mezcla adecuado usando agitadores rotativos lentos que poseen una baja fuerza de corte, o incluso realizando el mezclado solo por intervalos cortos de tiempo (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, 2010).

2.4. ENSAYOS DE BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA

Se han publicado una gran cantidad de artículos que tratan acerca de ensayos de digestión anaerobia para sustratos de diferentes orígenes, debido a esto se hace difícil la comparación de los datos de biodegradabilidad en la literatura. Esto no es solamente debido a la variedad de equipos usados, sino también a las diferentes condiciones ambientales y protocolos que se han usado. Por ejemplo, la mezcla de nutrientes e inóculos, volúmenes de líquidos, pH, presión en la parte superior del reactor y el tipo de sistema de detección pueden diferir de un ensayo a otro. Además, los resultados son a veces presentados en diferentes unidades haciendo la comparación bastante difícil (Angelidaki *et al.*, 2009).

2.4.1. SUSTRATO

El sustrato debe ser caracterizado lo más completamente posible. En particular, los sólidos totales (ST) y volátiles (SV), demanda química de oxígeno (DQO), y el contenido de nitrógeno y fósforo deben ser siempre determinados (Angelidaki *et al.*, 2009).

Otros parámetros importantes para el caso de cultivos energéticos y residuos agrícolas son el contenido de lignina, celulosa y hemi-celulosa, estos deben ser siempre considerados en su caracterización debido a que la lignina no es degradada en el proceso y no contribuye a la producción de biogás (Angelidaki *et al.*, 2009).

2.4.2. INÓCULO

El inóculo debe ser obtenido *fresco* desde algún tipo de reactor anaerobio activo, por ejemplo, reactores de lodos, biodigestores a base de estiércol o reactores de manto de lodos, de manera que se provea una amplia composición microbiana para asegurar que no se experimente ningún tipo de limitación al utilizar diferentes sustratos (Angelidaki *et al.*, 2009). Es importante no usar lodos de reactores de biogás inestables, como los que contienen inhibidores o microorganismos con actividad reducida (Drosg *et al.*, 2013).

El inóculo debe ser homogéneo y los materiales grandes que no sean biomasa (por ejemplo, piedras) deben ser removidos (Angelidaki *et al.*, 2009). Si el lodo contiene partículas grandes, estas deben ser tamizadas antes de su utilización (Drosg *et al.*, 2013).

Tanto inóculos mesofílicos como termofílico pueden ser usados dependiendo de la temperatura a la cual se desarrolle el ensayo (Angelidaki *et al.*, 2009).

El inóculo debe ser *desgasificado*, por ejemplo, puede ser pre-incubado con la finalidad de agotar todo el material orgánico residual biodegradable presente en él. La pre-incubación debe ser hecha a la misma temperatura que el proceso de digestión anaerobia en el cual fue originado el inóculo. La desgasificación debe ser prolongado antes de una significativa producción de metano, típicamente 2 a 5 días de incubación. En algunos casos, por ejemplo, cuando el inóculo se toma de un reactor alimentado con concentración relativamente alta de

grasa / aceite, se pueden requerir períodos más largos de pre-incubación, con el fin de eliminar todo el sustrato residual (adsorbido / atrapado) (Angelidaki *et al.*, 2009).

La calidad del inóculo debe ser comprobada ejecutando pruebas de actividad específica, en las cuales se usa un sustrato estándar, de manera que funciona como una prueba de control. En el caso de la prueba de determinación de *actividad metanogénica específica* (AME) suele utilizarse ácido acético como sustrato patrón.

Según Angelidaki *et al.* (2009), para la determinación de las actividades de diferentes grupos tróficos, se escogen sustratos modelos, los cuales se señalan en el Tabla 3.

Tabla 3: Sustratos sugeridos para la determinación de las actividades de diferentes grupos tróficos en un reactor de biogás

Población	Concentración inicial de sustrato propuesta
Hidrolítica	1g celulosa/L
Acidogénica	1g glucosa/L
Proteolítica	1g caseína/L
Acetogénica	0.5g ac. propiónico/l; 0.5g ac. n-butírico/L
Acetoclástica	1g ácido acético/L
Hydrogenotrófica	Sobrepresión de 1 atm con una mezcla H ₂ /CO ₂ (80/20)

FUENTE: Angelidaki *et al.* (2009).

De acuerdo a Orozco *et al.* (1992) la concentración de ácidos grasos volátiles en los ensayos de AME para un sistema agitado deben estar entre 2 a 4 g DQO/l y para un sistema estático deben estar entre 3 a 4.5 g DQO/l.

Orozco *et al.* (1992) registra una recopilación de las actividades metanogénicas específicas esperadas de varias fuentes, las cuales se muestran en el Tabla 4.

Tabla 4: Actividad metanogénica aproximada de varias fuentes

Fuente	Actividad metanogénica específica (g DQO / g SSV*día)
Lodo granular	0.5 a 1.5
Lodo floculento de FAFA	0.2 a 1.0
Estiércol digerido	0.02 a 0.08
Lodo de tanque séptico	0.01 a 0.07
Laguna anaeróbica de café	0.03
Estiércol porcino fresco	0.001 a 0.02

FUENTE: Orozco *et al.* (1992)

Según Angelidaki *et al.* (2009), el comportamiento cinético es representado por un modelo de orden cero cuando la concentración del inóculo es mayor que la cantidad de biomasa producida durante la prueba. Por lo tanto, la concentración del inóculo debe ser siempre más alta que la del sustrato (en términos de sólidos volátiles) y la proporción sustrato/inóculo debe ser reconocida como uno de los mayores parámetros que afectan los resultados de ensayos anaerobios. Drogg *et al.* (2003) indica que de acuerdo al VDI (2006) la proporción de SV sustrato / SV lodo debe ser menor o igual a 0.5. Parra (2015) estudió la relación sustrato – inóculo utilizando bioresiduos de origen municipal concluyendo que las relaciones menores de 2 permiten desempeños adecuados del proceso y con valores mayores el proceso se desestabiliza debido a la acumulación de ácidos grasos volátiles.

Soto *et al.* (1992) recomiendan utilizar una concentración del inóculo entre 0.8 a 8 g SSV/L, sin embargo, Orozco *et al.* (1992) señalan que se debe establecer una concentración del lodo de 2 a 5 g SV/l para biodigestores con agitación y de 1 a 1.5 g SV/l para biodigestores sin agitación de manera que se garantice el adecuado contacto entre la biomasa y el sustrato.

El volumen relativo de inóculo a ser usado en los ensayos puede variar mucho, dependiendo de la actividad, concentración de biomasa del inóculo y concentración y biodegradabilidad del sustrato. El volumen relativo de inóculo puede ser menor en caso de que se use un inóculo concentrado/denso como por ejemplo gránulos que contienen una cantidad concentrada de microorganismos activos, mientras que se puede usar un mayor volumen relativo de inóculo en el caso de que sea menos denso como por ejemplo lodos residuales de estiércol digerido. En cualquier caso, la cantidad de inóculo debe ser suficiente para prevenir la acumulación de ácidos grasos volátiles y condiciones ácidas (Angelidaki *et al.*, 2009).

Drosg *et al.* (2003) señala que se puede almacenar el inóculo durante cortos períodos de tiempo (un inóculo puede permanecer almacenado y activo por una semana antes de su utilización) a una temperatura apropiada (inóculos mesófilos a 35-38°C) en frascos de plástico que mantengan las condiciones anaerobias, pero que permitan el escape del gas, como se observa en la Figura 4.

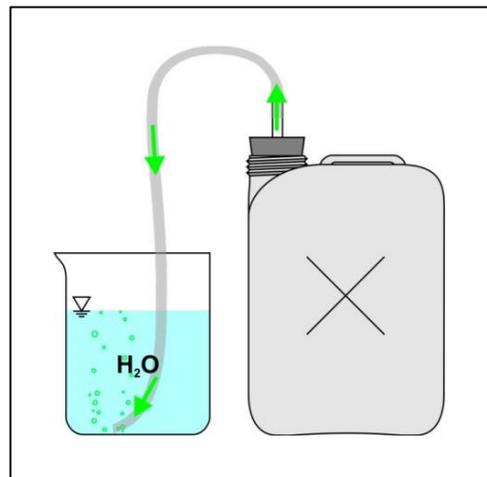


Figura 4: Almacenamiento correcto del inóculo para un ensayo PBM

FUENTE: Drosg *et al.*, (2003)

2.4.3. MEDIO

De acuerdo a Angelidaki *et al.* (2009), un medio nutritivo que contenga macronutrientes, buffers, vitaminas, etcétera, debe ser añadido, a menos que pueda ser documentado de que estén presentes en el inóculo o el sustrato. Según Drogg *et al.* (2013), en general puede ser asumido que la mayoría de materias primas para producción de biogás tienen suficiente nitrógeno y fósforo disponible. Se pueden tener limitaciones en macronutrientes (P o N) cuando se realiza monodigestión (ej. aguas residuales industriales), en este caso los macronutrientes deben ser añadidos al sustrato o también puede realizarse una codigestión con sustratos ricos en los macronutrientes limitantes.

2.4.4. BLANCOS Y CONTROLES

La producción de fondo de metano del inóculo determinada en ensayos denominados blancos, utilizando un medio sin sustrato, y es restada de la producción de metano obtenida en los ensayos con sustrato. El ensayo de blancos puede ser llevado a cabo por triplicado para una significancia estadística (Angelidaki *et al.*, 2009). La producción de gas de los blancos no debe exceder el 20 por ciento de la producción total de gas (VDI, 2006), de otra manera los resultados serán muy inciertos (Drogg *et al.*, 2013).

El procedimiento de controles se lleva a cabo con sustratos estándar, la celulosa puede ser usada para bioresiduos agrícolas o municipales, mientras que gelatina es preferible para residuos de carne o pescado. Los ensayos de control dan una idea de la respuesta del inóculo a sustratos estandarizados (Angelidaki *et al.*, 2009).

2.4.5. CONFIGURACIÓN DEL ENSAYO EXPERIMENTAL

El ensayo debe ser configurado con al menos tres réplicas para cada dilución o más, dependiendo de la complejidad (homogeneidad) del sustrato y la reproducibilidad de las

pruebas. Cuando se usan sustratos con alta heterogeneidad, se deben hacer más de tres replicas para conseguir resultados confiables. Esto permite el análisis estadístico de los datos colectados y garantiza la reproducibilidad del ensayo (Angelidaki *et al.*, 2009).

Angelidaki (2009) señala que el ensayo debe ser llevado a cabo en frascos cerrados de 100 mL hasta 2 L. Soto *et a.* (1992) recomienda el uso de digestores entre 100-500 mL, argumenta que un volumen de 100 mL es suficiente e incluso se obtienen valores similares o ligeramente inferiores que cuando se utilizan digestores de 1500 mL provistos de agitación, además señala que en caso de utilizar digestores de mayor volumen se obtendrán rendimientos menores a menos de que se provea un adecuado sistema de agitación. Drosog *et al.* (2003) señala que se deben usar frascos de 500 mL a 1L, y además se debe añadir un agitador magnético para realizar la mezcla.

Para sustratos con características de degradación desconocidas, un número de diferentes diluciones (con agua) del mismo son requeridas. Las diluciones aseguran que el potencial de metano de los sustratos no es subestimado debido a la sobrecarga o potencial inhibición. Las muestras deberían ser probadas en diluciones desde 5 a 100 por ciento. Cuando el máximo potencial de metano es el mismo en al menos dos diferentes diluciones de la serie, puede ser asumido que el inóculo no está sobrecargado o inhibido. Si el potencial específico continúa incrementándose a medida que se incrementa la dilución (disminuye la concentración de sustrato), se requerirán diluciones adicionales (Angelidaki *et al.*, 2009).

2.4.6. ENSAYOS EN CONTINUO Y EN DISCONTINUO

a) POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)

Según Cárdenas, et al. (2016), el PBM es el ensayo a escala de laboratorio realizado en un proceso discontinuo para determinar la biodegradabilidad anaerobia y la máxima producción

de CH₄ de diferentes sustratos que pueden estar en forma líquida o sólida. El principio del ensayo de PBM consiste en la mezcla de un sustrato orgánico con un inóculo anaerobio en condiciones experimentales y operacionales definidas; el CH₄ generado durante la digestión anaerobia se cuantifica por un método de medición específico. El ensayo de PBM, al igual que el ensayo de Actividad Metanogénica Específica (AME) tiene diferentes aplicaciones:

- Determinar la biodegradabilidad anaerobia y la máxima producción de CH₄ de residuos orgánicos.
- Identificar el potencial de producción de energía de un sustrato.
- Identificar y desarrollar nuevos indicadores para la evaluación de potenciales sustratos.
- Seleccionar inóculos e identificar la adaptación o inhibición de los microorganismos.
- Determinar la cinética de degradación para la calibración de modelos matemáticos y cinéticos que permiten simular el proceso de digestión y predecir el funcionamiento de digestores a escala real.
- Evaluar el efecto de la codigestión de diferentes sustratos.

Drosg *et al.* (2003) indica que el PBM es el ensayo discontinuo usado mayormente para determinar el rendimiento potencial de metano de una materia prima. Además, afirma que estas pruebas incluso proveen información acerca de la degradabilidad anaeróbica de un sustrato, incluyendo su velocidad de degradación. También se puede realizar una evaluación general de componentes inhibidores.

Los ensayos de degradación anaerobia estandarizados se describen en las normas EN 11734, DIN 38 414-S8 o VDI (2006). Sin embargo, se ha evidenciado una alta variabilidad entre las propuestas, al punto de emplear diferentes denominaciones para este ensayo cuando se presentan esquemas metodológicos similares a los que se les realizan cambios mínimos. Esto

ha generado confusiones para la implementación del ensayo y dificulta la comparación de los resultados obtenidos en diferentes estudios en los que se emplean sustratos similares (Cárdenas *et al.*, 2016).

Cárdenas *et al.* (2016) realiza una recopilación de los principales métodos aplicados para la determinación del PBM, los cuales se describen a continuación.

Dentro de los métodos volumétricos se tienen tres configuraciones básicas presentadas en la Figura 5, Figura 6 y la Figura 7.

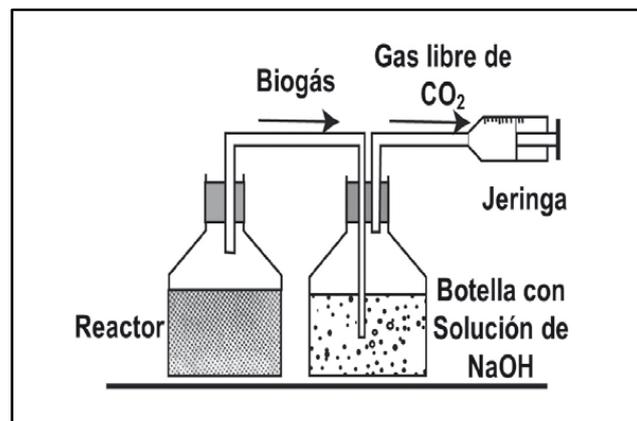


Figura 5: Configuración (a) para un método volumétrico de determinación del PBM.

FUENTE: Cárdenas *et al.*, (2016)

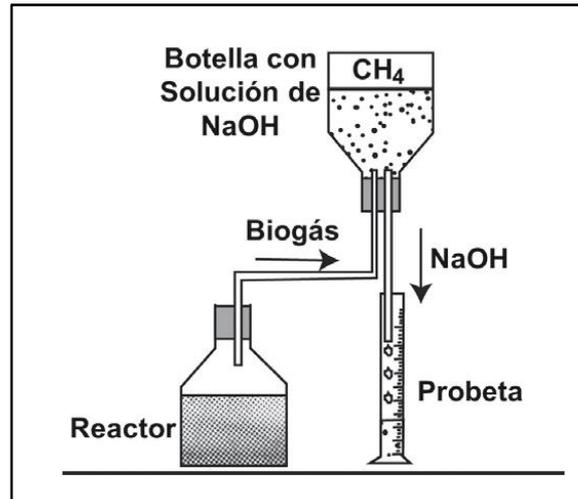


Figura 6: Configuración (b) para un método volumétrico de determinación del PBM.

FUENTE: Cárdenas *et al.*, (2016)

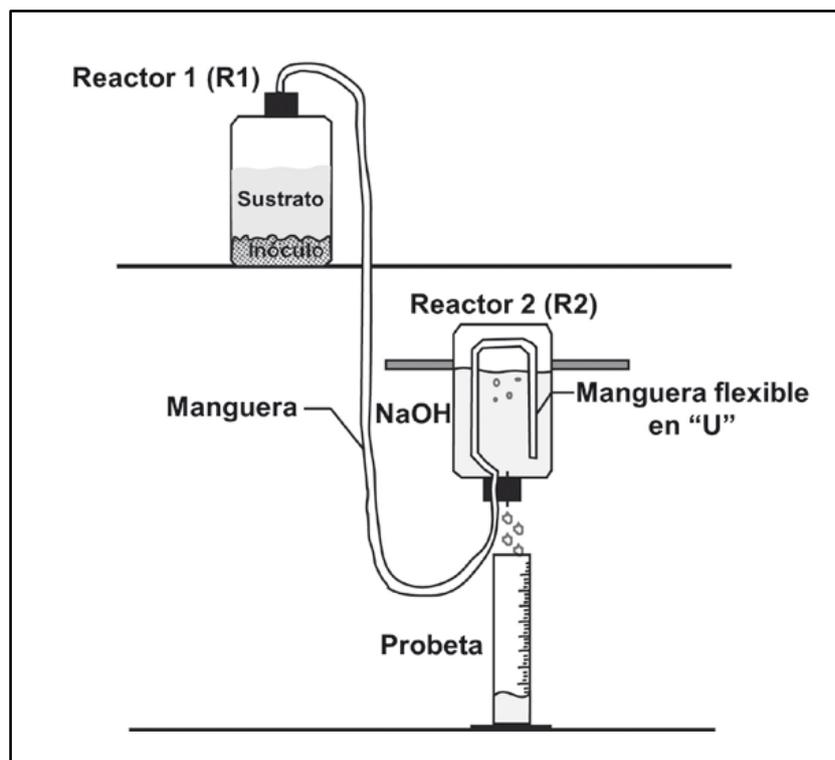


Figura 7: Configuración (c) para un método volumétrico de determinación del PBM.

FUENTE: Cárdenas *et al.*, (2016)

Dichas configuraciones presentan las siguientes ventajas y desventajas.

Ventajas

- Simplicidad y bajos costos.
- Medición directa del contenido de CH₄ en el biogás empleando una solución alcalina que captura el CO₂.
- Configuraciones experimentales de bajo costo que pueden ser implementadas en cualquier laboratorio
- Capacidad de trabajar por largos periodos sin necesidad de mantenimiento
- La configuración (c) evita que el reactor 1 (R1) se vea afectado en el caso que ocurra succión del NaOH por presiones negativas; adicionalmente, la manguera en forma de “U” ubicada en R2 fue ideada para actuar como un sifón, evitando el paso del NaOH hacia R1.

Desventajas

- Microfugas en los equipos pueden incrementar la producción real de CH₄.
- Requiere medición constante del volumen desplazado (al menos 3 veces al día) y agitar los reactores para mejorar el contacto entre el sustrato e inóculo y favorecer la evacuación del biogás.
- Verificación continúa de la cantidad y el pH de la solución alcalina desplazante

Dentro de los métodos manométricos se tienen dos configuraciones básicas presentadas en la Figura 8 y en la Figura 9.

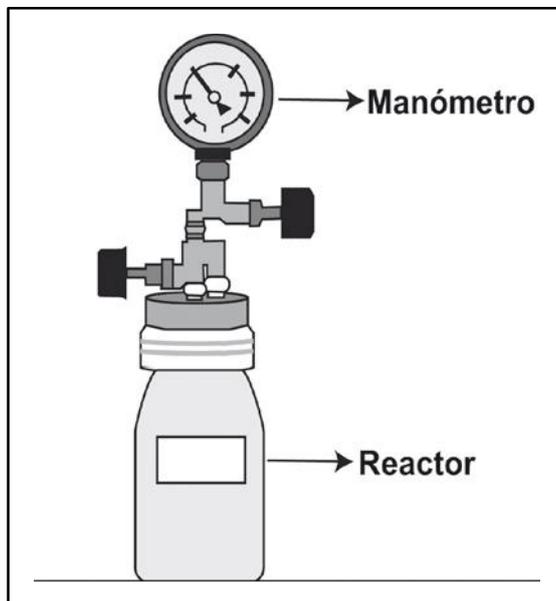


Figura 8: Configuración (a) para un método manométrico de determinación del PBM.

FUENTE: Cárdenas *et al.*, (2016)

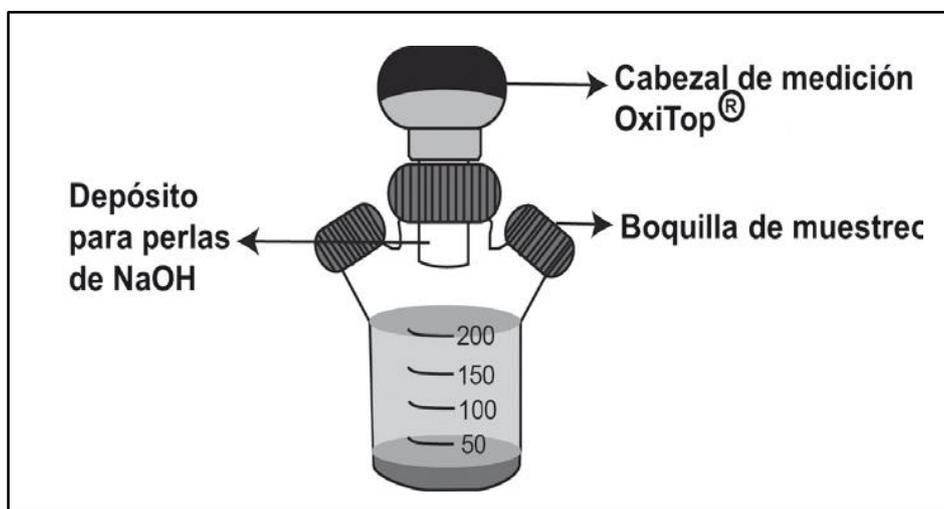


Figura 9: Configuración (b) para un método manométrico de determinación del PBM.

FUENTE: Cárdenas *et al.*, (2016)

Dichas configuraciones presentan las siguientes ventajas y desventajas.

Ventajas

- Reducción de errores debido a interferencias humanas
- Registros continuos y automáticos de la presión, por lo cual no se requiere de un control estricto.
- Automatización para la recolección de datos.

Desventajas

- Medida indirecta del CH₄, por lo que se requiere realizar cálculos para obtener el volumen.
- Pueden presentarse inconvenientes en algunos equipos de acuerdo con la presión límite de funcionamiento.
- Mayores costos de adquisición y mantenimiento

Asimismo, se tiene la metodología por cromatografía de gases, cuya configuración se presentada en la Figura 10.

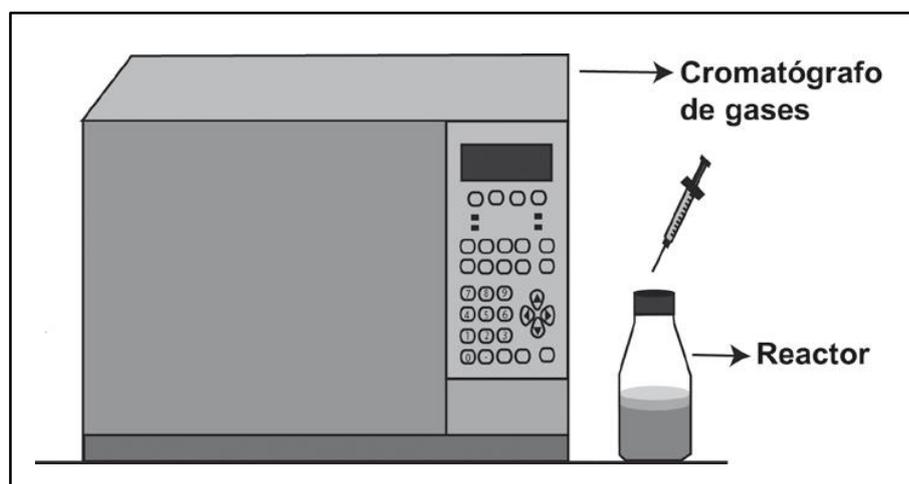


Figura 10: Configuración para un método de determinación del PBM por cromatografía de gases

FUENTE: Cárdenas *et al.*, (2016)

Dicha configuración presenta las siguientes ventajas y desventajas.

Ventajas

- Permite conocer la composición del biogás.
- Proporciona información cualitativa (identificación de componentes desconocidos en la muestra de biogás) y cuantitativa (cantidad de cada componente).
- Permite realizar mediciones en tiempos cortos.

Desventajas

- Altos costos de adquisición, mantenimiento y operación.
- Requerimientos de personal calificado para el manejo del cromatógrafo.

El ensayo PBM es una vía bastante práctica de determinar el potencial de energía recuperada y garantiza un resultado bastante realista del potencial de metano esperado, sin embargo, el potencial de metano puede cambiar en función a la carga orgánica aplicada en un proceso de fermentación continua, por otro lado, posibles inhibidores son diluidos en el inóculo añadido en el ensayo PBM y los efectos antagónicos o sinérgicos de la mezcla con el sustrato pueden ser evaluados de manera muy limitada (Drosg et al., 2013)

b) TEST DE FERMENTACIÓN CONTINUA

El desempeño de un sustrato bajo condiciones prácticas puede ser influenciado por varios factores: inadecuada concentración del mismo, composición de nutrientes, componentes inhibidores, formación de metabolitos y condiciones operacionales que puedan inhibir el proceso. Los test de fermentación continua ofrecen información confiable en un largo periodo de tiempo del sustrato en el reactor. Sin embargo, estos test continuos son muy caros debido a la cantidad de análisis y su duración (Drosg *et al.*, 2013).

2.4.7. DIGESTION EN DOS ETAPAS

La digestión anaerobia involucra varias especies de microorganismos simbióticos que pueden ser divididos en dos grupos: acidogénicos y metanogénicos. Estos dos grupos difieren considerablemente en su fisiología, cinética y requerimiento de crecimiento. Operaciones en dos digestores separados en serie permitiría la optimización de condiciones para cada uno de los dos grupos de microorganismos, disminución de costos y aumento de eficiencia de procesos. El tratamiento anaeróbico de dos etapas es el más disponible para aguas residuales conteniendo altos niveles de sólidos orgánicos. A pesar de las ventajas de los procesos de dos etapas, la acidificación completa en un paso separado puede prevenir la formación de biomasa granular en el digestor anaeróbico, lo cual es importante para la operación del diseño de varios digestores. La acidificación parcial con pequeños digestores en la primera etapa puede ser utilizada para reducir costos. Velocidades de eliminación de DQO y producción de metano en reactores de dos etapas fue de 116 y 43 por ciento (respectivamente) más alta que aquellos en una unidad de etapa única (Parra, 2015).

2.4.8. EXPERIENCIAS EN LA PRODUCCIÓN DE BIOGAS A PARTIR DE RESIDUOS DEL CAFÉ.

A continuación, presentan algunos casos revisados en lo que concierne al uso de los residuos del café para la producción de biogás a través de la digestión anaerobia.

Quintero (2012), realizó un ensayo en discontinuo a escala de laboratorio, uso un proceso de una solo fase, utilizó mucílago de café como sustrato y estiércol de cerdo como inóculo y alcanzó un rendimiento de $0.73 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg}$ de SV de sustrato.

Vírquez (2014), realizó un ensayo en discontinuo a escala de laboratorio, uso un proceso de una solo fase, utilizó pulpa y mucílago de café como sustrato y lodo de un reactor UASB como

inóculo. El autor estima que, por cada fanega de café procesada, se genera pulpa y mucílago para la producción potencial de 4.89 m³ normales de metano.

García (2014), realizó un ensayo en discontinuo a escala de piloto, uso un proceso de una solo fase, utilizó pulpa y agua miel de café como sustrato y estiércol de ganado bovino como inóculo en diferentes proporciones y a diferentes tiempos de retención para evaluar cuál es la combinación que genera un efluente con una mayor disminución en el contenido de Sólidos Totales Suspendidos y Disueltos, Demanda Química y Bioquímica de Oxígeno. Obteniéndose los mejores resultados a tiempos de retención hidráulica de 20 y 30 días y proporciones de pulpa y agua miel variables.

Rodríguez *et al.* (2000), realizaron un ensayo en discontinuo a escala de laboratorio, usando un proceso de una solo fase, agua miel de café como sustrato y lodos de lagunas de estabilización y estiércol de ganado vacuno como inóculo. Sin embargo, los autores reportan sus resultados en términos de volumen acumulado de CH₄ por unidad de tiempo y no por unidad de masa del sustrato. Concluyen que la mayor inhibición sucede por la acumulación de ácidos grasos volátiles, sugieren tener en cuenta la separación de fases en un proceso en continuo. Asimismo indican que existe un porcentaje de materia orgánica no degradable, probablemente por la presencia de compuestos refractarios (cafeína y fenoles) sin embargo no llegan a ser inhibitorios en el proceso..

Del Real e Islas (2010), realizaron un ensayo en discontinuo a escala laboratorio, en un proceso de una solo fase. Utilizaron agua miel de café como sustrato y fluido ruminal vacuno como inóculo. Concluyen que una vez alcanzada la máxima generación de biogás, la biomasa es capaz de degradar la carga orgánica del vertido hasta en un 91.2 por ciento de la DQO en 16 días de fermentación con pH de 4.6 y 28 °C.

Balseca y Cabrera (2011), realizaron un ensayo en discontinuo a escala piloto, en un proceso de una sola fase, utilizaron pulpa y agua miel de café como sustrato y estiércol de ganado vacuno como inóculo. El autor reporta una generación de biogás de 128 L por kilogramo de pulpa de café y 126.98 L por litro de aguas mieles.

Zambrano *et al.* (2006), realizaron ensayos en un sistema continuo a escala piloto, en un proceso de dos fases, utilizando agua miel de café como sustrato y estiércol de ganado vacuno como inóculo. El autor reporta eficiencias de remoción promedio para el estado estable de los reactores metanogénicos de 80, 83.4, 45.99 y 74.3 por ciento para la Demanda Química de Oxígeno, Demanda Biológica de Oxígeno, los Sólidos Totales y los Sólidos Suspendidos Totales, respectivamente.

Corro *et al.* (2013), evaluaron en un sistema discontinuo a escala laboratorio en un proceso de una fase, utilizando agua miel de café y estiércol de vaca en codigestión alcanzando contenidos de metano en el biogás de 50 por ciento en el primer mes y de hasta 60 por ciento en los 8 meses consecutivos.

En la bibliografía revisada se reporta el uso de los residuos del café, ya sea pulpa, mucílago o aguas mieles como sustrato en procesos de digestión anaerobia. Dichos residuos han producido biogás tanto en monodigestión como en codigestión, con diferentes tipos de inóculos: estiércol de ganado, lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, lodos de reactores UASB, etc.

Es importante mencionar que dichas experiencias han sido diseñadas tanto a nivel de laboratorio como a escala piloto. Las investigaciones a nivel de laboratorio han sido configuradas basándose principalmente en el ensayo del Potencial Bioquímico del Metano (PBM), sin embargo, presentan variaciones en la regulación de la temperatura, tiempos de retención, proporciones de sustrato/inóculo, presencia de agitación, utilización de amortiguadores de la

acidez, etc. Asimismo, han reportado sus resultados en diferentes unidades; en volumen (m^3 o mL) de CH_4 o biogás por masa (kg o g) de SV de sustrato o de DQO o también en porcentajes de reducción de ST, SV, DQO y DBO5 en el efluente. En cuanto a los equipos de medición, en la mayoría de casos se usan modificaciones de los equipos volumétricos y manométricos, los cuales son descritos en la sección 2.4. En el caso de las experiencias a escala piloto hay menos consenso en la configuración de la prueba ya que en algunos casos se reportan las mezclas de residuos del café en términos de volumen (litros) o masa (kilogramos), sin considerar que dichos parámetros no brindan información precisa para la posterior reproducibilidad del ensayo ya que por ejemplo, en el caso del agua miel, al ser reportada solamente en términos de volumen y no de concentración, se pasa por alto el hecho de que la concentración de la misma pueda variar a lo largo del tiempo, no siempre se usa la misma cantidad de agua por kilogramo de café para el lavado del mismo ya que no existe una única técnica de lavado, en ocasiones se hace rebombeo de agua, etc.

En la presente investigación tiene como objetivo brindar toda la información necesaria respecto a la caracterización del sustrato e inóculo utilizados, en términos de parámetros fisicoquímicos, pretratamiento, procedencia, concentración inicial, cantidad y calidad; asimismo se detallarán las condiciones experimentales en cuanto al método de medición de metano y finalmente se precisan las condiciones operacionales de los ensayos, esto engloba la capacidad de los reactores usados, cantidad de réplicas, blancos o controles, duración del ensayo, temperatura, presencia de agitación, ajuste del pH, utilización de nutrientes, manejo de las condiciones anaerobias, captura de CO_2 y la relación sustrato/inóculo. Todo esto con el fin de asegurar la comparatividad de los resultados dado que a pesar de existir normativas estandarizadas como la ISO 11734 (Water Quality - Evaluation of the “ultimate” anaerobic degradability of organic compounds in digested sludge -method by measurement of the biogas production), DIN 38414

(German standard methods for the examination of water, wastewater and sludge; sludge and sediments (group S); determination of the amenability to anaerobic digestion (S8)) o la VDI 4630 (Fermentation of organic materials - Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests), las condiciones reales generalmente son modificaciones de dichas metodologías, ajustándose a los medios disponibles y condiciones de campo. Sin embargo, los resultados siempre serán específicos para cada caso de estudio.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La tesis se desarrolló como una investigación de campo y además implicó un trabajo experimental a nivel de laboratorio. A continuación, se señalará cada una de las etapas que se siguieron para la ejecución de la misma.

3.1. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL SUSTRATO

3.1.1. RECONOCIMIENTO DE CAMPO

Se realizó una evaluación del proceso total de producción de granos de café de la planta de beneficio húmedo de café ubicada en el Fundo Santa Teresa, distrito de Villa Rica, provincia de Oxapampa, departamento de Pasco.

Para esto se realizó una entrevista con el señor Hans Brack, dueño del fundo y se hizo un recorrido por todas las etapas que tienen lugar en la planta.

3.1.2. TOMA DE MUESTRA

Se tomaron muestras simples del agua miel para posteriormente hacer los análisis de caracterización respectivos.

a) MATERIALES

- Guantes
- Envases para muestrear
- Etiquetas
- Plumón indeleble
- Nevera/hielo
- H₂SO₄ (95% conc.)

b) PROCEDIMIENTO

Se tomaron muestras tanto de la tubería del efluente como de las pozas de sedimentación donde se acumula el mismo. Es importante señalar que, en las pozas, se observaron dos fases, una costra de sólidos suspendidos en la capa superior y una fase líquida por debajo de esta, se mezcló en la medida de lo posible el depósito y se tomaron las muestras.

Para la toma de muestras se tomó en cuenta las directrices señaladas por las normas ISO 5667-3 (2003). Se llenaron los contenedores con las aguas mieles del café, el volumen de cada contenedor se determinó de acuerdo a la lista de parámetros indicada en la Tabla 5, asimismo se utilizaron los preservantes necesarios según el caso y se colocaron las muestras en una nevera con el fin de mantenerlas congeladas hasta llegar a los laboratorios. Cada botella fue llenada hasta el borde con las muestras obtenidas de manera que no entre aire en las mismas y fueron etiquetadas según cada parámetro a determinar.

Tabla 5: Lista de parámetros y técnicas adecuadas para su preservación

Parámetro	Tipo de contenedor	Volumen típico	Técnica de preservación	Tiempo máximo recomendado de preservación
Potencial de Hidrógeno	Plástico	100 ml	Congelar entre 1-5°C	6h
Sólidos totales/volátiles	Plástico	500 ml	Congelar entre 1-5°C	24h
Demanda Química de Oxígeno	Plástico	100 ml	Acidificar a un pH entre 1 a 2 con H ₂ SO ₄	1 mes
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	Plástico	1000 ml	Congelar entre 1-5°C	24h
Nitrógeno total	Plástico	500 ml	Acidificar a un pH entre 1 a 2 con H ₂ SO ₄	1 mes
Carbono Total	Plástico	100 ml	Congelar entre 1-5°C	7 días
Fósforo total	Plástico	250 ml	Acidificar a un pH entre 1 a 2 con H ₂ SO ₄	1 mes
Ácidos Grasos Volátiles	Plástico	500 ml	Congelar entre 1-5°C	24h

FUENTE: ISO 5667-3, 2003

3.1.3. PRETRATAMIENTO

El pretratamiento consistió en la fermentación espontánea y anaeróbica del sustrato y se desarrolló en el laboratorio de Ingeniería Ambiental de la UNALM.

a) MATERIALES

- Recipiente para fermentación
- Tubo de plástico
- Trampa de agua
- Equipo de baño termostático

b) PROCEDIMIENTO

Las muestras se fermentaron de manera espontánea durante 5 días con el fin de aumentar la eficiencia de la fase hidrolítica y aprovechar el carácter ácido de las aguas mieles. Para esto, los recipientes con aguas mieles se colocaron en un equipo baño maría a 30°C y se sellaron de manera hermética dejando solo una tubería de salida a una trampa de agua para dejar escapar el CO₂, posteriormente el CO₂ fue conducido hacia una botella sellada con una dilución de NaOH para captúralo, y esta botella estaba conectada hacia otro envase a través de un conducto de manera que se pueda verificar que no se produjese nada de metano, de lo contrario se desplazaría un volumen de agua a este último recipiente (Ver Figura 11).



Figura 11: Pretratamiento del sustrato

3.1.4. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA

La determinación de la mayoría de los parámetros señalados en la Tabla 6 se determinaron en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la UNALM, a excepción de los Ácidos Grasos Volátiles, los cuales se determinaron en el Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología Ambiental (CIQTOBIA) del Departamento Académico de Química de la Facultad de Ciencias de la UNALM.

Tabla 6: Lista de parámetros para caracterización del sustrato

Parámetro	Método	Justificación
Potencial de Hidrógeno (pH)	Potenciométrico	Determinar el grado de acidez o basicidad que pueda ofrecer el sustrato.
Sólidos Totales (ST)	Gravimétrico	Se requiere una relación de g SV sustrato / g SV inóculo menor o igual a 0.5 en el reactor (Drosg <i>et al.</i> , 2013). Relación SV/ST alta confirma el alto contenido de materia orgánica biodegradable y una relación baja se relaciona con el contenido vegetal de difícil degradación, lignina (Parra <i>et al.</i> , 2015)
Sólidos Volátiles (SV)		
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Método del reflujo abierto	La relación DBO5/DQO permite determinar qué cantidad de la DQO es susceptible de ser depurada por los microorganismos en cinco días (DBO5) y por tanto el carácter de biodegradabilidad de los diferentes vertimientos (Bedoya <i>et al.</i> , 2014)
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	Prueba de DBO 5	
Ácidos Grasos Volátiles (AGV)	Cromatografía de gases	La estabilidad del proceso de degradación anaerobia es reflejada por la concentración de productos intermedios como los AGV (Al Seadi <i>et al.</i> , 2008)

Las metodologías utilizadas para la determinación de los parámetros presentados en la Tabla 6 se detallan a continuación.

a) Determinación del Potencial de Hidrógeno (pH)

A continuación se presenta una lista de los materiales que se utilizaron.

- Potenciómetro

La medición de pH se realizó usando el método potenciométrico, a través de la medición directa, introduciendo el electrodo del potenciómetro en la muestra hasta esperar que el valor que se obtenga en la lectura del equipo se mantenga constante por aproximadamente 10 segundos. El equipo debe ser calibrado previamente usando soluciones buffer de pH 4 y pH 7.

b) Determinación de los Sólidos Totales y Volátiles (ST y SV)

A continuación se presenta una lista de los materiales que se utilizaron.

- Cápsula de porcelana
- Probeta
- Estufa
- Mufla
- Balanza analítica
- Desecador

Para la determinación de sólidos totales se siguió la siguiente metodología:

Calcinar una cápsula de porcelana a $550 \pm 50^{\circ}\text{C}$ durante una hora en la mufla, dejar enfriar en un desecador y pesar la cápsula. La muestra, medida en una probeta, se transfiere a la cápsula y se evapora a sequedad en una estufa a $103 - 105^{\circ}\text{C}$ durante 1 hora, dejar enfriar en un desecador y pesar la cápsula. Repetir el ciclo de enfriado, secado y pesado hasta que se obtenga un peso constante (tiempo aproximado total 24 horas). Se calcula la diferencia de pesos entre la capsula que fue pesada sola y la que contenía la muestra.

Asimismo, para la determinación de sólidos volátiles se utilizó la siguiente metodología:

Calcinar el residuo producido en la etapa anterior hasta peso constante en la mufla a $550 \pm 50^\circ\text{C}$ durante 1 hora, dejar enfriar en un desecador y pesar la cápsula. Repetir el ciclo de enfriado, secado y pesado hasta que se obtenga un peso constante (tiempo aproximado total 12h). Se calcula la diferencia de pesos entre la capsula que fue con los sólidos totales y la que fue llevada a 550°C

FUENTE: APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. Solids (2540 B. Total Solids Dried at $103\text{--}105^\circ\text{C}$ /2540 E. Fixed and Volatile Solids Ignited at 550°C)

c) **Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)**

A continuación se presenta una lista de los materiales que se utilizaron.

- Digestor
- Solución de Dicromato de Potasio
- Ácido Sulfúrico
- Hidrogenoftalato de Potasio
- Espectrofotómetro

Asimismo se detalla el método de determinación empleado:

El principio de esta prueba consiste en que muchos tipos de materia orgánica son oxidados por una mezcla a altas temperaturas de ácidos crómicos y sulfúricos. La muestra es diluida (en función a la DQO esperada) y digerida durante 2 horas en una solución acida con un exceso de Dicromato de Potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Después de la digestión se cuantifica el dicromato no reducido. Para esto ya se deben haber preparado por lo menos 5 estándares de Hidrogenoftalato de Potasio a partir de las cuales se prepara una curva de calibración para cubrir todo el rango

concentraciones posibles. Las mediciones de consumo de oxígeno se realizan en un espectrofotómetro en la región de 600nm y a través de cálculos de equilibrio químico

FUENTE: APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. Chemical Oxygen Demand (5220 D. Closed Reflux, Colorimetric Method)

d) Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅)

A continuación se presenta una lista de los materiales que se utilizaron.

- Electrodo de membrana
- Agua de dilución
- Solución de nutrientes
- Recipientes con tapón esmerilado

Asimismo se detalla el método de determinación empleado:

Esta prueba calcula la disminución en la concentración de oxígeno disuelto utilizado por las bacterias que consumieron el material biodegradable presente en la muestra después de un periodo específico de tiempo.

La secuencia del análisis es la siguiente: se recibe la muestra y de inmediato se procesa o se guarda en refrigeración por no más de 24 horas. Se prepara con los nutrientes necesarios el agua de dilución y continuamente, mientras se emplea esta agua, se le hace burbujear aire para saturarla en oxígeno. En un frasco de tapón esmerilado de 300 ml se coloca el volumen de muestra que se considere adecuado (en función a su DBO₅ esperada) y se le agrega el agua de dilución necesaria para completar los 300 ml. Se tapa la botella y se coloca en la incubadora a 20°C por un periodo de 5 días. Se procede de la misma manera con cada una de las muestras y además se coloca un blanco, el cual estará constituido únicamente por agua de dilución y sirve

para corregir el oxígeno consumido por el agua de dilución, que teóricamente debe ser cero y sirve para establecer el punto de oxígeno disuelto inicial.

Se utilizará un electrodo de membrana, previamente calibrado, para la medición del oxígeno disuelto en el día inicial, así como en el día 5. Los cálculos finales se realizan de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{DBO}_5 \text{ (mg O}_2\text{/L)} = (\text{D1}-\text{D2}) / \text{P}$$

- D1 = OD de muestra diluida inmediatamente después de la preparación (mg/L)
- D2 = OD de muestra diluida después de 5 días de incubación a 20°C (mg/L)
- P = Fracción decimal volumétrica de a muestra usada.

FUENTE: APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. Oxygen (Dissolved). (4500 O G - Membrane Electrode Method).

e) **Determinación de los Ácidos Grasos Volátiles (AGV)**

A continuación se presenta una lista de los materiales que se utilizaron.

- Cromatógrafo de gases Shimadzu (Modelo: GC.2010Plus series)
- Auto inyector Shimadzu (Modelo: AOC-20i)
- Columna Cromatográfica Restek (Modelo: Famewax, crossbond polyethylene glicol, 30 meter, 0,25 mm ID, 0,25 µm df, Cat # 12497)
- Centrifuga Cole-Parmer (Modelo: VS-3400/MS-3400)
- Solución estándar de ácidos grasos volátiles (AccuStandard FAMQ-004)
- Viales
- Jeringas desechables
- Filtros (poros de 0,45 µm)
- Nitrógeno

- Hidrógeno
- Helio
- Aire
- Ácido orto fosfórico 85 por ciento

Asimismo se detalla el método de determinación empleado:

Preparación de las muestras

Para la preparación de las muestras se siguieron las pautas señaladas por el método de separación cromatográfica para ácidos orgánicos 5560 D – Gas Chromatographic Method (Standard methods for the examination of water and wastewater, APHA, AWWA, WEF) el cual consiste en coleccionar muestras de lodo y refrigerarlas a 4°C inmediatamente, se transfiere un volumen de 10 a 30 mL a un vial de 40 mL y se acidifica a un pH aproximado de 2 con ácido fosfórico mientras se mezcla con una varilla, luego se transfiere el lodo acidificado a una centrifuga hasta que se separe la parte sólida del sobrenadante, finalmente se retira el sobrenadante de los tubos con las jeringas desechables, se filtra y se coloca en viales de 2 mL.

Condiciones operativas:

La metodología para la determinación de AGV fue desarrollada en el Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología Ambiental (CIQTOBIA) del Departamento Académico de Química de la Facultad de Ciencias de la UNALM (Ver Figura 12). Las condiciones operativas del cromatógrafo fueron las siguientes:

- Temperatura del inyector: 150°C
- Programación de la temperatura del horno: iniciar a 60°C, mantener la temperatura por 1 minuto, incrementar la temperatura a una razón de 2°C/min hasta 70°C, mantener la temperatura por 2 minutos, incrementar la temperatura a una razón de 1°C/min hasta 80°C, mantener la temperatura por 2 minutos, incrementar la temperatura a una razón de 2°C/min

hasta 90°C, mantener la temperatura por 3 minutos, finalmente incrementar la temperatura a una razón de 5°C/min hasta 120°C.

- Condiciones del detector FID: temperatura de 240°C, velocidad de flujo de hidrógeno de 30 mL/min y de aire de 300 mL/min
- Velocidad de flujo del gas portador (Helio): 1,95 mL/min
- Velocidad de flujo del gas auxiliar (Nitrógeno): 12 mL/min
- Volumen de inyección de 2 µL
- Modo de inyección split 20:1



Figura 12: Cromatógrafo de gases (CIQTOBIA-UNALM)

Calibración:

Consistió en inyectar 2 microlitros de diferentes concentraciones del estándar de ácidos grasos volátiles en el cromatógrafo de gases. La curva de calibración se construyó a partir de cinco concentraciones usando el mejor ajuste. La curva de calibración debería ser probada por más de un mes para validarla.

Análisis de las muestras

Se inyectaron 2 microlitros de los analitos, incluyendo los blancos, las muestras de los lodos de ambos tratamientos por triplicado y el agua miel pretratada por triplicado.

Cálculos

Se colectaron todos los datos y se procesaron con el software Shimadzu Lab Solutions, especializado para sistemas cromatográficos. Se identifica cada ácido graso de acuerdo al tiempo en que aparece cada pico en el cromatograma (se muestra un ejemplo en la Figura 13), para posteriormente integrar las áreas de cada pico y reemplazar dicho valor en las curvas de calibración para cada AGV.

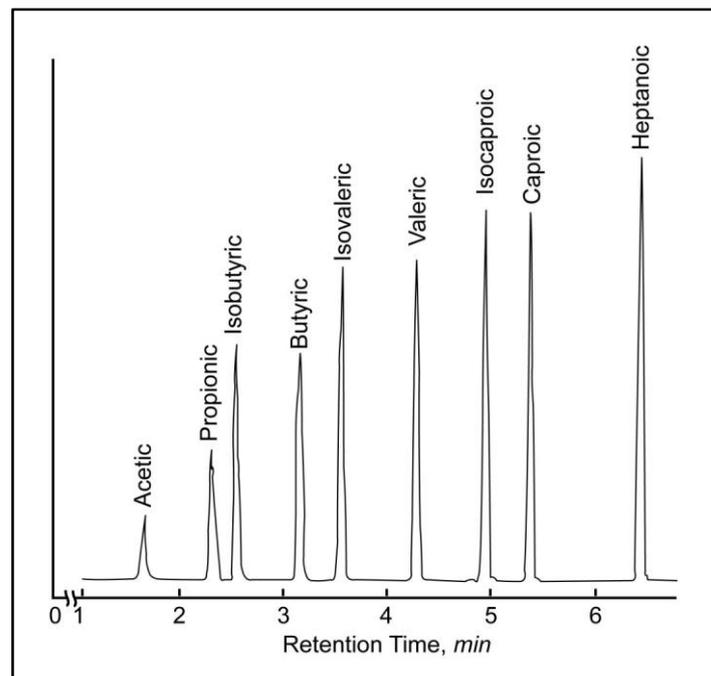


Figura 13: Modelo de un cromatograma de un estándar de ácidos grasos volátiles

FUENTE: APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. Chromatographic Separation Method for Organic Acids. (5560 D - Gas Chromatographic Method).

3.2. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL INÓCULO

3.2.1. TOMA DE MUESTRA

Se tomaron muestras de 20 kg estiércol del ganado vacuno del establo más cercano al Fundo Santa Teresa.

a) MATERIALES

- Botas de PVC
- Guantes de jebe
- Bolsas plásticas con cierre hermético
- Cinta de embalaje
- Plumón indeleble
- Pala
- Baldes
- Nevera
- Hielo

b) PROCEDIMIENTO

Para realizar el muestreo dentro del establo se siguió las pautas del «Protocolo para el muestro de la biomasa residual» del Atlas del Potencial Energético de la Biomasa Residual en Colombia (Escalante *et al*, 2011). Para extraer muestras representativas de la zona donde se acumuló el estiércol se comenzó utilizando el método de muestreo en zigzag, este método consiste en trazar en la zona a muestrear una línea imaginaria en forma de zigzag y luego recolectar muestras de las esquinas, posteriormente, estas submuestras fueron homogeneizadas por el método del cuarteo, el cual consiste en mezclar el material, apilarlo en forma de cono, dividirlo en cuatro partes iguales (en forma de cruz), luego retirar los dos cuartos opuestos y volver a mezclar los dos restantes repitiéndose el proceso hasta obtener la cantidad de muestra requerida. Se

colectaron muestras, guardándolas en bolsas cerradas herméticamente, eliminando el aire, de manera que no se contaminen, seguidamente fueron etiquetadas con la información requerida y guardada en un congelador durante dos días antes de los análisis respectivos.

3.2.2. PRETRATAMIENTO

El pretratamiento consistió en la incubación del inóculo.

a) MATERIALES

- Recipiente para decantación
- Malla
- Botellas para incubación
- Trampa de agua
- Equipo de baño termostático

b) PROCEDIMIENTO

En primer lugar, se mezcló el estiércol con agua corriente en una proporción tres a uno (tres de agua por una de estiércol), se dejó decantar durante 3 días y finalmente se filtró usando una malla para retirar el material grueso e insoluble, de manera que solo se deje pasar la fase líquida que constituyó el inóculo metanogénico (Zambrano *et al.*, 2006). Dicho inóculo se incubó en condiciones anaerobias a una temperatura de 30°C durante 5 días (antes de una significativa producción de metano) para agotar todo el material biodegradable en él (Angelidaki *et al.*, 2009). El inóculo se colocó dentro de recipientes completamente cerrados, dejando solo una tubería de salida hacia una trampa de agua para dejar escapar el gas, la incubación se realizó en un equipo de baño termostático. El inóculo preparado se muestra en la Figura 14.



Figura 14: Preparación del inóculo

3.2.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA

Se determinaron todos los parámetros señalados en la Tabla 7 en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la UNALM.

Tabla 7: Parámetros para la caracterización del inóculo

Parámetro	Justificación
Conductividad Eléctrica (CE)	Los iones libres van a influir en la presión osmótica del medio, un medio más salino puede provocar la deshidratación y posterior muerte de las bacterias (Ortiz, 2011)
Materia Orgánica en solución (MoS)	Los microelementos son igualmente importantes para el crecimiento o supervivencia de los microorganismos como los macronutrientes (Al Seadi <i>et al.</i> , 2008). Los complementos incorporados a los piensos o determinados tratamientos sanitarios que se administran a los animales pueden contener metales pesados, por lo tanto, pueden aparecer metales pesados en el estiércol. Los más comunes son zinc y cobre (ENEK, 2013)
C, N, P, K total	
Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, Mn y B total	

Por otro lado, la determinación los parámetros señalados en la Tabla 8 se realizó en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la UNALM .

Tabla 8: Parámetros para la caracterización del inóculo

Parámetro	Método	Justificación
Potencial de Hidrógeno	Potenciométrico	Determinar el grado de acidez o basicidad que pueda ofrecer el inóculo.
Sólidos Totales (ST)	Gravimétrico	Se requiere una relación de g SV sustrato / g SV inóculo menor o igual a 0.5 en el reactor (Drosg <i>et al.</i> , 2013).
Sólidos Volátiles (SV)		
Alcalinidad Total (AT)	Volumétrico	Determinar la capacidad buffer que puede ofrecer el inóculo.
Actividad metanogénica específica (AME)	Volumétrico	La calidad del inóculo debe ser comprobada ejecutando pruebas de actividad específica, en las cuales se usa un sustrato estándar, de manera que funciona como una prueba de control

El proceso de determinación del potencial de hidrógeno y de los sólidos totales y volátiles ya fue detallado en la sección 3.1, los procesos de determinación de la alcalinidad total y la actividad metanogénica específica se presentan a continuación.

a) Determinación de la Alcalinidad Total (AT)

A continuación se presenta una lista de los materiales que se utilizaron.

- Bureta
- Matraz
- HCl 0.1 N

Asimismo se detalla el método de determinación empleado:

Para las mediciones se toma un volumen de muestra fijo (50ml) y se titula con HCl 0.1 N hasta un pH de 5.75; este volumen titulado corresponde a la alcalinidad bicarbonática o alcalinidad parcial (AP). Se continua con la titulación hasta un pH de 4.3; este segundo volumen corresponde a la alcalinidad debida a los AGV o alcalinidad intermedia (AI). La alcalinidad total (AT) se calcula sumando la alcalinidad parcial e intermedia.

FUENTE: Pérez y Torres, 2008

b) Determinación de la Actividad Metanogénica Específica (AME)

A continuación se presenta una lista de los materiales que se utilizaron.

- Digestores de 500 ml
- Frascos de Mariotte
- Probetas graduadas
- Agujas inyectables
- Tapones de caucho
- Mangueras de Jebe
- Hidróxido de Sodio
- Bicarbonato de sodio
- Soportes
- Fenolftaleína
- Equipo de baño termostático

Asimismo se detalla el método de determinación empleado:

Cada digestor se conecta a un frasco de Mariotte que contiene una solución de NaOH al 5%. Todo el CO₂ producido es retenido dentro del frasco de Mariotte debido que al reaccionar con el NaOH forma carbonato. Es así como solo el metano ocupa el espacio libre de la botella de

NaOH, desplazando un volumen de líquido equivalente que es eventualmente recogido en una probeta calibrada.

Se armarán 6 equipos de medición de la AME, tres deberán estar conformados por el inóculo y el sustrato estándar, y los otros tres serán los blancos, es decir el inóculo sin sustrato. Para cada equipo se realizan las mismas conexiones entre el digestor, la cámara de seguridad y el frasco de Mariotte teniendo cuidado de que no exista ninguna posibilidad de fuga de gas, para esto se deben usar agujas inyectables, mangueras de jebe, tapones de caucho de manera que cada sistema quede configurado como se muestra en la Figura 15.

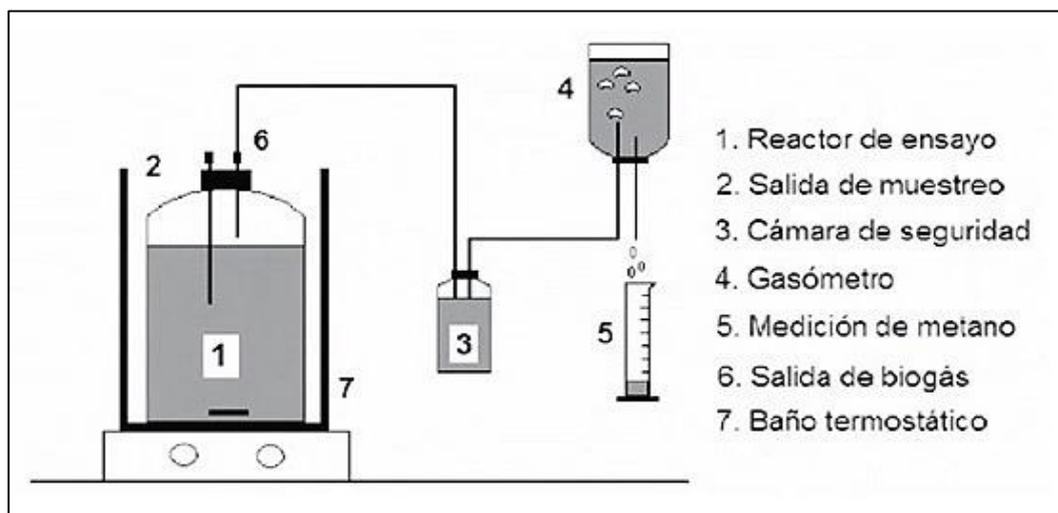


Figura 15: Equipo para la determinación de la AME del inóculo

FUENTE: Del Real *et al.*, 2010

Se recomienda verificar que el pH de la solución de NaOH de los frascos de Mariotte sea superior a 12 unidades para garantizar que éste secuestre todo el CO₂ producido (Torres y Pérez, 2010), esto puede realizarse usando fenolftaleína, la cual se torna de color rosado o magenta a un pH alrededor de 9.8

Para el presente proyecto se añadirá a cada reactor una concentración de inóculo de 3 g SV/L, dicha concentración se escogió de acuerdo a la bibliografía revisada para digestores con

agitación (la cual se realizará diariamente de manera manual). Además de añadir el inóculo se agregará el sustrato, el cual consistirá en ácido acético con una DQO inicial de 5g/l. Seguidamente se agregará una solución de alcalinidad (1g/l de NaHCO_3) hasta ajustar el pH a 7,0 (se medirá el pH antes y después de la prueba con un potenciómetro).

El ensayo se realizará a una temperatura de 30°C introduciendo los reactores dentro de un equipo de baño termostático.

La cantidad de volumen desplazado en las probetas se debe de medir de manera continua hasta que derezca la producción de biogás.

Los resultados se presentarán en un gráfico de volumen acumulado (a condiciones de presión y temperatura normales) vs tiempo de incubación y se tomará la pendiente de mayor inclinación de la curva para calcular la Actividad Metanogénica Específica en g DQO de sustrato consumido por g SV de inóculo utilizado por día (g DQO/ g SV*día).

FUENTE: Torres y Perez (2010)

3.3. DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METANO MEDIANTE LA PRUEBA DEL POTENCIAL BIOQUÍMICO DEL METANO (PBM)

La determinación del potencial bioquímico del metano se realizó empleando un método manométrico. Para tal fin se empleó el equipo de medición OxiTop[®] Control OC (Ver Figura 16), el cual es un equipo de monitoreo de presión que consta de un reactor de 1 L con un cabezal de medición que se inserta en la “boca” de los reactores y un control que usa una interfase infrarroja para transferir los datos.

3.3.1. MATERIALES

- Equipo de medición OxiTop[®] Control
- NaOH en perlas
- Buffer (NaHCO₃)

3.3.2. PROCEDIMIENTO

Se colocaron dentro de cada reactor las mezclas de inóculo y sustrato según las proporciones de sólidos volátiles indicadas en la Tabla 9. Se realizaron 3 repeticiones por cada proporción y también se hicieron blancos o controles para hacer la corrección por el metano endógeno del estiércol. Cabe señalar que los blancos se realizaron en equipos volumétricos, teniendo en cuenta que de acuerdo con la investigación desarrollada por Souto *et al.* (2010) en la cual se evaluaron 3 métodos de medición de CH₄: volumétrico con caracterización del biogás, volumétrico empleando una solución alcalina y manométrico (Sistema Oxitop[®] Control), se comprobó que la producción de CH₄ fue similar en dichos métodos.



Figura 16: Preparación de las muestras en el Sistema OxiTop

Tabla 9: Proporciones de relación Sustrato – Inóculo utilizadas en la prueba PBM

Tratamiento	M1	M2	Blanco
$\frac{\text{g SV sustrato}}{\text{g SV inóculo}}$	0.5	0.25	-
g SV sustrato/l	2.5	1.25	0
g SV inóculo/l	5	5	1.5

Las proporciones elegidas se determinaron utilizando el criterio señalado por Drogg *et al.* (2003), el cual recomienda que $\text{g SV sustrato} / \text{g SV lodo}$ debe ser menor o igual a 0.5.

Cada botella se llenó hasta 0.8 L, dejando un 20 por ciento de espacio libre para el biogás. Ortiz (2011) obtuvo los mejores valores de producción de biogás con volúmenes de espacio de cabeza pequeños (20 a 25 por ciento del volumen total).

Para evaluar solamente la producción potencial de metano de CH_4 se colocaron 4 perlas de NaOH (Parra, 2014) en el compartimento con el que cuenta cada reactor en la boca, de manera

que se absorba todo el CO₂. Es necesario señalar que el mayor porcentaje de biogás está compuesto por CH₄ y CO₂, por lo que se asumirá que la presión generada dentro de cada reactor será solo generada por el CH₄, asimismo se asume que el mayor porcentaje del CO₂ ya fue liberado durante el pretratamiento.

Souto *et al.* (2010) comprobaron la eficiencia de la solución de NaOH en el método volumétrico y de las perlas de NaOH usadas en el Sistema Oxitop® para la captura del CO₂, pues el análisis de las muestras de biogás por cromatografía reveló la ausencia de este gas.

Antes de cerrar los reactores se neutralizó la solución (debido al carácter ácido del agua miel) utilizando bicarbonato de sodio (NaHCO₃) hasta un pH de 7 unidades, debido a que las arqueas metanogénicas necesitan un pH neutro para su correcto funcionamiento.

Se mantuvieron los reactores a temperatura ambiente con el fin de simular las condiciones reales de cambios de temperatura de la finca del cual se tomaron las aguas mieles.

Se realizó un monitoreo diario de la variación de la presión en los reactores (Ver Figura 17) y la prueba de PBM fue detenida cuando el volumen diario de producción de gas fue menor que el 1 por ciento del total de producción de gas (Drosg *et al.*, 2013).



Figura 17: Monitoreo continuo en el Sistema OxiTop

3.3.3. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Debido a que el equipo de medición OxiTop[®] Control es un sistema de monitoreo de presión fue necesario transformar dicha presión a volumen de metano producido por gramo de sólido volátil del sustrato en condiciones estándares de presión y temperatura, de manera que fuera comparable con otras investigaciones. Para realizar esto se tomaron en cuenta las ecuaciones proporcionadas por Cárdenas *et al.*, (2016), las cuales se presentan a continuación:

$$n_{CH_4} = \frac{\Delta P * V_1}{R * T_e}$$

$$V_{CH_4} CE = \frac{n_{CH_4} * R * T_{CE}}{P_{CE}}$$

$$H_{CH_4} = 10 \left(\frac{-673,74}{T_e} + 6,88 \right)$$

$$X_{CH_4 \text{ disuelto}} = \frac{\Delta P}{H_{CH_4}}$$

$$M_{CH_4 \text{ disuelto}} = \frac{M_{H_2O} * X_{CH_4 \text{ disuelto}}}{1 - X_{CH_4 \text{ disuelto}}}$$

$$n_{CH_4 \text{ disuelto}} = M_{CH_4 \text{ disuelto}} * V_u$$

$$V_{CH_4 \text{ disuelto}} CE = \frac{n_{CH_4 \text{ disuelto}} * R * T_e}{\Delta P}$$

$$V_{TCH_4} CE = V_{CH_4} CE + V_{CH_4 \text{ disuelto}} CE - V_{CH_4 \text{ control}}$$

$$PBM = \frac{V_{TCH_4} CE}{gSV}$$

En donde cada parámetro es representado por:

- n_{CH_4} : Moles de CH_4 (mol).
- ΔP : Incremento de la presión (atm).
- V_1 : Volumen libre (L).
- R : Constante de los gases ideales (atmL/K * mol).
- T_e : Temperatura del experimento (K).

- V_{CH_4CE} : Volumen de CH_4 a condiciones estándar (L).
- T_{CE} : Temperatura a condiciones estándar (K).
- P_{CE} : Presión a condiciones estándar (atm).
- H_{CH_4} : Constante de Henry para el CH_4 (atm).
- $X_{CH_4disuelto}$: Fracción molar de CH_4 disuelto.
- $M_{CH_4disuelto}$: Concentración molar del CH_4 disuelto (mol/L).
- M_{H_2O} : Concentración molar del agua (mol/L).
- $n_{CH_4disuelto}$: Moles de CH_4 disuelto (mol)
- V_u : Volumen útil de reactor (L)
- $V_{CH_4disueltoCE}$: Volumen de CH_4 disuelto (L).
- V_{TCH_4CE} : Volumen total de CH_4 condiciones estándar (L).
- $V_{CH_4control}$: Volumen de metano producido por el inóculo sin sustrato (L).
- **PBM**: Potencial Bioquímico de Metano (L/gSV).
- **gSV**: Sólidos volátiles (SV) iniciales del sustrato (gSV).

a) **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para determinar estadísticamente si existe diferencia significativa entre las medias de potencial bioquímico del metano de cada uno de los tratamientos (relaciones aplicadas de sustrato/inóculo). Se realizó un diseño experimental completamente al azar y se aplicó la prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA) a un 95 por ciento de confianza donde la variable independiente fue el potencial bioquímico del metano, el factor fue la relación sustrato/inóculo y las unidades experimentales las constituyeron los reactores anaerobios.

Finalmente se hizo la comparación entre las medias utilizando la Prueba T.

Modelo

$$Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$$

Y_{ij} = Potencial bioquímico de metano obtenido al aplicar la i -ésima relación sustrato/inóculo en el j -ésimo reactor

u = Potencial bioquímico de metano

T_i = Efecto de la i -ésima relación sustrato/inóculo

E_{ij} = Error experimental obtenido al aplicar la i -ésima relación sustrato/inóculo en el j -ésimo reactor

Análisis de varianza

H_0 : las medias del PBM de cada tratamiento son iguales

H_1 : al menos una media de uno de los tratamientos es diferente

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL SUSTRATO

4.1.1. RECONOCIMIENTO DE CAMPO

Se realizaron visitas al Fundo Santa Teresa, a una altitud de 1750 msnm (Ver Figura 18) el cual está situado en el distrito de Villa Rica, provincia de Oxapampa, departamento de Pasco, a fines de mayo y a fines de junio del año 2017. Dicho fundo pertenece al señor Hans Brack, y cultiva café “Geisha” (variedad de la especie Arábica) desde 1974.



Figura 18: Vista lateral de la planta de beneficio de café

La planta de beneficio del café en estudio realiza un proceso húmedo, dentro del cual se identificaron las etapas que se explican a continuación.

EL fruto del café o cerezo del café (Ver Figura 19), después de ser cosechado de manera manual, atraviesa por un proceso de despulpado, para esto se cuenta con una despulpadora de disco, zaranda y repasadora (Ver Figura 20), en esta etapa se retira la cascarilla y la pulpa.



Figura 19: Cerezo del café



Figura 20: Proceso de despulpado del cerezo del café

Producto del despulpado se obtienen las semillas cubiertas por la película plateada, el pergamino y el mucilago, estas son sometidas a un proceso fermentado durante una noche y al día siguiente son lavadas (Ver Figura 21 y Figura 22), por otro lado, los residuos sólidos, constituidos por la pulpa y la cascarilla son colocados en un área de disposición de residuos sólidos (Ver Figura 23).



Figura 21: Área de fermentación y lavado



Figura 22: Área de fermentación y lavado



Figura 23: Área de cascarillas

Para el proceso de lavado se utiliza agua de manantial almacenada en un reservorio (Ver Figura 24).



Figura 24: Reservorio de agua para el lavado del café

Luego del proceso de lavado se logra retirar la mayor parte del mucilago, quedando las semillas cubiertas de la película plateada y el pergamino, estas se exponen al sol (Ver Figura 25) con el objetivo de que pierdan humedad al aire libre, llegando a aproximadamente un 11,5 por ciento de humedad. Seguidamente las semillas pasan a la planta de secado (Ver Figura 26) debido a que estas deben tener una *taza limpia*, es decir estar completamente secas, dentro de un periodo de 72 horas de ser cosechadas, para esto se cuenta con unidades de calor para pozas, secaderos verticales y secaderos tipo Guardiola, obteniéndose entonces el café pergamino seco (Ver Figura 27), el cual está listo para su venta.



Figura 25: Secado al sol de las semillas de café



Figura 26: Planta de proceso seco



Figura 27: Café pergamino seco

Por otro lado, los efluentes del lavado, denominados aguas mieles son neutralizados con cal debido a su carácter ácido y son derivados a una serie de pozas de sedimentación (Ver Figura 28 y Figura 29), para finalmente devolver el agua clarificada al río.



Figura 28: Efluente del beneficio húmedo del café o aguas mieles



Figura 29: Pozas de sedimentación

Es importante señalar que los residuos generados, producen impactos en el ambiente, ya sea el caso de la contaminación de los ríos por el vertimiento de las aguas mieles, la contaminación del aire por los olores que se disipan producto de la fermentación de los residuos sólidos, así como la contaminación del suelo producto de los lixiviados de los residuos sólidos que se escurren e infiltran.

4.1.2. TOMA DE MUESTRA

Antes de la toma de muestra, se caracterizó en primer lugar la producción de café, se evaluó la concentración y volumen de generación de aguas mieles que se genera en la planta de beneficio húmedo del café de la Finca Santa Teresa.

La planta tiene una producción anual de 5000 quintales, equivalentes a 187 500 kg de cerezo o 41 400 kg de café pergamino seco (cps), los cuales se cosechan en diferentes proporciones a lo

largo del año. Una primera etapa, denominada “rebusca”, tiene lugar entre abril y mayo, generando aproximadamente un 15 por ciento de la producción anual. Luego de esta etapa, se encuentran la 1ra y 2da plena en los meses de junio y julio respectivamente, con una producción del 50 por ciento y 30 por ciento de la cosecha anual. Finalmente se encuentra la etapa de raspado en el mes de agosto, con una producción aproximada del 5 por ciento de la cosecha anual. (Ver Figura 30 y Tabla 10)

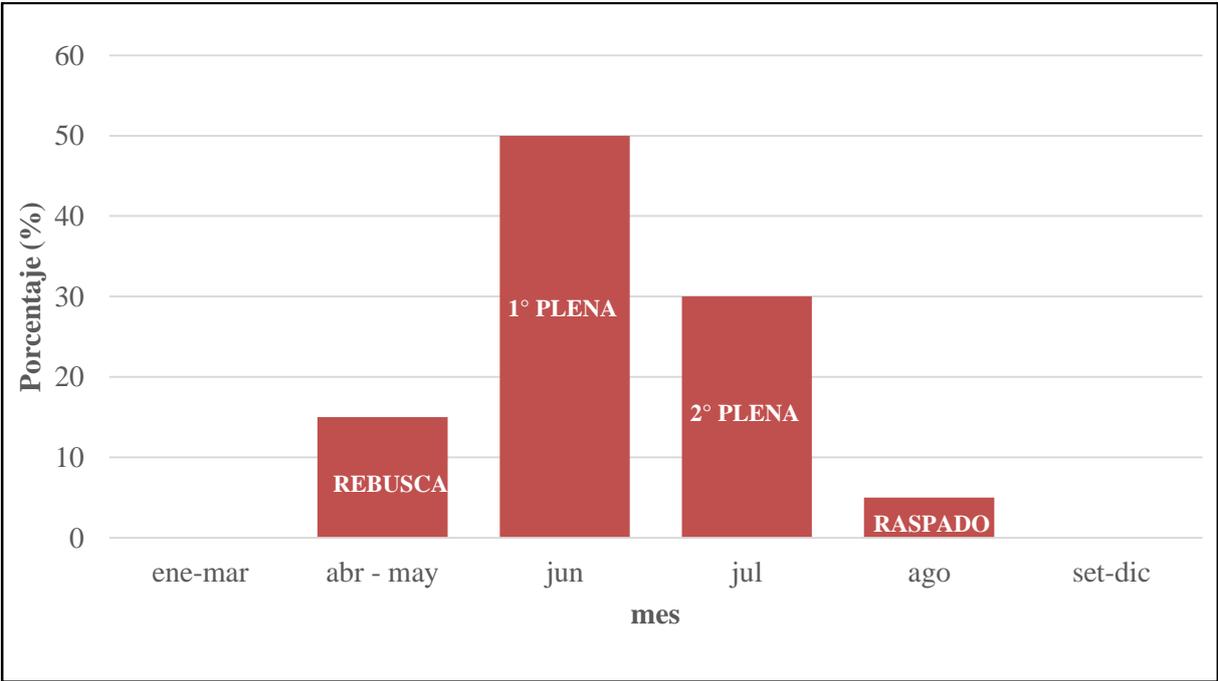


Figura 30: Producción promedio de café por campaña

Tabla 10: Producción promedio de café por campaña

CAMPAÑA	REBUSCA	1° PLENA	2° PLENA	RASPADO	TOTAL
quintales	750	2500	1500	250	5000
kg cerezo	187500	625000	375000	62500	1250000
Kg cps	41400	138000	82800	13800	276000

En cuanto a la producción diaria de café, se alcanza un máximo de 25 000 kg de café cerezo o 5520 kg de cps y una producción mínima de 1 500 kg de café cerezo o 331 kg de cps, sin embargo, de acuerdo a la información brindada por el dueño de la planta de beneficio húmedo del café, el gasto de agua diario es constante (6820 litros por día), es decir siempre se usa la misma cantidad de agua para el lavado y durante los días de mayor producción se reutiliza el agua (para este propósito se cuenta con 2 bombas de agua). Es importante considerar que el hecho de reutilizar el agua constituye una ventaja, al mejorar la eficiencia en el uso de recursos, sin embargo se debe considerar que durante los días de mayor producción se generará un efluente más concentrado dado que al reutilizar el agua de lavado se incrementa la carga orgánica. En promedio, durante los días de producción máxima se usan 1,24 litros de agua por kg de cps y durante los días de producción mínima se usan 20,6 litros de agua por kg de cps (Ver Tabla 11).

Tabla 11: Producción de café diaria y gasto de agua diario.

Producción de café		Gasto de agua	
Diaria		Diario	Por kg de cps
Máxima	25 000 kg cerezo o 5 520 kg cps / día	6 820 L / día	1,24 L / kg cps
Mínima	1 500 kg cerezo o 331 kg cps / día	6 820 L / día	20,6 L / kg cps

Según Zambrano *et al.* (2006), en un beneficiadero tradicional se consumen entre 40 y 50 litros de agua/kg cps para despulpar, transportar la pulpa, lavar y clasificar el café y en un beneficiadero con despulpado y transporte de pulpa sin agua, el cual es el caso de la planta de

beneficio en estudio, se realiza un consumo de agua de lavado entre 20 y 25 litros de agua/kg cps.

Considerando el hecho de que hay épocas en las que la concentración del agua miel es mucho mayor, se tomaron muestras de las aguas mieles a fines del mes de mayo y a fines del mes de junio, teniendo en cuenta que los meses de mayor producción son junio y julio.

Durante la toma de muestras se consideró todas las medidas señaladas en la metodología en cuanto a la preservación y almacenamiento de las muestras. (Ver Figura 31 y Figura 32)



Figura 31: Toma de muestras de aguas mieles



Figura 32: Muestras de agua miel

4.1.3. PRETRATAMIENTO

El pretratamiento se realizó de acuerdo al proceso señalado en la metodología, fermentación espontánea y anaeróbica durante 5 días, a temperatura de 30°C y al pH natural de las aguas mieles (aproximadamente 3,5 unidades) de manera que se aíslen los procesos hidrolíticos, acidogénicos y acetogénicos de la etapa metanogénica.

Como se mencionó anteriormente, el café pasa por un proceso de fermentación previa para retirar el mucílago antes de la etapa de lavado. En la fermentación del café ocurren varios procesos, básicamente las levaduras y las bacterias del mucílago mediante sus enzimas naturales oxidan parcialmente los azúcares y producen energía (ATP), etanol, ácido láctico, ácido acético y dióxido de carbono. Además, se obtienen otros alcoholes como propanol, butanol, ácidos como el succínico, fórmico, butírico y sustancias olorosas como aldehídos, cetonas y ésteres. También se degradan los lípidos del mucílago de café y cambian el color, el olor, la densidad, la acidez, el pH, los sólidos solubles, la temperatura y la composición química y microbiana de este sustrato (Puerta, 2012).

De acuerdo a lo mencionado líneas arriba, el pretratamiento consistió en aprovechar los microorganismos anaerobios propios de las aguas mieles para aumentar la degradación del sustrato hasta compuestos de cadena corta.

Se colocaron las muestras a una temperatura de 30°C dado que de acuerdo a la bibliografía revisada, los microorganismos fermentadores del café son mesófilos. La mayoría de las levaduras crecen entre 5 y 39°C, con óptimos de 28 a 35°C, algunas se desarrollan entre 3 y 10°C y todas mueren por encima de 50°C. Las bacterias lácticas crecen entre 25 y 30°C, pero pueden reproducirse a 0°C, mientras que las bacterias entéricas se desarrollan entre 22 y 37°C. Asimismo no se modificó el pH natural de las aguas mieles dado que de acuerdo Montgomery y Bochmann (2014) las enzimas que degradan celulosa, hemicelulosa y almidón trabajan mejor a pH entre 4 y 6 y a temperaturas entre 30 y 50 °C, por lo tanto, una etapa de preacidificación incrementa la velocidad de degradación creando un ambiente adecuado para las enzimas.

Otro efecto positivo se produce debido a que además de H₂ y ácidos grasos volátiles, se forma CO₂ durante la esta etapa. El CO₂ puede presentarse en tres formas: a valores de pH altos está en la forma de ion carbonato CO₃⁻², a pH neutro como HCO₃⁻ y a pH ácido como CO₂, el cual es volátil y se libera en el gas producido en la hidrólisis. Esto significa que habrá menos CO₂ en el gas producido en la etapa metanogénica y por lo tanto mayor concentración de CH₄.

Finalmente, otra ventaja constituye que los microorganismos de la fase hidrolítica son menos sensibles a muchos químicos (como fenoles, amonio, etc.) que los microorganismos de la etapa metanogénica, de esta forma muchos inhibidores químicos pueden ser destruidos en la primera etapa (Montgomery y Bochmann, 2014).

4.1.4. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA

En la Tabla 12 y Tabla 13 se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica del sustrato tanto antes como después del pretratamiento.

Tabla 12: Caracterización fisicoquímica del sustrato sin ningún tratamiento

Parámetros	Unidad	Mayo	Junio
Potencial de Hidrógeno (pH)	-	3.5	3.4
Nitrógeno total (N)	mg/L	-	280
Fósforo total (P)	mg/L	-	4.76
Carbono total (C)	mg/L	-	810
Relación C/N	-	-	15.63
Conductividad eléctrica (CE)	dS/m	0.17	0.2
Sólidos Totales (ST)	g/L	3.11	5.16
Sólidos Volátiles (SV)	g/L	2.78	4.62
Sólidos Fijos (SF)	g/L	0.33	0.54
SV/ST	-	0.89	0.9
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg O ₂ /L	4090	6720
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	mg O ₂ /L	-	1468.46
DBO/DQO	-	-	0.22

Tabla 13: Caracterización fisicoquímica del sustrato luego del pretratamiento

Ácidos Grasos Volátiles (AGV)	Ac. Acético	mg/L	-	1559.3
	Ac. Propiónico	mg/L	-	498.3
	Ac. Isobutírico	mg/L	-	160.4
	Ac. Butírico	mg/L	-	321.7
	Ac. Isovalérico	mg/L	-	170.2
	Ac. Valérico	mg/L	-	324.3
	Ac. Isocaproico	mg/L	-	0.0
	Ac. Caproico	mg/L	-	157.0
	Ac. Heptanoico	mg/L	-	0.0

a) Potencial de Hidrógeno (pH)

De acuerdo con Bautista (2010), el pH representa el grado de acidez presente en el biodigestor, su valor óptimo oscila entre 6.6 y 7.6. Con valores de pH por debajo de 5 y por encima de 8 se corre el riesgo de inhibir el proceso o incluso detenerlo. Es importante mantener este parámetro constante debido a que la actividad de la población metanogénica es altamente vulnerable a los cambios de pH comparado con las demás poblaciones presentes en los lodos (Quintero y Rondón, 2012). Martí (2006) señala que si el pH fuera menos de 6 produciría un biogás pobre en metano, el cual tiene menores cualidades energéticas. Como se observa en los resultados, el agua miel presenta un pH aproximado de 3.5 unidades, dicho carácter ácido podría ser considerado una desventaja para la degradación anaerobia, por lo que se debe controlar de manera cuidadosa este parámetro.

Muchos autores afirman que la degradación anaerobia es más eficiente a valores de pH cercanos a la neutralidad, sin embargo, diferentes estudios sobre la influencia del pH indican que no se puede generalizar, debido a aspectos como las características fisicoquímicas del sustrato que pueden aportar capacidad buffer y a que cada grupo microbiano implicado en la degradación anaerobia tenga un rango de pH óptimo específico (Parra, 2015).

b) Relación Carbono-Nitrógeno (C/N)

De acuerdo con Soria *et al.* (2000), la relación óptima de C/N para el crecimiento de los microorganismos es de 30:1, cuando la relación es muy estrecha (10:1) hay pérdidas de nitrógeno asimilable, lo cual reduce la calidad del material digerido. Si la relación es muy amplia (40:1) se inhibe el crecimiento debido a falta de nitrógeno.

Al Seadi *et al.* (2008) recomiendan una relación C: N: P: S de 600:15:5:1.

El agua miel reportó una relación C/N de 15.63, esto indica que hay una proporción de nutrientes con un contenido de nitrógeno un poco elevado. La concentración de nitrógeno total en el agua miel fue de 280 mg/L. La experiencia señala que la inhibición por nitrógeno en el proceso de producción de biogás debe ser esperada a una concentración total de nitrógeno amoniacal de 3000-3500 mg/L (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, 2010), por lo que no se espera algún tipo de inhibición al potencial contenido de amoniacal.

Asimismo, no se ajustó la relación C/N con otro sustrato dado que el objetivo principal del proyecto fue evaluar el potencial de producción bioquímico del agua miel del beneficio húmedo del café y no de una mezcla de sustratos en co-digestión. Sin embargo, se considera que sería ideal ajustar dicha relación en un potencial proceso de digestión a escala piloto.

c) Conductividad Eléctrica (CE)

El agua miel presentó un valor de conductividad eléctrica aproximada de 0.2 dS/m, este es un valor relativamente bajo, lo cual indica un bajo contenido de sales en el agua miel. Es importante tener en cuenta que una elevada conductividad eléctrica implicaría que los iones libres aumenten la presión osmótica del medio, por lo que un medio más salino puede provocar la deshidratación y posterior muerte de las bacterias (Ortiz, 2011).

d) Sólidos Totales (ST) y Sólidos Volátiles (SV)

La concentración de ST es variable, observándose una mayor carga en el mes de junio (5.16 g/L) comparado con el mes de mayo (3.11 g/L), esto se explica por el hecho de que durante el mes de junio se realiza la 1era plena de la cosecha del café, incrementándose asimismo la concentración de las aguas de lavado.

Por otro lado la relación SV/ST indican que aproximadamente el 90 por ciento de este efluente contiene materia orgánica. Una relación SV/ST elevada confirma el alto contenido de materia

orgánica biodegradable y una relación baja se relaciona generalmente con presencia de material vegetal de difícil degradación, lignina (Parra *et al.*, 2015), por lo que se considera que el agua miel es adecuada para la biodegradación.

e) Demanda química de Oxígeno (DQO)

La DQO del agua miel varió también por las mismas razones explicadas en el caso del contenido de sólidos totales. Se alcanzó una DQO máxima de 6720 mg/L. Al comparar la concentración en materia orgánica del agua miel con la de las aguas negras urbanas, entre 500 a 1000 mg/L, resulta ser de 7 a 13 veces mayor. Cabe señalar que la alta carga orgánica de un efluente lo señala como un potencial sustrato para la degradación anaerobia.

f) Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

El contenido de ácidos grasos volátiles en la muestra de aguas mieles se determinó por cromatografía de gases luego del pretratamiento de las mismas.

La metodología para la caracterización del contenido de AGV fue desarrollada en el Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología Ambiental (CIQTOBIA) del Departamento Académico de Química de la Facultad de Ciencias de la UNALM. Cabe señalar que dicha metodología fue detallada en la sección 3.1.

Como se observa en la Figura 33, se determinaron los siguientes AGV de cadena corta: Acético, Propiónico, Isobutírico, Butírico, Isovalérico, Valérico, Isocapróico, Caprónico y Heptanoico. Aproximadamente el 50 por ciento de los ácidos grasos volátiles correspondieron al ácido Acético, en segundo lugar se encontró al ácido Propiónico. La predominancia de dichos ácidos de cadena muy corta (compuestos por dos y tres átomos de carbono respectivamente) era un resultado esperado en las muestras de aguas mieles ya que el objetivo del pretratamiento fue separar las etapas de hidrólisis, acidogénesis y acetogénesis, siendo el principal producto de

estas el ácido Acético. El ácido acético es el principal precursor del metano en la fase final denominada metanogénesis, lo que indica un resultado satisfactorio del pretratamiento.

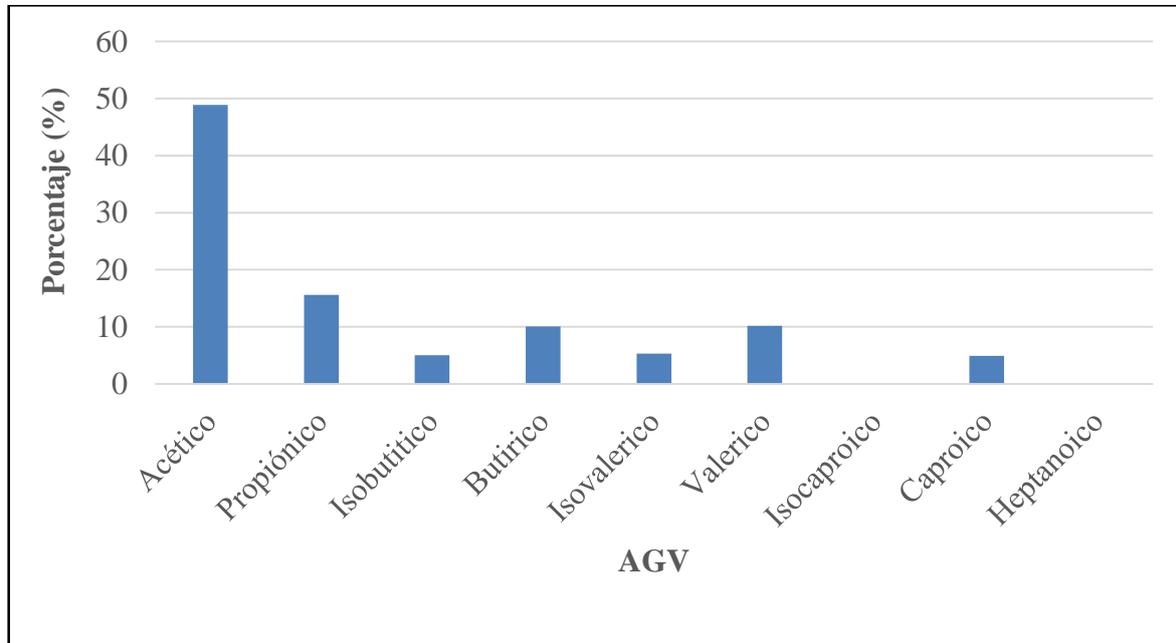


Figura 33: Composición en porcentaje del contenido de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) en las aguas mieles

4.2. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL INÓCULO

4.2.1. TOMA DE MUESTRA

Se tomaron muestras de 20 kg estiércol del ganado vacuno del establo más cercano al Fundo Santa Teresa siguiendo las pautas del «Protocolo para el muestro de la biomasa residual» del Atlas del Potencial Energético de la Biomasa Residual en Colombia. Se coleccionarán muestras, guardándolas en bolsas cerradas herméticamente, eliminando el aire, de manera que no se contamine, seguidamente fueron etiquetadas con la información requerida y guardadas en un congelador hasta realizar los análisis respectivos.

4.2.2. PRETRATAMIENTO

La incubación del inóculo (estiércol diluido en agua) durante 5 días, solo produjo dióxido de carbono, asegurando que se eliminara la mayor parte del material biodegradable del mismo.

4.2.3. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA

En la Tabla 14 se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica del inóculo.

Tabla 14: Caracterización fisicoquímica del inóculo

Parámetros	Unidad	Valor
Potencial de Hidrógeno (pH)	-	6.73
Conductividad Eléctrica (CE)	dS/m	4.32
Alcalinidad Total (AT)	mg CaCO ₃ /L	3140
Sólidos Totales (ST)	g/L	18.14
Sólidos Volátiles (SV)	g/L	6.32
Sólidos Fijos (SF)	g/L	11.82
SV/ST	-	0.35
Carbono Total (C)	mg/L	4030.00
Nitrógeno Total (N)	mg/L	784.00
Relación C/N	--	5.14
Fósforo Total (P)	mg/L	192.06
Potasio Total (K)	mg/L	845.00
Calcio Total (Ca)	mg/L	1120.00
Magnesio Total (Mg)	mg/L	380.00
Sodio Total (Na)	mg/L	337.50
Hierro Total (Fe)	mg/L	430.13
Cobre Total (Cu)	mg/L	1.16
Zinc Total (Zn)	mg/L	13.96
Manganeso Total (Mn)	mg/L	16.26
Boro Total (B)	mg/L	3.00
Actividad metanogénica específica (AME)	g DQO/g SSV*día	0.015

a) Potencial de Hidrógeno (pH) y Alcalinidad Total

De acuerdo a los resultados, el inóculo presentó un pH de 6.73 unidades mientras que el agua miel presentó un pH de 3,4 unidades, es importante destacar que el carácter ácido de la agua miel es equilibrado con el carácter básico del estiércol, llegando a un pH cercano a 6 durante su mezcla en las proporciones determinadas para los tratamientos planteados.

Por otro lado, la alcalinidad total que presentó el estiércol fue de 3140 mg CaCO₃/L. Estudios previos han demostrado que valores de la alcalinidad de bicarbonato mayor a 2500 mg/L aseguran un buen control de pH (Martí, 2006).

b) Conductividad Eléctrica (CE)

El inóculo presentó un valor de conductividad eléctrica de 4,33 dS/m, este valor, así como el presentado para el caso de las aguas mieles, tampoco es alto, por lo que no se espera interferencia significativa en la actividad de los microorganismos debido a variaciones en la presión osmótica del medio.

c) Sólidos Totales (ST) y Sólidos Volátiles (SV)

En el caso del inóculo, se tiene una relación de SV/ST de 0.35, lo que indican que aproximadamente el 35 por ciento de este contiene materia orgánica.

d) Relación Carbono-Nitrógeno (C/N)

Se obtuvo una relación C/N bastante baja (5.14), debido a que parte del carbono se perdió después del pretratamiento en forma de CO₂ y otra parte se perdió en el filtrado del estiércol para la preparación del inóculo.

e) Metales

De acuerdo con Chen *et al.* (2008) se han establecido diversos umbrales de toxicidad para metales alcalinos-térreos como el calcio, magnesio, sodio y potasio. Asimismo, existen

relaciones antagónicas y sinérgicas entre los mismos, de manera que dichas interrelaciones alcanzan equilibrios distintos para cada caso particular.

En el caso de los metales pesados, estos poseen un efecto inhibitor cuando interfieren con el sistema enzimático de los organismos, sin embargo, bajas concentraciones de ciertos metales pesados son necesarias para la actividad microbiana. Cobalto, molibdeno y níquel son metales pesados importantes para la actividad de los productores de metano y sus enzimas (Schnürer y Jarvis, 2010). Es difícil de decir que concentraciones de metales pesados causan inhibición y cuales son tóxicas debido a que muchos de los resultados reportados en la literatura varían considerablemente. El rango es amplio en términos de concentraciones umbrales para varios de los metales pesados, pero están en ordenes de 100 mg/L. Algunos metales como el hierro, sin embargo, son relativamente no tóxicos y pueden aparecer en el proceso en concentraciones de cientos de gramos por litro sin causar ningún problema. Una buena explicación para esto es que los metales se unen a diferentes compuestos orgánicos (quelatos) en el proceso o forman precipitados como los sulfuros. El nivel en el cual la inhibición ocurre es incluso afectado por el hecho de que diferentes metales combinados pueden tener efectos antagónicos y sinérgicos entre ambos (Schnürer y Jarvis, 2010).

El inóculo presentó concentraciones medias a elevadas de calcio, magnesio, potasio, sodio y hierro. Por otro lado, metales como el cobre, zinc, boro y manganeso se detectaron en concentraciones muy bajas.

f) Actividad Metanogénica Específica (AME)

Se determinó una Actividad metanogénica específica (AME) de 0.015 g DQO/g SSV*día. Dicha AME no es muy alta en comparación de otros inóculos como por ejemplo lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, o lodos de reactores UASB, los cuales pueden

alcanzar AME de 0.2 o 0.5 g DQO/g SSV*día (Orozco *et al.*, 1992), esto es debido a que estos últimos están especializados en la degradación anaerobia de materia la orgánica. Sin embargo se optó por usar estiércol fresco de una granja aledaña a la zona de producción de café con el fin de simular las condiciones reales que podrían tomar lugar en el área de estudio durante el arranque de un potencial biodigestor.

En la Figura 34 se presentan los resultados de la determinación de la AME.

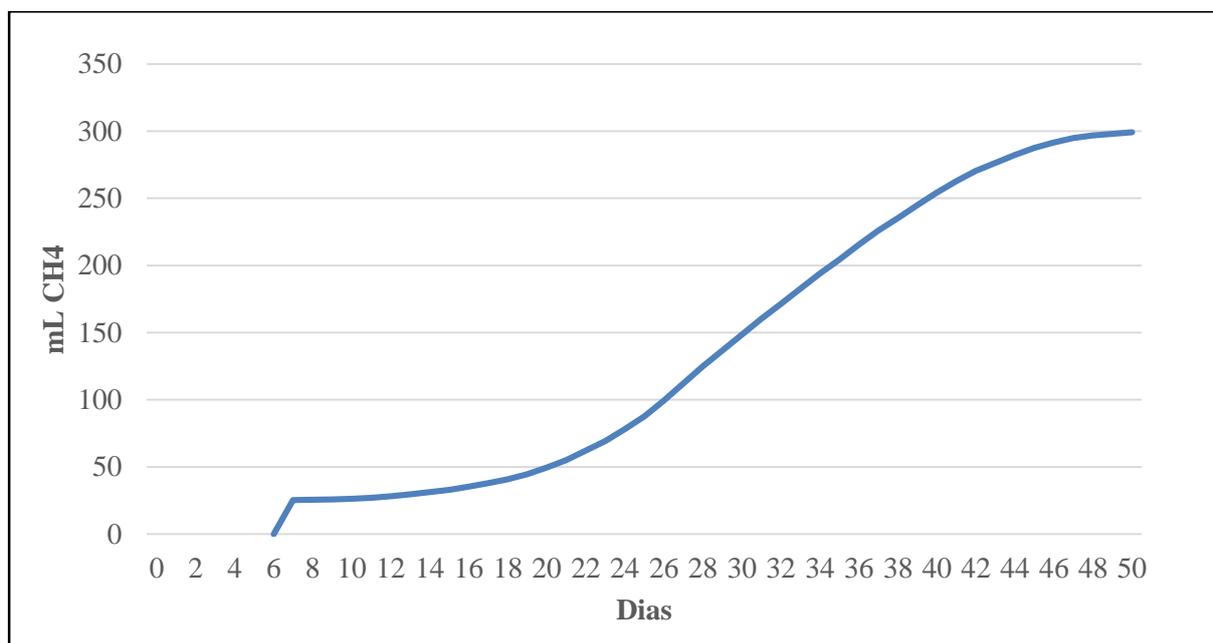


Figura 34: Determinación de la Actividad Metanogénica Específica del Inóculo

4.3. DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METANO MEDIANTE LA PRUEBA DEL POTENCIAL BIOQUÍMICO DEL METANO (PBM)

El monitoreo se comenzó el día 12 de julio del 2017 a las 12:50 horas y se detuvo el día 30 de agosto del 2017 a las 12:50 horas, es decir duró 50 días. El sistema Oxitop[®] Control realizó mediciones automáticas cada 4 horas, es decir a las 12:50, 16:50, 20:50, 00:50 y 04:50 horas.

Antes de presentar los resultados es importante aclarar que los blancos generaron un volumen promedio de 32 mL de CH₄ /g SV de inóculo, este gas es producto del contenido de materia orgánica residual en el inóculo, dicho metano "endógeno" fue restado a los resultados de cada uno de los reactores de modo que se evalúe la producción potencial de metano solamente en función al sustrato. La producción de gas de los blancos no excedió el 20 por ciento de la producción total de gas (VDI, 2006), lo que asegura resultados confiables (Drosg *et al.*, 2013).

Cabe señalar que el aire dentro de cada reactor no fue retirado, se recomienda llenar de nitrógeno el espacio libre para no alterar los resultados debido a que durante el proceso algunas bacterias facultativas pueden utilizar el oxígeno del aire que se encuentra dentro de cada reactor durante el inicio del proceso, disminuyendo así la presión al principio, sin embargo el objetivo es realizar un proceso anaerobio, es por eso que se restó dichas variaciones en la presión causadas por el volumen de oxígeno inicial dentro de cada reactor al resultado final.

En la Figura 35 se presentan los resultados de variación promedio diaria de volumen de metano generado cada 4 horas (en porcentaje). Los picos de producción de metano se alcanzaron en el rango de máximas temperaturas diarias, es decir a las 12:50 y a las 16:50 horas, comprobándose que la velocidad de producción de metano es directamente proporcional a la temperatura. Incluso pequeños cambios en temperatura (durante el periodo de monitoreo se alcanzaron temperaturas mínimas y máximas entre aproximadamente 14°C y 19°C) demuestran aumentar o reducir la velocidad de producción de biogás. Esto también es señalado por Parra (2015).

Es necesario mencionar además que los microorganismos que realizan la digestión anaerobia alcanzan producciones de metano óptimas a temperaturas mesofílicas, aproximadamente entre 37 a 43°C, y termofílicas, aproximadamente entre 50 a 60°C (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, 2010). A temperaturas menores declina la velocidad de crecimiento y actividad de

los metanógenos. Sin embargo, las proporciones de Sustrato / Inóculo usadas en el presente trabajo produjeron metano aun a una temperatura ambiental de 16°C (temperatura promedio durante el periodo que duro el ensayo del PBM). Por lo tanto se espera obtener una mayor velocidad en la degradación anaerobia del sustrato si se realizan pruebas en el área donde se generan las mencionadas aguas mieles debido a que la temperatura promedio anual en Villa Rica es de 17,7°C.

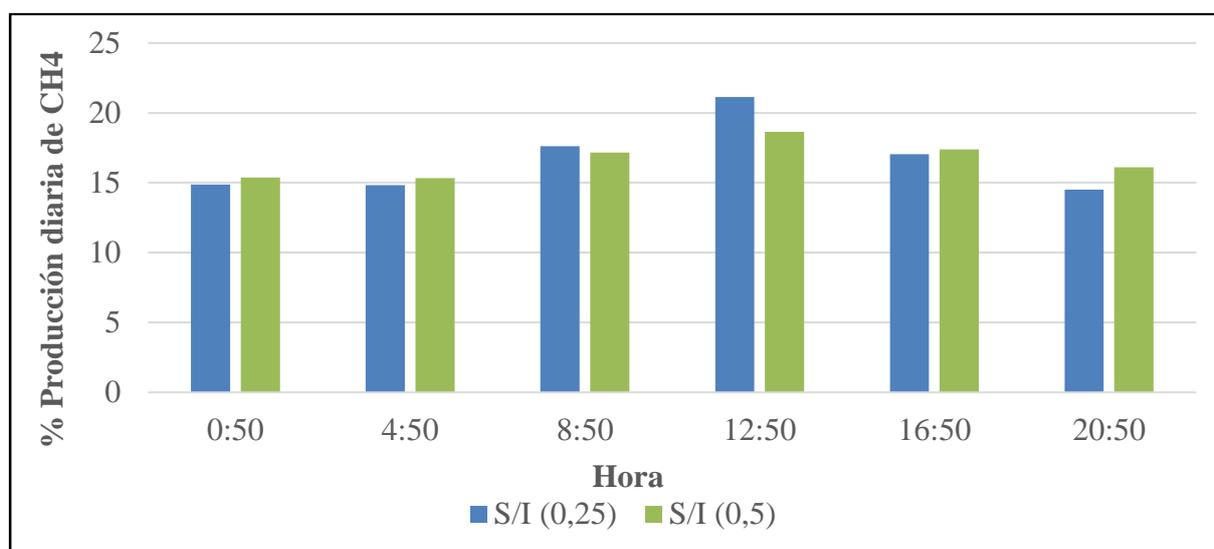


Figura 35: Variación promedio diaria de la producción de metano medida cada 4 horas

De acuerdo a los resultados presentados en la Figura 36, se observa que el mayor porcentaje de metano (más del 70 por ciento) se produjo entre los días 12 al 42 en ambas proporciones. Esto es debido a que los microorganismos primero requieren un periodo de adaptación al sustrato (entre los días 1 y 11 aproximadamente), luego de esta etapa se realiza la biodegradación de la mayor parte de las aguas mieles (durante aproximadamente 30 días) y finalmente comienza un declive en la producción de metano (a partir del día 43) debido a que la cantidad de sustrato con la que contaban los microorganismos se ha consumido considerablemente. Cabe reiterar que el inóculo que se utilizó fue preparado a partir de estiércol fresco vacuno, el cual fue caracterizado reportando una Actividad metanogénica específica (AME) de 0,015 g DQO/g SSV*día, la cual

es relativamente baja, sin embargo se optó por usar estiércol fresco con el fin de simular las condiciones reales que podrían tomar lugar en el área de estudio. Es por esto que se espera que en un potencial biodigestor a escala real se incremente la velocidad de degradación anaerobia por efecto de la especialización de las comunidades microbianas presentes en los lodos.

Cabe señalar que se detuvo la medición cuando el porcentaje de metano producido diario fue menor del 1 por ciento del volumen total, como se observa en la Figura 36.

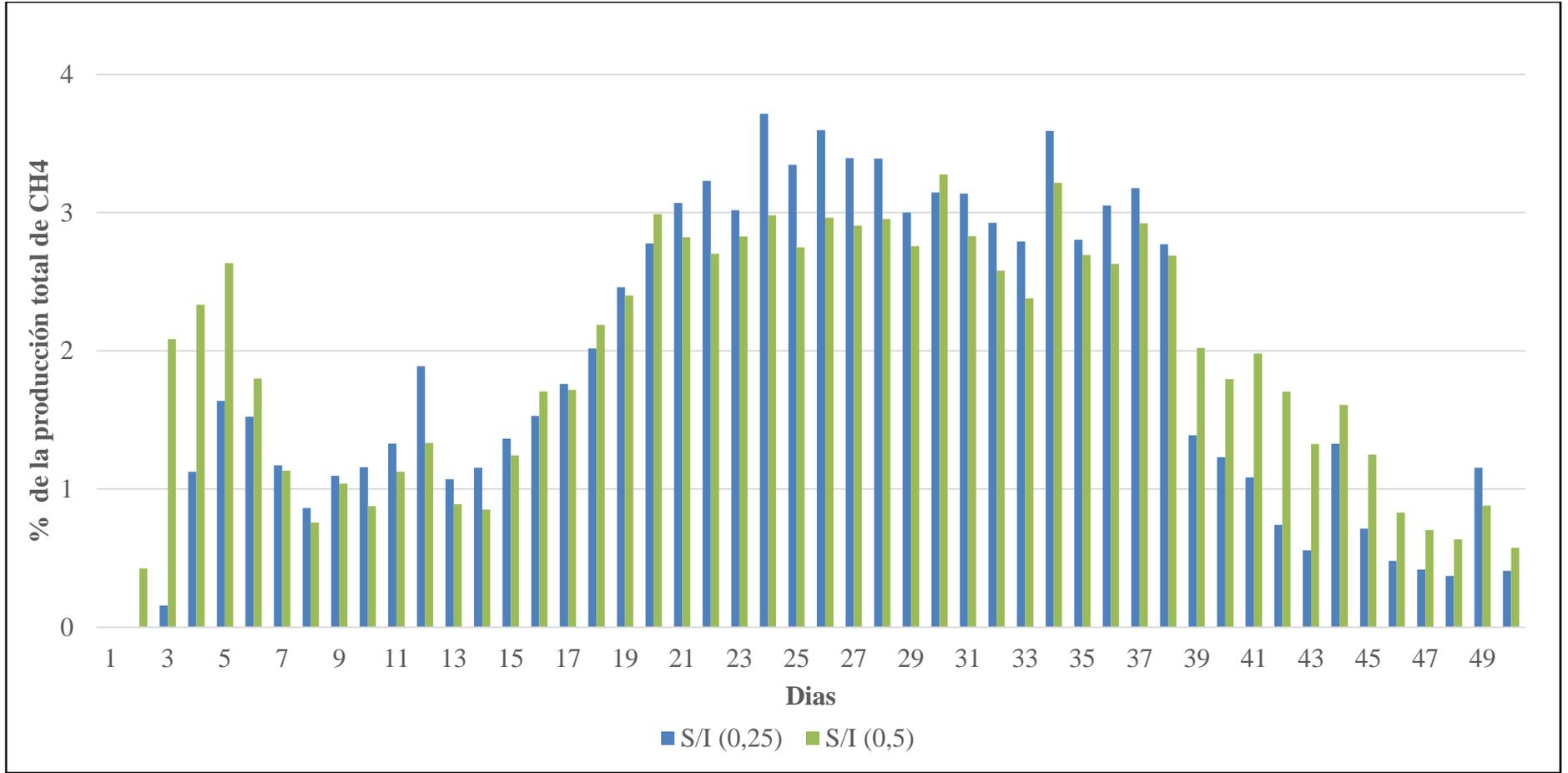


Figura 36: Variación promedio de la producción de metano diaria

En la Figura 37 se presenta el PBM, es decir el volumen acumulado de metano en mililitros por gramo de sólido volátil de sustrato ($\text{mL CH}_4/\text{g SV sustrato}$). Como se observa, los resultados fueron bastante similares gráficamente para cada una de las tres repeticiones, sin embargo fue necesario realizar el análisis estadístico respectivo.

Para la evaluación estadística se utilizó un diseño completamente al azar y se utilizó el software Minitab. Antes de realizar el análisis de varianza (ANOVA) se verificó los supuestos de normalidad de errores y el de homogeneidad de varianzas, cumpliéndose ambos en las dos proporciones. El análisis de varianza a un 95 por ciento de confianza verificó que las medias de las dos proporciones propuestas no son iguales. Finalmente se utilizó la prueba “t” de student para concluir que a un 95 por ciento de confianza existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la relación igual a 0.25 g SV sustrato/g SV inóculo produce un mayor Potencial Bioquímico del Metano que la relación 0.5.

En la Figura 38 se presenta el PBM promedio para las dos proporciones de g SV sustrato/g SV inóculo propuestas en $\text{ml CH}_4/\text{g SV sustrato}$.

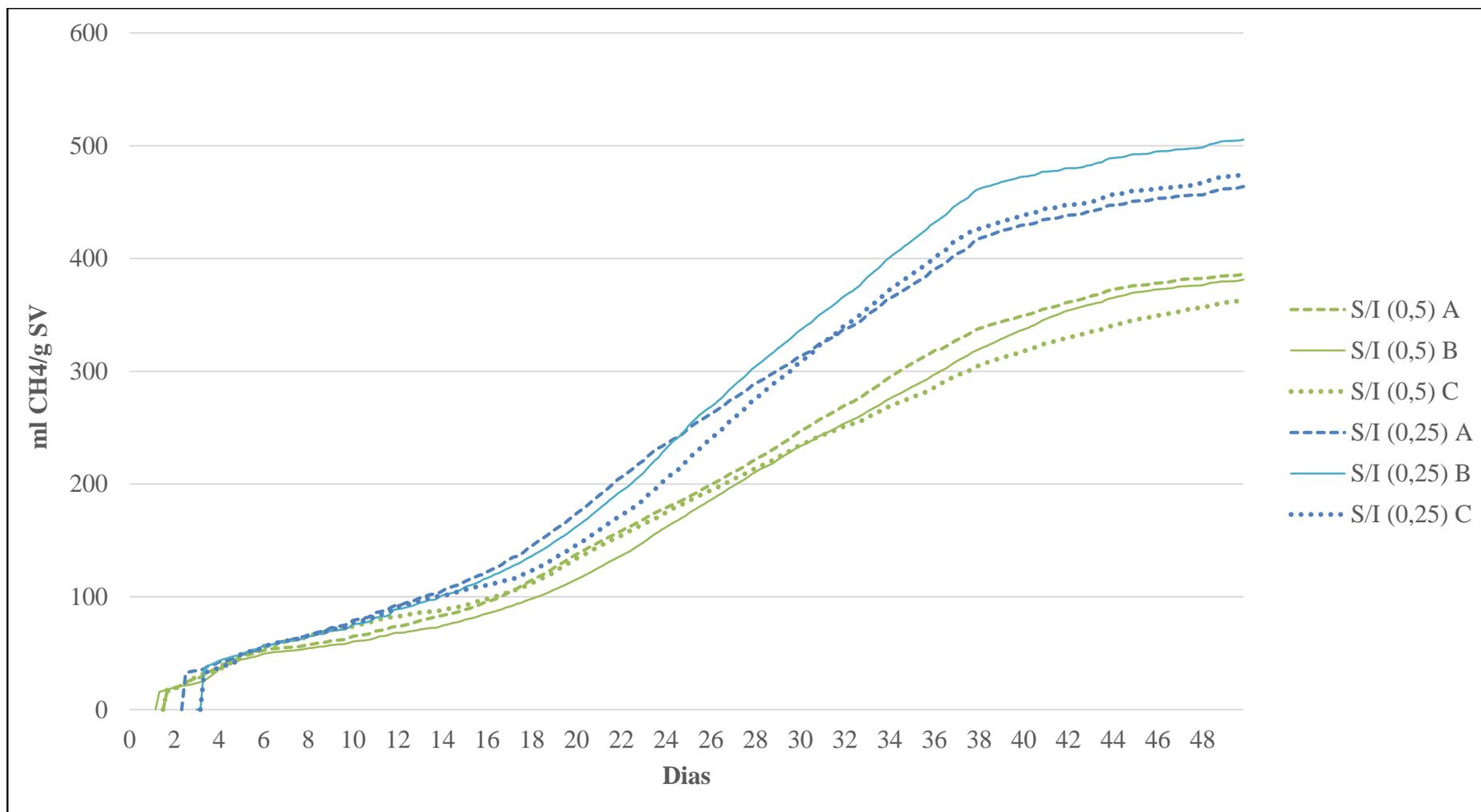


Figura 37: Potencial bioquímico del metano (PBM) calculado para cada repetición

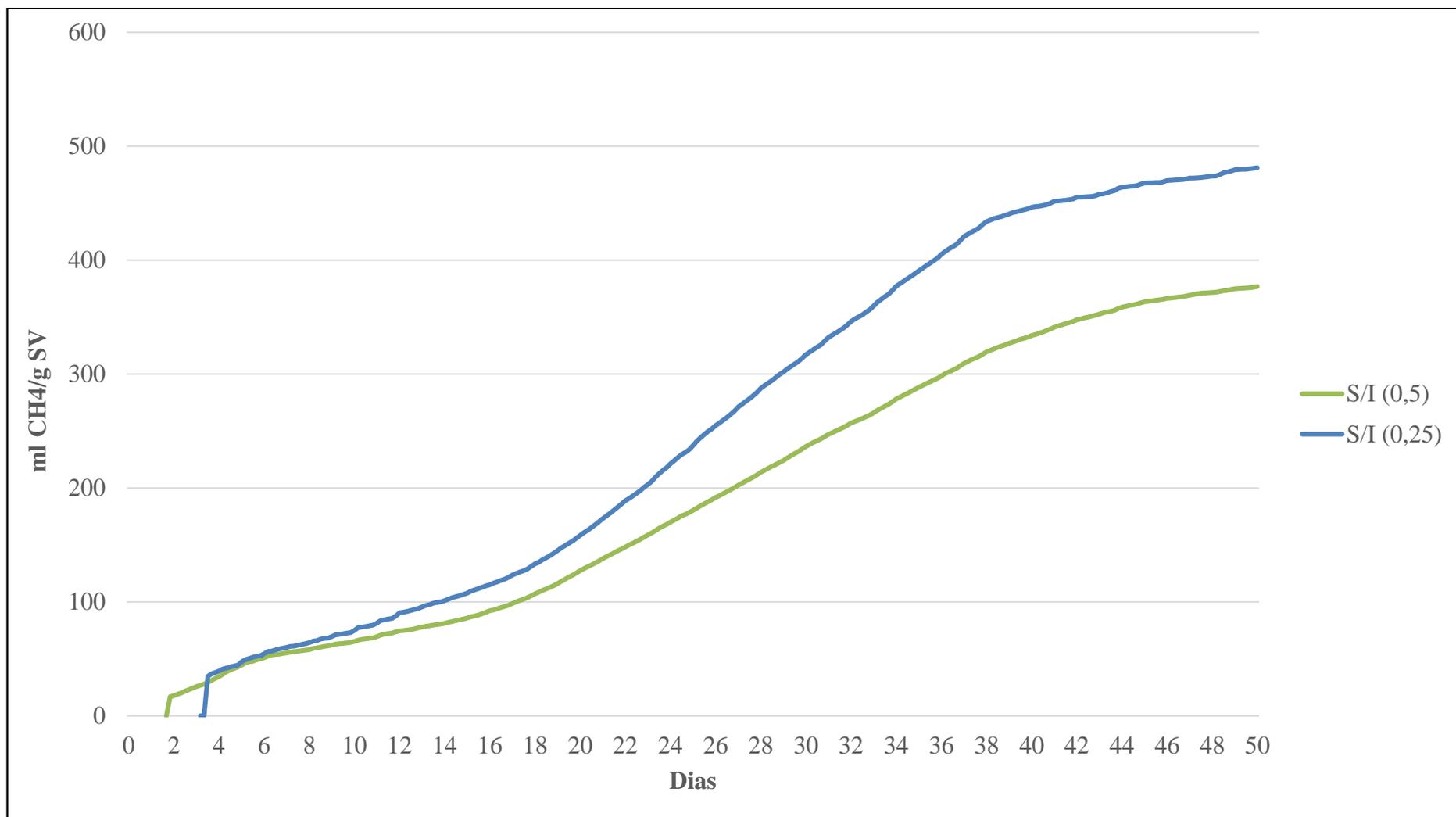


Figura 38: Potencial bioquímico del metano (PBM) promedio para cada proporción de sustrato/inóculo

En la Tabla 15 se presenta el PBM en ml CH₄/g SV sustrato y además en ml CH₄/g DQO sustrato para condiciones estándares de presión y temperatura.

Tabla 15: Resultados de Potencial Bioquímico de Metano

g SV sustrato/ g SV inóculo	PBM (ml CH ₄ /g SV sustrato)	PBM (ml CH ₄ /g DQO sustrato)
0.25	481.2	329.0
0.5	377.0	257.7

De acuerdo a los resultados se comprueba estadísticamente que el PBM, es decir el volumen acumulado de metano en mililitros por gramo de sólido volátil de sustrato (mL CH₄/g SV sustrato) de la relación igual a 0.25 g SV sustrato/g SV inóculo produce un mayor volumen de metano que la relación de 0.5.

Asimismo, de acuerdo a los resultados del PBM en ml CH₄/g DQO sustrato se comprueba que el procedimiento llevado a cabo fue correcto dado que no se superó la producción máxima teórica de metano en condiciones estándares por gramo de DQO, la cual es de 0.35 L CH₄/g DQO sustrato, Dicha producción máxima se estimó a partir del equivalente de oxígeno del metano de acuerdo al siguiente equilibrio químico en condiciones normalizadas de presión y temperatura (P=760 mm Hg y T=0°C).



Es importante señalar que al no conocerse el PBM del sustrato en estudio fue necesario plantear distintas diluciones de sustrato de modo que se asegure que el potencial de metano no fuera subestimado debido a la sobrecarga materia orgánica o potencial inhibición como señala Angelidaki *et al.* (2009). Asimismo se consideró que la concentración del inóculo debe ser siempre más alta que la del sustrato (en términos de sólidos volátiles), debido a que si se tiene

más cantidad de sustrato de la que pueden degradar los microorganismos por unidad de tiempo se estaría también subestimando el PBM. De acuerdo a lo mencionado, se observa que a medida que la relación de g SV sustrato / g SV inóculo se acerca a 1 se reportan menores valores de PBM, como se observa en la Tabla 16. Según Angelidaki *et al.* (2009), la proporción sustrato/inóculo debe ser reconocida como uno de los mayores parámetros que afectan los resultados de los ensayos anaerobios.

Las proporciones elegidas en el presente trabajo fueron tomadas en función a la proporciones que aplicaron otros investigadores, como se muestra en la Tabla 16. Asimismo, Drogg *et al.* (2003) indica que de acuerdo al VDI (2006) la proporción de SV sustrato / SV lodo debe ser menor o igual a 0.5.

Tabla 16: Resultados de PBM según la relación sustrato/inoculo de investigaciones en común

Autor	Sustrato	Inóculo	<u>g SV sustrato</u> <u>g SV Inóculo</u>	<u>mL CH4</u> <u>g SV sustrato</u>
Acarley, 2017	Agua miel del café	Estiércol Vacuno	0.5	377.0
			0.25	481.2
Quintero, 2012	Mucílago de Café	Estiércol porcino	1	250
			0.6	410
			0.5	730
			0.4	810
Viquez, 2014	Mucílago de Café	Lodo UASB	0.5	334
	Pulpa de Café	Lodo UASB	0.5	340.2
Parra, 2015	Biorresiduos Municipales	Lodo PTAR	9	20
			4	60
			2	90
			1	90
			0.5	110
			0.25	190

A pesar de que las condiciones operacionales, ni sustratos e inóculos de todas las investigaciones presentadas en la Tabla 16 no coinciden, se observa que a medida que la relación sustrato / inóculo disminuye se obtienen mejores resultados en el PBM, tanto para las investigaciones que utilizaron residuos del café (pulpa, mucílago, agua miel), como para las que utilizaron residuos de otro tipo (biorresiduos municipales).

Como prueba final, se realizó la determinación del contenido de Ácidos Grasos Volátiles en los efluentes. Cabe señalar que los efluentes fueron debidamente conservados para evitar la alteración de las muestras, para mayor detalle revisar la sección 3.1. El único ácido graso volátil detectado fue el ácido acético, obteniéndose un rendimiento de degradación del mismo de aproximadamente 81,5 por ciento y 63,4 por ciento, para los tratamientos con proporciones de sustrato/ inóculo de 0,25 y 0,5 respectivamente. En cuanto los otros AGV detectados en la muestra se obtuvo un rendimiento del 100 por ciento ya que no se presentaron en los cromatogramas. Cabe señalar que el tratamiento cuya proporción de sustrato/inóculo fue igual a 0,25 tuvo un mayor rendimiento, esto puede explicarse debido al hecho de que una sobrecarga de sustrato puede afectar el proceso de degradación anaerobia al sobrepasar la cantidad máxima de materia orgánica que los microorganismos presentes pueden degradar, otra posibilidad consiste en que se pueda ver afectada la capacidad buffer de las mezclas debido al carácter fuertemente ácido de las aguas mieles. En la Figura 39 se presenta de manera gráfica la disminución en la concentración de AGV en los efluentes con respecto al contenido antes de la etapa metanogénica. También es importante mencionar que el contenido de ácido acético final indica que aún existe un potencial mayor de producción de metano para los tratamientos propuestos. Como se mencionó anteriormente, la actividad de las arqueas metanogénicas pudo haber sido afectada por los cambios de temperatura ya que el ensayo se realizó a temperatura

ambiente, sin embargo esto nos permite simular mejor las condiciones reales en el caso de la construcción de un biodigestor a mayor escala.

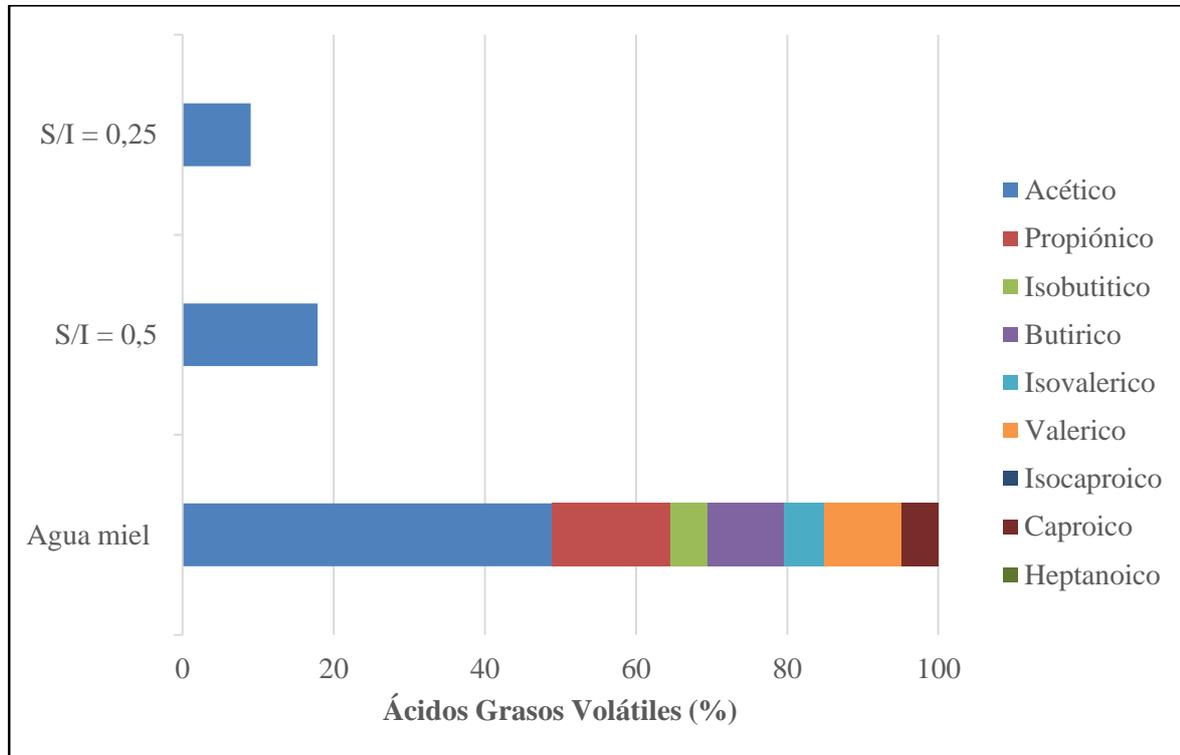


Figura 39: Contenido de AGV en los efluentes de los tratamientos

Es importante señalar que el proceso de digestión anaerobia no se detuvo para ninguno de los tratamientos propuestos, es decir no se evidenció ningún tipo de inhibición severa en la actividad metanogénica de las bacterias, para esto se verificó que el pH al final del ensayo fuera neutro para todos los reactores, lo que demostró que no se produjo acidificación de las mezclas. Esto es importante debido a la tendencia que tienen las aguas mieles a acidificarse. Este resultado pudo haber sido afectado por la capacidad buffer que pudo haber ofrecido el estiércol vacuno, en cuando a su contenido de carbonatos.

Es importante señalar que el PBM no es una prueba precisa dado que en un ensayo en continuo o en un reactor a escala real cambiarían las condiciones operacionales y por lo tanto también los resultados, sin embargo permite evaluar la potencial biodegradabilidad de los sustratos.

Otro factor a tener en cuenta es que en el ensayo del PBM es que los posibles inhibidores son diluidos en el inoculo añadido y los efectos antagónicos o sinérgicos de la mezcla con el sustrato pueden ser evaluados de manera muy limitada (Drosg *et al.*, 2013)

Por último, teniendo en cuenta la máxima concentración encontrada en las aguas mieles en el mes de junio (4.64 g SV/L), la producción diaria de aguas mieles (6820 L/ día) y la mejor relación de Sustrato/Inóculo en la determinación del PBM (0.25 g SV sustrato/ g SV inóculo) se calculó un potencial energético máximo diario de 166.78 Kw-h/ día.

$$\frac{11 \text{ Kw} - \text{h}}{\text{m}^3 \text{ CH}_4} \times \frac{1 \text{ m}^3 \text{ CH}_4}{10^6 \text{ mL CH}_4} \times \frac{481.2 \text{ mL CH}_4}{\text{g SV sustrato}} \times \frac{4.62 \text{ g SV sustrato}}{\text{L agua miel}} \times \frac{6820 \text{ L agua miel}}{\text{día}}$$

$$= 166.78 \text{ Kw} - \text{h/día}$$

Cabe reiterar que dicho potencial es calculado para el día de mayor producción de biogás por lo que sería ideal que el gas generado en los periodos de mayor producción sea almacenado en depósitos de manera que se pueda compensar el uso del gas en periodos de menor producción. Por otro lado el potencial energético calculado no considera la eficiencia de la transformación energética del equipo que se use para ello. De manera referencial se señala que la mediana del consumo mensual de los hogares de Lima Metropolitana, según el Osinergmin (2015), es de aproximadamente 106 Kw-h. Por lo la producción energética del biogás de la planta de beneficio del café estudiada de energía podría ser aprovechada tanto en los gastos energéticos básicos (luz, cocina, etc.), como también podría complementar, por ejemplo, el gasto energético de los equipos del proceso de secado de las semillas del café.

Finalmente, es importante señalar que para poder utilizar el proceso de digestión anaerobia como medida de gestión de los residuos líquidos del beneficio del café, es necesario que se regule el consumo de agua de la fermentación y lavado del café, pues si la concentración de sólidos va más allá de lo esperado, es decir por una producción extraordinaria de café, esto influiría severamente en el desempeño de un potencial reactor anaerobio pudiendo causar la acidificación del mismo. Zambrano *et al.*, (2006) recomienda usar entre 4 a 5 L de agua por kg de café.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación se presentan las siguientes conclusiones:

- La caracterización fisicoquímica del sustrato indica que el agua miel tiene un alto contenido de materia orgánica y por lo tanto es apta para la degradación anaerobia, asimismo dado su carácter ácido y los microorganismos propios del agua miel, se considera apta para una degradación anaerobia en dos fases.
- La caracterización fisicoquímica del inóculo indica que los microorganismos presentan una actividad metanogénica específica moderada, dado que se usó estiércol fresco para prepararlo.
- El ensayo del PBM es una prueba efectiva para evaluar la biodegradabilidad anaerobia de las aguas mieles, efluentes de la producción de granos de café. Verificándose estadísticamente que la relación igual a 0.25 g SV sustrato/g SV inóculo produce un mayor Potencial Bioquímico del Metano (481.2 ml CH₄/g SV sustrato ó 377.0 ml CH₄/g DQO sustrato) que la relación de 0.5

VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo a la experiencia obtenida en el desarrollo de la presente investigación se indican las siguientes recomendaciones:

- Se recomienda utilizar la relación igual a 0.25 g SV sustrato/g SV inóculo para el arranque de un reactor anaerobio continuo que utilice aguas mieles como sustrato y estiércol vacuno como inóculo.
- Se recomienda realizar ensayos de PBM con proporciones menores de 0.25 g SV sustrato/g SV inóculo para verificar que no se esté subestimando el potencial de generación de metano de las aguas mieles
- Se recomienda poner a prueba el proceso de digestión anaerobia de las aguas mieles a mayor escala y en el lugar donde se generan los efluentes (Villa Rica) usados como sustrato con una previa regularización el consumo de agua para el lavado del café para evitar la inhibición del proceso por acidificación.
- Se recomienda utilizar Nitrógeno gaseoso como componente del espacio libre de los reactores Oxitop para evitar la utilización de oxígeno por las bacterias durante el comienzo del proceso.
- Se recomienda que en el caso del diseño de un reactor anaerobio en el área de generación de las aguas mieles se provea de una regulación térmica (usando capas aislantes, invernaderos, construcción bajo el nivel del suelo) para evitar el efecto que produce la variación de temperatura a lo largo del día en la producción de metano.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adekunle F y Okoile J. 2015. A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 6, 205-212.
2. Al Seadi T, Rutz D, Prassl H, Köttner M, Finsterwalder T, Volk S, Jansen R. 2008. *Biogas Handbook. Biogas for Eastern Europe*.
3. Angelidaki I, Alves M, Bolzonella D, Borzacconi L, Campos JL, Guwy AJ, Kalyuzhnyi S, Jenicek P y van Lier JB. 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology—WST | 59.5 | 2009*. IWA Publishing.
4. APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. Solids (2540 B. Total Solids Dried at 103–105°C /2540 E. Fixed and Volatile Solids Ignited at 550°C). Chromatographic Separation Method for Organic Acids. (5560 D - Gas Chromatographic Method). Oxygen Dissolved (4500 O G - Membrane Electrode Method). Chemical Oxygen Demand (5220 D Closed Reflux, Colorimetric Method).
5. Armas E, Cornejo N, Murcia K. 2008. Propuesta para el aprovechamiento de los subproductos del beneficiado del café como una alternativa para la diversificación de la actividad cafetalera y aporte de valor a la cadena productiva. Tesis Ing. Industrial. El Salvador. Universidad del Salvador.
6. Balseca D, Cabrera J. 2011. Producción de biogás a partir de aguas mieles y pulpa de café. Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingenieros en Desarrollo Socioeconómico y Ambiente en el Grado Académico de Licenciatura. Zamorano - Carrera de desarrollo socioeconómico y ambiente
7. Bautista A. 2010. Sistema biodigestor para el tratamiento de desechos orgánicos. Proyecto de fin de carrera. Nicaragua. Universidad Carlos III de Madrid Escuela Politécnica Superior. Departamento de ciencia e ingeniería de materiales e ingeniería química.
8. Bedoya J, Ardila A, Reyes J. 2014. Evaluación de un humedal artificial de flujo subsuperficial en el tratamiento de las aguas residuales generadas en la Institución

- Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Colombia. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 30 (3) 275-283, 2014.
9. Boopathy R. 1987. Inoculum source for anaerobic fermentation of coffee pulp. *Appl Microbiol Biotechnol* (1987) 26: 588-594. Department of Chemical and Process Engineering. University of Strathclyde.
 10. Cárdenas L, Parra B, Torres P, Vásquez C. 2016. Perspectivas del ensayo del Potencial Bioquímico del Metano – PBM para el control del proceso de digestión anaerobia de residuos. Facultad de ingeniería. Universidad del Valle. Cali Colombia.
 11. Cárdenas, G., Ramos, R. 2009. Evaluación de la eficiencia de reactores de lecho fijo utilizando aguas mieles residuales de trapiches artesanales. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, Vol 19-1.
 12. Cajigas A, Pérez A, Torres P. 2005. Importancia del pH y la alcalinidad en el tratamiento anaerobio de las aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca. *Scientia et Technica* Año XI, No 27, Abril 2005.
 13. Chen Y, Cheng J, Creamer K. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. Department of Biological and Agricultural Engineering. North Carolina State University, Raleigh, USA. *Bioresour Technol* 99 (4044-4064).
 14. Corro G, Pal U, Cebada S. 2014. Enhanced biogas production from coffee pulp through deligninocellulosic photocatalytic pretreatment. *Energy Science & Engineering* 2(4): 177-187.
 15. Corro G, Paniagua L, Pal U, Bañuelos F y Teresas M.(2013) Generation of biogas from coffee-pulp and cow-dung co-digestion: Infrared studies of postcombustion emissions. Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 4 sur 104, 72000 Puebla, México. *Energy Conversion and Management* 74 (2013) 471–481
 16. Da Costa C. 2013. Biogas as an energy option: an overview. Fachverband Biogas, Germany. *Biogas Handbook*. Woodhead Publishing Series in Energy.
 17. Del Real J, Islas J. 2010. Biodegradación anaerobia de las aguas generadas en el despulpado del café. *Revista Colombiana de Biotecnología*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
 18. Drosch B, Al seadi T, Braun R, Bochmann G. 2013. Analysis and Characterisation of Biogas Feedstocks. *The Biogas Handbook. Science, Production and Applications*. Woodhead Publishing Series in Energy. Number:52.

19. ENEEK. 2013. Compostaje de estiércoles en agricultura ecológica
20. Escalante H, Orduz J, Zapata H, Cardona M, Duarte M. 2011. Atlas del Potencial Energético de la Biomasa Residual en Colombia. Anexo C Protocolo para el muestro de la biomasa residual. Ministerio de Minas y Energía. UPME. Ideam. Colciencias. UIS.
21. Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe. 2010. Guide to Biogas. From production to use. Federal Ministry of food, agriculture and consumer production.
22. García, E. 2014. Evaluación fisicoquímica de sub productos del beneficiado húmedo del café, sometidos a tratamiento anaeróbico. Tesis de grado. San Juan la Laguna, Sololá. Universidad Rafael Landívar
23. Gerlach F, Grieb B y Zerger U. 2013. Sustainable biogas production. A handbook for organic farmers. Sustaingas.
24. Guerrero J. 2007. Estudio de diagnóstico y diseño de beneficios húmedos de café. IICA Nicaragua - PROMECAFE
25. ISO 5667-3. 2003. Water quality – Sampling – Part 3: Guidance on the preservation and handling of water samples.
26. IV Censo Nacional Agropecuario 2012. Resultados Definitivos. Instituto Nacional de Estadística e Informática – Ministerio de Agricultura y Riego.
27. Junta Nacional del Café. Producción y Exportación. (en línea). Consultado 7 de septiembre del 2016. Disponible en <http://juntadelcafe.org.pe/>.
28. Martí N. 2006. Phosphorus Percipitation in Anaerobic Digestion Process. Dissertation. Boca Raton, Florida. USA.
29. Mao C, Feng Y, Wang X, Ren G. 2015. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. Renewable and Sustainable Energy Reviews 45 (2015) 540-545.
30. Marapi R. 2013. El nuevo rostro del café peruano a la luz del IV Censo Nacional Agropecuario. La Revista Agraria N° 155. Publicación del Centro Peruano de Estudios Sociales.
31. MINAGRI 2016. Estrategia de Mediano Plazo del Ministerio de Agricultura y Riego para el Desarrollo del Sector Cafetalero en el Perú 2016-2018.
32. Montgomery L, Bochmann G. 2014. Pretreatment of feedstock for enhanced biogas production. IEA Bioenergy.
33. Osinergmin. 2015. Informe de resultados. Encuesta residencial de uso y consumo de energía. ERCUE 2014 – 2015.

34. Orozco C, Cantarero V, Rodríguez J. 1992. Seminario-Taller. El tratamiento anaeróbico de los residuos de Café: Una alternativa energética para la disminución del impacto ambiental en el sector. Tratamiento anaeróbico de las aguas mieles del café. Manual de referencia. PROMECAFE.
35. Orozco C, Cantarero V, Rodríguez J. 1992. Seminario-Taller. El tratamiento anaeróbico de los residuos de Café: Una alternativa energética para la disminución del impacto ambiental en el sector. Tratamiento de residuos del café. Manual didáctico. PROMECAFE.
36. Ortiz V. 2011. Puesta a punto de una metodología para la determinación de la actividad metanogénica específica (AME) de un fango anaerobio mediante el sistema Oxitop. Influencia de las principales variables experimentales. Trabajo fin de Máster en Ingeniería hidráulica y medio ambiente. Universidad politécnica de Valencia.
37. Parra R. 2014. Producción de metano a partir de la digestión anaerobia de biorresiduos de origen municipal. Universidad Del Valle. Facultad de ingeniería. Escuela de ingeniería de recursos naturales y del ambiente. Postgrado en ingeniería sanitaria y ambiental.
38. Parra R. 2015. Digestión Anaeróbica: mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. Producción + Limpia – Julio – Diciembre del 2015. Vol 10 No2 – 142 -159.
39. Parra B, Torres P, Marmolejo L, Cárdenas L, Vásquez C, Torres W, Ordoñez J. 2015. Efecto de la relación sustrato – inóculo sobre el potencial bioquímico del metano de bioresiduos de origen municipal. Ingeniería Investigación y Tecnología, volumen XVI (numero 4), octubre-diciembre 2015: 515-526.
40. Pérez A, Torres P. 2008. Índices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. Escuela de Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente EIDENAR. Universidad del Valle, Cali, Colombia. Ingeniería y competitividad, Volumen 10. No 2.
41. Puerta I. 2012. Factores, procesos y controles en la fermentación del café. Avances Técnico, Programa de Investigación Científica Fondo Nacional del Café, CENICAFE. Volumen 422.
42. Quintero M, Rondón Y. 2012. Estudio preliminar de la producción de biogás a partir de la digestión anaerobia del mucílago de café utilizando lodo de estiércol de cerdo como inóculo. Tesis Ing. Químico. Bucaramanga. Universidad Industrial de Santander. Facultad de ingenierías Físico-Químicas. Escuela de ingeniería química.

43. Quipuzco L. 2016. Proyecto “Biodigestores como alternativa de solución para el tratamiento de residuos del proceso de producción de granos de café”.
44. Red de Técnicos en Beneficiado de PROMECAFE. 2010. Guía técnica para el beneficiado de café protegido bajo una indicación geográfica o denominación de origen. Programa cooperativo regional para el desarrollo tecnológico y modernización de la caficultura.
45. Ripley L, Boyle W, Converse J. 1986. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. *Journal Water Pollution Control Federation*. Vol 58, No 5, pp 406-411.
46. Rodríguez S, Perez R y Fernández M. 2000. Estudio de la biodegradabilidad anaerobia de las aguas residuales del beneficio húmedo del café. *Interciencia*, vol. 25, núm. 8, noviembre, 2000, pp. 386-390. Asociación Interciencia. Caracas, Venezuela
47. Schnürer A y Jarvis A. 2010. *Microbiological Handbook for Biogas Plants*. Swedish Waste Management U2009:03. Swedish Gas Centre Report 207.
48. Soria M, Ferrera R, Etchevers J, Alcántar G, Trinidad J, Borges L y Pereyda G. 2000. Producción de biofertilizantes mediante biodigestión de excreta líquida de cerdo. *Biodigestion of Hog Slurry to Produce Biomanure*. *Terra* vol 19:353-362.
49. Soto M, Méndez R y Lema JM. 1992. Determinación de toxicidad y biodegradabilidad anaerobia de aguas residuales. *Tecnología del agua*. Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Santiago de Compostela.
50. Souto T, Aquino S, Silva Q, Chernicharo L. 2010 . Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test. *Biodegradation* 21 (411-24).
51. Suarez JM. 2012. Aprovechamiento de los residuos sólidos provenientes del beneficio del Café, en el municipio de Betania Antioquía: Usos y Aplicaciones. Trabajo de grado Especialista en Gestión Integral de Residuos Sólidos y Peligrosos. Caldas-Colombia. Corporación universitaria Lasallista.
52. Tapia K. 2014. Infografía. El Café Proceso de Producción (en línea). Consultado el 4 de noviembre del 2016. Disponible en <http://www.ktapia.com/edycorp>.
53. Torres P, Pérez A. 2010. Actividad Metanogénica Específica: Una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales. *Revista EIDENAR: Ejemplar 9 / Enero - Diciembre 2010*.

54. Virquez J. 2014. Rendimiento de la producción de metano a partir de pulpa y mucílago de café (*Coffea arabica*). Revista de la Universidad Técnica Nacional. Informa el sector Agrario. N° 68 – 2014.
55. WTW a xilem Brand (en línea). Consultado el 10 de junio del 2017. Disponible en <https://www.wtw.com/en/home.html>.
56. Zambrano D, Rodríguez N, López U, Orozco P, Zambrano A. 2006. Tratamiento anaerobio de las aguas mieles del café. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Gerencia Técnica. Programa de Investigación Científica. Centro nacional de Investigaciones de Café “Pedro Uribe Mejía” CENICAFE. Boletín Técnico N° 29.
57. Zhang C, Su H, Baeyens J, Tan T. 2014. Reviewing the anaerobic digestion of food Waste for biogas production. Renewable and Sustainable Energy Reviews 38 (383-392).