



**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO**

**Colegio de Ciencias e Ingeniería**

**Análisis de la Rentabilidad de la Producción de Biol en la Planta  
de Digestión Anaerobia de Latinoamericana de Jugos S.A**

**Marlon Esteban García Fernández**

**Dr.-Ing., Daniela Almeida Streitwieser, Directora  
de Tesis**

Tesis de grado presentada como requisito para la  
obtención del título de Ingeniero Químico

Quito, mayo de 2015

**Universidad San Francisco de Quito**  
**Colegio de Ciencias e Ingeniería, Politécnico**

**HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS**

**Análisis de la Rentabilidad de la Producción de Biol en la Planta de  
Digestión Anaerobia de Latinoamericana de Jugos S.A.**

**Marlon Esteban García Fernández**

Dr.-Ing., Daniela Almeida Streitwieser  
Directora de Tesis

\_\_\_\_\_

David Egas, Ph.D.  
Miembro del Comité de Tesis

\_\_\_\_\_

Ing. Diana Vargas  
Miembro de Comité de Tesis

\_\_\_\_\_

Ximena Córdoba, Ph.D.  
Decana de la Escuela de Ingeniería  
Colegio de Ciencias e Ingeniería

\_\_\_\_\_

Quito, mayo de 2015

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

---

Nombre: Marlon Esteban García Fernández

C.I.: 1717348377

Fecha: Quito, Mayo 2015

## **Agradecimientos**

A Dr.-Ing. Daniela Almeida, Directora de Tesis por liderar este proyecto y por su apoyo durante mi carrera de Ingeniería Química en la USFQ.

A los miembros del Comité de Tesis por su aporte y revisión de la presente investigación.

A mis padres Carlos y Pilar por todo el apoyo brindado en mi vida personal y estudiantil.

A mis hermanos Madeleine y Carlos por estar ahí en cada paso de mi vida.

A cada uno de los miembros de mi familia, los cuales siempre han estado pendientes y atentos a cualquiera de mis necesidades. Y en especial a mi abuelita que ahora nos cuida desde el cielo.

A Sebastián Navas y cada uno de los que ya no están en este mundo, pero sé que me siguen vigilando desde donde estén.

Al personal docente del Departamento de Ingeniería Química, a todos mis amigos los cuales no alcance a nombrar en tan corto espacio, en especial a David Revelo y a María Belén Álvarez, por ser un empuje durante mi formación como Ingeniero Químico.

## Resumen

El presente proyecto se enfoca en el análisis de rentabilidad de producción de biol proveniente del proceso de biodigestión anaerobia de la planta semi-industrial ubicada en Latinoamérica de Jugos S.A. por medio de la evaluación de la composición del biol. El fertilizante líquido obtenido es una alternativa en el uso de insumos agrónomos, debido a que presenta diversas mejoras sobre los fertilizantes químicos convencionales. La característica más importante es una absorción de nutrientes rápida, lo cual evita pérdidas por escorrentía. La presencia de ácidos húmicos sirven como abono natural de fácil acceso a la planta y la simbiosis desarrollada por los microorganismos presentes. En el primer paso se realiza el análisis del estado inicial del proceso por medio del control de diferentes parámetros. Para conocer los diferentes factores de operación que han alterado la estabilidad del reactor se evalúa la producción de biogás y la concentración de metano en el mismo con datos recopilados durante la operación continua de la planta por 11 meses. Además se analizan muestras en cuatro diferentes puntos dentro del proceso: la mezcla de alimentación, el biol producido del proceso, y la mezcla de reacción en la parte superior y en la parte inferior del reactor. En los cuatro puntos del proceso se realizan análisis de DQO, pH, TS, oTS, TSS, VSS, Alcalinidad y AGV. Estos resultados sirven para evaluar el estado inicial del proceso.

Se buscan diferentes alternativas para estabilizar el proceso, como por ejemplo poner en funcionamiento todo el sistema de uso de biogás y potenciar el biol obtenido. Para ello se realiza un análisis de fitohormonas, con el cual se demuestra la presencia de Giberalinas dentro del producto. Se determinó la concentración total de nutrientes dentro del biol y se los comparó con una marca de biol comercial expendida en el mercado para conocer si existen deficiencias en algún macro nutriente.

Para la implementación del sistema de utilización de biogás se evaluaron los diferentes equipos como compresor, bala de almacenamiento de biogás, calefón, caldero, intercambiadores de calor, generador eléctrico y llama piloto. Para asegurar que cada equipo funcione, se implementó un equipo temporal de recolección de biogás. Adicionalmente, se emplea un tanque de gas licuado de petróleo (GLP) para constatar el correcto funcionamiento de los equipos de generación de energía. Una vez realizadas estas pruebas se encontró que tanto el caldero como la llama piloto no se encuentran operando de forma correcta por falta de mantenimiento. Por otro lado, el generador eléctrico puede operar con biogás si se logra acumular y concentrar suficiente metano. El calefón opera sin ningún tipo de contratiempos.

## Abstract

This project focuses on the analysis of profitability of bio production obtained from the anaerobic bio-digestion semi-industrial process plant located in Latinoamericana de Jugos S.A. by evaluating the composition of biol. This liquid fertilizer is an alternative to the use of agronomic inputs, because biol has various advantages over conventional chemical fertilizers. The most important advantage is the quick absorption of its nutrients, which prevents runoff losses, and the presence of humic acids serves as easy access natural carbon source to the plant, and the symbiosis developed by the microorganism present in the liquid fertilizer. The first step is the analysis of the initial state of the process through the control of various parameters. To determine the various factors that have altered the stability of the reactor, the biogas production and the methane concentration are evaluated with data from continuous operation of the plant during 11 months. In addition, samples are tested at four different points of the process: the feed mixture, the produced biol, and the reaction mixture in the top and bottom of the reactor. And the values for COD, pH, TS, oTS, TSS, VSS, alkalinity and VFA are obtained to assess the initial state of the process.

There are some alternatives to stabilize the process such as, the successful operation of the biogas system and to enhance the biol obtained. For the second alternative, an analysis of phytohormones needs to be performed, and the results show presence of gibberellins. The total concentration of nutrients in the biol was determined and compared with a product already expended in the market, to find out if there are any nutrient deficiencies.

To implement the system of use of biogas the different equipments such as biogas compressor, boiler of biogas storage, heating, boiler, heat exchangers, electric generator and evaluated pilot flame. To ensure that each equipment work, a temporary gas collection equipment was implemented. Additionally, a tank of liquefied petroleum gas (LPG) is used to prove the successful operation of the power generation equipments. It was found that the pot and the pilot are not operating properly, and is because they need regular maintenance. The generator can operate with biogas if it could be provided with enough pressure and concentration of methane. The water heater operates without any problems.

## Tabla de Contenido

Resumen .....	6
Abstract.....	7
1. Introducción .....	14
1.1. Antecedentes.....	14
1.2. Justificación .....	15
1.3. Objetivos .....	16
1.3.1. Objetivo general .....	16
1.3.2. Objetivos específicos .....	16
2. Fundamentos Teóricos .....	17
2.1. Optimización de procesos .....	17
2.2. Digestión anaerobia.....	18
2.3. Condiciones de operación del proceso .....	21
2.3.1. Temperatura.....	22
2.3.2. pH.....	23
2.3.3. Composición de la alimentación .....	24
2.3.4. Tiempo de retención .....	25
2.3.5. Agitación y mezcla.....	26
2.4. Productos de la digestión anaeróbica .....	27
2.4.1. Composición y aplicaciones del biogás .....	27
2.4.2. Biol.....	29
2.5. Fitohormonas .....	31
2.5.1. Auxinas .....	32
2.5.2. Citoquininas.....	34
2.5.3. Giberalinas.....	37
2.5.4. Etileno .....	40
2.6. Caracterización de la materia prima y productos .....	41



2.6.1.	Sólidos totales (TS).....	42
2.6.2.	Sólidos volátiles (oTS).....	42
2.6.3.	Sólidos suspendidos totales (TSS).....	42
2.6.4.	Sólidos suspendidos volátiles (VSS) .....	43
2.6.5.	Demanda química de oxígeno (DQO) .....	43
2.6.6.	Carga orgánica volumétrica (COV).....	44
2.6.7.	Relación carbono – nitrógeno (C/N) y carbono – fósforo (C/P).....	45
2.6.8.	Alcalinidad.....	45
2.6.9.	Ácidos grasos volátiles (AGV) .....	46
2.6.10.	Análisis de macro y micro nutrientes .....	46
3.	Métodos Experimentales.....	49
3.1.	Descripción de la planta semi-industrial de digestión anaeróbica.....	49
3.2.	Descripción de la operación del biodigestor .....	51
3.2.1.	Caracterización y obtención de la materia prima .....	51
3.2.2.	Operación y monitoreo de la planta semi-industrial .....	52
3.2.3.	Procesamiento del biogás .....	55
3.3.	Análisis físico – químicos.....	57
3.3.1.	Medidor de pH .....	57
3.3.2.	Sólidos totales.....	58
3.3.3.	Sólidos totales orgánicos .....	59
3.3.4.	Sólidos suspendidos totales .....	60
3.3.5.	Sólidos suspendidos volátiles.....	61
3.3.6.	Demanda química de oxígeno (DQO) .....	62
3.3.7.	Nitrógeno .....	63
3.3.8.	Fósforo .....	64
3.3.9.	Alcalinidad.....	64
3.3.10.	Ácidos grasos volátiles (AGV) .....	65

3.3.11.	Análisis de macro-nutrientes y micro-nutrientes .....	67
3.3.12.	Análisis de fitohormonas .....	68
3.3.13.	Caracterización biogás.....	70
3.4.	Cálculos para la producción y degradación específica .....	71
4.	Resultados y Discusión .....	75
4.1.	Evaluación general del proceso .....	75
4.2.	Análisis de operatividad de la planta.....	76
4.3.	Análisis de estabilidad del proceso .....	77
4.3.1.	Ácidos grasos volátiles y alcalinidad.....	79
4.3.1.	Análisis de demanda química de oxígeno .....	81
4.3.2.	Sólidos totales y sólidos orgánicos totales .....	82
4.3.3.	Sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles.....	86
4.3.4.	Producción de biogás .....	88
4.3.5.	Macro-nutrientes y micro-nutrientes.....	89
4.4.	Interpretación y evaluación de resultados .....	90
4.4.1.	Balance de masa .....	91
4.4.2.	Producción específica de biogás .....	92
4.5.	Implementación de sistema de utilización energética de biogás .....	94
4.6.	Comparación del biol con una marca comercial .....	99
4.7.	Resultados obtenidos en fitohormonas.....	103
5.	Conclusiones y Recomendaciones .....	108
	Bibliografía.....	110
6.	Anexos .....	114

## Lista de Tablas

Tabla 2.1: Composición promedio del biogás (21) .....	28
Tabla 2.2: Componentes generales del biol (24) .....	30
Tabla 2.3: Valores de macro y micro nutrientes dentro del biol (25) .....	31
Tabla 2.4: Macronutrientes vegetales .....	47
Tabla 2.5: Micronutrientes esenciales en las plantas .....	48
Tabla 4.1: Porcentaje de materia orgánica .....	85
Tabla 4.2: Materia inorgánica presente en el reactor .....	87
Tabla 4.3: Biomasa dentro del proceso .....	88
Tabla 4.4: Análisis de nutrientes .....	90
Tabla 4.5: Balance de masa y degradación específica .....	91
Tabla 4.6: Producción específica .....	93
Tabla 4.7: Pruebas de funcionamiento en equipos de uso de biogás .....	98
Tabla 4.8: Descripción de marca comercial .....	99
Tabla 4.9: Macro y micro nutrientes para la marca comercial .....	101
Tabla 4.10: Nutrientes dentro del biol .....	101
Tabla 4.11: Detalle de picos encontrados en el análisis de estándares y biol ...	104
Tabla 4.12: Determinación de la concentración de giberalininas .....	106

## Lista de Figuras

Figura 2.1: Fases de la digestión anaerobia (11) .....	21
Figura 2.2: a) Aminoácido original y b) auxina resultante .....	33
Figura 2.3: Ácido Indolbutírico (IBA).....	34
Figura 2.4: Adenina y Zeatina.....	35
Figura 2.5: Florclorfenuron (CPPU) y Tiazuron .....	36
Figura 2.6: Formas estructurales de las gibberalinas .....	39
Figura 2.7: Ácido Giberélico A <sub>3</sub> .....	40
Figura 2.8: Proceso biológico de formación de etileno .....	41
Figura 3.1: Diagrama de bloque del proceso de digestión anaeróbica .....	55
Figura 3.2: Medidor de pH .....	58
Figura 3.3: a) Reactor HACH DRB 200, b) Colorímetro HACH DR/890 .....	63
Figura 3.4 GC-MS Shimadzu QP2010 .....	69
Figura 4.1: pH con respecto a la fecha de operación .....	79
Figura 4.2: Análisis de alcalinidad y AGV con respecto al tiempo.....	80
Figura 4.3: DQO en función del tiempo .....	82
Figura 4.4: Análisis de sólidos totales a la entrada y salida del proceso .....	83
Figura 4.5: Análisis de homogeneidad dentro del reactor .....	84
Figura 4.6: Determinación de M.O por análisis de sólidos .....	85
Figura 4.7: Producción de biogás en función del tiempo .....	89
Figura 4.8: Remoción específica de DQO .....	92
Figura 4.9: Producción específica .....	94
Figura 4.10: Sistema de recolección temporal de biogás .....	95
Figura 4.11: Esquema del sistema de recolección temporal de biogás.....	95
Figura 4.12: Gasómetro de biogás provisional .....	97
Figura 4.13: Prueba de fugas en la bala de biogás .....	98
Figura 4.14: Estándar del espectro de masas del ácido giberélico (GA <sub>3</sub> ) (36) .	105
Figura 4.15: Espectro de masas para el pico obtenido en la muestra de biol ....	106

### Lista de Ecuaciones

Ecuación 2.1: Metanogénesis acética .....	19
Ecuación 2.2: Metanogénesis regenerativa .....	20
Ecuación 2.3: Tiempo de retención .....	26
Ecuación 2.4: Reformación por dióxido de carbono .....	29
Ecuación 2.5: Reformación por medio de agua .....	29
Ecuación 2.6: Oxidación parcial .....	29
Ecuación 2.7: Reacción de DQO .....	44
Ecuación 3.1: Reducción del ácido sulfhídrico .....	56
Ecuación 3.2: Oxidación del sulfuro de hierro.....	56
Ecuación 3.3: Determinación de TS .....	59
Ecuación 3.4: Cálculo de densidad .....	59
Ecuación 3.5: Cálculo de oTS .....	60
Ecuación 3.6: Cálculo de TSS.....	61
Ecuación 3.7: Cálculo de VSS .....	62
Ecuación 3.8: Cálculo de alcalinidad.....	65
Ecuación 3.9: Cálculo de AGV .....	66
Ecuación 3.10: Balance de masa .....	72
Ecuación 3.11: Tiempo de residencia .....	72
Ecuación 3.12: Flujo volumétrico total .....	73
Ecuación 3.13: Flujo másico de la alimentación.....	73
Ecuación 3.14: Flujo másico .....	73
Ecuación 3.15: Producción específica .....	74
Ecuación 3.16: Remoción específica .....	74

## **1. Introducción**

### **1.1. Antecedentes**

El uso de recursos no convencionales para la obtención de energía es uno de los temas de investigación que ha tenido una gran expansión en las últimas décadas. Tomando en cuenta que el objetivo principal es emplear fuentes de energía alternativas a los combustibles fósiles, buscando optimizar al mismo tiempo el uso de recursos renovables. Este requerimiento surge como una alternativa a las diferentes fuentes de combustibles, las cuales son no renovables y, por tanto, un recurso limitado.

Simultáneamente, el crecimiento demográfico que ha tenido el planeta ha llevado a un consumo excesivo de recursos, los cuales generan cantidades de residuos que no pueden asimilarse por los ciclos naturales. El problema en el manejo de residuos sólidos se va agravando día tras día, y mantiene tres frentes a considerar: de carácter jurídico centrada en la organización y planificación de la gestión de los residuos sólidos, la evolución de la producción y composición de los residuos sólidos y, finalmente, la evolución de las técnicas de gestión de residuos urbanos (1).

En estudios previos realizados en el Laboratorio de Energías Alternativas de la Universidad San Francisco de Quito (LaDEA USFQ) se investigó la digestión anaerobia de los desechos de fruta generados en la fábrica La Jugosa S.A. a escalas de laboratorio y planta piloto. Posteriormente, se construyó en el 2012 la planta semi-industrial de digestión anaerobia en las instalaciones de “La Jugosa” en el marco del programa InnovaEcuador financiado por el Ministerio de Coordinación de Producción, Empleo y Competitividad (MCPEC). InnovaEcuador es un programa que apoya la innovación empresarial y sectorial, para así diversificar los sectores productivos. Dentro de este programa se han planteado dos líneas de apoyo, la primera centra su base en la

innovación productiva mediante la introducción de un nuevo producto, mientras que la segunda se basa en la mejora significativa de un producto, bien o servicio. Las dos líneas de apoyo se han denominada InnovaEmpresa e Innova Conocimiento, respectivamente (2).

La planta semi-industrial de digestión anaerobia inició su operación en Abril del 2013, pero su operación no ha alcanzado el nivel óptimo de producción. Por lo que siguen pendientes algunos trabajos de optimización. El biol producido tampoco se ha logrado comercializar a los agricultores. Las pruebas han mostrado su beneficio, pero no se ha logrado generar una demanda del producto por parte de los agricultores.

## **1.2. Justificación**

El manejo de desechos sólidos cerca de las áreas urbanas genera una gran cantidad de malestar en la población aledaña debido a la generación de olores. En consecuencia se han buscado opciones que permitan acelerar el proceso de degradación de los desechos y al mismo tiempo sacar el mayor provecho a los desperdicios. Sin dejar de lado el correcto manejo para evitar cualquier tipo de riesgo ambiental (1).

La digestión anaerobia se la puede describir como la transformación biológica de compuestos orgánicos por medio de microorganismos. Entre estos microorganismos se encuentran bacterias metanogénicas, las cuales son anaerobias y se caracterizan por la producción de metano. Sin embargo, durante la degradación también se genera dióxido de carbono. La mezcla de estos dos gases se conoce como biogás. El biogás es uno de los responsables del efecto invernadero y, por lo tanto, su aprovechamiento energético y la disminución en su emisión al ambiente se han vuelto muy interesantes (3).

Esta tesis trata la optimización del proceso de digestión anaerobia de la planta ubicada en Latinoamericana de Jugos S.A, la cual ya ha atravesado las etapas de diseño,

construcción y puesta en marcha. Adicionalmente, se busca poner en pleno funcionamiento el sistema de utilización de biogás, con el fin de generar tanto energía térmica como eléctrica. En este estudio se desea investigar la operación de la planta y obtener la productividad máxima del sistema, conociendo sus límites de operación y bajo los cuales no se tendrán pérdidas energéticas.

El procedimiento ejecutado para el desarrollo de este estudio consta de una evaluación previa de la situación actual de la planta, con la cual se busca corregir errores durante la operación que permitan estabilizar la producción de biogás y potenciar el biol obtenido por medio de la adición de componentes externos y evaluar sus propiedades para hacerlo más atractivo al mercado. A continuación se va a evaluar el funcionamiento de los diferentes equipos que componen el sistema de uso energético de biogás dentro de la planta. Todo con el objetivo de hacer la operación de la planta económicamente rentable.

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Hacer la producción de biol en la planta semi-industrial de digestión anaerobia en Latinoamericana de Jugos S.A. comercialmente rentable por medio de control en la operación y evaluación de la composición.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Realizar una evaluación previa sobre el estado operacional de la planta.
- Analizar la composición actual y deseada del biol que promuevan la comercialización del producto y lo conviertan atractivo para el mercado.
- Evaluar los equipos energéticos de uso de biogás para optimizar la operación de la planta.



## **2. Fundamentos Teóricos**

### **2.1. Optimización de procesos**

Optimizar un proceso es la búsqueda e implementación de mejoras al rendimiento de un sistema operativo. Esto se logra por medio del conocimiento de los factores más influyentes dentro del proceso y la determinación de condiciones óptimas de operación. Una vez que se logren determinar dichos factores, se busca la viabilidad de implementarlos dentro de un proceso que se encuentre en funcionamiento. Todo esto, con el objetivo de obtener un producto final de mejor calidad y en mayor cantidad. Aunque se suele incluir temas de optimización de tiempos de operación y recursos disponibles dentro de este esquema. Muchos de los procesos de optimización se logran por medio de la estabilización del proceso (4).

Independientemente del número de variables que se deban controlar en un sistema, se deben encontrar e implementar los instrumentos necesarios para que la variabilidad del proceso disminuya de forma significativa. Muchas de las variables dentro de un proceso se encuentran estrechamente relacionadas y se deben estabilizar las condiciones de operación de manera que todas concuerden con el objetivo planteado. Por lo tanto, es necesario monitorear, analizar y controlar de manera individual a todas las variables en las diferentes etapas de un proceso, al igual que los productos obtenidos (5).

Para poder llegar a un proceso óptimo, es necesario caracterizar y conocer la materia prima, determinar los equipos con mayor eficiencia para el proceso, analizar y controlar de forma individual todas las etapas y sus respectivas variables. Toda esta información integrada es la que permite optimizar un proceso, por medio de un seguimiento efectivo y eficaz de todo el sistema operativo; lo cual incluirá controlar tiempos de operación y manejo de recursos (4).

## 2.2. Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso de fermentación microbiana en un medio ausente de oxígeno, la cual descompone materia orgánica para formar como productos una mezcla de gases conocido como biogás y una suspensión acuosa denominada biol. El biogás está compuesto por dos componentes mayoritarios: metano ( $\text{CH}_4$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ). Los componentes minoritarios son: nitrógeno ( $\text{N}_2$ ), oxígeno ( $\text{O}_2$ ), hidrógeno ( $\text{H}_2$ ) y sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ). El biol es un fertilizante orgánico que contiene micro-nutrientes y macro-nutrientes necesarios para mejorar las propiedades de suelos agrarios. Esta clasificación de los nutrientes se da debido a la cantidad que necesita la planta para mantener su funcionalidad. Los macronutrientes se emplean como sustratos en el proceso metabólico de las plantas y, por lo tanto, se consumen en mayor cantidad que los micronutrientes, los cuales son empleados simplemente como reguladores dentro del proceso (6). Este proceso biológico se divide en cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (7). Cada una de las etapas mencionadas ocurre por diferentes colonias de microorganismos de forma paralela en un reactor de operación continua (8).

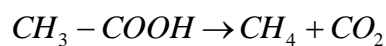
La hidrólisis busca despolimerizar a compuestos orgánicos complejos, tales como lípidos, proteínas e hidratos de carbono. Esta acción se lleva a cabo por bacterias proteolíticas y celulolíticas, las cuales actúan en moléculas solubles de fácil degradación como azúcares, ácidos grasos de cadena larga, aminoácidos, alcoholes, etc. Con lo cual se obtiene como producto final monómeros de fácil uso para las siguientes etapas (9).

La acidogénesis es llevada a cabo por las bacterias acidogénicas, las cuales convierten los productos de la hidrólisis en sustratos metanogénicos. Estos sustratos son principalmente (70%)  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ , ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), y en menor proporción (30%) una mezcla de ácidos grasos volátiles (AGV) y alcoholes. Los principales AGV

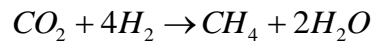
son: el ácido propiónico, el ácido butírico y el ácido valérico (8). En esta etapa la degradación de la materia orgánica disuelta no es muy significativa. Los microorganismos de esta etapa se caracterizan por ser de rápido crecimiento, resistentes al medioambiente, y con mayor actividad a niveles de pH ligeramente ácidos. Algunas de las especies que pueden intervenir en el proceso son: Enterobacterias, Streptococos, Lactobacillus, entre otros (9).

La acetogénesis produce sustratos metanogénicos por medio de bacterias especializadas a partir de los productos obtenidos en la etapa anterior. Los ácidos grasos volátiles y los alcoholes son oxidados en sustratos como ácido acético, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. En esta etapa se encuentran presentes de igual manera bacterias homoacetogénicas, las cuales tienen como función producir ácido acético a partir de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. Esta etapa se puede inhibir en concentraciones altas de H<sub>2</sub>, lo cual se puede evitar con la presencia de bacterias metanogénicas, las cuales empleen el H<sub>2</sub> para producir CH<sub>4</sub>. Los principales grupos de bacterias acetanogénicas son: Syntrophobacter (descompone el ácido propiónico) y el Syntrophomonas (descompone el ácido butírico y valérico) (9).

En la metanogénesis se pueden distinguir dos procesos diferentes para la formación de CH<sub>4</sub>. Cerca del 80% del metano producido se forma a partir del ácido acético o algún ácido orgánico volátil. El restante (20%) proviene a partir de hidrógeno molecular (H<sub>2</sub>) y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), reducción de alcoholes u otros compuestos intermediarios (10). Los dos sistemas de reacción más importantes se presentan a continuación:



Ecuación 2.1: Metanogénesis acética



Ecuación 2.2: Metanogénesis regenerativa

La primera etapa de formación de metano se realiza a partir de ácido acético, empleando para ello bacterias metanogénicas acetoclásticas, como se muestra en la reacción de la Ecuación 2.1. La segunda forma de obtención de metano es a partir del consumo de hidrógeno la cual se puede observar en la Ecuación 2.2, utilizando microorganismos metanogénicos hidrogenófilos, pertenecientes a los géneros *Methanobacterium*, *Methanococos* y *Methanogenium* (9).

Las diferentes etapas de la digestión anaerobia se resumen en la Figura 2.1. Dentro de la misma se reconocen las transformaciones por las que pasa la materia orgánica hasta la producción de metano. Las diferentes poblaciones bacterianas que intervienen en cada uno de los procesos se encuentran descritas de igual forma. Se debe tomar en cuenta que las diferentes etapas se llevan a cabo de forma paralela. Sin embargo, la producción o uso de los diferentes sustratos promueve a que existan periodos en los cuales una de las etapas predomina sobre las demás.

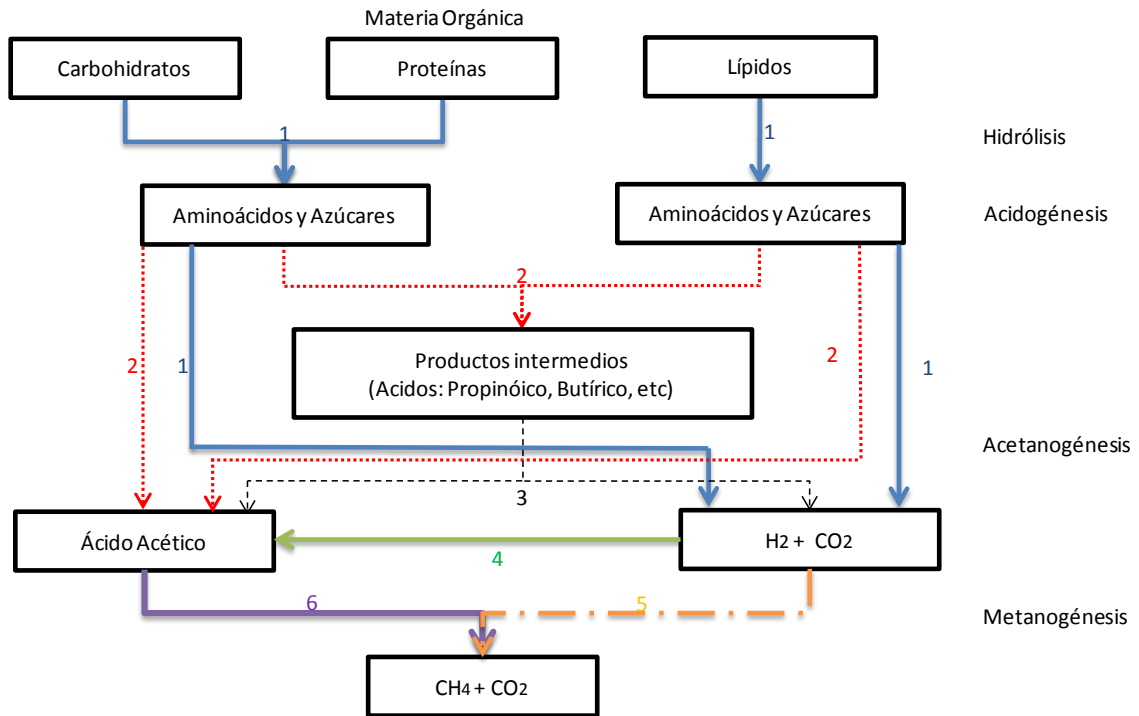


Figura 2.1: Fases de la digestión anaerobia (11)

1. Bacterias hidrolíticas ———
2. Bacterias acidogénicas ·····
3. Bacterias acetanogénicas - - -
4. Bacterias homoacetanogénicas ———
5. Bacterias metanogénicas hidrogenófilas - . - .
6. Bacterias metanogénicas acetoclásticas ———

### 2.3. Condiciones de operación del proceso

El equilibrio entre los diferentes grupos de bacterias que trabajan dentro de la biodigestión anaerobia es sumamente sensible a cambios dentro del proceso. Debido a esto, es necesario el control de diversos parámetros para poder lograr una operación óptima y eficiente con respecto a la producción de biogás.

### 2.3.1. Temperatura

La temperatura de operación es el factor más importante dentro del proceso de digestión. Esta variable es la principal reguladora del crecimiento bacteriano, responsable de la degradación de materia orgánica y de la producción de gas en el proceso por lo cual define el tiempo de retención y el volumen de reacción (12).

Si bien el rango de temperaturas al cual puede trabajar un biodigestor varía desde 10°C hasta 65°C, es necesario mantener una temperatura estable en el transcurso del proceso, debido a que cambios bruscos pueden ocasionar una disminución del crecimiento bacteriano y afecta el equilibrio de los diferentes microorganismos. Se han identificado tres rangos de temperatura en los cuales los microorganismos anaerobios trabajan en condiciones óptimas: la psicofilia (debajo de 25°C), la mesofilia (entre 25 y 45°C) y la termofilia (entre los 45 y 65°C). Fuera de estos rangos de temperatura se tiene el peligro de muerte celular o inhibición del proceso (12). Además, el tiempo de reposición de las bacterias metanogénicas puede verse afectado por un cambio de condiciones; lo cual puede ocasionar un descenso de pH y la reducción de la producción de biogás, lo cual se traduce en un mal funcionamiento del reactor (13).

El régimen más utilizado para diversos procesos anaeróbicos es el mesofílico debido a que en este rango de temperaturas la producción de biogás es alta y no es necesario emplear todo el biogás en calentar el sistema. Dando un balance energético positivo y convirtiéndolo en el rango ideal al momento de construir un biorreactor.

El rango psicofílico es uno de los menos estudiados y por ello se tiene poco conocimiento. Esto se debe a que la producción de biogás es baja y el volumen de reacción requerido es sumamente grande. Sin embargo, se caracteriza por tener menores problemas de estabilidad (14).

El rango termofílico se caracteriza por tener la mayor producción de biogás, disminución del tiempo de retención y menor volumen de reacción, además elimina los microorganismos patógenos. Los problemas que presenta este rango de temperatura son: uso de gran cantidad de energía, problemas de inestabilidad a cambios en las condiciones de operación y posible inhibición del proceso por producción de subproductos tóxicos (12).

Los problemas de inestabilidad se pueden presentar en cualquiera de los rangos de temperatura mencionados, y estos provienen de cambios bruscos de temperatura. Por lo cual es de suma importancia que una vez seleccionada la temperatura de operación, se la mantenga constante. Las temperaturas más recomendadas para la operación de un biodigestor son 36°C en el régimen mesofílico y 55°C en el rango termofílico (13).

### **2.3.2. pH**

Cada grupo bacteriano tiene su mayor actividad en un determinado rango de pH. Para las bacterias hidrolíticas se encuentra entre 7,2 a 7,4, para las acetogénicas entre 7,0 a 7,2, para las acidogénicas se encuentra alrededor de 6 y las metanogénicas están entre 6,5 a 7,5 (15). De esta manera se encuentra que el rango óptimo de operación para un biodigestor estaría entre 6,5 y 7,5.

Mantener un adecuado valor de pH es necesario debido a que fuera del rango definido la degradación bacteriana se ve deteriorada, llegando incluso a detenerse la producción de biogás. Al tener un pH inferior a 6,5 el porcentaje de metano en el biogás disminuye, lo cual hace que bajen las cualidades energéticas, cuando se llegan a valores inferiores a 5 se genera de forma mayoritaria la forma no ionizada de ácido acético, inhibidor del mecanismo de degradación del propionato (14). Esto se traduce en una sobrecarga de materia orgánica (16). Mientras que un valor de pH sobre 7,5 provoca una mayor

formación de amoníaco, el cual en concentraciones elevadas actúa como inhibidor del crecimiento microbiano.

Durante la operación del biodigestor se puede observar un descenso de pH, debido principalmente a un desequilibrio en el consumo y la producción de ácidos grasos volátiles. Se pueden emplear medidas correctivas para la acidificación. La más simple es detener la alimentación o aligerar la carga orgánica de la alimentación por el tiempo suficiente hasta que el valor regrese al rango de operación deseado. Esto se logra debido a que la actividad bacteriana se hace más lenta, en especial la etapa de acetogénesis la cual se encarga de la producción de ácidos. Permitiendo que las bacterias de metanogénicas reduzcan la concentración de ácidos por medio de la producción de metano, elevando el valor de pH de la mezcla. Otro método de regulación del pH consiste en la adición de sustancias buffer tal como: cal viva ( $\text{CaO}$ ), cal apagada ( $\text{Ca(OH)}_2$ ), carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) e hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ). Este método evita la necesidad de disminuir la carga o detener el biodigestor (13).

En la operación del biodigestor, cuando se tiene un valor de pH mayor a 8 se lo puede controlar con la adición de ácido acético para reducir la formación de amoníaco y favorecer la formación del ión amonio (17). Sin embargo esto no se presenta muy seguido en los reactores de digestión anaerobia.

### **2.3.3. Composición de la alimentación**

Las fuentes de materia orgánica para un proceso de degradación anaerobia son muy diversas. Entre ellas se pueden tener en cuenta excretas de diferentes fuentes, aguas residuales, desechos de cosecha o diferentes tipos de desechos orgánicos. Sin embargo,



de forma imperativa la alimentación debe tener una dilución adecuada para evitar el exceso de sólidos, y tener una buena producción de biogás.

Otro factor importante es mantener una relación adecuada entre nutrientes para el crecimiento bacteriano. Uno de los indicadores más importantes es la relación carbono-nitrógeno (C-N), el cual se debe mantener en una relación entre 15:1 y 45:1. Relaciones menores provocan una disminución en la velocidad de degradación y relaciones mayores generan problemas de inhibición. Otro indicador importante es la relación carbono-fósforo (C-P), cuya relación recomendable es entre 150:1. Para concentraciones de fósforo superiores a la relación establecida se corre el riesgo de intoxicar el medio de reacción, no obstante valores inferiores en la concentración del fósforo no son relacionados con problemas de inhibición (11).

Además de fuentes de carbono, nitrógeno y fosforo los microorganismos requieren de otros tipos de elementos, presentes como sales minerales en equilibrio como: azufres, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, cobalto selenio, tungsteno, níquel y otros en menores cantidades (18).

#### **2.3.4. Tiempo de retención**

El tiempo de retención, es el tiempo de permanencia de la materia orgánica dentro del digestor (18). Este tiempo, en días, se considera desde la entrada al reactor hasta su descarga. Se calcula por medio de la división del volumen útil del biodigestor para el caudal volumétrico diario de alimentación. Este parámetro se lo define únicamente para sistemas continuos o semi-continuos. El tiempo de retención depende del tipo de sustrato y temperatura. Aquellos con mayor porcentaje de carbono retenido en moléculas resistentes, requieren de mayores tiempos de retención para ser totalmente digeridos (19). La relación con la temperatura es inversamente proporcional.

El tiempo de retención debe ser seleccionado de forma tal que no exista acumulación de materia orgánica dentro del biodigestor. La dependencia con la temperatura de operación se da a medida que al aumentar la temperatura, se acelera el proceso de degradación de la materia orgánica. El tipo de alimentación también se encuentra relacionado con el tiempo de retención, debido a que dependiendo de la degradabilidad del mismo se tendrá mayores o menores tiempos de retención. El cálculo se lo puede realizar por medio de la Ecuación 2.3.

$$\tau = \frac{V}{\dot{v}}$$

Ecuación 2.3: Tiempo de retención

Donde,

$\tau$  = Tiempo de retención [d]

$V$  = Volumen del digestor [m<sup>3</sup>]

$\dot{V}$  = Caudal volumétrico diario de alimentación [m<sup>3</sup>/d]

### 2.3.5. Agitación y mezcla

La agitación es un factor importante para el funcionamiento óptimo del digestor. Esta debe ser lo suficientemente fuerte como para asegurar una buena homogenización de la mezcla reactiva, y al mismo tiempo debe tener cuidado de no dañar a los microorganismos. Los efectos de tener una mezcla eficiente permiten que el sustrato fresco esté en contacto con los microorganismos, que los metabolitos producidos por las bacterias metanogénicas, principalmente gases, se liberen; y que la temperatura y la

densidad se mantengan uniformes. Además se previene la formación de espumas, sedimentos y zonas muertas en el reactor.

## **2.4. Productos de la digestión anaeróbica**

Los productos de la digestión anaeróbica son de beneficio a nivel industrial y para el medio ambiente debido a que ayudan a disminuir la cantidad de basura que se arroja a los rellenos sanitarios. Los productos obtenidos son biogás y biol. El bio es un fertilizante orgánico que presenta la posibilidad de mejorar los suelos y de obtener un mayor rendimiento en productos orgánicos. El biogás producido se puede emplear como una fuente de energía de bajo costo (13).

### **2.4.1. Composición y aplicaciones del biogás**

El biogás se compone de una mezcla de gases, producto de la degradación anaeróbica de la materia orgánica. Los gases formados son producto de la metanogénesis: metano ( $\text{CH}_4$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ). Seguidos en cantidad por aquellos productos de la acetanogénesis: monóxido de carbono ( $\text{CO}$ ) e hidrógeno ( $\text{H}_2$ ). Únicamente el metano tiene la característica de combustible, al hidrógeno molecular no se lo toma en cuenta debido a que su concentración es muy baja. También se encuentran trazas de sulfuros de hidrógeno, agua, nitrógeno, hidrógeno y oxígeno (20).

La composición del biogás varía dependiendo del desecho que se emplee en la alimentación. Esto se debe a que la composición físico-química y la cantidad de carbono degradable son factores que inciden en la producción de biogás.

La composición común del biogás se puede ver en los datos de la Tabla 2.1. El valor calorífico del biogás, dependiendo de su concentración de metano, varía entre 20-25 MJ /  $\text{m}^3$ .

Tabla 2.1: Composición promedio del biogás (21)

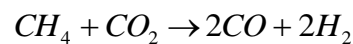
Compuesto	Nomenclatura	Volumen [%]
Metano	CH <sub>4</sub>	55-70
Dióxido de Carbono	CO <sub>2</sub>	35-40
Nitrógeno	N <sub>2</sub>	0,5-5
Sulfuro de Hidrógeno	H <sub>2</sub> S	0,1
Hidrógeno	H <sub>2</sub>	1-3
Vapor de agua	H <sub>2</sub> O	Trazas

Para poder emplear el biogás es necesario que pase por un sistema de purificación y sea comprimido. La remoción del dióxido de carbono es necesaria para poder aumentar el valor del aporte energético. De igual forma es necesario retirar el ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) para evitar problemas de corrosión. Los remanentes de agua también deben ser retirados.

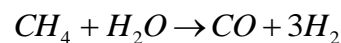
Existen cuatro formas en las cuales se puede aplicar el biogás como un sustituto a los combustibles fósiles: uso doméstico, generación de electricidad, producción de calor y vapor, y síntesis de productos químicos (11). El uso doméstico se enfoca en la obtención de calor por medio de calefones, calderas o cocinas, y electricidad en forma de iluminación. Este gas puede provenir desde un biodigestor comunitario o un centro de acopio común o en su defecto de biodigestores domésticos. Se debe recalcar que para la formación de energía eléctrica se necesita quemar el biogás in situ en un generador eléctrico de gas. La eficiencia energética que presenta la quema es de un 40%, el cual es alto frente a otras fuentes de energía (22). Por otra parte la eficiencia en la obtención de energía térmica esta alrededor de un 60% (22). Existen motores de ignición de gas que cuentan con la adaptación de aprovechamiento térmico conocido como cogeneración, por medio del cual la eficiencia total del proceso es: 40% para la formación de energía eléctrica, 40% para la obtención de calor y 20% de pérdidas. Para su aplicación se

requiere que la pureza del metano suba al menos un 95% para poder cumplir con los requerimientos de operación de los motores de ignición, calefones u otro mecanismo de aprovechamiento energético. También es necesario eliminar patógenos o microorganismos que puedan estar presentes, para reducir riesgos de contaminación humana y daño de equipos. La principal causa de eliminación de patógenos se da debido a que se pueden acumular en la entrada y al iniciar la combustión se desprende una cantidad considerable de biogás sin quemar el cual es liberado directamente a la atmósfera (22).

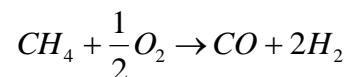
Otro de los usos del biogás es en la síntesis de compuestos químicos, uno de los intereses más grandes se basa en la obtención económica de gas de síntesis. Los procesos que se pueden emplear son reformaciones por medio de dióxido de carbono o agua, y oxidación parcial. Las reacciones químicas se pueden observar en: Ecuación 2.4, Ecuación 2.5 y Ecuación 2.6 (23).



Ecuación 2.4: Reformación por dióxido de carbono



Ecuación 2.5: Reformación por medio de agua



Ecuación 2.6: Oxidación parcial

### 2.4.2. Biol

El biol es un gran producto fertilizante debido a que contiene nutrientes de origen orgánico que pueden ser rápidamente asimilados por las plantas (21). Este producto está

constituido principalmente por la fracción orgánica que no es degradable de forma anaeróbica. La constitución del mismo depende del tipo y cantidad de materia orgánica utilizada para alimentar el biodigestor, así como del tiempo de retención. El biol es superior a los fertilizantes obtenidos por medio de digestión aeróbica debido a que no permite que existan pérdidas considerables de nutrientes por medio de escorrentía (9). Esto se debe a la facilidad con la cual los diferentes nutrientes ingresan a la planta, lo cual reduce el tiempo de absorción de nutrientes de forma considerable y de esta forma se evitan pérdidas. Además de ello, los diferentes microorganismos que contiene el biol ayudan a una fijación mayor de los nutrientes disueltos en las plantas. En la Tabla 2.2 se puede observar la composición de macronutrientes que posee el biol.

Tabla 2.2: Componentes generales del biol (24)

<b>Componente</b>	<b>Porcentaje en base seca [%]</b>
Materia Orgánica	85
Nitrógeno	2-3
Fósforo	1-2
Potasio	1

Por otra parte en la Tabla 2.3 se pueden observar valores de macro-nutrientes y micro-nutrientes para un biol específico (25). Los valores descritos en ambas tablas pueden variar dependiendo del material orgánico empleado, la carga alimentada al biodigestor y de diversos factores de operación.

Tabla 2.3: Valores de macro y micro nutrientes dentro del biol (25)

Compuesto	Símbolo	Concentración [mg/L]
Nitrógeno	N	920
Fósforo	P	112,8
Potasio	K	860,4
Calcio	Ca	112,1
Magnesio	Mg	54,77
Cobre	Cu	0,036
Manganeso	Mn	0,075
Hierro	Fe	0,82
Cobalto	Co	0,024
Boro	B	0,44
Selenio	Se	0,019

## 2.5. Fitohormonas

Dentro del desarrollo de fertilizantes se han identificado y desarrollado productos nuevos conocidos como bioestimulantes, los cuales además de nutrientes contienen compuestos químicos que ayudan al desarrollo de las plantas. Cada uno de los aditivos tiene una funcionalidad distinta para diferentes etapas del proceso de cultivo (26). Los compuestos químicos mencionados han sido reconocidos como fitohormonas.

Las fitohormonas también se conocen como hormonas vegetales. Estas sustancias se producen de forma natural en partes y etapas estratégicas de la planta. Estas hormonas son capaces de regular de manera predominante los fenómenos fisiológicos de las plantas. Se debe tomar en cuenta que son solo producidas en cantidades pequeñas en los tejidos vegetales, pero estas pueden actuar en el propio tejido en el cual se produjo o bien ser trasladado por medio del xilema y floema a diferentes locaciones dentro de la planta (6).

Una hormona interviene en varios procesos. Las funciones reguladoras que pueden cumplir las hormonas más conocidas son: crecimiento de tallo y raíces, caída de las hojas (senescencia), floración, formación de fruto y germinación. No obstante, el efecto

fisiológico que se observa depende de la interacción de varias fitohormonas sobre un mismo tejido. En varias ocasiones un mismo fitoquímico puede producir efectos contrarios dependiendo del tejido donde actúe. Estas variaciones se deben a la interacción con diversos receptores, debido a que son los encargados de la transducción de la señal para producir un cambio (27).

Las fitohormonas no solo funcionan para mejorar el crecimiento de una planta, sino también para regular procesos de germinación. Aquellos compuestos que actúan como agentes germinantes, por lo general, son responsables de obstruir un crecimiento acelerado. Los productos fitoquímicos que se comercializan hoy en día son producidos en su mayoría sintéticamente, lo cual ha permitido un mayor control sobre el desarrollo de plantaciones (26).

Las fitohormonas se dividen en 4 grupos principales: auxinas, citoquinas, giberelinas y etileno. En la actualidad, aún no se conoce el mecanismo preciso por el cual funcionan ninguno de los compuestos clasificados como fitohormonas (27).

### **2.5.1. Auxinas**

La principal acción que cumplen las auxinas es la elongación de las células. De forma natural, se producen en las regiones cercanas al ápice de los tallos y se mueven por medio de un gradiente de concentraciones hacia la base. El movimiento de las auxinas se presenta por medio del traspaso de célula a célula, sin usar los conductos (xilema y floema). La síntesis de auxinas se la relaciona con etapas de rápido crecimiento en diferentes organismos vegetales como: plantas superiores, hongos y algas; incluso se la relaciona con el desarrollo de bacterias.

El compuesto natural más abundante en la naturaleza es el ácido indolacético (IAA), el cual proviene del aminoácido L-triptófano (Figura 2.2.a). Para la síntesis del IAA a



partir del aminoácido triptófano el grupo indol permanece constante, sin embargo este debe pasar por una descarboxilación y una desaminación (28). En la Figura 2.2.b se puede observar la estructura del IAA.

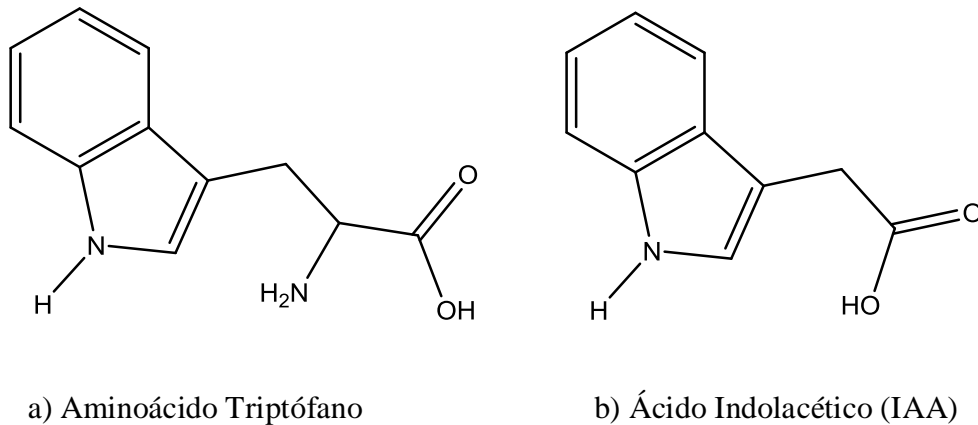


Figura 2.2: a) Aminoácido original y b) auxina resultante

Las auxinas se caracterizan por la presencia de un anillo cíclico, contando con al menos un doble enlace y un grupo funcional carboxílico (COOH) u otro análogo. Las auxinas pueden encontrarse en forma libre o ligadas a: azúcares, ésteres y amidas. Las moléculas unidas son útiles si existe alguna manera sencilla de liberarlas. El compuesto catalizador en el proceso de formación de auxinas es el Zinc (Zn) (28).

Se debe tomar en cuenta, que las auxinas aplicadas a los cultivos no se caracterizan por su alta movilidad, debido a que una vez que ingresan a los tejidos se ligan a proteínas y esto dificulta su traslado. Sus usos en la agricultura se pueden resumir en:

- Fomentar la multiplicación asexual
- Aumentar el amarre de frutos
- Estimular el crecimiento de frutos
- Facilitar la caída de frutos
- Provocar la retención de frutos

- Participar como herbicida (en concentraciones altas)

Cada uno de estos efectos depende de la molécula auxínica que se emplee, la concentración en la cual se use y el lugar de aplicación. Existen condiciones diferentes para el uso específico sobre determinado tipo de plantación. Lo cual quiere decir que la misma auxina puede causar un efecto diferente dependiendo del tipo de planta (26).

La auxina artificial más empleada es el ácido indolbutírico (IBA), el cual es uno de los compuestos artificiales más estables. Su estructura química se puede observar en la Figura 2.3.

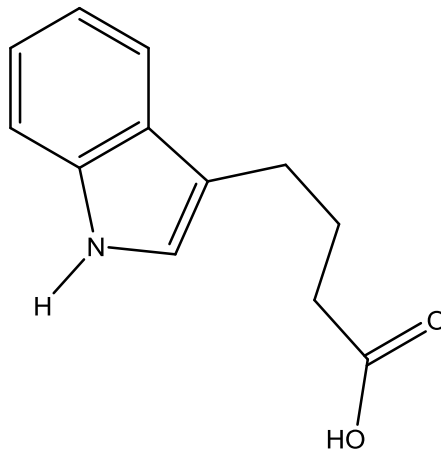


Figura 2.3: Ácido Indolbutírico (IBA)

### 2.5.2. Citoquininas

Este tipo de hormona promueve la división y diferenciación celular. La importancia de las citoquininas radica en que las células vegetales son transformadas a otro tipo de células específicas, con el fin de formar un órgano particular como: raíces, hojas, flores o frutos. No son las únicas en fomentar este proceso, más bien se encargan de causar el efecto desencadenante. Además de ello, estos compuestos intervienen en la apertura de estomas, supresión de la dominancia apical e inhibición de la senescencia de las hojas. La dominancia apical, se refiere al desarrolló excesivo de la rama principal, en

comparación con el resto de ramificaciones (26). La senescencia se refiere al cambio progresivo de un elemento. En el desarrollo de las plantas se emplea como una medida del tiempo en el cual las hojas mudan de forma natural.

Las citoquininas naturales y artificiales se las puede diferenciar por medio de su conformación química. La citoquininas naturales se conforman en base a la adenina (Figura 2.4.a), mientras que los compuestos sintéticos son formados a partir de fenilureas. La citoquinina natural más importante es la Zeatina debido a su mayor abundancia, cuya estructura química se la puede observar en la Figura 2.4.b.

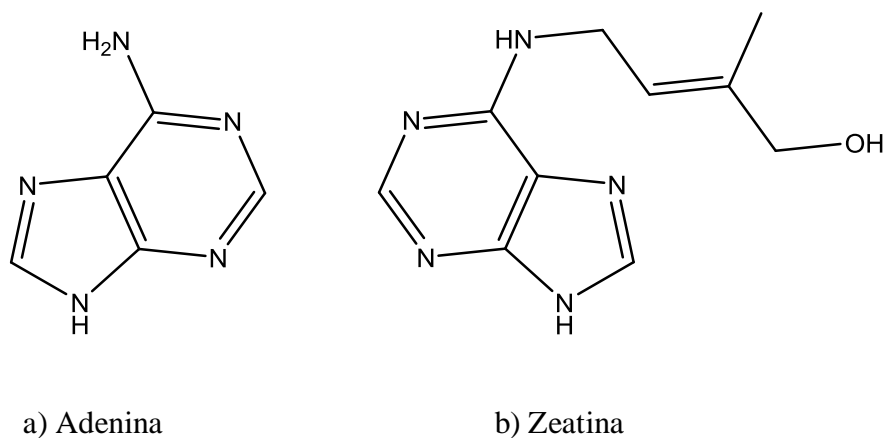
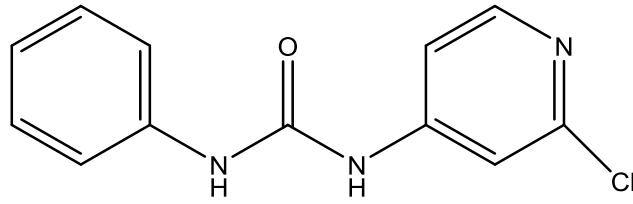


Figura 2.4: Adenina y Zeatina

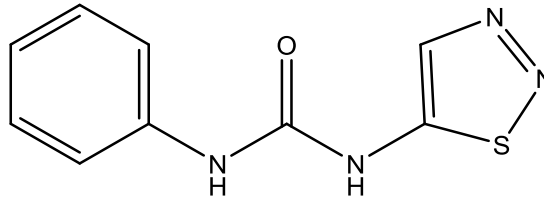
Las citoquininas pueden definirse como moléculas derivadas de la adenina, con una cadena lateral unida al grupo amino 6 del anillo purínico. La cadena lateral puede ser isoprenoide o aromática. Las citoquininas sintéticas más conocidas son el CPPU (

b)Tidiazuron

Figura 2.5.a) y el tidiazuron (Figura 2.5.b), que actúan como análogos estructurales de la molécula natural, con una actividad muy potente (27).



a) Florclorfenuron (CPPU)



b) Tidiazuron

Figura 2.5: Florclorfenuron (CPPU) y Tidiazuron

La formación de citoquininas se da en cualquier tejido vegetal, aunque en las raíces es donde se produce la mayor cantidad de estas hormonas. Regularmente, la mayor producción de citoquininas en una planta se da en sitios y tiempos de intenso desarrollo. La aplicación externa de este grupo de hormonas en un determinado tejido, promueve que el tejido auto-induzca la síntesis de citoquininas. Lo cual puede propagarse al resto de la planta.

El transporte de estas fitohormonas se puede presentar por medio de los tejidos conductores internos de la planta: xilema y floema. Lo cual le da una gran movilidad dentro de la planta. El flujo preferencial de la fitohormona irá desde una reserva abundante hacia un tejido demandante de la misma. Este efecto es visible con las hormonas de origen natural, debido a que las sintetizadas presentan poca o nula movilidad (27).

Las principales acciones de las citoquininas se pueden resumir en el control de:

- Ciclo celular de reproducción
- Diferenciación celular
- Desarrollo de cloroplastos (formador de pigmentos fotosintéticos)
- Dominancia apical
- Senescencia foliar
- Expansión de los cotiledones (entradas de luz en etapa de germinación)

La aplicación de citoquininas es cada vez más generalizada, debido a que la mayor parte de los vegetales responden a su aplicación externa. La eficiencia de la respuesta, radica en la etapa en la cual se encuentra la planta. Adicional a ello, para poder lograr una respuesta eficiente la dosificación requerida es muy baja (26).

Los efectos más importantes dentro de una cosecha son:

- Amarre de fruto.
- Crecimiento de fruto.
- Crecimiento vegetativo.
- Desarrollo de yemas lateral (aumento de ramificaciones).
- Mejora el proceso fotosintético promoviendo la formación y distribución de fotosintatos.
- Estimulan la germinación de semillas.

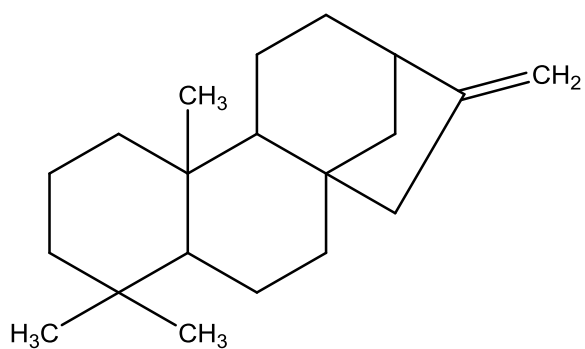
### **2.5.3. Giberalinas**

Las giberalinas se producen en la zona apical, frutos y semillas. Las principales actividades que ejerce son: interrupción del periodo de latencia de las semillas,

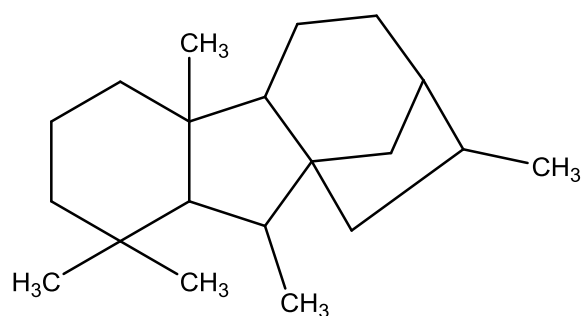
introducción del desarrollo de yemas y frutos, y la regulación del crecimiento longitudinal del tallo (28).

Todas las giberalinas se derivan del ent-kaureno y tienen la estructura básica del ent-giberelano. La giberalina más común es la GA452D. Las formas estructurales se pueden observar en la Figura 2.6.

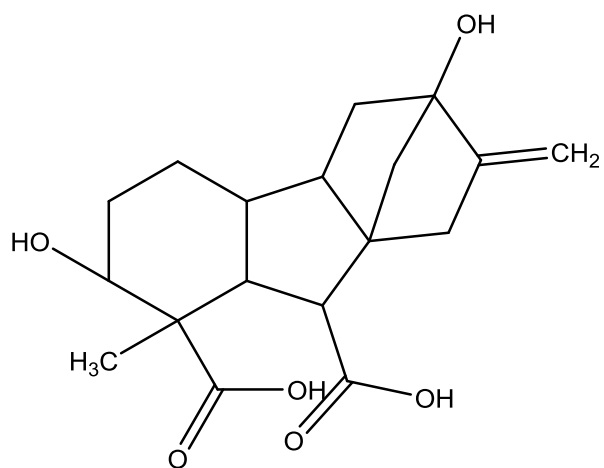
Los efectos que causan las giberalinas son: estimular el crecimiento del tallo, regular la transición de la fase juvenil a la fase adulta, influir en la iniciación floral, promover el establecimiento y crecimiento del fruto, promover la germinación de semillas y la producción de enzimas hidrolíticas. Las giberalinas producen respuestas en concentraciones sumamente bajas, siempre y cuando exista un mecanismo eficaz para la percepción y transducción de la señal (28). Estas hormonas inducen el crecimiento por medio de una alteración de la distribución de calcio en los tejidos. Al favorecer la síntesis de enzimas hidrolíticas como la  $\alpha$ -amilasa, promueve la obtención de alimento al organismo vegetal. Las giberalinas son las únicas fitohormonas que no se han logrado reproducir de forma sintética.



a) ent-kaureno



b) ent-giberelano



c) GA452D

Figura 2.6: Formas estructurales de las giberalinas

La Giberlina comercializada normalmente se denomina Ácido Giberélico A<sub>3</sub> (GA<sub>3</sub>), el cual tiene una estructura similar a las giberlinas naturales y su forma estructural se puede observar en la Figura 2.7.

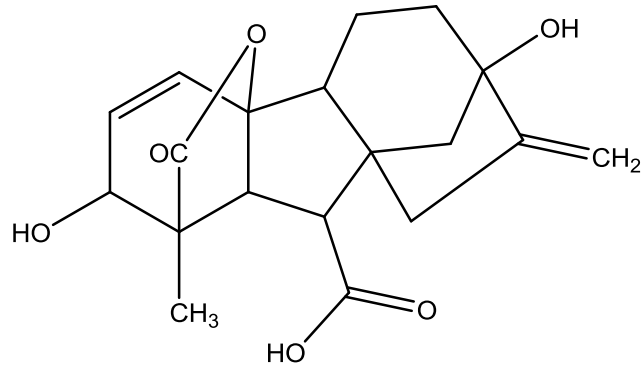
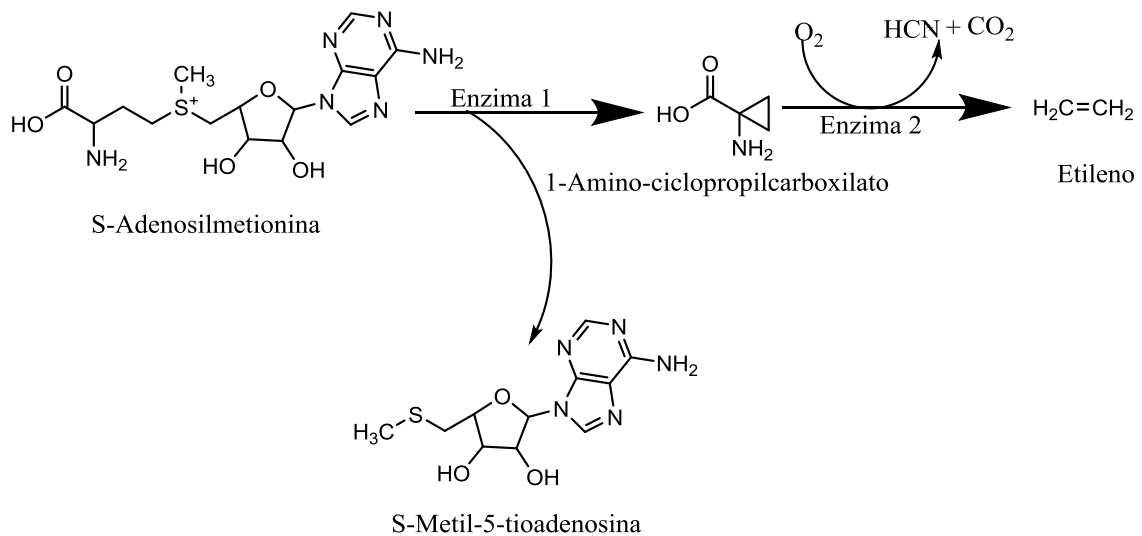


Figura 2.7: Ácido Giberélico A<sub>3</sub>

#### 2.5.4. Etileno

El etileno es la fitohormona responsable de los efectos de estrés en las plantas, maduración de frutos, senescencia de hojas y flores, y la abscisión del fruto. El etileno es el agente que provoca efectos de maduración. Este compuesto se sintetiza por medio de la S-adrenosil metionina (SAM), el cual pasa a formar un intermediario que a su vez será oxidado para obtener como producto etileno, ácido cianhídrico y dióxido de carbono (6). Otras formas de obtención de etileno para las plantas son por medio del uso de otro tipo de fitohormonas, las cuales se puedan degradar en etileno. El proceso biológico de obtención de etileno se lo puede observar en la Figura 2.8. En donde adicionalmente se mencionan las enzimas precursoras de la degradación.





Enzima 1: 1-Aminociclopropano-1-carboxilato sintasa

Enzima 2: Aminociclopropano carboxilato oxidasa

Figura 2.8: Proceso biológico de formación de etileno

Las respuestas que tiene el etileno sobre una planta son sumamente variadas. Las más conocidas son: estimula la senescencia de hojas y flores, prolongando su tiempo de permanencia en la planta y previniendo que se marchiten en forma temprana. Además, estimula la senescencia de las células maduras del xilema, lo cual permite que los conductos internos de la planta permanezcan hábiles por mayor tiempo (27). Provoca una germinación temprana de semillas. Estimula un correcto desarrollo de las raíces, proveyendo de una mayor cantidad de pelos radicales; responsables de la absorción de minerales y agua del suelo. Estimula la maduración de frutos con objeto de promover ablandamiento, cambios en la coloración o sabor, entre otros efectos (26).

## 2.6. Caracterización de la materia prima y productos

En este proyecto se emplearon residuos de fruta, proveniente de la extracción de pulpas y jugos de la planta Latinoamerica de Jugos S.A. Adicionalmente, se emplea estiércol bovino, recolectado de granjas aledañas a la planta. Para el control de la investigación se

realizan los siguientes análisis tanto de la materia prima, como de la mezcla reactiva en la parte superior e inferior del reactor, y del producto final obtenido, el biol.

### **2.6.1. Sólidos totales (TS)**

Los sólidos totales (TS, por sus siglas en inglés) se refieren al peso del material seco remanente después de pasar por un proceso de secado a 105°C, hasta que no se detecte pérdida de peso (5). El porcentaje de sólidos óptimo para la operación de digestores continuos oscila entre el 4 al 10% (29). Esto se debe a que a medida que aumente el contenido de sólidos, la movilidad de los microorganismos dentro del sustrato se verá reducida. Lo cual afecta la eficiencia y la producción de biogás. El porcentaje de sólidos deseado, de igual forma dependerá del diseño de la planta.

### **2.6.2. Sólidos volátiles (oTS)**

Los sólidos volátiles o sólidos totales orgánicos se refieren a la parte de sólidos totales que se pueden volatilizar durante la calcinación a temperaturas superiores a 550°C. Teóricamente, dentro de los sólidos volátiles se contienen a todos los compuestos orgánicos que pueden emplearse en la degradación biológica (5). Por lo cual, el rendimiento final del proceso estará dictado de forma directa por la cantidad de materia orgánica que dispongan los microorganismo para trabajar.

### **2.6.3. Sólidos suspendidos totales (TSS)**

Los sólidos suspendidos totales (TSS, por sus siglas en inglés) indican la cantidad de sólidos presentes en suspensión. Este parámetro se puede medir por medio de la filtración o centrifugación de una mezcla y su posterior secado a 105°C, hasta que no se note una diferencia de peso. Este valor indica la cantidad de sólidos no disponibles en solución acuosa cuyo peso y tamaño son relativamente altos y por tanto no pueden ser usados directamente por los microorganismos (5). Este análisis ayuda a reconocer la

cantidad de materia orgánica que necesita pasar por un proceso de hidrólisis para que los microorganismos de las etapas subsecuentes puedan emplearlos.

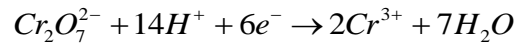
#### **2.6.4. Sólidos suspendidos volátiles (VSS)**

Los sólidos suspendidos volátiles (VSS, por sus siglas en inglés) expresan la cantidad de sólidos orgánicos en suspensión. Este parámetro se determina por medio de la calcinación a temperaturas superiores a los 550°C del material suspendido. El valor es un indicador directo del total de materia orgánica que se encuentra en forma suspendida. Los VSS son un indicador de la biomasa (microorganismos) existentes en el proceso (10).

#### **2.6.5. Demanda química de oxígeno (DQO)**

La demanda química de oxígeno (DQO) es una aproximación del contenido de materia orgánica total presente en una muestra. La DQO cuantifica la cantidad de oxígeno necesario para lograr oxidar la materia orgánica degradable. Las unidades de expresión son mg de oxígeno consumido para oxidación por litro de muestra [ $\text{mg O}_2 / \text{L}$ ] (30).

Este parámetro se lo puede obtener por medio de la digestión de una muestra conocida por 2 horas a una temperatura de 150°C, con una solución de dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) u otro agente oxidante fuerte; en un medio ácido. Esto permite que la materia orgánica presente se oxide por medio del consumo de dicromato de potasio, cuyo valor de absorbancia es conocido, para generar ión crómico con una absorbancia diferente. La diferencia entre los valores de absorbancia permite realizar la medición posterior por colorimetría (5). La Ecuación 2.7 enseña el mecanismo de reacción por el cual trabaja la determinación por DQO.



#### Ecuación 2.7: Reacción de DQO

La diferencia de valores de DQO antes y después del proceso de digestión identifica la eficiencia del proceso. La diferencia entre los valores de entrada y salida permite conocer de forma indirecta la cantidad de materia orgánica degradada y transformada en metano. El método de determinación se puede observar en el Anexo 2.

#### 2.6.6. Carga orgánica volumétrica (COV)

La carga orgánica volumétrica se refiere a la cantidad de materia orgánica introducida diariamente por metro cúbico de volumen de digestor. Las unidades más comunes para su expresión son: kg oTS / m<sup>3</sup><sub>reactor</sub> día o kg DQO<sub>feed</sub> / m<sup>3</sup><sub>reactor</sub> día (31).

El control de la carga orgánica que se alimenta diariamente al biodigestor es fundamental cuando se desea mantener condiciones estables en la digestión. Si se aumenta el valor de COV se crea inestabilidad debido a una acumulación de sólidos volátiles o demanda química de oxígeno. En el caso de tener concentraciones bajas en el afluente o tiempos de retención elevados, los valores de COV serán bajos. Por lo cual, las bacterias tendrán tiempo y capacidad suficiente para degradar toda la materia orgánica. Sin embargo, cuando estos valores son muy bajos se tendrá trabajando al reactor con rendimiento muy bajo.

Si bien un COV mayor permite obtener una mayor cantidad de biogás, un COV pequeño ayuda a degradar la materia orgánica por completo; el objetivo se basa en tener un equilibrio entre ambos.

### **2.6.7. Relación carbono – nitrógeno (C/N) y carbono – fósforo (C/P)**

Las bacterias precisan de carbono y nitrógeno para poder subsistir, es decir para pasar por las etapas de crecimiento y desarrolló. Un buen balance entre los nutrientes genera una gran actividad enzimática dentro del reactor. La relación entre C/N a mantener dentro de un biodigestor es de 30:1. Si la relación disminuye a valores cercano a 10:1 se reducirá la calidad del material digerido. Por el contrario, si la relación incrementa a valores cercano a 40:1 se inhibe el crecimiento por falta de nitrógeno (30).

Por otra parte, uno de los valores que tiene una importancia similar en el desarrollo de microorganismo dentro del reactor es la relación carbono y fosforo. Cuyo valor idóneo se encuentra en 10:1 (32).

Además de ello, se debe tomar en cuenta que dentro del desarrolló del biol, es necesario tomar en cuenta valores que permitan al producto participar como fuente activa de nitrógeno y fósforo. Los métodos de determinación de nitrógeno y fósforo emplean colorimetría y se pueden observar a detalle en los Anexos 3 y 4.

### **2.6.8. Alcalinidad**

La alcalinidad expresa la concentración de carbonatos en unidades de concentración de carbonato de calcio,  $\text{CaCO}_3$ . Se emplea como una medida de la capacidad tampón, la cual dentro del proceso es la encargada de evitar cambios bruscos en el pH. Por lo tanto, es una forma rápida y eficiente de conocer cuál es el estado actual del reactor (20). Si se reduce la alcalinidad significa que la carga orgánica empleada es muy alta, debido a que se está produciendo una gran cantidad de  $\text{CO}_2$ , el cual acidifica la solución y disminuye la capacidad buffer. Los valores de alcalinidad dentro de un digestor anaerobio están en el rango de 1000 a 5000 mg  $\text{CaCO}_3$  /L.

### **2.6.9. Ácidos grasos volátiles (AGV)**

Los ácidos grasos de bajo peso molecular se denominan ácidos grasos volátiles (AGV). Estos ácidos son producto de los procesos biológicos de la acidogénesis y acetanogénesis. Los ácidos grasos volátiles son los precursores principales para la producción de metano. Además de ello, el tener un exceso de AGV promueve una acidificación del sistema, e indica una sobrecarga dentro del reactor o un tiempo de permanencia muy bajo (20). Los valores óptimos en la concentración de ácidos grasos volátiles se debe mantener entre valores de 500 a 1000 mg  $\text{CH}_3\text{COOH/L}$  en sistemas mesofílicos y de 1000 a 2000 mg  $\text{CH}_3\text{COOH / L}$  en sistemas termofílicos. Los valores en relación con la alcalinidad se deben mantener lo más bajos posibles, lo cual indica un correcto funcionamiento del proceso.

Además de ello, se puede calcular la relación con la alcalinidad para conocer las condiciones de operación dentro del reactor. Cuando el valor de AGV/alcalinidad se encuentra entre 0,5 – 1, los valores de dióxido de carbono en el biogás comienzan a aumentar debido a que la actividad de las bacterias acetanogénicas superan a los diferentes grupos de microorganismos y no se permite la formación adecuada de metano (20).

### **2.6.10. Análisis de macro y micro nutrientes**

Existen diferentes tipos de nutrientes que la planta necesita para poder desarrollarse de forma adecuada. Aquellos que necesita en una mayor cantidad se denominan macronutrientes, y los que necesita en una menor concentración son conocidos como micronutrientes. Los micro-nutrientes en el ámbito agrícola son los diferentes metales presentes en el suelo que la planta precisa para madurar (6).

El medio por el cual las plantas vasculares absorben los nutrientes es a partir de las raíces o las estomas de las hojas. Las características de los macronutrientes es que la deficiencia de uno de los elementos no permite que la planta complete su ciclo vital, y es insustituible. En la Tabla 2.4 se pueden observar los macronutrientes así como la forma por la cual la planta los obtiene y su uso principal (33).

Tabla 2.4: Macronutrientes vegetales

Compuesto	Forma de ingreso a la planta	Principales funciones
Hidrógeno (H)	H <sub>2</sub> O	Constitución de azúcares
Carbono (C)	CO <sub>2</sub>	Constituyente principal de la planta
Oxígeno (O)	O <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O, CO <sub>2</sub>	Respiración celular
Nitrógeno (N)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Componente de aminoácidos, ácidos nucleicos, clorofila y coenzimas
Fósforo (P)	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Componente primordial de compuestos fosfatados que transportan energía
Potasio (K)	K <sup>+</sup>	Requerido para ósmosis y equilibrio químico
Calcio (Ca)	Ca <sup>2+</sup>	Componente de la pared celular
Magnesio (Mg)	Mg <sup>2+</sup>	Componente central de la clorofila
Azufre (S)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Forma parte de algunos aminoácidos

Los micronutrientes u oligoelementos se presentan en la nutrición vegetal en cantidades pequeñas, aunque no de forma indispensable. Los más comunes se encuentran resumidos en la Tabla 2.5, en donde se pueden conocer sus funciones principales. Un parámetro importante para comparar la calidad del biol con otras marcas disponibles en el mercado es la relación entre los macro-nutrientes, así como la cantidad de micronutrientes presentes.

Tabla 2.5: Micronutrientes esenciales en las plantas

<b>Compuesto</b>	<b>Forma de ingreso a la planta</b>	<b>Principales funciones</b>
Cloro (Cl)	$\text{Cl}^-$	Produce osmosis y equilibrio iónico
Hierro (Fe)	$\text{Fe}^{2+}$ , $\text{Fe}^{3+}$	Necesario para la síntesis de clorofila
Boro (B)	$\text{H}_3\text{BO}_3$	Interviene en el uso de Calcio, la polinización e integridad de las membranas
Manganeso (Mn)	$\text{Mn}^{2+}$	Activador de algunas enzimas y necesario para la liberación de oxígeno en la fotosíntesis
Zinc (Zn)	$\text{Zn}^{2+}$	Activador o componente de algunas enzimas
Cobre (Cu)	$\text{Cu}^+$ , $\text{Cu}^{2+}$	Activador o componente de algunas enzimas
Niquel (Ni)	$\text{Ni}^{2+}$	Forma parte de la ureasa, esencial en el metabolismo
Molibdeno (Mo)	$\text{MoO}_4^{2-}$	Necesario para la fijación de nitrógeno y reducción de nitrato



### **3. Métodos Experimentales**

En el presente proyecto se trabaja con un biodigestor a escala semi-industrial, el cual opera en régimen continuo, es decir, que diariamente una cantidad específica de materia prima ingresa al biodigestor, y esa misma cantidad es removida del mismo, manteniendo el volumen del digestor constante. Durante el desarrollo de esta tesis se mantiene un control en todas las etapas del proceso, empezando con el pretratamiento y la alimentación de la materia prima, el control de los parámetros de operación; y la obtención de biogás y biol. Todo esto con la finalidad de aumentar la productividad y mejorar la calidad de los productos obtenidos.

#### **3.1. Descripción de la planta semi-industrial de digestión anaeróbica**

Los insumos necesarios para el proceso de digestión anaeróbica son desechos orgánicos vegetales y desechos orgánicos animales. La materia prima debe pasar por el pretratamiento para poder ingresar al biodigestor. En cuanto a la materia orgánica vegetal, esta debe pasar por un molino de martillos, seguido de una trituradora de cuchillas para reducir el tamaño del desecho orgánico vegetal recibido. La materia orgánica animal es diluida en agua y posteriormente filtrada para separar todos los sólidos contenidos en la misma.

Después, es necesario realizar la mezcla de ambos insumos con agua dentro del tanque de homogenización. La mezcla se hace por medio de un sistema de doble hélice. El proceso se detiene después de una hora o una vez que el sistema se encuentre homogéneo.

Ya preparada la mezcla de alimentación, esta se bombea por medio de una bomba sumergible hacia un tamiz vibratorio. En el cual se busca eliminar las partículas que tengan tamaños poco apropiados que puedan causar el taponamiento de tuberías y que al mismo tiempo son ineficientes para el proceso de digestión anaeróbica.

Antes de alimentar al biodigestor es necesario que la misma cantidad de biol que se va a alimentar se traslade al sistema de almacenamiento de producto terminado. Para poder trasladar la mezcla digerida del reactor principal al sistema de almacenamiento de biol, se requiere que la mezcla reactiva haya estado en recirculación constante para que se haya degradado y sea homogénea. Para la recirculación se prende la bomba neumática, de tal forma que el producto que se encuentra en la parte superior del reactor reingrese por la parte inferior del tanque generando un flujo ascendente de la mezcla reactiva. Una vez vaciado el volumen necesario del digestor se alimenta con el volumen de alimentación preparado y se recircula por 24 horas hasta la siguiente alimentación.

Es necesario mantener una agitación constante por medio de recirculación para mantener el contacto entre el sustrato fresco y los microorganismos al interior del reactor, beneficiando de esta manera el proceso de digestión anaerobia y la producción de biogás. La recirculación se realiza por medio de una bomba neumática, la cual toma el material contenido en la parte superior del digestor y la hace pasar por el intercambiador de calor grande, de forma que se mantenga constante la temperatura y la composición dentro del tanque y la reingrese en la parte inferior del biodigestor.

Durante la operación se puede tener taponamiento de tuberías. Para lo cual, es necesario detener el sistema de recirculación o alimentación y cerrar todas las llaves, encontrar el origen de la obstrucción y liberarlo.

El sistema de recolección de gas contiene un sistema de fuga implementado en la parte superior del reactor. Una vez superada la presión de fuga, el gas pasa por dos sistemas de purificación para compuestos sulfurados y humedad. Cuando el biogás pasó por el sistema de purificación llegan al contador y posteriormente a un almacenamiento temporal en el gasómetro. Una vez que el gasómetro se encuentre lleno, un compresor lo carga en la bala de almacenamiento. Desde la bala se puede emplear dicho gas como fuente de energía eléctrica o térmica. En caso de sobrepresión en el sistema de almacenamiento de gas, se libera el mismo hacia un chispero de seguridad, para la quema y liberación de presión. El diagrama de flujo del proceso se encuentra en el Anexo 1.

### **3.2. Descripción de la operación del biodigestor**

#### **3.2.1. Caracterización y obtención de la materia prima**

La materia prima en este proceso es estiércol bovino y residuos del procesamiento de pulpas y jugos de la plata Latinoamericana de Jugos S.A. La recolección de estiércol bovino se realiza en un establo cercano a la planta. Al momento de realizar la recolección del estiércol se observa que el mismo se encuentre lo más fresco posible y además se debe tener en cuenta que el ganado del cual se obtiene no mantenga ningún tipo de mantenimiento antibiótico, debido a que esto puede afectar la digestión. Una vez recolectado el estiercol se debe realizar el pesaje, la dilución y el filtrado. Se busca evitar el ingreso de sólidos como piedras, hojas, ramas, etc. Los cuales pueden afectar de forma directa la operación de las diferentes bombas o favorecer el taponamiento de tuberías.

El material orgánico vegetal se lo obtiene de la planta de preparación de pulpas y jugos Latinoamericana de Jugos S.A. la cual desecha las cascarras y pepas de los frutos con

residuos de pulpa. Toda la materia orgánica se somete a una reducción de tamaño en un molino de martillos seguido de una trituradora de cuchillas.

Se debe tomar en cuenta que antes de ingresar al sistema de alimentación, cada una de las materias primas debe ser pesada. Para lo cual se debe guardar la relación 1:3 en relación en peso de estiércol / desecho de fruta.

### **3.2.2. Operación y monitoreo de la planta semi-industrial**

La operación de la planta semi-industrial inicia en el momento que se realiza la recolección de la materia prima, una vez que la materia orgánica animal y vegetal han atravesado los procesos de pre-tratamiento, se procede a realizar la mezcla de las materias primas en el tanque de alimentación, en el cual se controla la homogeneidad de la mezcla resultante. Después de ello, se hace pasar por el tamiz vibratorio para eliminar las partículas con tamaños excesivos. Una vez listo este proceso se procede a la recirculación de la mezcla reactiva por medio de una bomba neumática para que el mismo pase posteriormente al tanque de almacenamiento final de biol. Con lo cual se prosigue con la alimentación hacia el tanque de reacción. Para ello, es necesario controlar los niveles en los tanques de reacción y almacenamiento de biol. La temperatura se controla por medio de la medición en los tanques y en los intercambiadores de calor. La cantidad de material orgánico alimentado tendrá que ser igual a la cantidad de fertilizante orgánico descargado hacia el tanque de almacenamiento final para mantener un nivel constante.

Los controles de temperatura, presión y nivel del líquido se realizan a través de un sistema de control automático, y el uso de manómetros, medidores de nivel y temperatura. Se permite una constante agitación por recirculación en el tanque de reacción y el uso de una bomba neumática, lo cual permite el contacto entre el sustrato

fresco y los microorganismos al interior del reactor, así como una estabilización de la temperatura.

El biogás resultante atraviesa un proceso de purificación, el cual se detalla más adelante, y se contabiliza la cantidad de gas producido por medio de un contador. El uso del gas resultante se da gracias al posterior almacenamiento en una bala de gas, de la cual se puede distribuir el gas al uso térmico en el caldero o energético en el motor a gas.

Antes de realizar la alimentación al biodigestor es necesario tomar una pequeña muestra de la mezcla reactiva, para realizar los análisis pertinentes como: sólidos totales, sólidos totales orgánicos, sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles, demanda química de oxígeno, alcalinidad, pH y ácidos grasos volátiles.

El gas obtenido del proceso también es analizado cada cierto tiempo para observar la calidad del mismo. Estos controles se realizan a través de la prueba de llama (cualitativa) y burbujeo del gas a través de hidróxido de sodio (NaOH) (cuantitativa). Con estas pruebas se puede reconocer el porcentaje de metano ( $\text{CH}_4$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) que posee el biogás en el caso del control cuantitativo, o simplemente observar de forma directa si el biogás obtenido del proceso es de buena calidad para su combustión en el control cualitativo.

Además, se realizan análisis a la mezcla reactiva dentro del reactor. Tomando muestras de la parte superior del reactor y de la parte inferior del mismo. Para lo cual, las muestras se deben tomar antes del proceso de alimentación. Los análisis que se realizan son: sólidos totales, sólidos totales orgánicos, sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles, demanda química de oxígeno, alcalinidad, pH y ácidos grasos volátiles.

Por último, al producto final obtenido como fertilizante orgánico se le realizan análisis como: sólidos totales, sólidos totales orgánicos, sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles, demanda química de oxígeno, alcalinidad, pH, ácidos grasos volátiles, contenido de nitrógeno y contenido de fósforo.

En la Figura 3.1 se puede observar el diagrama de bloques del proceso de digestión anaeróbica implementado en Latinoamericana de Jugos S.A.

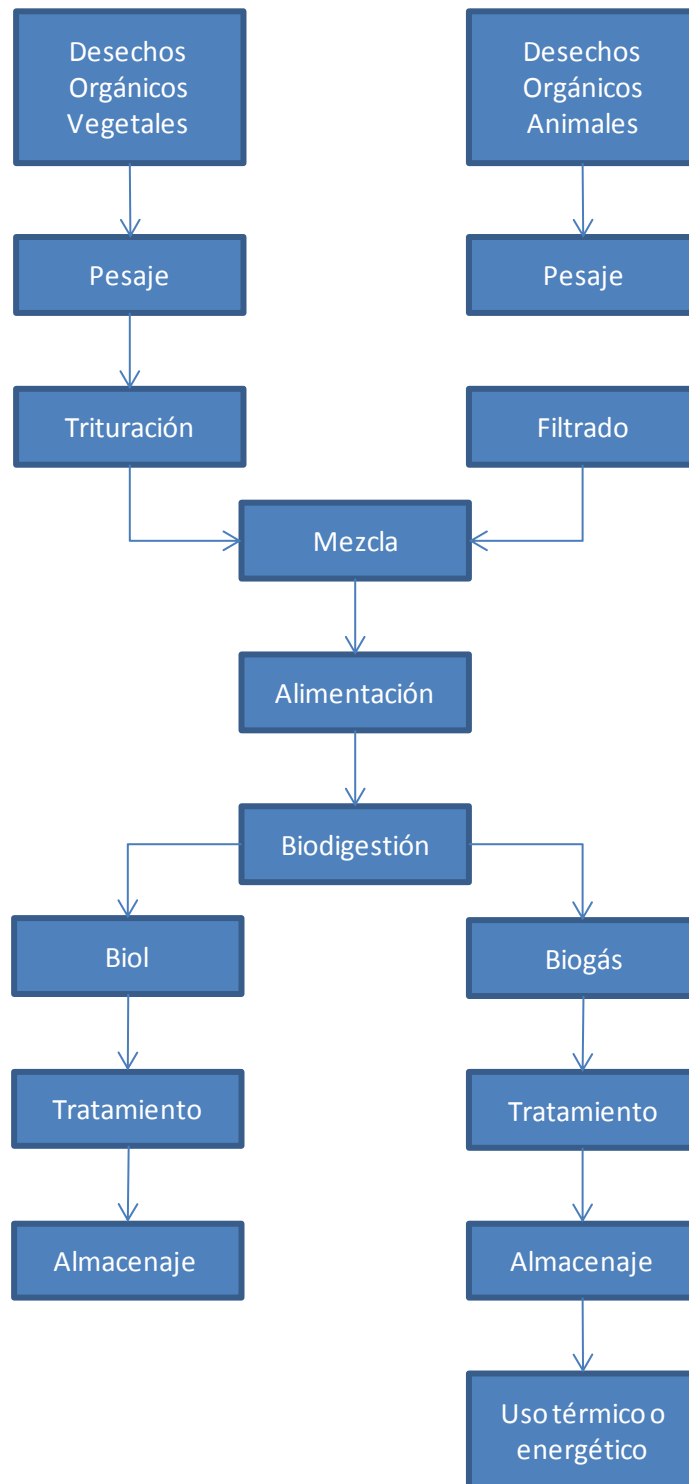


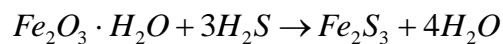
Figura 3.1: Diagrama de bloque del proceso de digestión anaeróbica

### 3.2.3. Procesamiento del biogás

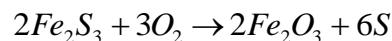
El biogás se encuentra principalmente compuesto por  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ , pero también por pequeñas cantidades de otros gases. Estos pueden ser sulfuros de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ) y

vapor de agua, los cuales perjudican las características combustibles del biogás, evitando que el mismo pueda ser empleado de forma directa en equipos o maquinarias. Para ello el biogás debe ser sometido a un tratamiento previo de purificación (7).

La primera etapa del proceso es la eliminación de sulfuros de hidrógeno. El cual es un agente que puede provocar la corrosión de equipos por sus residuos de combustión. Y, es altamente venenoso y causante de malos olores. La eliminación del mismo se da por medio del uso de limaduras de hierro. Las limaduras de hierro funcionan por medio de las Ecuación 3.1 y Ecuación 3.2.



Ecuación 3.1: Reducción del ácido sulfhídrico



Ecuación 3.2: Oxidación del sulfuro de hierro

Para la eliminación de trazas de sulfuros de hidrógeno y de humedad se emplea un filtro de carbón. En el cual, la humedad y el vapor de agua se van depositando sobre la superficie de carbón y se condensan para después precipitar y poder ser retirados.

Para poder emplear el biogás como un producto combustible en diferentes maquinarias, es necesario concentrar el metano presente hasta concentraciones superiores al 90% (8). Para lograr ello, se debe eliminar el CO<sub>2</sub> de la mezcla. Esto se puede realizar por medio del paso del gas en soluciones de hidróxido de sodio (NaOH) o cal (Ca(OH)<sub>2</sub>). Se debe tomar en cuenta que el almacenamiento de un biogás que no cumpla estas condiciones requiere del uso de diversos recursos, y como no se puede emplear de forma directa generaría una serie de problemas y gastos.



### **3.3. Análisis físico – químicos**

Los análisis físico – químicos que se realizan a lo largo de la operación de la planta semi – industrial, permiten conocer y evaluar de forma óptima el estado de operación del proceso de digestión anaerobia y la calidad de los productos obtenidos.

#### **3.3.1. Medidor de pH**

El pH es un parámetro muy importante en el proceso de digestión anaerobia, debido a que provee una idea de la interacción de los microorganismos dentro del proceso. En el caso de tener valores de pH ácidos, esto quiere decir que la actividad de las bacterias acidogénicas y acetanogénicas es mayor a las bacterias metanogénicas. Esto se debe a que los primeros grupos de bacterias están generando más productos del que las bacterias generadoras de metano pueden utilizar. Esto es un indicador claro de una sobrecarga en la alimentación de materia orgánica hacia el biodigestor. En adición, se debe considerar que el crecimiento y la resistencia a cambios de las bacterias metanogénicas es menor al de los demás grupos de microorganismo involucrados en la digestión anaerobia (31).

Para asegurar un adecuado funcionamiento del proceso es importante mantener la mezcla reactiva en un rango de pH de 6,5 a 7,5. Para la operación del digestor se debe cuidar mucho que el valor de pH de la mezcla reactiva se mantenga dentro de un rango neutro.

El equipo utilizado para la medición de pH es un medidor marca Hanna, modelo HI 8424. El cual se puede observar en la Figura 3.2.



Figura 3.2: Medidor de pH

### 3.3.2. Sólidos totales

Los sólidos totales proporcionan la información de la cantidad de sólidos que se encuentran en la mezcla. Lo cual ayuda a determinar si la alimentación preparada tiene un valor óptimo, manteniéndose entre un 4 a 12%. Además, se busca evitar el taponamiento de tuberías y bombas; e inclusive mantener niveles adecuados de forma tal que no inhiban el proceso. Comparando el valor de la alimentación con el de la mezcla reactiva y el producto final obtenido se puede conocer la degradación de materia sólida. Por lo cual en la mezcla reactiva como en el biol, se busca mantener una cantidad de sólidos menor a la de la alimentación.

Para llevar a cabo este experimento se debe tomar alrededor de 20mL de muestra y colocarlos en un crisol. Previamente es necesario tomar el peso del crisol seco (1 hora a 105°C) y limpiarlo. Después de añadir la muestra se registra nuevamente el peso. Posteriormente, se ingresan las muestras por 24 horas al horno precalentado a 105°C. Una vez transcurrido este tiempo, se retira el crisol del horno y se lo deja enfriar a temperatura ambiente, para poder registrar nuevamente su peso. La fórmula para determinar los sólidos totales se describe en la Ecuación 3.3.

$$TS = \frac{m_2 - m_0}{V_m} \times 10^6 \quad \left[ \frac{mg \text{ sólidos totales}}{L} \right]$$

Ecuación 3.3: Determinación de TS

Donde:

TS:	Sólidos totales	$\left[ \frac{mg}{L} \right]$
$m_0$ :	Peso crisol	$[g]$
$m_1$ :	Peso muestra y crisol	$[g]$
$m_2$ :	Peso residuo seco y el crisol	$[g]$
$V_m$ :	Volumen de la muestra original	$[mL]$

En esta prueba también se busca registrar la densidad de la muestra a analizar. Para lo cual el cálculo a emplear se resume en la Ecuación 3.4.

$$\rho = \frac{m_1 - m_0}{V_m} \quad \left[ \frac{g}{mL} \right]$$

Ecuación 3.4: Cálculo de densidad

### 3.3.3. Sólidos totales orgánicos

Los sólidos totales orgánicos corresponden al porcentaje de materia orgánica que contienen los sólidos totales. Es conveniente un porcentaje mayor al 60% con relación a los sólidos orgánicos totales. El método consiste en volatilizar todos los compuestos orgánicos que se pueden oxidar. Se necesita calcinar los remanentes del estudio de TS a una temperatura de 550°C durante 8 horas. Después, se retiran las muestras de la mufla y se espera que se enfríen hasta alcanzar la temperatura ambiente. Por último se pesa el

crisol con los productos de la calcinación y se registra el valor obtenido. La Ecuación 3.5 describe el método de cálculo.

$$oTS = \frac{m_3 - m_2}{V_m} \times 10^6 \quad \left[ \frac{mg \text{ sólidos orgánicos totales}}{L} \right]$$

Ecuación 3.5: Cálculo de oTS

Donde:

oTS:	Sólidos orgánicos totales	$\left[ \frac{mg}{L} \right]$
$m_2$ :	Peso residuo seco y crisol	$[g]$
$m_3$ :	Peso residuo calcinado y crisol	$[g]$
$V_m$ :	Volumen de la muestra original	$[mL]$

#### 3.3.4. Sólidos suspendidos totales

El valor de sólidos suspendidos volátiles, representan a la materia particulada que se mantiene como suspensión. La suspensión indica sólidos con tamaños de partículas muy grandes. Por lo general se la considera como aquella fracción de materia orgánica que se puede separar por medio de procesos físicos. Para poder calcular este parámetro es necesario tomar un volumen conocido de la muestra de alrededor de 50 mL y hacerlo pasar por una centrifugadora a 3200 revoluciones por minutos (rpm) por 15 minutos. Después, es necesario tomar el peso de un crisol limpio y seco (a 105°C por 1 hora) y registrarlo.

En la muestra centrifugada se separa la parte líquida. Después, se introduce un poco de agua destilada al vial de centrifugación y se agita vigorosamente para liberar toda la fase sólida que se encuentra en las paredes del recipiente. Se trasvasa el contenido del vial

con agua al crisol vacío, tomando en cuenta que todo el material haya pasado al crisol y no existan remanentes dentro del vial. Se lleva el crisol con la muestra a la estufa para secarlo a 105°C por 24 horas. Después del proceso de secado se registra nuevamente el peso del crisol con la muestra seca. La Ecuación 3.6 permite obtener este valor.

$$TSS = \frac{m_5 - m_4}{V_m} \times 10^6 \quad \left[ \frac{\text{mg sólidos suspendidos totales}}{L} \right]$$

Ecuación 3.6: Cálculo de TSS

Donde:

$TSS$ : Sólidos suspendidos totales  $\left[ \frac{\text{mg}}{L} \right]$

$m_4$ : Peso crisol  $[g]$

$m_5$ : Peso residuo seco y crisol  $[g]$

$V_m$ : Volumen de la muestra original  $[mL]$

### 3.3.5. Sólidos suspendidos volátiles

Los sólidos suspendidos volátiles se emplean como el indicador de la materia orgánica en suspensión. La cual no puede ser directamente usada por los microorganismos, debido a que debe pasar por un proceso de ruptura de enlaces para emplearse dentro del sistema de reacción. Para poder obtener este valor, es necesario tomar el producto seco de TSS y hacerlo pasar por un proceso de calcinación a 550°C por un periodo de 8 horas. Después de lo cual se extrae la muestra calcinada y se la deja enfriar a temperatura ambiente, para registrar el peso. La Ecuación 3.7 representa el cálculo a realizar.

$$VSS = \frac{m_5 - m_6}{V_m} \times 10^6 \quad \left[ \frac{mg \text{ sólidos suspendidos volátiles}}{L} \right]$$

Ecuación 3.7: Cálculo de VSS

Donde:

VSS:	Sólidos suspendidos volátiles	$\left[ \frac{mg}{L} \right]$
$m_5$ :	Peso residuo seco y crisol	$[g]$
$m_6$ :	Peso residuo calcinado y crisol	$[g]$
$V_m$ :	Volumen de la muestra original	$[mL]$

### 3.3.6. Demanda química de oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno es un parámetro acumulativo, el cual nos indica de manera indirecta la cantidad de materia orgánica degradables en una muestra. Este parámetro se emplea para conocer la efectividad que tiene el proceso de degradación anaeróbica y su conversión a biogás. Si se mantiene un valor determinado de DQO a la entrada del biodigestor y otro a la salida del mismo, se puede obtener la cantidad de materia orgánica que se degradó y se convirtió en biogás. El análisis se lo realiza con las muestras de alimentación y biofertilizante total obtenido. Adicional a ello, para conocer que tan homogénea se encuentra la mezcla dentro del tanque anaerobio se toman muestras de la parte superior e inferior del biodigestor.

El método empleado para la determinación de la demanda química de oxígeno es el método de prueba de tubo con el colorímetro. Para digerir la muestra se emplea un reactor de marca Hach modelo DRB 200 y para leer la DQO se usa un colorímetro de marca Hach modelo DR/890. El rango de medidas del colorímetro va desde 0 hasta

1500 mg/L, por lo cual es necesario trabajar con diluciones de 1:10 para los análisis. Los equipos mencionados se pueden ver en la Figura 3.3. Los pasos para el desarrollo del método se encuentran descritos en el Anexo 2.

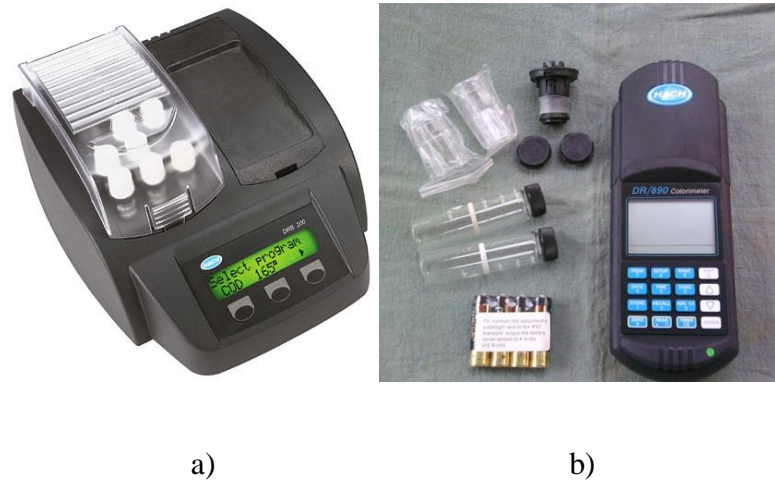


Figura 3.3: a) Reactor HACH DRB 200, b) Colorímetro HACH DR/890

### 3.3.7. Nitrógeno

El nitrógeno es uno de los principales compuestos de interés en fertilizantes, debido a que se necesita para el desarrollo adecuado de la planta. Este compuesto va a estar en forma amoniacal dentro del biol, por lo cual se puede presentar una relación para poder comparar el producto obtenido con otras marcas comerciales.

Para la cuantificación del nitrógeno total se emplea el método de prueba de tubo, con el colorímetro marca Hach modelo DR/890. El rango de datos que puede registrar este método va de 10 a 150 mg/L. Para lo cual es necesario preparar soluciones 1:10 o 1:20 de las muestras analizadas. Las muestras a analizar se toman únicamente de la descarga final del proceso. El método se encuentra registrado en el Anexo 3.

### 3.3.8. Fósforo

El fósforo es otro de los principales compuestos de interés en fertilizantes, debido a que se necesita para el desarrollo adecuado de la planta. El interés del potasio como fertilizante se debe al pobre porcentaje que tienen los suelos agrícolas en muchas zonas.

Para la cuantificación del fósforo total se emplea el método de prueba de tubo, con el colorímetro marca Hach modelo DR/890. El rango de datos que puede registrar este método va de 0 a 1,75 mg/L. Para lo cual es necesario preparar soluciones 1:100 de las muestras analizadas. Las muestras a analizar se toman únicamente de la descarga final del proceso. El método se encuentra registrado en el Anexo 4.

### 3.3.9. Alcalinidad

La alcalinidad es un parámetro con el cual se puede conocer la estabilidad del proceso, debido a que da información general de los parámetros a los cuales está operando el biodigestor. Brinda, además, la oportunidad de emplear medidas correctivas antes de que se perciban variaciones significativas en otros parámetros como el pH y producción de biogás.

Los análisis se realizaron con muestras de la mezcla de alimentación, de la parte superior e inferior de la mezcla reactiva y con el producto final. Previo al análisis, la muestra debe ser sometida a centrifugación. Una vez centrifugada la muestra se toma alrededor de 20 mL de la muestra y se hace una titulación potenciométrica con ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 0,05M hasta alcanzar un pH final de 5,75 (34). Para ello es necesario mantener agitación continua. El valor de la alcalinidad se lo puede obtener empleando la Ecuación 3.8.



$$Alc = \frac{V_{Ac} \times C_{Ac}}{C_C} \times 10^5 \quad \left[ \frac{mg \text{ CaCO}_3}{L} \right]$$

Ecuación 3.8: Cálculo de alcalinidad

Donde:

$Alc$ : Alcalinidad equivalente a carbonato de calcio  $\left[ \frac{mg \text{ CaCO}_3}{L} \right]$

$V_{Ac}$ : Volumen de la solución de  $H_2SO_4$  utilizado para la titulación  $[mL]$

$C_{Ac}$ : Concentración de la solución de  $H_2SO_4$   $\left[ \frac{mol}{L} \right]$

$V_C$ : Volumen del centrifugado  $[mL]$

### 3.3.10. Ácidos grasos volátiles (AGV)

Los ácidos grasos volátiles son los precursores principales para la formación de metano y los que determinan la existencia de acidificación del proceso. Este parámetro sirve como indicador para conocer como están interactuando los diferentes grupos de microorganismos dentro del reactor.

Para poder realizar la medición es necesario centrifugar la muestra a 3200 revoluciones por un periodo de 15 minutos. Con el objetivo de obtener un volumen de sobrenadante de alrededor de 50 mL. Después de ello se prepara una solución 1:2, empleando un balón de 100 mL, y finalmente se homogeniza la solución. Después de preparar la misma es necesario hacerla pasar por una destilación simple.

Para la destilación se requiere de un balón de 500 mL, en el cual se agrega la muestra preparada y se le adicionan de 2 a 3 mL de ácido sulfúrico concentrado junto con algunos bulbos de ebullición. Después se agita la mezcla con precaución, para que se caliente rápidamente. Se coloca de inmediato el balón en el equipo de destilación

armado y se recoge un volumen de 7 mL del destilado en un balón de 25 mL y se los desecha. Se prosigue con la destilación y se recoge el destilado en un balón de 250 mL hasta obtener un volumen final de 75 mL.

Una vez que se obtiene el destilado se procede a realizar la titulación, para lo cual se pueden tomar muestras de 25 mL y colocarlas en un vaso de precipitación de 100mL. Se agregan unas pocas gotas del indicador de fenolftaleína y se coloca el vaso junto con un agitador magnético sobre la base del agitador. Se llena la bureta con una solución de NaOH 0.1M y se empieza la titulación. La titulación se detiene cuando el destilado cambie de coloración a rosa y el color persista por al menos un minuto. Se registra el volumen de NaOH utilizado para la valoración y se procede con el cálculo (34). El cual se puede observar en la Ecuación 3.9.

$$AGV = \frac{V_B \times C_B \times F_d}{V_d} \times 60000 \quad \left[ \frac{\text{mg equivalentes } CH_3COOH}{L} \right]$$

Ecuación 3.9: Cálculo de AGV

Donde:

$AGV$ : Ácidos grasos volátiles equivalente a ácido acético  $\left[ \frac{\text{mg } CH_3COOH}{L} \right]$

$V_B$ : Volumen de la solución de NaOH utilizado para la titulación  $[mL]$

$C_B$ : Concentración de la solución de NaOH  $\left[ \frac{\text{mol}}{L} \right]$

$V_d$ : Volumen de destilado  $[mL]$

$F_d$ : Factor de dilución  $[-]$

Se debe tomar en cuenta que el factor de dilución se obtiene de la división del centrifugado empleado dividido para el volumen total de aforo.

### **3.3.11. Análisis de macro-nutrientes y micro-nutrientes**

El método empleado para el análisis de macro-nutrientes y micro-nutrientes es el uso del equipo de absorción atómica. Esto se debe a que este es el método más utilizado para la determinación de elementos de diversos tipos de muestras metálicas.

El método se basa en la medición de la interacción de la radiación electromagnética con las muestras. En este equipo se mide la cantidad de potencia radiante absorbida por la muestra compuesta de un mismo elemento, el cual es expuesto a una determinada longitud de onda. Dicha longitud de onda, proviene de la relajación desde un estado excitado al estado fundamental de los átomos del elemento que se pretende analizar, el cual se genera en la lámpara de cátodo hueco (35).

Las etapas cruciales de este método son la inserción de la muestra y la atomización de la misma. En la inserción se emplean por lo general nebulizadores, los cuales generan un error debido a que no se introduce una cantidad que resulte representativa a toda la muestra. Por lo cual, la mezcla debe ser homogénea.

Después de realizada la inserción, el proceso de atomización se lo hace mediante la interacción de la muestra obtenida con una llama proveniente de la combustión entre aire y acetileno, para análisis más minuciosos se emplean llamas de acetileno con óxido nitroso; las cuales generan mayores temperaturas. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que en cualquiera de las llamas que se emplee, existe una interferencia debido a la posibilidad de generación de óxidos de los metales que se analiza.

Para la preparación de los diferentes estándares se procedió a revisar las especificaciones del equipo de absorción atómica. Para según ello poder realizar una

curva de calibración en el rango lineal de absorción de cada uno de los compuestos. Cada uno de los estándares fue preparado en una disolución de ácido nítrico al 2%, el cual de igual manera fue utilizado como blanco. Previo al encendido del equipo, se deben conectar cada una de las lámparas de cátodo hueco de cada uno de los metales que se pretende analizar. Posterior a ello, se debe observar detenidamente que el haz de luz se encuentre perfectamente alineado; adicionalmente, se debe comprobar que el medio de inserción de muestra se encuentre funcionando de manera adecuada. Una vez completados estos pasos, se empleo para el medio de atomización la llama de aire con acetileno, la cual se debe dejar encendida por un periodo de 30 minutos antes de realizar cualquier análisis, con el propósito de obtener una llama más estable.

Después de preparar el instrumento y cada una de las muestras es necesario realizar las curvas de calibración. Para ello, en cada uno de los metales a analizar, se debe realizar la curva de calibración de acuerdo al manual del equipo (en donde se describe la longitud de onda y la amplitud en A que se debe tener en el equipo). Una vez obtenidas las curvas de calibración para cada uno de los elemento, se procede a realizar el análisis de la muestra de Biol.

La muestra de Biol debe tener la menor cantidad de sólidos insolubles, los cuales pueden interferir en el mecanismo de inserción de muestra en el equipo. Para ello, es necesario hacer que el Biol pase por una etapa de centrifugación y filtrado.

### **3.3.12. Análisis de fitohormonas**

Para el análisis se empleó el equipo de Cromatografía de Gases con Espectrómetro de Masas, más conocido por sus siglas en inglés como: GC-MS. El equipo permite analizar con gran precisión la composición de diferentes elementos químicos e isótopos atómicos (35).



Figura 3.4 GC-MS Shimadzu QP2010

Para poder realizar el análisis es necesario separar los núcleos atómicos en función de su relación masa - carga ( $m/z$ ). Para lograr ello, la muestra pasa a través de una columna de sílice en contacto con helio en donde se busca separar las diferentes moléculas que ingresaron por medio de la interacción que se produce. Entre menor sea la interacción la molécula saldrá con un menor tiempo de retención hacia el análisis. Conjuntamente, se presenta un cambio de parámetros de temperatura para optimizar la separación. Al terminar el paso por la columna las moléculas son ionizadas por una fuente de impacto de electrones la cual es necesaria para poder analizar las muestras. Todas las moléculas pasan después por un filtro de masas cuadrupolo, el cual se compone de 4 barras alargadas en formación, conectadas eléctricamente en pares opuestos. La variación de la radiofrecuencia en el cuadrupolo permite sintonizar un determinado ion, el cual va a ser el único que pase al detector, eliminando cualquier otra especie que pueda generar interferencia. El detector registra la carga inducida cuando un ion golpea la superficie.

Este tipo de análisis se emplea para identificar los diferentes elementos químicos que forman un compuesto, así como estructuras que se pueden comparar con bases de datos

(35). En síntesis, el equipo logra la separación al calentar un haz de material del compuesto hasta vaporizarlo e ionizarlo. Después cada uno de los compuestos produce un patrón específico en el detector, lo cual permite analizar el compuesto. Existen bases de datos específicas que permiten comparar los análisis realizados con diferentes fitohormonas.

En adición, el equipo permite determinar la cantidad presente de un compuesto. Para lograr realizar el análisis es necesario tener un método de preparación de muestra que permita volatilizar los compuestos que se desean analizar. Para ello, fue necesario disolver cada uno de los estándares en alcohol potable; y mezclarlo cada 6 horas por un periodo de 24 horas. Después de la agitación, se procedió a volatilizar los compuestos por medio de una destilación al vacío. Empleando para ello, el rotavapor marca Heidolph. La destilación se lleva a cabo hasta secar la muestra, a una temperatura de 80°C. Todo el destilado se recolecta y se toma una pequeña muestra para poder analizarla.

En el caso de la muestra se lleva a cabo el procedimiento antes explicado. Con la pequeña variación que en la mezcla se toma una muestra de 50 mL de Biol y se los afora a 100 mL con alcohol potable. La mezcla pasa por el mismo proceso de agitación, y previo a la destilación al vacío se debe separar la fase sólida. Para lograrlo se pasa a la muestra por una centrífuga, por 10 minutos a una velocidad de 3000 rpm. Una vez separada la fase sólida se pasa a la destilación al vacío, y después se toma la muestra para inyección en el GC-MS.

### **3.3.13. Caracterización biogás**

Una alta producción de biogás no significa una alta cantidad de metano. El cual es el compuesto de mayor importancia debido a que es el único que se puede emplear para la

generación de energía térmica y eléctrica. Se considera un buen biogás cuando el porcentaje de metano se encuentra alrededor del 60%. Para poder determinar la calidad del biogás se realizan dos pruebas diferentes, una para determinar su presencia y otra para registrar el porcentaje de metano dentro del gas.

El metano se caracteriza por tener una llama de color azul al combustionarse. La prueba cualitativa de quemado consiste en observar la coloración azul del biogás al quemarlo cerca de una fuente de ignición. Para este procedimiento se requiere tener almacenado una cierta cantidad de biogás en las tuberías del sistema. Se enciende una vela cerca de una de las salidas de los mecanismo mencionados y se deja escapar al ambiente apuntando su liberación en dirección a la llama de ignición. En el caso de existir metano el cambio en la coloración de la llama será evidente. Otra forma de conocer su presencia es dejando escapar el gas almacenado a la llama piloto y observar la coloración producida.

Para conocer el porcentaje de metano dentro de la mezcla del biogás es necesario tomar una muestra conocida del mismo y dejarlo burbujear por medio de una solución al 4% en peso de hidróxido de Sodio (NaOH). Una vez que acaba el burbujeo se puede registrar el volumen final obtenido, el cual corresponderá directamente a la cantidad de metano en la mezcla. Esto se debe a que el NaOH es capaz de retener todo el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), debido a que los dos reaccionan para formar bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ).

### **3.4. Cálculos para la producción y degradación específica**

Para poder realizar los cálculos de la producción específica de biogás y de la degradación específica de DQO es necesario realizar un balance de masa en el reactor. El cual se puede calcular a partir de la Ecuación 3.10.

$$E_R - S_R - A_R = D_R$$

Ecuación 3.10: Balance de masa

Donde :

$E_R$ : Entrada  $[kg_{DQO}/día]$

$S_R$ : Salida  $[kg_{DQO} / día ]$

$A_R$ : Acumulación  $[kg_{DQO}/día]$

$D_R$ : Degradación  $[kg_{DQO}/día]$

Es necesario realizar el cálculo de caudales máxicos y tiempos de residencia. El tiempo de residencia se puede obtener por medio de la Ecuación 3.11.

$$\tau = \frac{V_{Reactor}}{\dot{v}}$$

Ecuación 3.11: Tiempo de residencia

Donde:

$\tau$ : Tiempo de residencia  $[d]$

$V_{Reactor}$ : Volumen de operación del reactor  $[m^3]$

$\dot{v}$ : Caudal de alimentación  $\left[\frac{m^3}{d}\right]$

Una vez que se conoce el caudal diario de alimentación es necesario conocer la carga de materia orgánica expresada en términos de DQO. Se emplea la Ecuación 3.12 para determinar el volumen de materia orgánica y agua que van a ingresar al reactor.



$$\dot{v} = \dot{v}_{agua} + \dot{v}_{M.O.}$$

Ecuación 3.12: Flujo volumétrico total

Donde:

$$\dot{v}_{agua}: \text{Caudal de agua} \quad \left[ \frac{m^3}{d} \right]$$

$$\dot{v}_{M.O.}: \text{Caudal de materia orgánica} \quad \left[ \frac{m^3}{d} \right]$$

El volumen de materia orgánica que se debe introducir al reactor se puede calcular por medio de la Ecuación 3.13.

$$\dot{m}_{DQO} = \dot{v}_{M.O.} \times C_{DQO}$$

Ecuación 3.13: Flujo másico de la alimentación

Donde:

$$\dot{m}_{DQO}: \text{Flujo másico de DQO} \quad [kg_{DQO}/d]$$

$$C_{DQO M.O.}: \text{DQO experimental de la materia orgánica} \quad [kg_{DQO}/m^3]$$

La determinación de flujo másico se obtiene a partir de la Ecuación 3.14.

$$\dot{m}_{DQO} = C.O. \times V_{Reactor}$$

Ecuación 3.14: Flujo másico

Donde:

$$C.O.: \text{Carga orgánica} \quad \left[ \frac{kg_{DQO}}{m^3 \cdot d} \right]$$

$$V_{Reactor}: \text{Volumen de operación del reactor} \quad [m^3]$$

Para la obtención de la producción específica se aplica la Ecuación 3.15.

$$P.E_{biogás} = \frac{\dot{V}_{biogás}}{\dot{m}_{DQO}}$$

Ecuación 3.15: Producción específica

Donde:

$$P.E_{biogás}: \quad \text{Producción específica de biogás} \quad \left[ \frac{m_3 \text{ biogás}}{kg_{DQO} \text{ alim}} \right]$$

$$\dot{V}_{biogás}: \quad \text{Caudal de biogás producido} \quad [m^3/d]$$

$$\dot{m}_{DQO}: \quad \text{Flujo másico de DQO} \quad [kg_{DQO}/d]$$

El cálculo de la remoción específica de DQO se realizó empleando la Ecuación 3.16.

$$R.E_{DQO} = \frac{D_R}{V_{Reactor}}$$

Ecuación 3.16: Remoción específica

Donde:

$$R.E_{DQO}: \quad \text{Remoción específica} \quad \left[ \frac{kg_{DQO}}{m^3} \right]$$

$$D_R: \quad \text{Degradación} \quad [kg_{DQO}]$$

$$V_{Reactor}: \quad \text{Volumen de operación reactor} \quad [m^3]$$

El término de degradación se lo obtiene por medio del balance de masa del reactor detallado en la Ecuación 3.10.

## **4. Resultados y Discusión**

### **4.1. Evaluación general del proceso**

Los resultados obtenidos fueron analizados desde el 6 de junio del 2014 hasta el 18 de noviembre del mismo año. Las muestras empleadas en el análisis de sólidos, pH, alcalinidad, demanda química de oxígeno y ácidos grasos volátiles provienen de 4 lugares diferentes. La primera muestra es tomada de la solución de alimentación, la segunda de la parte superior del biodigestor por medio de la toma muestras, la tercera de la parte inferior del reactor por medio de la bomba peristáltica colocada para la recirculación, y por último del tanque de almacenamiento de biol. Para el análisis de gases las muestras son tomadas después de pasar por el sistema de filtración y el contador.

Previo al análisis, la planta venía trabajando por alrededor de 10 meses. Tiempo en el cual los valores de alimentación y el método de control de la operación se mantenían constantes. Después del 30 de junio hasta el 29 de agosto se mantuvo a la planta en un receso, para realizar mantenimiento de tuberías en el intercambiador de calor, debido a taponamiento. El reactor no se encontraba operando de forma ideal y no se tomaron muestras para evitar un desbalance en los análisis. Durante este período se mantuvo un análisis de las causalidades para evitar el taponamiento de tuberías y se buscaron soluciones al sistema de trituración.

Desde el arranque el 29 de agosto la frecuencia de alimentación comenzó a ser cada vez menos regular. Por lo cual, se busco realizar alimentación 3 veces por semana con valores pre-establecidos. Logrando normalizar, en cierta forma las condiciones de operación del sistema.

Los análisis realizados semanalmente buscan desarrollar un control estricto sobre ciertos parámetros como pH, alcalinidad, ácidos grasos volátiles y producción de biogás; los cuales ayudan a descifrar el estado del biodigestor. Por otro lado se monitoreaban los parámetros de recirculación para evitar el taponamiento de bombas.

Obviamente todos estos controles están sujetos a contratiempos y eventualidades que pueden surgir durante la operación de una planta semi-industrial. Por ello, no siempre se tendrá una operación perfecta ni tablas con resultados ideales. Lo cual desemboca en fluctuaciones marcadas en algunos de los resultados que indiquen la existencia de dichos comportamientos.

Se debe tomar en cuenta que para el análisis de la cantidad de biogás producido se cuentan con los datos desde el día 12 de diciembre. Por lo cual se puede observar las condiciones de operación de la planta en un lapso total de aproximadamente 1 año.

Otro de los parámetros de operación que se mantienen constantes es el nivel del biodigestor. El cual mantiene un volumen aproximado de  $26 \text{ m}^3$  durante todo el tiempo de operación. Este nivel mantiene fluctuaciones, sin embargo, el valor de las mismas se considera despreciable.

#### **4.2. Análisis de operatividad de la planta**

El primer paso para iniciar con la evaluación de la producción y comercialización del biol es analizar la operabilidad de la planta. Donde se puede constatar rápidamente que existen equipos dentro del proceso, los cuales se encuentran bloqueando la funcionalidad total del proceso. El primero de ellos, y el más preocupante, es el sistema de trituración, el cual no está cumpliendo su función de forma adecuada. Esto se debe a que el tamaño máximo de las partículas que ingresan al reactor debería ser de 1 cm (10). El tamaño actual de las partículas obtenidas del proceso de reducción de tamaño es

considerablemente superior. Por esta razón se produce taponamiento de bombas y tuberías dentro del proceso con una frecuencia semanal. Adicionalmente, el sistema de pesaje instalado dentro de la planta no se encuentra en funcionamiento debido a que es muy ineficiente y sufre de constantes problemas.

En cuanto a la alimentación, el uso de estiércol bovino provoca una serie de dudas. Al ser un desecho agrario se debe tener mucho cuidado en su empleo por la capacidad de contagio de enfermedades. El olor producido, al estar cerca de una planta de procesamiento de alimentos, no es deseable. La disponibilidad también es un limitante y una de las razones de la alimentación irregular que sufre el reactor en muchas ocasiones.

El sistema de recolección de biogás no se encuentra implementado. Se necesita instalar un gasómetro para la recolección del biogás y poder emplearlo energéticamente. Con ello, se puede poner en marcha el compresor, bala de recolección, calefón, calderín y llama piloto.

El biol producido puede mejorar sus características en composición de macro-nutrientes y micro-nutrientes con el incremento de la capacidad de alimentación en el proceso. De igual forma, es necesario un sistema de eliminación de organismos patógenos, el cual es necesario implementar en el intercambiador de calor U5 haciéndolo operar al menos a 70°C al momento de pasar la mezcla reactiva al sistema de almacenamiento final. Esta acción elimina de igual forma cualquier microorganismo presente, por lo cual se evitará la degradación en el sistema de almacenamiento final; permitiendo obtener así un producto con características estables.

#### **4.3. Análisis de estabilidad del proceso**

Con el objetivo de observar el estado del proceso de digestión anaerobia se analizan parámetros que se busca mantener constantes. Sin embargo, debido a oscilaciones

propias en el control diario del proceso se deben observar tendencias de los parámetros cronológicamente. Los análisis se inician el 4 de junio del 2014 y se llevan a cabo hasta el 18 de noviembre del mismo año. En este tiempo se puede dividir la operación en tres etapas: desde el 4 de junio hasta el 30 de junio se mantenían las condiciones de operación establecidas desde la puerta en marcha, después del 30 de junio hasta el 29 de agosto la planta detuvo su operación para lograr destapar tuberías, la última etapa va desde el 29 de agosto hasta el 18 de septiembre donde se implementaron ciertos cambios en la operación de la planta.

Como se puede observar en la Figura 4.1 existen variaciones en los valores obtenidos de pH, pero se pueden observar diferencias en los valores de pH en los diferentes puntos del proceso. La alimentación tienen los valores más bajos 5,3 hasta 7,4 en la primera etapa y desde 4,4 hasta 6,4 en la tercera etapa. El caso de la alimentación es diferente, debido a que presenta valores claramente ácidos y con poca estabilidad. Esto se debe a que en ciertas fechas de medición la fruta usada pudo haber salido directo de la planta de producción de pulpas y jugos Latinoamericana de Jugos S.A., o en su defecto haber estado almacenado a la intemperie hasta que se disponga su uso, lo cual ocasiona un descenso del pH.

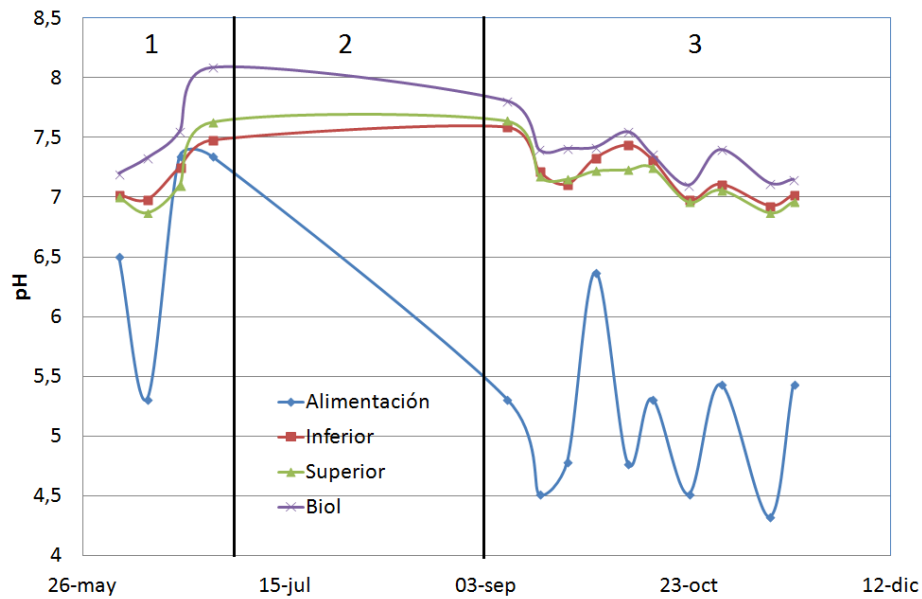


Figura 4.1: pH con respecto a la fecha de operación

Con respecto a las muestras de la mezcla reactiva tomadas en la parte inferior y superior del biorreactor se observa en la primera etapa un claro ascenso de los valores de pH con respecto al inicio de los análisis. Lo cual indica una transición a un proceso de estabilización debido al aumento de la recirculación, el cual arrancó el 4 de junio. La segunda etapa no se puede evaluar de forma adecuada debido a que no existía una correcta recirculación, lo cual hace que las muestras no sean representativas, sin embargo se mantuvo valores de pH muy cercanos a 7. La última etapa empieza el 29 de Agosto, en la cual se puede observar una estabilización del proceso en los valores de pH para las 2 mezclas internas y para el producto final obtenido. En el cual se demuestra una alta estabilidad y valores óptimos para el funcionamiento debido a que se mantienen dentro del rango óptimo de pH entre 6,5 a 7,5.

#### 4.3.1. Ácidos grasos volátiles y alcalinidad

La alcalinidad registra la capacidad tampón de una solución, mientras que el valor de ácidos grasos volátiles (AGV) registra la cantidad de ácidos orgánicos disueltos. Esto

quiere decir que para mayores valores de alcalinidad, esta podrá mantener en solución valores más altos de AGV.

En la Figura 4.2 se puede observar la relación entre los valores de AGV y la alcalinidad. Para lo cual es importante destacar que no se han analizado los valores obtenidos de estos parámetros para la alimentación.

El intervalo de interés corresponde a la última etapa de análisis debido a que es la única que mantiene condiciones constantes y se puede analizar sin la participación de agentes externos de operación de la planta. Para lo cual, se puede observar que en general se tiene valores adecuados de alcalinidad. Con un valor medio estable entre 1500 a 2000 mg/L, lo cual es bastante aceptable si se considera que los valores nominales se deben mantener entre 1000 a 5000 mg/L (5). Con excepción de los primeros tres valores registrados se puede decir que el valor guarda cierta estabilidad.

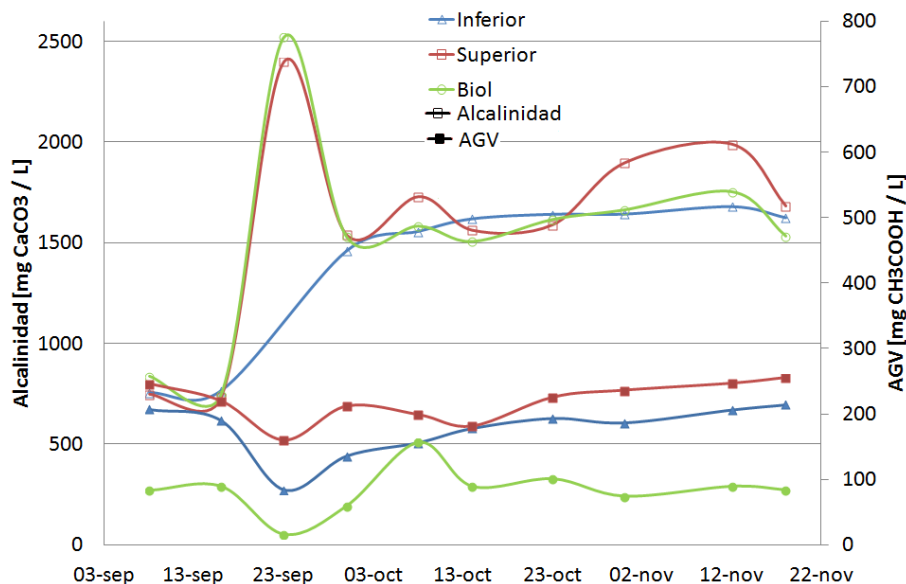


Figura 4.2: Análisis de alcalinidad y AGV con respecto al tiempo

Los valores de AGV obtenidos son considerablemente bajos, tomando en cuenta que el valor nominal de operación a condiciones de temperatura mesófilicas debe ser inferior a



1500 mg/L. Para lo cual, se pudiese aumentar la carga orgánica al doble sin esperar mayores problemas.

En resumen, se puede conocer que el reactor no está trabajando a una capacidad adecuada debido a que los valores generales de ácidos grasos volátiles se encuentran en valores inferiores al rango. La capacidad buffer de la solución digestora es adecuada y pudiese soportar un aumento de la carga orgánica en la alimentación. Adicional a ello, el parámetro de estabilidad sugiere que la relación entre valores de AGV y alcalinidad debe estar alrededor de 0,5 a 1. El valor aproximado de esta relación para el sistema de operación actual es de 0,15.

Esto indica que los niveles de materia orgánica que están ingresando al reactor son muy bajos con respecto a la estabilidad que presenta. Para lo cual la alimentación pudiese aumentarse sin ningún problema.

#### **4.3.1. Análisis de demanda química de oxígeno**

La DQO representa indirectamente la cantidad de materia orgánica presente en una muestra. El análisis de DQO se puede utilizar para observar el avance del proceso.

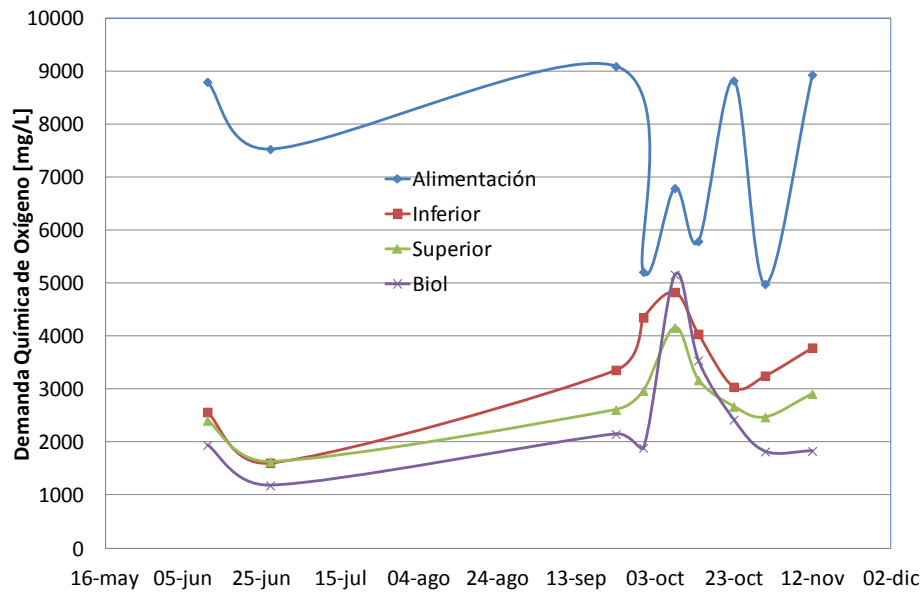


Figura 4.3: DQO en función del tiempo

Como se puede observar en Figura 4.3 existen tres etapas de análisis. En la primera etapa se inicia el estudio. La segunda parte, representa un tiempo muerto de trabajo, en el cual no se obtuvieron resultados. En esta última parte del gráfico se puede observar como la carga orgánica comienza a estabilizarse dentro de ciertos parámetros. Lo cual es importante para llegar a la estabilidad del proceso.

Se nota una degradación consistente de lo materia orgánica. Además, dentro del reactor no se observan grandes diferencias en el análisis de la parte superior e inferior.

#### 4.3.2. Sólidos totales y sólidos orgánicos totales

La evaluación de sólidos totales puede dar una rápida aproximación para determinar si se está produciendo o no una degradación en el proceso. La forma más rápida de hacerlo es comparar los valores entre la entrada y la salida. Lo cual se puede observar de forma rápida en la Figura 4.4.

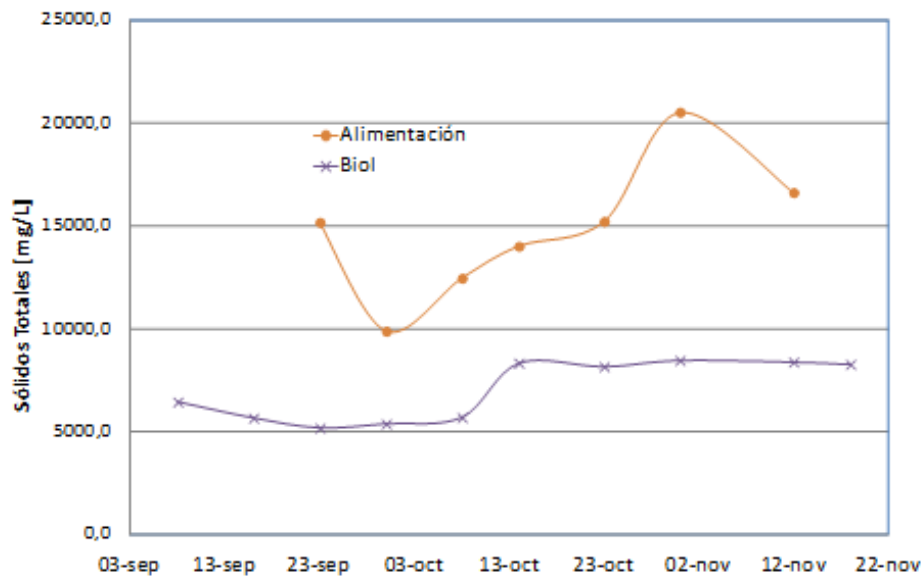


Figura 4.4: Análisis de sólidos totales a la entrada y salida del proceso

En esta figura se puede apreciar de forma directa que el proceso si está degradando la materia. Debido a que en todo momento se encuentra una brecha significativa entre los valores registrados de sólidos totales para la alimentación y el biol.

De igual forma se puede comprobar la homogeneidad de la mezcla reactiva entre la parte superior e inferior del reactor, al apreciar la Figura 4.5. Exceptuando las áreas 1 y 2, señaladas con círculos; los valores de TS registrados en la parte inferior del reactor son superiores a la parte superior del reactor. Esto indica que los sólidos se sedimentan en la parte inferior, como es adecuado.

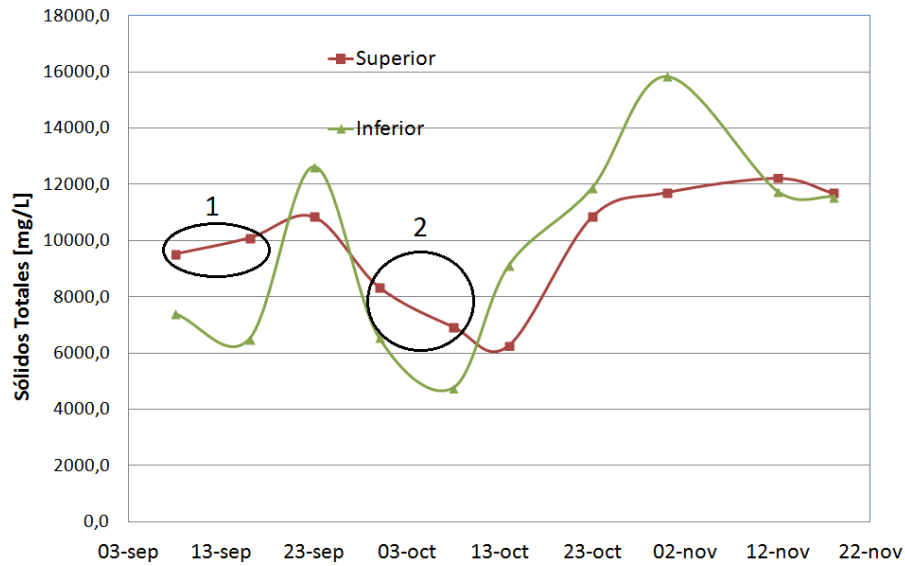


Figura 4.5: Análisis de homogeneidad dentro del reactor

Para poder observar cual es la composición de la materia orgánica que se introduce al reactor es necesario obtener la diferencia entre los valores de TS y oTS. Lo cual se puede observar de forma gráfica en la Figura 4.6. La relación entre TS y oTS indica el porcentaje de sólidos que corresponde a sólidos orgánicos, esta relación debe mantenerse entre un 60-80 %, lo cual indica que existe un buen contenido de materia orgánica para degradar.

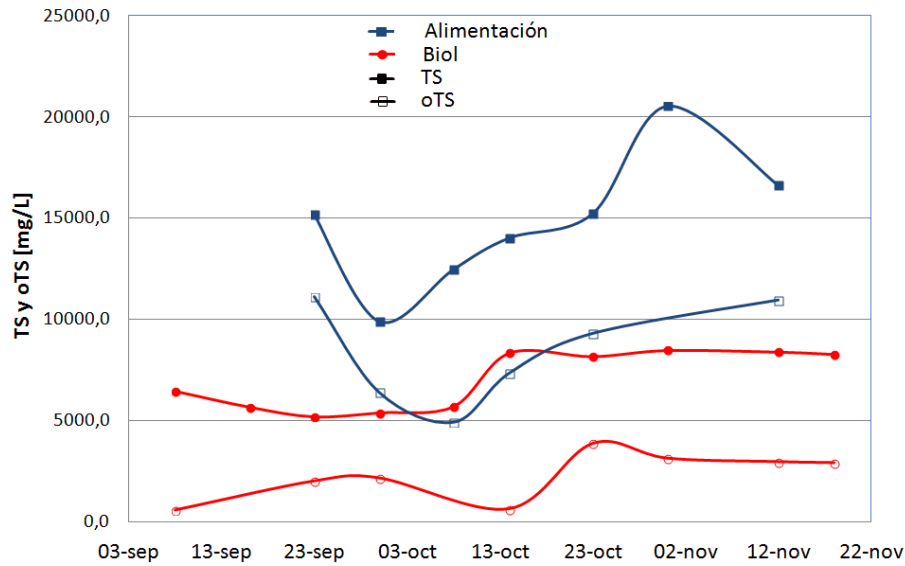


Figura 4.6: Determinación de M.O por análisis de sólidos

Se calcula el porcentaje de materia orgánica promedio con respecto a la cantidad de sólidos totales, despreciando los valores fuera de rango y se presentan en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1: Porcentaje de materia orgánica

Fecha	Materia Orgánica (%)			
	Alimentación	Superior	Inferior	Biol
08/09/2014	-	6,83	63,76	91,07
16/09/2014	-	-	58,84	-
23/09/2014	26,78	21,32	45,59	61,08
30/09/2014	35,22	61,24	30,53	59,76
08/10/2014	60,42	-	71,34	-
14/10/2014	47,59	82,80	-	92,35
23/10/2014	38,86	43,33	58,16	52,60
31/10/2014	100,00	17,19	62,45	62,91
12/11/2014	34,14	52,33	46,30	64,64
18/11/2014	-	49,65	51,17	64,76
Promedio	49,00	41,83	54,24	68,65

En la mezcla reactiva se observa que el valor se encuentra muy cercano al 50%, el cual es el límite inferior y por lo tanto se debería buscar la forma de aumentarlo. El 69% de

materia orgánica determinado en el Biol demuestra que en el tanque de disposición final se produce una degradación adicional a la del reactor.

Si se toman en cuenta los porcentajes promedio de TS y oTs de las muestras es más fácil evidenciar el avance del proceso y el bajo nivel de carga orgánica al que está operando el reactor. El porcentaje de sólidos totales en la alimentación está cerca de 1,5%. El rango idóneo de alimentación está entre el 8 y 12%. Mientras que, la cantidad de materia orgánica en la alimentación es alrededor del 1%. Lo cual si se compara con el valor mencionado de TS, se puede observar que el porcentaje de materia orgánica si se encuentra alrededor de un 60%. Por lo cual la relación en la mezcla de alimentación en cuanto a las fuentes vegetales y animales es la correcta.

#### **4.3.3. Sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles**

La cantidad de sólidos suspendidos volátiles ayuda a determinar la presencia de biomasa dentro del proceso. Es un método indirecto de conocer la cantidad total de microorganismos dentro de las diferentes etapas del proceso. En adición la diferencia entre los sólidos suspendidos totales y los sólidos suspendidos volátiles determina la cantidad total de materia inorgánica en forma de minerales en sus formas oxidadas, presentados como cenizas.

La cantidad de cenizas total es un parámetro de evaluación de diferentes nutrientes que se pueden encontrar dentro del producto. Pero al ser una medida indirecta es necesaria complementarla con un análisis más específico. La variación dentro del proceso se da debido a la acumulación que se presenta durante el tiempo. Los resultados se pueden observar en la Tabla 4.2. Los valores registrados dentro del reactor guardan valores muy similares, con un promedio general de 1252,21 mg/L para la parte superior del reactor y

1246,50 mg/L en la parte inferior. Lo cual quiere decir que la mayor cantidad de compuestos inorgánicos se encuentran en solución.

Si se toma en cuenta la diferencia entre los valores de alimentación y biol, resulta interesante observar que solo la mitad se conserva. Lo cual resalta que muchos de los minerales que ingresan al reactor son empleados por los microorganismos que llevan a cabo la descomposición.

Tabla 4.2: Materia inorgánica presente en el reactor

Fecha	Materia Inorgánica [mg/L]			
	Alimentación	Superior	Inferior	Biol
04/06/2014	-	1000,00	1320,00	300,00
11/06/2014	1534,00	800,00	400,00	67,00
19/06/2014	-	134,00	400,00	-
27/06/2014	1813,00	533,00	987,00	-
08/09/2014	-	2463,00	1937,00	1556,00
16/09/2014	-	3004,00	1678,00	1116,00
23/09/2014	1648,00	1435,00	1524,00	280,00
30/09/2014	832,00	867,00	259,00	207,00
08/10/2014	631,00	503,00	-	-
14/10/2014	1287,00	405,00	1100,00	1002,00
23/10/2014	2081,00	1322,00	1821,00	1352,00
31/10/2014	2945,00	1380,00	1491,00	1116,00
12/11/2014	1930,00	1743,00	2041,00	1266,00
18/11/2014	-	1942,00	-	840,00
<i>Promedio</i>	1633,44	1252,21	1246,50	827,45

Se relaciona la cantidad de microorganismos dentro del reactor con la cantidad de sólidos volátiles suspendidos. Donde se puede medir si los mismos se encuentran bien distribuidos dentro del sistema, y en adición la cantidad total de bacterias que quedan después de la estabilización del biol. Para hacer un análisis rápido es más fácil enfocarse en los valores promedio descritos en la Tabla 4.3. En los cuales se determina que el proceso se está manteniendo homogéneo si se observa que en la parte inferior del reactor existen 3047,08 mg/L y en la parte superior 2856,54 mg/L, los cuales no marcan

una diferencia importante. La concentración determinada en la alimentación demuestra un valor sumamente superior, 9320,78 mg/L, lo cual es por la mala filtración y trituración de la fruta. Al final del proceso, se encuentra que la estabilización del biol ayuda a reducir los microorganismos presentes y por tanto asegurar que el producto tenga menor riesgo biológico (846,00 mg/L).

Tabla 4.3: Biomasa dentro del proceso

Fecha	Biomasa [mg/L]			
	Alimentación	Superior	Inferior	Biol
04/06/2014	-	2900,00	4420,00	760,00
11/06/2014	12966,00	3400,00	2233,00	400,00
19/06/2014	-	1346,00	3120,00	-
27/06/2014	17773,00	4373,00	5066,00	1746,00
08/09/2014	-	3246,00	738,00	1130,00
16/09/2014	-	3347,00	330,00	-
23/09/2014	13817,00	4952,00	6609,00	530,00
30/09/2014	3651,00	2704,00	1168,00	455,00
08/10/2014	2154,00	164,00	-	-
14/10/2014	5166,00	-	2653,00	1579,00
23/10/2014	4737,00	2365,00	3059,00	1003,00
31/10/2014	18218,00	2079,00	3588,00	639,00
12/11/2014	5405,00	3004,00	3581,00	452,00
18/11/2014	-	3255,00	-	612,00
Promedio	9320,78	2856,54	3047,08	846,00

#### 4.3.4. Producción de biogás

La producción de biogás cuenta con una extensa base de datos, los cuales han sido recogidos del 12 de diciembre del 2013 hasta el 18 de noviembre del 2014. En ellos, se puede observar de forma clara la variabilidad en la producción. Lo cual representa la poca estabilidad con la que se ha desarrollado para el proceso. En adición, se comprobó que existen anotaciones erróneas para la producción de biogás por parte del operario lo cual altera de forma significativa el estudio.



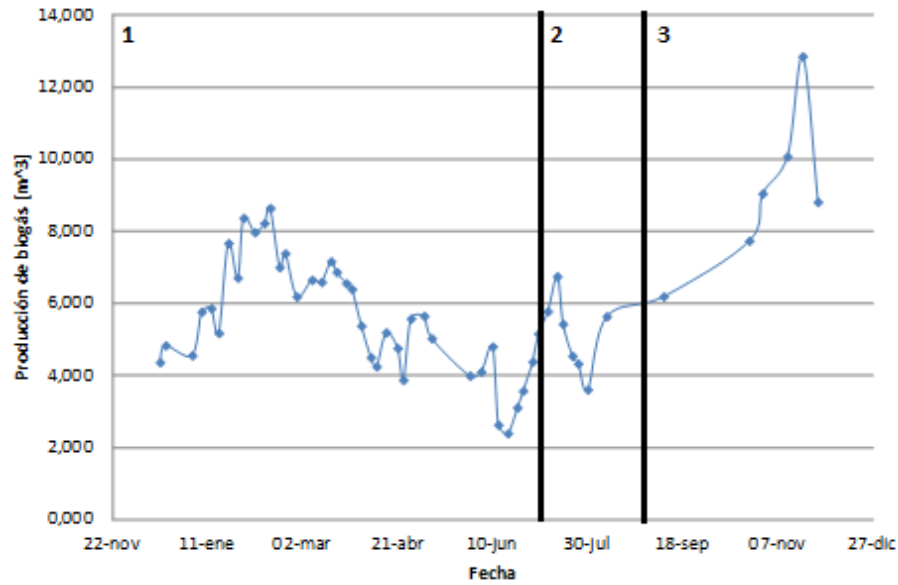


Figura 4.7: Producción de biogás en función del tiempo

Como se puede observar en la Figura 4.7 la producción de biogás tiene varias oscilaciones y no demuestra estabilidad. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que el avance del proceso está descrito en función de diversos factores de operación. Como son el taponamiento de tuberías, el no mantener una alimentación constante por falta de materia prima animal o vegetal. La primera etapa consiste en la recopilación de datos bajo diferentes condiciones de operación, y se observa que no existe una estabilidad determinante. En la segunda etapa considerada como taponamiento total de tubería se puede observar que existe un decaimiento importante. En la tercera etapa se puede observar que comienza a aumentar la producción.

#### 4.3.5. Macro-nutrientes y micro-nutrientes

El análisis de macro y micro nutrientes se llevó a cabo por medio de absorción atómica. Fue desarrollado por la empresa INIAP y de forma paralela en el laboratorio del Departamento de Ingeniería Química. Obteniendo los resultados resumidos en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4: Análisis de nutrientes

Nutriente	Concentración [mg/100mL]	
	<i>Iniap</i>	<i>LaDEA</i>
Nitrógeno (N)	-	35
Fósforo (P)	9,19	9,305
Potasio (K)	205,71	185,7
Calcio (Ca)	45,83	36,88
Magnesio (Mg)	19,3	-
Sodio (Na)	4,03	8,14
<b>Concentración [µg/100mL]</b>		
Cobre (Cu)	107	112,2
Hierro (Fe)	3797	23225
Manganeso (Mn)	117	177,9
Zinc (Zn)	129	-
Azufre (S)	53,94	-

La diferencia en los resultados obtenidos no son de suma importancia si se toma en cuenta que las muestras no fueron tomadas en la misma fecha, y que las muestras están sujetas a variaciones propias del proceso. El objetivo de hacer los análisis por duplicado es validar los resultados internos y complementar los elementos que no se pueden determinar internamente.

Para comparar las propiedades del biol producido en la planta de degradación anaeróbica ubicada en Latinoamérica de Jugos S.A. se utilizó el biol generado por Agropesa y comercializado por Corporación Favorita C.A., cuyos resultados se encuentran más adelante en la sección 4.6 en la Tabla 4.9.

#### **4.4. Interpretación y evaluación de resultados**

Para evaluar el estado del proceso, se deben definir los parámetros necesarios para determinar la degradación que se produce en el reactor. En primer lugar se debe definir el volumen de operación. Esto se debe a que por variaciones en la operación del sistema las condiciones de flujo de alimentación, el volumen de operación puede tener variaciones.

Con el análisis de los datos de control se determina que el volumen de operación promedio se encuentra en  $26 \text{ m}^3$ . Por otra parte, la alimentación es sumamente aleatoria con pequeñas variaciones en cuanto a las cantidades alimentadas. La alimentación está generalmente compuesta de 100 kg de naranjilla, 25 kg de estiércol y 100 litros de agua. Resultando un flujo volumétrico final de  $0,232 \text{ m}^3/\text{día}$ .

#### 4.4.1. Balance de masa

El balance de masa se realiza en función de la DQO a la entrada y la salida de reactor. A este se le multiplica el caudal de cada uno de los flujos. El factor de acumulación vendrá dado por la diferencia de los valores de DQO entre la muestra obtenida de la parte superior e inferior del reactor multiplicando por el volumen de reacción.

Lo que se busca el factor de degradación, el cual determina el avance de la actividad microbiana y esta dado por la Ecuación 3.10. Los resultados del análisis se pueden observar en la Tabla 4.5. La remoción específica se calcula por medio de la Ecuación 3.16.

Tabla 4.5: Balance de masa y degradación específica

Fecha	Entrada [kg DQO/ día]	Salida [kg DQO/ día]	Acumulación [kg DQO/ día]	Degradación [kg DQO/ día]	Remoción Específica [kg DQO/ $\text{m}^3$ *día]
11-jun	2,04	0,45	2,08	3,67	0,14
27-jun	1,75	0,27	-0,30	1,17	0,04
23-sep	2,11	0,50	9,75	11,36	0,44
30-sep	1,21	0,44	17,94	18,71	0,72
08-oct	1,58	1,20	8,71	9,09	0,35
14-oct	1,34	0,82	11,31	11,83	0,46
23-oct	2,05	0,56	4,81	6,29	0,24
31-oct	1,16	0,42	10,14	10,87	0,42
12-nov	2,07	0,42	11,31	12,96	0,50

La remoción específica permite observar cuanta materia orgánica está siendo degradada por los microorganismos por unidad de volumen de reactor, lo cual se puede observar

en la Figura 4.8. Los valores son bastante aceptables debido a que la mayor parte de la materia orgánica se está degradando en el proceso. Sin embargo, existen valores negativos que provienen por valores muy altos en la acumulación, producidos por las variaciones propias del método de medición.

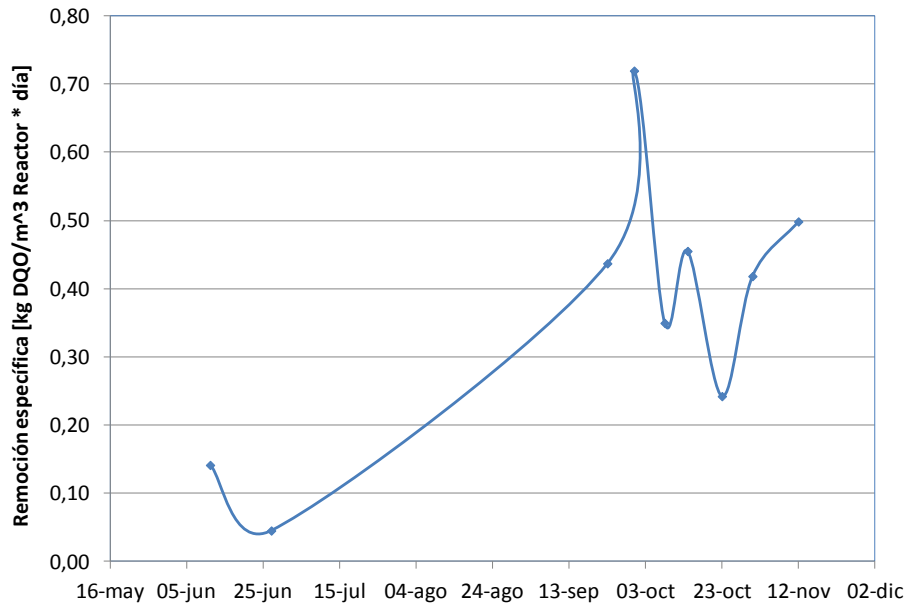


Figura 4.8: Remoción específica de DQO

#### 4.4.2. Producción específica de biogás

En cuanto a la producción específica de biogás, se tienen los valores tabulados de acuerdo a la fecha de análisis y al volumen de alimentación ingresado resumidos en la Tabla 4.6. La Ecuación 3.15 se emplea para determinar la producción específica a partir del flujo másico en la alimentación.

Tabla 4.6: Producción específica

Fecha	Flujo másico [kg DQO feed /d]	Biogás [m <sup>3</sup> / d]	Producción específica [m <sup>3</sup> biogás/kg DQO feed]	Producción biogás [m <sup>3</sup> biogás/m <sup>3</sup> reactor]
11-jun	2,04	5,07	2,49	0,20
27-jun	1,75	7,84	4,49	0,30
23-sep	2,11	8,42	3,99	0,32
30-sep	1,21	6,10	5,05	0,23
08-oct	1,58	7,22	4,59	0,28
14-oct	1,34	6,89	5,13	0,26
23-oct	2,05	7,49	3,66	0,29
31-oct	1,16	8,84	7,65	0,34
12-nov	2,07	5,91	2,85	0,23
<i>Promedio</i>	1,70	7,09	4,43	0,27

Los valores obtenidos para producción específica de biogás son bastante bajos debido al flujo de alimentación mínimo con el cual está operando la planta. Para estudios similares la producción específica alcanzó valores de 1,2 m<sup>3</sup>biogás/ m<sup>3</sup> reactor (10) frente a un promedio de 0,27 m<sup>3</sup>biogás/ m<sup>3</sup> reactor. Se estima que regulando los niveles de alimentación y aumentando los mismos, se logre obtener una mayor producción de biogás 4 veces mayor. La variación de la producción específica se puede observar en la Figura 4.9.

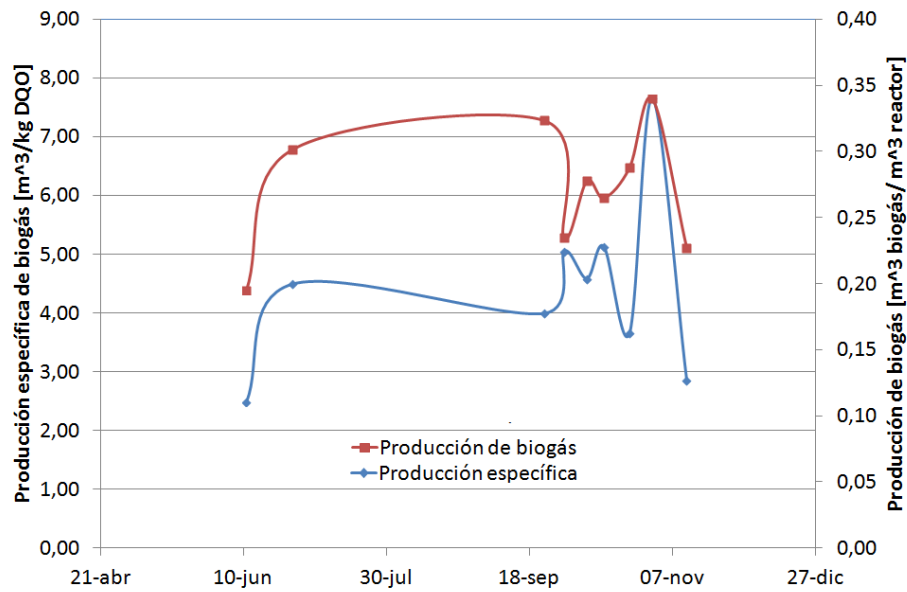


Figura 4.9: Producción específica

#### 4.5. Implementación de sistema de utilización energética de biogás

La utilización energética de biogás comprende una evaluación de los diferentes equipos empleados para almacenarlo, tales como el gasómetro, el compresor y la bala de gas. Además, se evalúan las máquinas que usan para el aprovechamiento de la energía contenida en el biogás, entre ellos se encuentran: caldero, calefón, llama piloto y generador eléctrico.

Para lograr comprobar el funcionamiento tanto del compresor como de la bala, fue necesario implementar un sistema de recolección temporal. El cual consta de dos boyas sumergidas dentro de tanques de agua, las cuales permiten que el gas liberado por la degradación se pueda retener de forma temporal antes de ser llevado a la bala de gas. Evitando que en el traslado se generen niveles bajos de presión que pueden provocar diferentes problemas en el proceso. Uno de ellos puede ser el taponamiento de las tuberías de gas por un paso inesperado de biol. El sistema temporal se puede observar en la Figura 4.10.



Figura 4.10: Sistema de recolección temporal de biogás

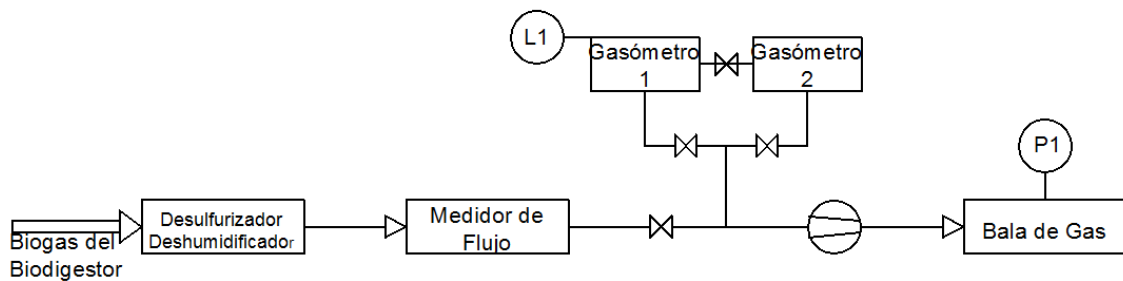


Figura 4.11: Esquema del sistema de recolección temporal de biogás

En la Figura 4.11 se pueden reconocer 3 partes esenciales del sistema de recolección temporal. En la esquina inferior derecha marcada con círculo rojo y con el número 1, se observa la entrada del biogás al sistema de recolección. El cual tiene una llave que permite cerrar la entrada, lo cual es necesario cuando se pone a trabajar al compresor. En la esquina superior izquierda, marcado con un círculo rojo y con el número 2; se observan las llaves de ingreso dentro al sistema de 2 fundas diferenciadas. En la parte

central de abajo y marcado con el número 3 se puede observar el sistema de nivelación de agua. Las válvulas ubicadas en los puntos 2 y 3 permiten trabajar con uno solo de los tanques en caso de que alguno sufra de un fallo. La Figura 4.10 es el sistema de recolección real, sobre el cual también se encuentran señalados las circunferencias mencionadas.

El interior del gasómetro consta de una funda de PVC, las cuales pasan por un proceso de control de fugas. Este control consiste en llenar individualmente cada una de las fundas, sin agua dentro de los tanques, y una vez llenas comenzar a llenar de agua con jabón hasta lograr sumergir por completo la bolsa. Se observa por un tiempo si existe algún tipo de burbujeo que delate alguna fuga o reducción en el volumen de aire. No se observó ningún problema durante todo el tiempo que se emplearon las fundas. El llenado de las fundas bajo condiciones normales de operación dentro de los tanques se puede observar en la Figura 4.12. El tiempo de llenado para cada una de las fundas fue alrededor de 7 minutos.



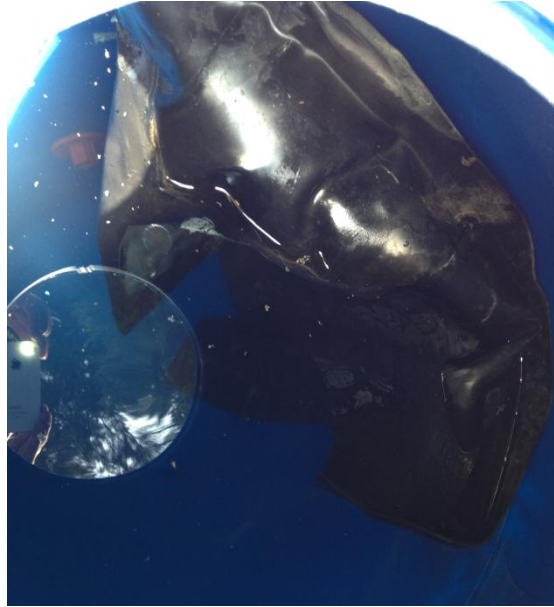


Figura 4.12: Gasómetro de biogás provisional

Una vez llenado el sistema de recolección provisional es necesario almacenar biogás dentro de la bala. Con el objetivo de observar si existen fugas dentro de la misma, y además tener una presión mínima para poner a funcionar ciertos equipos. Lo cual resulto exitoso, debido a que se llenó la bala con biogás a una presión de 2 PSI y no se observó ningún tipo de caída de presión en un periodo de 3 días. Dicho experimento se puede observar de forma gráfica en la Figura 4.13.



Figura 4.13: Prueba de fugas en la bala de biogás

El biogás almacenado se puede utilizar para probar los diferentes equipos de utilización energética: calefón, calderín y llama piloto. Adicionalmente, es necesario ponerlos a funcionar con gas licuado de petróleo (GLP). El resumen de las pruebas de funcionamiento de los diferentes equipos se pueden observar en la Tabla 4.7.

Tabla 4.7: Pruebas de funcionamiento en equipos de uso de biogás

Equipo	Biogás	GLP
Llama Piloto	No	No
Calefón	Sí	Sí
Caldero	No	No
Generador Eléctrico	No	Sí

Al realizar un análisis de los resultados de las pruebas de funcionamiento se concluyó lo siguiente. La falla en el funcionamiento de la llama piloto se da debido a que no existe una fuente de corriente adecuada, y en la evaluación con el voltímetro la chispa de ignición se encontraba fuera de servicio. El calefón, fue el único equipo que pudo funcionar con ambas fuentes de combustible sin presentar ningún tipo de problemas. En cuanto al calderín, se tienen problemas similares a las de la llama piloto en donde la

fuente de energía no está trabajando de forma adecuada. El generador eléctrico tuvo un gran arranque con el GLP, sin embargo, al pasar a biogás al parecer no se tuvo una presión adecuada para que el mecanismo funcione.

#### 4.6. Comparación del biol con una marca comercial

Para conocer las ventajas del biol con respecto a otros fertilizantes orgánicos líquidos comerciales se realizó un estudio de benchmarking. Los resultados obtenidos para la marca comercial sirven como punto de partida para lograr definir cambios posteriores que se pueden realizar al proceso para alcanzar niveles de competencia dentro del mercado. Se analizó al producto comercial con las mismas pruebas desarrolladas a lo largo del control del proceso del biol.

Tabla 4.8: Descripción de marca comercial

Descripción	Unidades	Agropesa	Biol (promedio)
pH	[-]	8,45	7,42
AGV	[mg CH <sub>3</sub> COOH / L]	28,57	94,58
Alcalinidad	[mg CaCO <sub>3</sub> / L]	2755,10	1801,54
Sólidos Totales	[mg / L]	9253,27	6613,98
Sólidos Orgánicos Totales	[mg / L]	6477,29	2387,10
Sólidos Suspendidos Totales	[mg / L]	537,00	1530,80
Sólidos Suspendidos Volátiles	[mg / L]	250,60	846,00
DQO	[mg / L]	40200,00	2691,64

Siguiendo los mismos parámetros empleados en el desarrollo del estudio se puede observar que el valor de pH de la marca comercial es ligeramente básico. En adición el valor obtenido para ácidos grasos volátiles se encuentra por debajo de los valores nominales de operación de un reactor anaeróbico. El valor de alcalinidad por otra parte representa un valor dentro del rango de operación normal. La relación entre ambos valores se encuentra alrededor de 0.1; lo cual es un valor bastante bajo. Se puede asumir

que el biol comercial se está añadiendo una fuente externa de carbonato de calcio, debido al valor encontrado y el contenido de sólidos.

La relación obtenida para la cantidad de sólidos se encuentra dentro de los parámetros esperados, alrededor de un 10% en masa. Y no se puede mencionar un valor ideal para los mismo porque se desconocen las etapas de post-tratamiento por las cuales pasa el producto final obtenido. Sin embargo, el porcentaje de materia orgánica obtenido en el producto final es de alrededor del 70% de los sólidos. Muy similar al biol obtenido en la planta de tratamiento de desechos estudiada. Sin embargo, en cuanto a la cantidad total de materia orgánica en la marca comercial se puede observar que es superior al biol estudiado, en relación 3:1.

El valor con mayor diferencia es la DQO, para la cual los valores obtenidos para la marca comercial son superiores por un factor superior a 10 con respecto al estudiado. Lo cual significa que la carga orgánica del biol comercial es superior al del reactor de estudio.

En adición, la marca comercial reporta valores para diferentes macro y micro nutrientes. Los cuales se presentan dentro de la Tabla 4.9. En donde comparando con el producto investigado en este proyecto (Tabla 4.10), se obtiene que los niveles de nitrógeno del biol estudio son inferiores por un factor de 10; y para el fósforo la marca comercial es superior por un factor ligeramente superior a 5.

Tabla 4.9: Macro y micro nutrientes para la marca comercial

COMPOSICIÓN	
Materia Orgánica	1.04 %
Nitrógeno	0.43 %
Fósforo	0.05 %
Potasio	0.06 %
Calcio y Microelementos	0.02 %
Magnesio	23 ppm
Carbono	0.60 %

NOTA:  
Potencializado con *Trichoderma*, que incrementa el control biológico de los complejos fúngicos de los suelos y del área foliar.  
Con Ácidos Húmicos. Solubilizados que incrementan las actividades biocatalizadoras de los suelos y las actividades metabólicas de la planta.

El análisis de nutrientes se expuso en el capítulo 4.3.6, en donde se detalla los dos diferentes laboratorio empleados así como los resultados obtenidos. Los resultados se pueden observar en la Tabla 4.10 incluyen los valores obtenidos para el análisis del biol estudio, como promedio de los análisis realizados, y los reportados en la marca comercial.

Tabla 4.10: Nutrientes dentro del biol

Nutriente	Concentración [mg/100mL]			
	<i>Iniap</i>	<i>LaDEA</i>	<i>Promedio</i>	<i>Agropesa</i>
Nitrógeno (N)	-	35,00	35,00	430,00
Fósforo (P)	9,19	9,31	9,25	50,00
Potasio (K)	205,71	185,70	195,71	60,00
Calcio (Ca)	45,83	36,88	41,36	20,00
Magnesio (Mg)	19,30	-	19,30	2,30
Sodio (Na)	4,03	8,14	6,09	-
Concentración [µg/100mL]				
Cobre (Cu)	107,00	112,20	109,60	-
Hierro (Fe)	3797,00	23225,00	13511,00	-
Manganeso (Mn)	117,00	177,90	147,45	-
Zinc (Zn)	129,00	-	129,00	-
Azufre (S)	53,94	-	53,94	-

Se puede observar que el biol es superior en la mayoría de macro nutrientes, con excepción del fósforo (P) y el nitrógeno (N). Se debe tomar en cuenta que la mayor

cantidad de los nutrientes determinados pueden aumentar su concentración si el nivel de alimentación general del reactor incrementa en carga orgánica y volumen de alimentación diario.

Las propiedades de los bioles no solo se definen por el contenido de macro-nutrientes y micro-nutrientes, como es el caso de los fertilizantes sintéticos. En los bioles se debe considerar además disponibilidad para la planta, microorganismos que puedan generar simbiosis en las raíces, movilidad dentro de la planta y la presencia fitohormonas provenientes del residuo, entre otros. Estos componentes hacen que la evaluación y comparación de los bioles sea mucho más difícil. Por esta razón se han recolectado testimonios de agricultores que han utilizado el biol.

- Hector Saldumbaña empleó el biol en el cultivo de papa durante todo el proceso de formación del producto. Para lo cual, aplicaba 25 L en un área menor a una hectárea, directamente al suelo 1 vez por mes. Y logro obtener tubérculos de mayor tamaño en toda la cosecha, además de una mayor cantidad en la producción.
- Elsa Barrera empleó el producto en jardinería doméstica. Para lo cual emplea 1 L del producto de forma directa en un área de 50 m<sup>2</sup>, lo aplica con regularidad cada 15 días. Las mejoras que ha obtenido son un mayor crecimiento en diferentes especies, así como una floración más rápida y duradera. En cultivos caseros de frutos cítricos, identifico una mayor capacidad de producción por cada una de las plantas; así como mejoras en el dulzor de los alimentos y el tamaño de cada uno de ellos.

Diferentes testimonios han aseverado que el uso del biol ha generado diferentes beneficios, sin embargo para lograr determinar las propiedades exactas del producto es

necesario llevar a cabo estudios más detallados. En los cuales se compare las mejoras frente a un cultivo que no implemente ningún tipo de fertilizante, otros que implementen fertilizantes líquidos orgánicos que se comercialicen actualmente y el último con el biol obtenido. Este tipo de estudio se puede llevar a cabo en diferentes tipos de cultivos, para saber en cuál de ellos se genera una mayor cantidad de beneficios y poder enfocarse en un mercado más específico. Sin embargo, como preámbulo, se ha demostrado que los usuarios del biol se muestran contentos con los resultados en sus cultivos.

#### **4.7. Resultados obtenidos en fitohormonas**

El análisis de fitohormonas se realizó para los estándares artificiales de: GA<sub>3</sub>, GBA e IBA, y la muestra de biol en el equipo GC-MS. Con el objetivo de determinar parámetros de análisis como el tiempo de residencia y el área que producen los picos obtenidos a concentraciones conocidas. Cada uno de los estándares tiene un tiempo de residencia que lo clasifica dentro de un grupo de fitohormonas.

La concentración promedio de cada uno de los estándares es de alrededor del 0,1% en masa. Conociendo la concentración de los estándares se puede determinar la concentración de las fitohormonas presentes en la muestra de biol.

Al existir una gran variedad de fitohormonas es difícil obtener el estándar adecuado para realizar una comparación de la concentración de fitohormonas. Es por ello que se debe comparar los resultados con el estándar con mayor proximidad. La diferencia entre una u otra fitohormona puede ser simplemente la adición de un grupo funcional sencillo o la elongación de una de las ramificaciones. En cualquier caso, si se toma el tamaño total de la molécula y se lo compara con las pequeñas variaciones, la determinación de la concentración por comparación es bastante acertada.

Los parámetros mencionados se pueden observar en la Tabla 4.11, en donde se compilan las señales obtenidas en el equipo de GC-MS y se las registra como “picos”. El número de señales obtenidas en el análisis a detalle se puede observar en los anexos 5 al 8. Para la muestra de biol, se debe tener en cuenta que se toman las 364 señales que arroja el análisis, pero solo una de ellas es determinante para el propósito requerido.

Tabla 4.11: Detalle de picos encontrados en el análisis de estándares y biol

Muestra	# de pico	Tiempo de Retención (min)	Area	Altura	Nombre
IBA	1	1,544	392671584	52394460	Metil di-sulfuro de hidrógeno
	2	3,889	64032690	7271965	Dietil eftalato
GA3	1	1,543	376772442	53686688	Metil di-sulfuro de hidrógeno
	2	22,682	66335120	18923796	Di-isocetil eftalato
GBA	1	1,543	387420798	53521765	Metil di-sulfuro de hidrógeno
	2	29,708	15123135	2136971	Eftalazine-1,4(2H,3H)-dione
Biol	282	22,675	185949461	19583005	-

El tiempo de retención obtenido para determinar la presencia de auxinas (Muestra IBA pico 2, Tabla 4.11) se encuentra alrededor de los 4 minutos. En el espectro del Biol (Anexo 5), no se encuentran picos representativos en este tiempo de retención. Por lo que se puede decir que el biol no contiene Auxinas.

Para las giberalininas se emplearon 2 estándares diferentes, los cuales arrojan que el tiempo de retención se encuentra alrededor de los 22 y 30 minutos (Muestra GA<sub>3</sub> pico 2 y Muestra GBA pico 2, Tabla 4.11). Al comparar con los picos del análisis de biol se encuentra una señal de gran importancia, la cual es muy cercana a la señal obtenida con el estándar de GA<sub>3</sub>. Lo cual permite deducir que sí existen giberalininas. Sin embargo, para determinar con exactitud la giberalina presente es necesario compararlo con una mayor cantidad de estándares o con bases de datos.

El nombre de los compuestos que se presentan para cada uno de los picos en la Tabla 4.11 son comparados con la base de datos general que se tiene dentro del GC-MS. Sin



embargo, para el análisis se los compara adicionalmente con bases de datos específicas de espectrómetro de fitohormonas (36). De igual forma las señales de Metil di-sulfuro de hidrógeno corresponden a la degradación de aminoácidos a base de azufre, los cuales forman parte de los estándares. El caso de interés para el análisis de giberelinas, para el cual se comparan los resultados obtenidos en el espectro de la base de datos se muestra a la Figura 4.15.

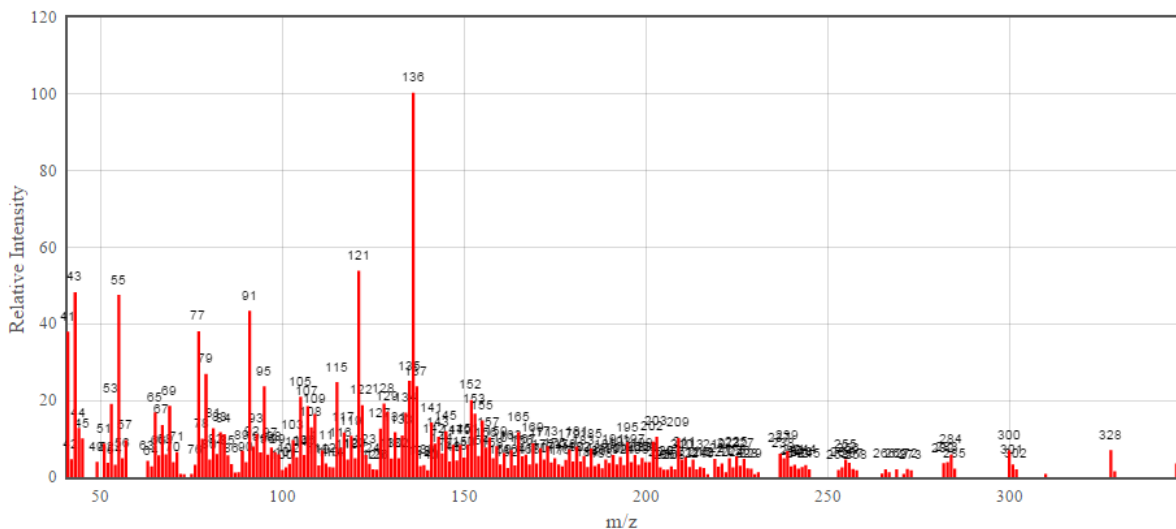


Figura 4.14: Estándar del espectro de masas del ácido giberélico (GA3) (36)

Los resultados obtenidos para el análisis de la muestra de biol se presentan en la Figura 4.15. Lo cual comparando con la figura anterior se puede notar una gran similitud en el espectro. La cual está dada los picos representativos en el eje x (relación m/z), donde se muestran señales en puntos semejante. Cada una de las señales se puede comparar con los pesos moleculares denotados en el eje, en donde cada una representa una estructura molecular diferente. Y lo que se busca es que la unión de las diferentes partes conforme una sola estructura que explique cada una de los picos. En la conformación general se representa la forma estructural de la fitohormona conocida como GA<sub>3</sub>.

La similitud no se puede evaluar de forma exacta, debido a que pueden existir diferencias por el método de extracción empleado o una posible degradación dentro del proceso. Sin embargo, una comparación rápida con la base de datos arrojó una similitud superior al 80%, lo cual verifica la presencia de una Giberalina.

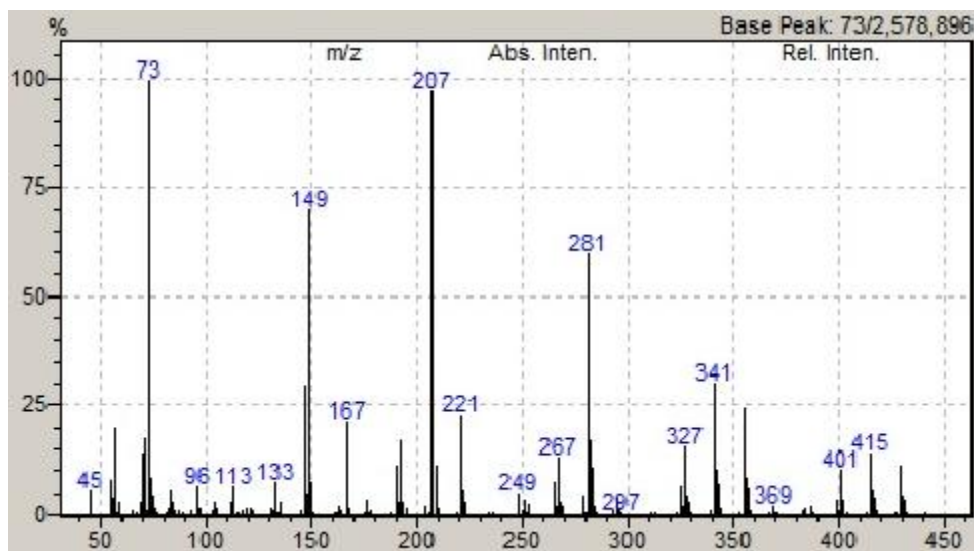


Figura 4.15: Espectro de masas para el pico obtenido en la muestra de biol

Por las similitudes que se obtiene con la muestra de GA<sub>3</sub> es posible determinar una concentración aproximada. Para la comparación de concentración se calculó el área del pico obtenido para cada una de las muestras y se relacionó directamente con la concentración conocida del estándar. Estos datos se presentan en la Tabla 4.12. Para la comparación se asume que el estándar utilizado tiene una pureza del 100%. La concentración obtenida de esta relación debe ser duplicada debido a que el biol fue diluido en una relación 1:2 en el método de extracción empleado. Resultando en una concentración del 0,7% de giberalininas dentro del biol.

Tabla 4.12: Determinación de la concentración de giberalininas

<b>Muestra</b>	<b>Concentración [%]</b>	<b>Área del pico</b>
<i>GA<sub>3</sub></i>	0,12	66335120
<i>Biol</i>	0,69	185949461

## 5. Conclusiones y Recomendaciones

En este estudio se investigó la operación comercialmente rentable de la planta semi-industrial de digestión anaerobia en Latinoamericana de Jugos S.A. a partir de dos factores, la evaluación de la operación del biol y biogás, y la optimización del producto obtenido. La baja eficiencia que tiene el sistema de trituración ocasiona taponamiento y obstrucción de tuberías. Estos diferentes factores de operación, no permiten que la planta trabaje bajo parámetros estables y, por tanto, se tenga una producción inestable de biogás, la cual depende de una serie de circunstancias externas al proceso. Además el biol obtenido tiene un alto contenido de partículas que dificultan la aplicación.

Además de ello, el sistema de uso de biogás necesita implementar mejoras y mantenimiento en diferentes equipos. Uno de los más importantes es la construcción de un gasómetro que trabaje continuamente en la planta. Además, es imprescindible poner a funcionar la llama piloto para lograr reducir la contaminación al ambiente por el metano que se está emanando. Los equipos de uso energético como el calderín y el calefón pueden resultar importantes para mejorar los parámetros de funcionamiento dentro de la operación. Tanto para aumentar la cinética de degradación, como para lograr estabilizar al biol antes de su almacenamiento final. La producción de energía eléctrica es una alternativa para reducir costos de consumo energético por parte de la planta. Y con posibles aumentos de producción, lograr que se convierta en autosustentable. La producción de la planta es de  $42 \text{ m}^3/\text{semana}$ , lo cual puede producir hasta  $116 \text{ kWh/semana}$ . Que se pueden emplear en su totalidad como energía eléctrica.

Se encontró que la cantidad de nutrientes dentro del biol es buena al compararla con otro fertilizante orgánico líquido, para ser comercializado en centros agrícolas. Pero se

puede aumentar significativamente el contenido de nutrientes si se mejora el sistema de reducción de tamaño de partículas y se aumenta la carga orgánica alimentada. En adición, la determinación de presencia de Giberalinas hace que el producto sea más interesante para los agricultores y beneficioso en el desarrollo de plantas ya que las giberalinas estimulan el crecimiento del tallo, regulan la transición de la fase juvenil a la fase adulta, influyen en la iniciación floral, promueven el establecimiento y crecimiento del fruto, promueven la germinación de semillas y la producción de enzimas hidrolíticas.

## Bibliografía

1. **Matinez, Émerit Bono.** *Residuos Urbanos y Sustentabilidad Ambiental.* València : Universitat de València, 2006.
2. **Ministerio de Coordinación de la Producción, Empleo y Competitividad .** InnovaEcuador. *Quienes somos.* [Online] <http://www.innovaecuador.gob.ec/index.php?module=Pagesetter&func=viewpub&tid=2&pid=4#sthash.GZBJ1PmQ.dpuf>.
3. **Blanco Cobián, Daniel.** Tratamiento biológico anaerobio-aerobio de residuos ganaderos para la obtención de biogás y compost. [Online] [Cited: 04 10, 2013.] <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/1066/Tesis.pdf?sequence=1>.
4. **Montgomery, Douglas.** *Control estadístico de la calidad: Optimización de un proceso.* Argentina : Limusa Wiley, 2007.
5. **Clesceri Lenore, Greenberg Arnold y Eaton Andrew.** *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.* Washington D.C. : American Public Health Association, 1992.
6. **Herrera, Jorge, et al.** *Germinación y crecimiento de la planta.* Costa Rica : Universidad de Costa Rica, 2006.
7. *Biogas production: current state and perspectives.* **Weiland, Peter.** 85, Germany : s.n., 2010, Appl Microbiol Biotechnol, pp. 849-860.
8. **Al Seadi, Teodorita and al., et.** *Biogas Handbook.* Denmark : University of Southern Denmark Esbjerg, 2008.
9. **Campos, E. Elías, X y Flotats, X.** *Procesos biológicos: la digestión anaerobia y el compostaje.* Madrid : Días de Santos, 2012.
10. **Proaño, G.** *Optimización en la operación de un biodigestor a escala piloto y caracterización de productos y materia prima.* Quito : Universidad San Francisco de Quito, 2011.

11. *Aprovechamiento energético de residuos ganaderos*. **Flotats, X., Campos, E. y Bonmatí, A.** 20, Lleida : Universidad de Lleida, 1997, Vol. 1.
12. **Sainz Sastre, J. A.** *Tecnologías para sostenibilidad: procesos y operaciones unitarias en depuración de aguas residuales*. Madrid : Fundación EOI, 2007.
13. *Biodigestores como componentes de sistemas agropecuarios integrados*. **Domingues, Pedro Luis y Ly, Julio.** Habana : Insituto de investigaciones porcinas, 2001.
14. *Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process*. **Ortega, Nuria.** Boca Ratón : Dissertation.com, 2006.
15. **Marañón Maison, Sastre Andrés, Castrillón Pelaez, Gonzáles Prendes, Menéndez Pertierra y Berrueta Jiménez.** *Generación de residuos de ganadería vacuna (purines) en Asturias*. Oviedo : Universidad de Oviedo, 1998.
16. **Thomas, Botero Raúl y Preston.** *Biodigestor de bajo costo para la producción de combustibles y fertilizantes a partir de excretas*. s.l. : Manual para su instalación, operación y utilización, 1987.
17. **Droste, R.** *Anaerobic Water Treatment. Theory and Practice of Water and Wastewater Treatment*. Ottawa : Wiley and Sons, 1997.
18. **Pineda Martínez, G. A.** Caracterización de biogas proveniente de la fermentación de la mezcla de agua de lavado de café y glicerina residual de biodisel por medio de cromatografía de gases. San Carlos : Universidad San Carlos de Guatemala, 2011, 2-18.
19. *Effect of substrate concentration and temperature on the anaerobic digestion of piggery waste in a tropical climate*. **Sanchez, E., Borja, R., Weiland, P. y Martín, A.** 5, s.l. : Precess Biochemistry, 2001, Vol. 37.
20. **Riquelme Pérez, Jonathan.** *Problemas de estimación/ observación en procesos de biodigestión anaerobia*. Valparaíso : Universidad Técnica Federico Santa María, Departamento de electrónica, 2009.
21. **Fragela, Marisol. et. al.** *Los biodigestores como aportadores de energía y mejoradores de suelos*. s.l. : Universidad de Matanzas, 2007.

22. **Agencia Andaluza de la Energía.** Estudio Basico del Biogas. [Online] 09 2011. [Cited: 04 10, 2013.] [http://www.agenciaandaluzadelaenergia.es/sites/default/files/estudio\\_basico\\_del\\_biogas\\_0.pdf](http://www.agenciaandaluzadelaenergia.es/sites/default/files/estudio_basico_del_biogas_0.pdf).
23. *SynGas Production from Organic Waste Using Non-Thermal-Pulsed Discharge.* **Chun, Kim, Song and Chae.** 430-436, Korea : Journal of the Air and Waste Management, 2005.
24. **Pérez Espejo, R.** *Granjas porcinas y medio ambiente: Contaminación del agua en la Piedad, Michoacán.* México : Plaza y Valdés, 2006.
25. **Alvarez, Fernando.** *Preparación y uso de biol.* s.l. : ITDG, 2010.
26. **Bustamante, G., et al.** *Efectos de las fitohormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas) en el crecimiento de hipocótilos de.* Perú : Universidad Nacional de San Agustín, 2011.
27. **Gómez Cadenas, Aurelio.** *Fitohormonas: metabolismo y modo de acción.* Madrid : Universitat Jaume I, 2006.
28. **Rodríguez, María and Rodríguez, Carlos.** *Metabolismo y modo de acción de fitohormonas.* Salamanca : Universidad de Salamanca, 2004.
29. *Effect of Total Solids Concentration of Municipal Solid Waste on the Biogas produced in an Anaerobic Continuous Digester.* **A.H.Igoni, M.F.N.Abowei, M.J.Ayotamundo y C.L.Eze.** Manuscript EE 07 010, s.l. : Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal, 2008, Vol. 10.
30. **Ramón, Romero y Simanca, J.L.,.** *Diseño de un biodigestor de canecas en serie para obtener gas metano y fertilizante a partir de la fermentación de excrementos de cerdp.* *Revista ambiental agua, aire y suelo.* Pamplona : Universidad de Pamplona, 2005.
31. **Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía, IDEA.** *Biomasa: Digestores anaerobios.* 2007.
32. **M.V. Ersahin, H.Ozgun, R.K. Dereli y I.Ozturk.** *Waste Water - Treatment and Reutilization.* Istanbul : Istanbul Technical University, 2011.



33. **Taiz L., Zeiger E.** *Fisiología Vegetal*. España : Universitat Jaume I, 2006.
34. **Almeida, D.** *Manual de análisis*. Quito : s.n., 2011.
35. **Skoog D., Crouch S. y Holler J.** *Principios de análisis instrumental*. México : Cengage Learning Latin America, 2008.
36. **National Institute of Standards and Technology.** Libro del Web de Química del NIST. [Online] Base de datos de Referencias Estándar del NIST Número 69, Enero 2015. [www.webbook.nist.gov](http://www.webbook.nist.gov).
37. **Herrera, Jorge, et al.** *Germinació y crecimiento de la planta*. Costa Rica : Universidad de Costa Rica, 2006.

## **6. Anexos**

### **Anexo 1**

#### **Diagrama de flujo de la planta seme-industrial**

## **Anexo 2**

### **Determinación de la demanda química de oxígeno**

## Procedimiento para la determinación de demanda química de oxígeno (0-15000) mg/L DQO

### Método de digestión de reactor

#### Parte 1: Elaboración de la solución de digestión:

1. Secar 10.5 g de  $K_2Cr_2O_7$  en un crisol a temperatura de 150 °C durante 2 horas
2. Pesar 10.216 g de  $K_2Cr_2O_7$
3. Disolver en balón de 1 L el  $K_2Cr_2O_7$  con 500 mL de agua destilada
4. Agregar 167 mL de  $H_2SO_4$  concentrado al balón de 1L (PRECAUCIÓN: *reacción exotérmica, agregar cuidadosamente el ácido por las paredes del balón*)
5. Dejar en reposo a la solución hasta que llegue a temperatura ambiente
6. Aforar la solución a 1L.

#### Parte 2: Preparación de la muestra:

1. Diluir la muestra en un balón de 100 mL. Se recomienda empezar con una dilución 1:10 o 1:20 si la muestra es muy concentrada
2. Aforar la muestra a 100 mL
3. Agitar la muestra
4. Dejar el balón en reposo para que los sólidos se sedimenten
5. Tomar la muestra de la zona media del balón para evitar tomar los sólidos que se encuentran en la base del balón

#### Parte 3: Preparación de los viales de digestión:

1. En los viales de digestión agregar las cantidades mostradas en la tabla 2.

Tabla 1: Volúmenes a utilizarse en los viales de digestión [3]

<i>Viales de Digestión</i>	<b>Muestra</b> mL	<b>Solución de Digestión</b> mL	<b>Ácido Sulfúrico</b> mL	<b>Volumen Final Total</b> mL
Muestra	2,5	1,5	3,5	7,5
Estándares de calibración	2,5	1,5	3,5	7,5

2. Agregar el ácido sulfúrico en el vial
3. Agregar la solución de digestión en el vial
4. Tapar el vial con la tapa plástica y agitar para homogenizar la mezcla.
5. Permitir que el vial se equilibre a temperatura ambiente (Es posible almacenar los viales preparados con ácido sulfúrico y solución de digestión para futuros análisis)
6. Agregar la muestra en el vial
7. Homogenizar la mezcla
8. Tapar el vial

#### *Parte 4: Preparación del blanco*

1. Seguir el procedimiento de preparación de viales de digestión, pasos 1 a 4
2. Agregar el agua destilada utilizada en la dilución de las muestras
3. Homogenizar la mezcla
4. Tapar el vial

#### *Parte 5: Preparación y utilización del digestor*

1. Encender el digestor DRB 200 ® y precalentarlo a 150 °C
2. Insertar los viales en el digestor
3. Digerir la solución durante 2 h
4. Concluidas las 2h de digestión, dejar los viales en el digestor hasta que la temperatura en la pantalla marque 120 °C
5. Colocar cuidadosamente los viales en la gradilla
6. Dejar que los viales se equilibren a temperatura ambiente

#### *Parte 6: Lectura de los viales*

1. Insertar el adaptador COD/TNT en la celda de lectura del vial
2. Encender el colorímetro HACH DR 890 ®
3. Escoger el programa de lectura de DQO

4. Asegurarse que los todo vial que se introduzca en la celda de lectura se encuentre limpio. Si es necesario limpie las paredes externas del vial con un pañuelo de papel (kleenex).
5. Insertar el vial blanco en la celda de lectura
6. Cubrir al vial con tapa proporcionada por el equipo HACH DR 890®
7. Encerar al colorímetro aplastando la tecla ZERO
8. Retirar el vial blanco de la celda de lectura
9. Insertar el vial que se desea medir
10. Cubrir al vial con tapa proporcionada por el equipo HACH DR 890®
11. Aplastar la tecla READ
12. Anotar el valor de la lectura

## **Anexo 3**

### **Determinación de Nitrógeno Total**

## Procedimiento para la determinación de nitrógeno total (10-150) mg/L

### Método TNT de digestión con persulfato

#### Parte 1: Preparación de la muestra:

1. Diluir la muestra en un balón de 100 mL. Se recomienda empezar con una dilución 1:50 o 1:100 si la muestra es muy concentrada
2. Aforar la muestra a 100 mL
3. Agitar la muestra
4. Dejar el balón en reposo para que los sólidos se sedimenten
5. Tomar la muestra de la zona media del balón para evitar tomar los sólidos que se encuentran en la base del balón.

#### Parte 2: Preparación de muestras y utilización del digestor

1. Se enciende el reactor DRB 200. Se calienta de 103-106 °C.
2. Se prepara el blanco. Usando un embudo, se añade el contenido de un “total nitrogen persulfate reagent poder pillow” a un “HR total nitrogen hydroxide digestion vial”.
3. Se añaden 0.5 mL de agua destilada al tubo que contiene el hidróxido y el persulfato. Se sella el tubo y se agita durante 30 segundos.
4. Se prepara la muestra. Usando un embudo, se añade el contenido de un “total nitrogen persulfate reagent poder pillow” a un “HR total nitrogen hydroxide digestion vial”.
5. Se añaden 0.5 mL de la muestra al tubo que contiene el hidróxido y el persulfato. Se sella el tubo y se agita durante 30 segundos.
6. Se introducen el blanco y la muestra en el reactor DRB 200 durante 30 minutos.
7. Se remueven los tubos del reactor, usando guantes, para que se enfríen a temperatura ambiente.

#### Parte 3: Lectura de los viales

1. Para ingresar el programa “Test ‘N tube HR total nitrogen”. Se aplasta la tecla
2. Se presiona 69 enter 

CONC 6	PRINT 9	ENTER
-----------	------------	-------

 se observará en la pantalla:

PRGM 7
-----------

mg/L, N y el ícono de zero.

3. Se añade el contenido de un “total nitrogen reagent A poder pillow” al tubo del blanco digerido o de la muestra digerida durante y se los agita durante 15 segundos. Se presiona TIMER ENTER después de agitar. Se dará una reacción de 3 minutos.
4. Después de que el timer suene, se debe añadir un “total nitrogen reagent B powder pillow” al tubo de la muestra o el blanco. Se sella el tubo y se lo agita durante 15 segundos. La pantalla mostrará 02:00 Timer 2. Se presiona Enter después de mezclar . empezará un periodo de reacción de 2 minutos.



5. Después de que el timer suene, se quita la tapa de un “total nitrogen reagent C vial”. Se añaden 2 mL de muestra digerida o blanco al tubo que contiene el reactivo C. El tubo va a estar tibio.
6. Se sella al nuevo tubo y se lo invierte 10 veces para mezclarlo, se lo debe hacer despacio.
8. La pantalla va a mostrar: 05:00 Timer 3. Se presiona Enter. Un periodo de racción de 5 minutos va a empezar.
9. Se inserta el adaptador de COD/TNT en la celda, rotando el adaptador hasta que calce, después se lo presiona hasta que quede sujeto.
10. Cuando el timer suene, se debe secar con un trapo húmedo el tubo nuevo (con el reactivo C) que contiene el blanco. Se coloca el tubo en el adaptador con el logo de Hach dando la cara a la parte frontal del instrumento. Se presiona recto hacia abajo, en la parte superior del tubo, hasta que quede ajustado en el adaptador. Cuidadosamente se coloca la tapa del instrumento.
11. Se presiona ZERO. El cursor se moverá a la derecha, entonces la pantalla mostrará: 0 mg/L.
12. Limpiar con una toalla húmeda el tubo que contiene la muestra.
13. Colocar el tubo en el adaptador como se explica en el punto 16  
Presionar la tecla READ y tomar el dato.

## **Anexo 4**

### **Determinación de Fósforo Total**

## Procedimiento para la determinación de Fósforo total (0-1.75) mg/L

### Método PhosVer 3 with Acid Persulfate Digestion TNT

#### Parte 1: Preparación de la muestra

1. Diluir la muestra en un balón de 100 mL. Se recomienda empezar con una dilución 1:50 o 1:100 si la muestra es muy concentrada
2. Aforar la muestra a 100 mL
3. Agitar la muestra
4. Dejar el balón en reposo para que los sólidos se sedimenten
5. Tomar la muestra de la zona media del balón para evitar tomar los sólidos que se encuentran en la base del balón

#### Parte 2: Preparación de viales para reactor DRB 200:

1. Se enciende el reactor DRB 200. Se calienta a 150 °C.
2. Se prepara la muestra. Utilizando una pipeta se añade 5.0 ml de la muestra a “Acid Hydrolyzable test vial”.
3. Usando un embudo se añade el contenido de un sobre de “Postassium Persulfate Powder” al vial, se tapa herméticamente y se agita hasta que se disuelva.
4. Se coloca la muestra en el reactor DRB200 durante 30 minutos.
5. Se retira del reactor la muestra y se deja enfriar en un porta tubos de ensayo hasta temperatura ambiente.
6. Usando una pipeta se añade 2 ml de “1.54 N sodium hydroxide” en el vial. Se tapa y se agita.

#### Parte 3: Para el uso del colorímetro

1. Para ingresar el programa para el fosforo reactivo “Test ‘N tube ”. Se presiona la tecla 

PRGM 7
-----------
2. Se presiona 82 ENTER 

SETUP 8
------------

RECALL 2
-------------

ENTER
-------

 se observará en la pantalla: mg/L, PO<sub>4</sub> y el ícono de zero.
3. Inserte el adaptador COD/TNT en la celda rotando hasta que ingrese correctamente.
4. Limpie con un pañito o una toalla la parte exterior de tubo que contiene la muestra.
5. Coloque la muestra en el colorímetro, empujando el tubo hasta que la punta se asiente en el adaptador. Tape la muestra y presione 

ZERO
------

  - a. (Para múltiples muestras solo encerar la primera vez y medir las demás muestras después de añadir el reactivo PhosVer 3).
6. Remueva la tapa del vial y usando un embudo se añade el contenido de un sobre de “Phos Vre3 Phosphate Reagent Powder” al vial, se tapa herméticamente y se agita durante 10 – 15 segundos (el polvo no se disuelve completamente).

7. Se presiona TIMER ENTER después de agitar. Se dará una reacción de 2 minutos.
8. Limpie con un pañito o una toalla la parte exterior de tubo que contiene la muestra.
9. Coloque la muestra en el colorímetro, empujando el tubo hasta que la punta se asiente en el adaptador. Tape la muestra y presione 

READ
------

 Y se toma el dato.

## **Anexo 5**

### **Análisis de GC-MS para el Biol**

## **Anexo 6**

### **Análisis de GC-MS para el IBA**

## **Anexo 7**

### **Análisis de GC-MS para el GBA**

## **Anexo 8**

### **Análisis de GC-MS para el GA<sub>3</sub>**



