

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales**

**Comparación de la dinámica microbiana en la digestión anaeróbica  
de diferentes biomasas**

**Andrea Carolina Morales Garzón**

**Ingeniería en Procesos Biotecnológicos**

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito  
para la obtención del título de  
Ingeniera en Procesos Biotecnológicos

Quito, 4 de mayo de 2020

# **UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales**

## **HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Comparación de la dinámica microbiana en la digestión anaeróbica de  
diferentes biomasas**

**Andrea Carolina Morales Garzón**

**Nombre del profesor, Título académico**

Dr.-Ing. Daniela Almeida Streitwieser

Quito, 4 de mayo de 2020

## **DERECHOS DE AUTOR**

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

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

Nombres y apellidos: Andrea Carolina Morales Garzón

Código: 00100437

Cédula de identidad: 1714230826

Lugar y fecha: Quito, mayo de 2020

## **ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN**

**Nota:** El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>.

## **UNPUBLISHED DOCUMENT**

**Note:** The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>.

## RESUMEN

En Ecuador se producen aproximadamente 5'000000 de toneladas de desechos sólidos anuales, de los cuales, el 53.81% corresponde a residuos orgánicos que contribuyen a la contaminación ambiental, por cuánto, una de las alternativas para tratar dichos residuos es mediante la digestión anaerobia y así lograr la obtención de biogás y biol utilizado como recurso energético y fertilizante respectivamente a través de la digestión anaerobia de los residuos orgánicos. En el presente estudio se realizó la comparación del metabolismo microbiano para la producción de metano, utilizando distintas biomásas previamente caracterizadas: frutilla, chocho, plátano verde, aguacate y brócoli; como inóculo microbiano se utilizó estiércol fresco de vaca. Se realizó el ensamblaje de 5 biorreactores anaerobios de agitación continua utilizando el sistema AMPTS II, cada uno es un representante rico en glucosa, proteína, almidón, grasa y fibra, respectivamente, con un volumen de 1000 ml a 35°C, los cuales fueron alimentados periódicamente con biomasa fresca. Se cuantificó el metano utilizando cromatografía de gases (GC-FID), para controlar la efectividad de los reactores, se analizó la demanda química de oxígeno (DQO), sólidos totales, ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad. De esta manera se obtuvo que la biomasa de proteína obtuvo 28.14 Nml de CH<sub>4</sub> diario, 48.47 v/v % CH<sub>4</sub>, 51.52 v/v% CO<sub>2</sub>, un DQO de 7597.47mg/L, sólidos totales 3.51%, AGV 1926.41 mg CH<sub>3</sub>COOH/L y alcalinidad de 483.6 mg CaCO<sub>3</sub>/L, concluyendo que representa al digester con mayor producción y eficacia.

Palabras clave: biogás, digestión anaerobia, biol, biomasa, metabolismo microbiano

## ABSTRACT

In Ecuador, approximately 5'000000 tons of waste are produced annually, of which 53.81% corresponds to organic waste, triggering environmental pollution. One of the alternatives to treat such kind of waste is the production of biofuels. Biogas and organic fertilizer are obtained through anaerobic digestion of organic waste. The present study compares of microbial metabolism to obtain methane, using different previously characterized biomasses: strawberry, lupine, green plantain, avocado and broccoli. Therefore, five (5) anaerobic bioreactors with continuous agitation were operated using the AMPTS II system, and fed respectively by a source of fresh biomass rich in glucose, protein, starch, fat and fiber, in a volume of 1000 ml at 35 ° C. Methane production was quantified by using gas chromatography (GC-FID). In order to control the efficiency of the reactors, chemical oxygen demand (COD), total solids, volatile fatty acids (VFA) and alkalinity were analyzed. As a result, the biomass represented by a protein source produced 28.14 Nml per day of methane, 48.47 v/v % CH<sub>4</sub>, 51.52 v/v% CO<sub>2</sub>, 7597.47mg/L COD, total solids 3.51%, VFA 1926.41 mg CH<sub>3</sub>COOH/L and alkalinity 483.6 mg CaCO<sub>3</sub>/L, concluding that this biomass has a higher production of biogas and can be degraded in a more stable process than other sources of biomass.

Key words: biogas, anaerobic digestion, fertilizer, biomass, microbial metabolism

## TABLA DE CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
Selección y caracterización de la materia prima.....	12
Materiales y reactivos .....	13
Equipo experimental .....	13
Metodología de análisis .....	14
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>15</b>
Caracterización biomasa y bioles.....	15
Producción de metano.....	16
Análisis de bioles .....	16
<b>DISCUSIONES.....</b>	<b>18</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>21</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>22</b>
<b>ANEXO A: ESQUEMA DE DIGESTORES ANAEROBIOS SISTEMA AMPTS II .....</b>	<b>25</b>
<b>ANEXO B: DISEÑO EXPERIMENTAL BIODIGESTORES .....</b>	<b>26</b>
<b>ANEXO C: COMPOSICIÓN QUÍMICA RESULTADO DE CARACTERIZACIÓN PARA CADA BIOMASA Y BIOL: FRUTILLA, CHOCHO, AGUACATE, PLATANO VERDE Y BRÓCOLI.....</b>	<b>27</b>
<b>ANEXO D: CURVA PRODUCCION DIARIA DE METANO CH<sub>4</sub> PARA BIOMASAS: FRUTILLA, AGUACATE, VERDE, CHOCHO, BRÓCOLI .....</b>	<b>28</b>
<b>ANEXO E: RESULTADOS ANÁLISIS BIOLES.....</b>	<b>29</b>

## INTRODUCCIÓN

En Ecuador, según cifras del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC), para el año 2017, se produjo aproximadamente 5'000000 de toneladas de desechos sólidos, de los cuales, el 53.81% corresponde a residuos orgánicos, es decir, aquellos desechos provenientes de fuentes biológicas (INEC, 2017). En el país, estos desechos son llevados a rellenos sanitarios promoviendo la contaminación ambiental (TULSMA, 2003). De modo que, se han desarrollado nuevas tecnologías sustentables para el manejo de residuos orgánicos procedentes de procesos fotosintéticos, también conocidos como biomasas (Almeida Streitwieser, 2017), en los cuales intervienen bacterias, levaduras y algas, para obtener nuevos productos con fines energéticos, denominados biocombustibles de segunda generación, obteniendo bioetanol, biogás y biodiesel, en dependencia de los microorganismos involucrados. (Morelos Gómez, 2016).

Para llevar a cabo la producción de biogás, es importante definir que este es un combustible compuesto de metano  $\text{CH}_4$  y dióxido de carbono  $\text{CO}_2$ , obtenido a partir de residuos orgánicos en un proceso de digestión anaerobia (Dahan, 2006). Este es un proceso bioquímico llevado a cabo en diferentes etapas. Mediante la formación de consorcios bacterianos se da la degradación de sustratos de estructura compleja para transformarlo en  $\text{CH}_4$  y dióxido de carbono en un medio carente de oxígeno (Li et al., 2015).

El proceso de digestión anaerobia está constituido de cuatro etapas descritas en la Digestión Anaerobia Modelo 1 (DAM1), basado en el principio de fraccionamiento de materia orgánica, el cual implica la separación y ruptura de compuestos orgánicos complejos hasta transformarlo en moléculas sencillas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis, metanogénesis (Fisgativa et al., 2020). Durante la primera etapa, se produce la transformación de la materia orgánica de alto peso molecular como las grasas, proteínas, polisacáridos en moléculas más sencillas que pueden ser

absorbidas a través de la pared celular (Corrales et al., 2015). La hidrólisis se logra por acción de microorganismos anaerobios estrictos y facultativos (Batstone & Keller, 2003) mediante la síntesis de enzimas hidrolasas capaces de solubilizar la materia orgánica en presencia de agua. En esta etapa se ha reportado la presencia de *Peptostreptococcus sp*, *Propinibacterium sp*, *Bacteroides sp*, *Micrococcus, sp*, *Clostridium sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Sphingomonas sp.*, y *Bifidobacterium sp.* (Corrales et al., 2015).

Para la segunda etapa del proceso, los monómeros obtenidos durante la hidrólisis son degradados para formar ácidos orgánicos de cadena corta por ejemplo, ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético, butanol, etanol y acetona (Corrales et al., 2015), mediado por bacterias fermentativas anaerobios obligados y facultativos (Batstone & Keller, 2003). Estos utilizan rutas catabólicas de polisacáridos, aminoácidos y glicerol (Corrales et al., 2015). Durante la acidogénesis los microorganismos presentes pueden eliminar trazas de oxígeno disuelto en el sistema para asegurar condiciones anaerobias para las etapas posteriores (Moreno, 2011). Durante esta etapa se ha detectado la presencia de *Clostridium sp.*, *Ruminococcus sp.*, *Eubacterium sp.*, y *Bacteroides sp.* (Moreno, 2011).

En la tercera etapa, los productos resultantes son convertidos en ácidos grasos volátiles y alcoholes donde participan bacterias homoacetogénicas, a través de la reducción del dióxido de carbono utilizando hidrógeno como donador de electrones (Corrales et al., 2015). En esta etapa, se ha demostrado la presencia de *Syntrophomonas sp.*, *Acetobacterium woodii* o *Clostridium aceticum* (Moreno, 2011).

Finalmente, en la última etapa se utilizan los productos obtenidos previamente para la formación de metano y dióxido de carbono, por acción de microorganismos metanogénicos en condiciones anaeróbicas estrictas (Batstone & Keller, 2003), estos microorganismos están clasificados dentro

del dominio Archaea, estudios han demostrado que aproximadamente el 70% de metano producido es formado a través de la descarboxilación de ácido acético. Las especies más comunes encontradas durante esta etapa son *Methanobacterium sp.*, *Methanosarcina* y *Methanothrix*. (Moreno, 2011).

La producción de biogás por digestión anaerobia presenta ciertas ventajas, entre ellas es ser una fuente de energía renovable, permite eliminar la carga orgánica de manera eficiente y, por lo tanto, reduce la contaminación ambiental al minimizar las emisiones de gas a la atmósfera (Dahan, 2006). Otra de las ventajas de la utilización de biogás es la reducción del uso de combustibles fósiles, , así también la disminución de la emisión de gases de efecto invernadero (Dahan, 2006). Durante este proceso también se puede obtener subproductos orgánicos ricos en nitrógeno, fósforo, potasio y micronutrientes reemplazando a fertilizantes químicos (Dahan, 2006). Sin embargo, este biocombustible posee algunas limitaciones pues todavía requiere de investigación para obtener un combustible eficiente, el producto de la digestión anaerobia puede contener impurezas, además al ser un proceso que trabaja con organismos vivos es importante controlar factores como temperatura y pH (Dahan, 2006).

En la actualidad, se han encontrado diversas aplicaciones de este combustible, entre ellas se encuentra la obtención de energía térmica, para uso en la cocina o calentamiento de agua, también es posible generar energía eléctrica y combustible para vehículos acondicionados para funcionamiento con gas natural (Moreno, 2011).

Para la obtención de biogás, es necesario la utilización de microorganismos anaerobios, por lo que para la presente investigación se utilizó estiércol fresco proveniente de ganado vacuno utilizado como inóculo bacteriano. Se escogieron cinco biomasas distintas, entre ellas se utilizó desecho de frutilla (*Fragaria ananassa*) producto de extracción de pulpa. En la región Sierra se cultivan

aproximadamente 46.8 toneladas anuales de esta baya (Parra Castro, 2018). Está compuesta en su mayoría por agua en un 91%, glucosa en 7.7% y un porcentaje bajo de grasas y proteínas de 0.3% y 0.7% respectivamente, por esta razón se eligió para el experimento como fuente de glucosa (Hossain et al., 2016).

Otra biomasa seleccionada para el experimento fue el plátano verde (*Plantago major*) debido a su alto contenido en almidón. Se ha registrado una producción de 6'000000 toneladas anuales en la región Costa del país, está compuesta por un 65% de agua, 25.84% de almidón, 7.86% de sacarosa, 1% de proteína y 0.3% de grasa (Paz, 2013).

Por otro lado, como biomasa rica en proteína se eligió el chocho (*Lupinus mutabilis*), de esta leguminosa se cosechan aproximadamente 3217 toneladas anuales en el país, en la región Sierra, especialmente en las provincias de Chimborazo, Tungurahua y Cotopaxi, se ha caracterizado por ser un cultivo no exigente, es decir no requiere una alta inversión y puede crecer en suelos arenosos y erosionados (Márquez, 2020). Este tiene un porcentaje de proteína de 51%, 28.2% de grasas, 7.1% de fibra y 13.7% de agua (Márquez, 2020).

La biomasa elegida como fuente de fibra es el brócoli (*Brassica oleracea*), la producción de esta legumbre en el país es de aproximadamente 110 000 toneladas anuales (Enríquez, 2020). Está compuesto principalmente por agua en un 89%, 7% entre azúcares y fibra, 3% de proteína y 0.4% de lípidos (Almeida Streitwieser, 2017).

La última biomasa seleccionada para el experimento es el aguacate (*Persea americana*) como fuente de grasa. En el país existe una producción de 600 toneladas de aguacate anuales, se encuentra compuesto por grasa con un porcentaje de 57.7%, fibra 19.73, proteína 4.77%, carbohidratos 8.58% y 9.22% restante corresponde a la cantidad de agua presente en esta fruta (Enríquez, 2020).

El objetivo del presente proyecto es realizar la comparación del metabolismo microbiano e investigar el potencial de producción de metano de cinco fuentes de biomasa con diferente composición química mediante la digestión anaerobia. Las fuentes orgánicas han sido seleccionadas entre los diferentes residuos de biomasa ecuatoriana de acuerdo con las características propias de cada una. Las fuentes orgánicas seleccionadas son la frutilla por su elevado contenido en glucosa, aguacate por su alto contenido en lípidos, chocho abundante en proteína, plátano verde para almidón y brócoli rico en fibra.

En estudios previos de digestión anaerobia en el rango de temperatura mesofílico se logró analizar la influencia de estos nutrientes en la producción de metano. Con estos antecedentes, es posible realizar la identificación de los microorganismos presentes en las distintas etapas del proceso para comprender la degradación anaeróbica, así como las rutas metabólicas seguidas por cada microorganismo.

## MÉTODOS

### **Selección y caracterización de la materia prima**

En el presente estudio, se seleccionaron diferentes biomásas a partir de residuos alimenticios comunes en el país. Entre ellos, se incluyó desecho de frutilla proveniente de proceso de elaboración de pulpa, plátano verde, brócoli, chocho y aguacate. Una vez seleccionadas las biomásas, se mezcló con estiércol fresco de vaca recolectado horas previas al ensamblaje de los digestores.

Se realizó la caracterización de cada biomasa a partir del análisis de los siguientes parámetros y metodología: (1) determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) siguiendo método colorimétrico basado en el procedimiento AOAC 973.46 utilizando el digestor Hach y el espectrofotómetro Hach. (2) Se cuantificó el porcentaje de humedad mediante el método gravimétrico secando la muestra a 105°C por 24 horas hasta alcanzar un peso constante, siguiendo el método AOAC 934.01. (3) El contenido de cenizas también fue evaluado por método gravimétrico siguiendo la metodología de análisis AOAC 942.05 calcinando las muestras previamente secadas a 105°C, por 8 horas en una mufla a 550°C. (4) Se valoró el contenido de nitrógeno (N) mediante el método de Kjeldahl utilizando el Digestor DK6 VLEP Científica y el equipo de destilación semiautomática UDK 139 basados en el método AOAC 960.52, con el cual es posible determinar el porcentaje de proteína en la muestra. (5) Se midió la cantidad de fibra

cruda con el método de análisis AOAC 962.09 mediante digestión ácida y alcalina. (6) Finalmente, determinó el contenido de celulosa mediante el método según Domínguez (7).

### **Materiales y reactivos**

Los reactivos utilizados para la realización de los análisis fueron: ácido sulfúrico marca Isolab Germany, hidróxido de sodio y ácido nítrico marca Fisher, ácido acético, ácido clorhídrico, ácido bórico y solución DQO de la casa comercial JT Baker y timolftaleína marca Labkem.

### **Equipo experimental**

Para el ensamblaje de los digestores anaeróbicos, se utilizó el sistema “Automatic Methane Potencial System” (AMPTS II). Un esquema del arreglo de los biorreactores se presenta en el ANEXO A. Mediante los resultados obtenidos durante la caracterización de sólidos totales, la carga orgánica presente y el pH de cada biomasa, se ensamblaron los digestores completando un volumen total de 1000mL de la mezcla de estiércol con biomasa según lo indica el ANEXO B En los reactores se mantuvo una relación específica de biomasa/estiércol en porcentaje para cada biomasa; siendo así en glucosa 31.68.33/ 68.32%, almidón 17.09/82.90% fibra 47.70/52.3%, proteína 23.88 /7611% y lípido 25.12/74.88%, adicionalmente se añadió un medio rico en micronutrientes siguiendo lo descrito por Owen et al., 1979. Durante las primeras alimentaciones se realizó un ajuste de pH mediante la inyección de solución de hidróxido de sodio al 2% con el fin de mantener un pH mayor a 6.

Los digestores fueron colocados en un baño de agua a 35°C, cada uno se mantuvo en agitación constante, alimentados periódicamente con la biomasa respectiva. Como se observa en el ANEXO A el reactor permaneció conectado a una trampa de dióxido de carbono compuesta de 400 ml de hidróxido de sodio (NaOH) 3M con indicador de pH timoftaleína. Las trampas de dióxido de

carbono se conectaron a una cámara de gas con sensores de temperatura y presión para la medición de metano. Este sistema fue ensamblado siguiendo las indicaciones de Bioprocess Control, 2016. El Sistema AMPTS II, se encuentra conectado al AMPTS software que permite tener un control en la producción de metano de cada digestor.

### **Metodología de análisis**

El biol resultante de la digestión anaerobia se caracterizó con los siguientes métodos, Demanda Química de Oxígeno (DQO), el porcentaje de humedad, sólidos totales, sólidos orgánicos totales. También se analizó la alcalinidad utilizando el método de AOAC 973.43 y se determinó la concentración de ácidos grasos volátiles, siguiendo la metodología de AOAC 912.03. Para cuantificar el porcentaje de metano y dióxido de carbono resultante de la digestión anaerobia se siguió el método AOAC 971.03, utilizando cromatógrafo de gases (GC) ThermoScientific Trace 1310 con columna TG-BOND, de longitud de 15m, diámetro 0,451 mm con inyección manual y Split flow de 40 ml/min. En un detector FID de detección de inyección de flama.

## RESULTADOS

### Caracterización biomasa y bioles

Los resultados de la caracterización inicial y final de la mezcla reactiva se presentan en el ANEXO C demostrando un consumo de la biomasa:

Para el reactor con contenido de glucosa, se identificó disminución de la demanda química de oxígeno, el porcentaje de ceniza y el contenido de proteína en valores de 54.73%, 56.35% y 62.26%, respectivamente. El porcentaje de humedad aumentó en un 15.64%.

Al analizar la caracterización y comparación de biomasa y biol para el digestor de proteína, se identificó que la demanda química de oxígeno, el porcentaje ceniza y el porcentaje de proteína disminuye un 45.09%, 2.27% y 56.11% respectivamente. También se observa un aumento de humedad en 60.62%.

Por otro lado, los resultados obtenidos para la caracterización del biol del reactor representante de lípidos se observa la siguiente degradación de la biomasa. Se identifica una reducción de la demanda química de oxígeno de 76.72%, del porcentaje de ceniza en un 60.62% y del valor de proteína en un 44.70%, también se observa un aumento en el porcentaje de humedad aumentó en un 7.28%.

Como resultados de la caracterización y comparación de biomasa y biol para el digestor del plátano verde, se identifica que existe una reducción de la demanda química de oxígeno de 56.77%, el porcentaje de humedad aumentó en un 34.74%, el porcentaje de ceniza aumentó en un 12%, y el porcentaje de proteína bajó un 82.32%.

Finalmente, con respecto a los resultados obtenidos de la caracterización del reactor de biomasa rica en fibra, ocurre lo mismo que en los anteriores. Es decir, se identifica la reducción en un 8.44%

en la demanda química de oxígeno y 69.69% en el contenido de proteína. Sin embargo, se observa un aumento del porcentaje de humedad y cenizas de 5.72% y 48.4%.

### **Producción de metano**

Al evaluar la producción de metano mostrada en el ANEXO D se ha observado una producción **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** creciente de gas, esto también se corrobora a los resultados conseguidos durante el análisis en el cromatógrafo de gases indicados en el ANEXO E.

Durante la digestión anaerobia se obtuvo una relación de metano/dióxido de carbono ( $\text{CH}_4/\text{CO}_2$ ) en porcentaje de volumen (v/v %) en cada digestor; siendo así; glucosa 47.60/52.39, proteína 48.47/51.52, lípido 50.34/49.65, almidón 47.49/52.50 y fibra 46.88/53.11. Los resultados obtenidos por cromatografía de gases coinciden con lo mostrado por el software del sistema AMPTS II, en los cuales se encontró para la glucosa una producción diaria de metano de 26.9Nml, la proteína muestra 28.14Nml, el aguacate 8.20Nml, el almidón 21.76Nml y, finalmente, el brócoli 0.98Nml.

### **Análisis de bioles**

Estableciendo una frecuencia de alimentación de los reactores de 150 ml por tres (3) veces por semana, se logró obtener una carga orgánica para la frutilla, chocho, aguacate, plátano verde y brócoli de 0.423, 0.5206 0.5702, 0.4352 y 0.7022 g/l·d, respectivamente.

Los resultados obtenidos durante los análisis de bioles se describen en el ANEXO E, los parámetros analizados fueron descritos anteriormente.

Para el reactor de frutilla, la demanda química de oxígeno es de 6097.95.03 mg/L, los sólidos totales tienen un valor de 2,64%, el promedio de ácidos grasos volátiles es de 758.99mg

CH<sub>3</sub>COOH/L, después de realizar el ajuste de pH con hidróxido de sodio se logró subir el pH de 5.28, por lo que no fue posible realizar el análisis de alcalinidad.

El reactor de chocho obtuvo una demanda química de oxígeno de 7597.47 mg/L, los sólidos totales tienen un valor de 3,51%, el promedio de ácidos grasos volátiles es de 1926.41 mg CH<sub>3</sub>COOH/L, el pH se mantuvo un promedio de 6.53 y la medida de alcalinidad es de 483.6 mg CaCO<sub>3</sub>/L.

Los resultados obtenidos para el reactor de aguacate para los análisis de demanda química de oxígeno, sólidos totales, ácidos grasos volátiles y alcalinidad son 6035.9 mg/L de 3,82%, 987.18 mg CH<sub>3</sub>COOH/L, 1286.12 mg CaCO<sub>3</sub>/L respectivamente, y manteniendo un pH de 6.12.

Para el reactor del plátano verde, se obtuvo que la demanda química de oxígeno es de 5297 mg/L, los sólidos totales tienen un valor de 4.52%, el promedio de ácidos grasos volátiles es de 1000.91 mg CH<sub>3</sub>COOH/L, el pH de este biol mantuvo un promedio de 4.43 impidiendo el análisis de alcalinidad.

Finalmente, el reactor de brócoli presentó una pH de 6.03, la demanda química de oxígeno de 6108.07 mg/L, los sólidos totales tienen un valor de 3.62%, el promedio de ácidos grasos volátiles es de 1049.77 mg CH<sub>3</sub>COOH/L y la medida de alcalinidad es de 262.8 mg CaCO<sub>3</sub>/L.

## DISCUSIONES

El sistema AMPTS II permite recopilar información en tiempo real con precisión y exactitud sobre procesos de digestión anaerobia para la obtención de metano a partir de residuos orgánicos en un ambiente sin oxígeno. Este sistema registra los resultados de producción de biogás facilitando el estudio y entendimiento de la dinámica bacteriana en cada biomasa (Hayes, 2020).

Durante la caracterización de la alimentación y de los bioles se observa la disminución del porcentaje de nutrientes en las biomasas. Estos valores son inversamente proporcionales a la cantidad de metano producida, demostrando la existencia de un proceso de degradación, es decir, la materia orgánica se está consumiendo y lo transforma en  $\text{CH}_4$  y dióxido de carbono mismo que se queda en la trampa de hidróxido de sodio 3M. El biogás es cuantificado diariamente en el contador de gases del sistema AMPTS II. Lo cual indica rendimientos distintos para cada digestor en dependencia de la biomasa utilizada. El aguacate fuente de lípidos tuvo un mayor porcentaje de metano. Sin embargo, el reactor de proteína tuvo una producción diaria de gas mayor a comparación de las otras biomasas.

Si se analizan los resultados obtenidos para el reactor de glucosa y almidón se observa un consumo rápido de la fuente de azúcares indicando una producción de  $\text{CH}_4$  inmediata. Con respecto al metano generado por el digestor de brócoli como fuente de fibra, se observa que el rendimiento es bajo, al no presentar valores diarios significativos a comparación de las otras biomasas. La cantidad de biogás también puede verse afectada por componentes inhibitorios, esto implica un efecto tóxico para las bacterias. Se ha demostrado la presencia de un compuesto químico llamado sulfurafano en el brócoli. Este tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos

anaerobios (Conzatti et al., 2015), lo que explicaría el bajo rendimiento en la obtención de metano en este reactor.

Adicionalmente, en estudios anteriores se encontró un potencial de inhibición en la producción de metano (Streitwieser & Cadena, 2018). Sin embargo, con los resultados obtenidos se muestra la presencia de esta característica en la biomasa de la fibra. Esto también muestra relación al analizar los resultados de demanda química de oxígeno coincidiendo con los datos mostrados por el software del equipo AMPTS II indicando que la degradación de la materia orgánica es mínima en comparación con las otras biomásas.

En estudios previos, se ha establecido la composición del biogás el cual contiene  $\text{CH}_4$  con un porcentaje entre 50-70%, dióxido de carbono  $\text{CO}_2$  en una proporción de 25-50%, y en porcentajes menores se puede encontrar nitrógeno  $\text{N}_2$ , hidrogeno  $\text{H}_2$ , oxígeno  $\text{O}_2$  y trazas de amonio  $\text{NH}_3$  y ácido sulfhídrico  $\text{H}_2\text{S}$  (Hayes, 2020). Esto quiere decir que todos los reactores ensayados cumplen con los valores esperados de metano y dióxido de carbono, sin embargo, la producción diaria varía en cada uno de ellos.

La ruta metabólica de los microorganismos está definida en base a las propiedades fisicoquímicas de cada reactor, es necesario analizar el pH, pues según Contreras, 2017 las bacterias metanogénicas son muy sensibles a este factor. Es decir, si no existe una regulación de este parámetro puede representar un problema para la posterior identificación de microorganismos, como ocurre para la glucosa y el almidón, además puede ser el causal de la baja cantidad de metano producido (Contreras, 2017). Este parámetro también es importante para controlar los parámetros de alcalinidad confiriendo estabilidad en el proceso, esto puede observarse en los reactores de proteína y grasa. Adicional a esto con los resultados obtenidos en el análisis de ácidos grasos volátiles se permite determinar la presencia de bacterias acetogénicas (Contreras, 2017) presentes

en todos los digestores. El mismo autor menciona que un alto porcentaje de sólidos totales presentes en las muestras tienen relación con la presencia de ácidos grasos volátiles y disminuyen en la producción de gas. Sin embargo, los niveles de sólidos obtenidos son bajos para todas las muestras y por consiguiente un alto porcentaje de humedad (Contreras, 2017). Para identificar la ruta metabólica seguida por los microorganismos en cada digestor anaerobio es importante encontrar las especies involucradas, esto se logra mediante una secuenciación del ADN de los microorganismos involucrados, junto con los resultados obtenidos químicamente, es posible identificar las rutas metabólicas y así evaluar el comportamiento microbiano (Li et al., 2015). En estudios anteriores, se ha podido identificar la presencia de diversidad de archeas metanógenas y bacterias anaerobias. Entre ellas se encuentran *Bacteroides*, *Firmicutes*, *Chloroflexi*, *Spirochaetae*, y *Synergistete*, presentes durante las etapas iniciales de la digestión (Li et al., 2015). Se ha evidenciado la existencia de bacterias del género *Actinobacteria* y *Tenericutes*. Estas son responsables de degradar los ácidos grasos volátiles y transformarlo en propionato reduciendo presencia de otros microorganismos (Li et al., 2015). Durante la etapa final de producción de metano se ha comprobado la presencia de *Clostridia* y *Erysipelotrichia* los cuales también son flora dominante del intestino de los animales caracterizadas por ser la fuente principal de bacterias en el inóculo microbiano (Li et al., 2015). También se han encontrado *Treponema* homoacetogénicas capaces de producir este gas (Li et al., 2015). Se esperaría que los microorganismos descritos se encuentren durante la secuenciación de ADN de cada reactor. Sin embargo, sería importante determinar la microbiota de las biomasas.

## CONCLUSIONES

En este estudio, se realizó la comparación de la dinámica microbiana en la digestión anaerobia para diferentes biomásas. Para esto se escogieron biomásas como fuente de glucosa, almidón, proteínas, lípidos y fibra utilizando el sistema AMPTS II que consta de biorreactores de alimentación y agitación continua, conectados a una trampa de CO<sub>2</sub> y a un medidor de CH<sub>4</sub> registrando diariamente la producción del gas. Al evaluar dichos registros y contrastarlos con los análisis realizados para cada uno, se identifica mayor rendimiento en la producción de biogás en el biorreactor de proteína, mientras que la fuente de lípidos tiene mayor estabilidad. Para los biorreactores de glucosa y almidón se observa un consumo rápido de los azúcares presentes en los mismos obteniendo así menos estabilidad en el proceso. Finalmente, en el biorreactor de fibra se observa producción baja de gas debido a compuestos inhibitorios presentándose como una mala alternativa para obtener metano en comparación con las otras biomásas.

Como continuación a este ensayo es importante realizar la secuenciación del ADN para cada reactor en sus distintas etapas: hidrólisis, acidogénesis, metanogénesis y acetogénesis. La técnica de secuenciación y los avances en biología molecular permiten obtener toda la información necesaria para evaluar la ruta metabólica seguida por los distintos microorganismos.

Para futuros ensayos se desean identificar los microorganismos presentes en cada biomasa, para determinar si estos también se encuentran involucrados en el proceso de digestión anaerobia.

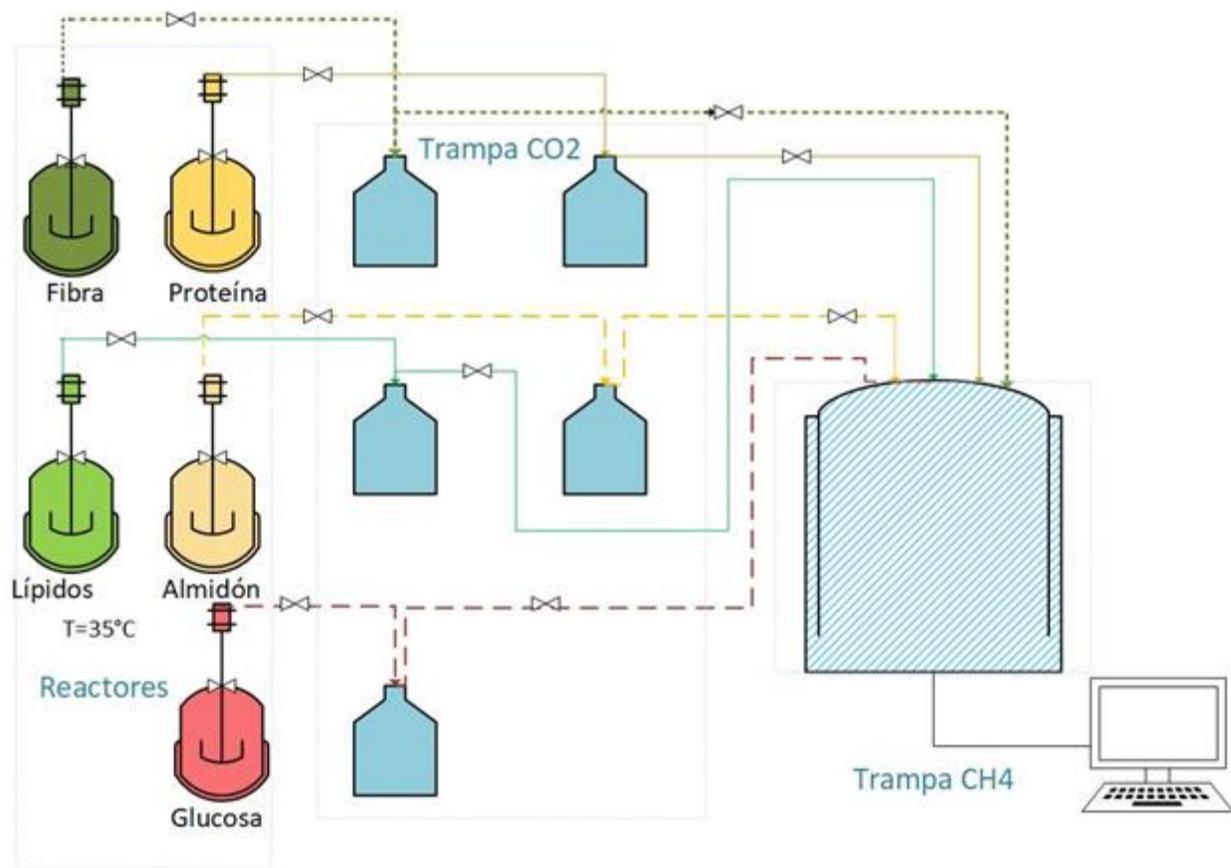
## REFERENCIAS

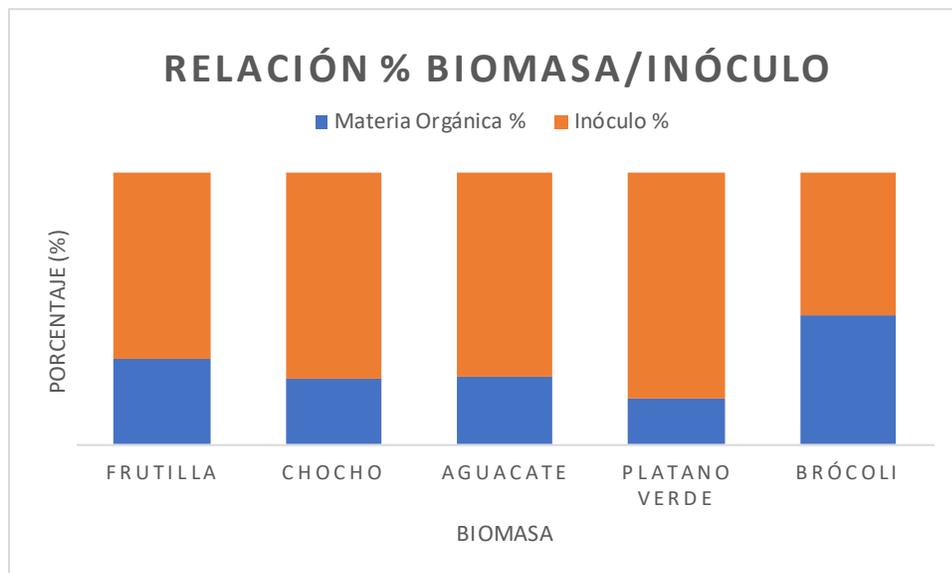
- Almeida Streitwieser, D. (2017). Comparison of the anaerobic digestion at the mesophilic and thermophilic temperature regime of organic wastes from the agribusiness. *Bioresource Technology*, 241, 985–992. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.006>
- Batstone, D. J., & Keller, J. (2003). Industrial applications of the IWA anaerobic digestion model No. 1 (ADM1). *Water Science and Technology*, 47(12), 199–206. <https://doi.org/10.2166/wst.2003.0647>
- Contreras, A. J. A. (2017). *Ensayo de estabilizacion y reparacion de digestores anaerobios, con residuos industriales y agroalimentarios, en un proceso de co-digestion anaerobia*. Universidad de Sevilla.
- Conzatti, A., Fróes, F. C. T. da S., Perry, I. D. S., & de Souza, C. G. (2015). Evidencias Clínicas y moleculares del consumo de brócoli, glucorafanina y sulforafano en humanos. *Nutricion Hospitalaria*, 31(2), 559–569. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.2.7685>
- Corrales, L. C., Antolinez Romero, D. M., Bohórquez Macías, J. A., & Corredor Vargas, A. M. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *Nova*, 13(24), 55. <https://doi.org/10.22490/24629448.1717>
- Dahan, A. (2006). *Advantages and limitations of an. December*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11989.58087>
- Fisgativa, H., Zennaro, B., Charnier, C., Richard, C., Accarion, G., & Béline, F. (2020). Comprehensive determination of input state variables dataset required for anaerobic digestion modelling (ADM1) based on characterisation of organic substrates. *Data in Brief*. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105212>
- Hossain, A., Begum, P., Salma Zannat, M., Hafizur Rahman, M., Ahsan, M., & Islam, S. N.

- (2016). Nutrient composition of strawberry genotypes cultivated in a horticulture farm. *Food Chemistry*, 199, 648–652. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.056>
- Li, L., He, Q., Ma, Y., Wang, X., & Peng, X. (2015). Dynamics of microbial community in a mesophilic anaerobic digester treating food waste: Relationship between community structure and process stability. *Bioresource Technology*, 189, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.015>
- Lucero Huasasquiche Sarmiento. (2018). “ *AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LA MICROFLORA ASOCIADA AL CULTIVO DE TARWI (Lupinus mutabilis Sweet).*” 0–151.
- Morelos Gómez, J. (2016). Análisis de la variación de la eficiencia en la producción de biocombustibles en América Latina. *Estudios Gerenciales*. <https://doi.org/10.1016/j.estger.2016.01.001>
- Moreno, M. T. V. (2011). *Manual de Biogas*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Owen, W. F., Stuckey, D. C., Healy, J. B., Young, L. Y., & McCargy, P. L. (1979). *BIOASSAY FOR MONITORING BIOCHEMICAL METHANE POTENTIAL AND ANAEROBIC TOXICITY*. 13(5).
- Parra Castro Elisandra Johana. (2018). *Producción y Comercialización de Frutilla (Fragaria sp) en la parroquia Yaruqui, canton Quito, Provincia de Pichinca*.
- Paz, P. (2013). Potencialidad Del Plátano Verde En La Nueva Matriz Productiva Del Ecuador. *Yachana Revista Científica*, 2(2), 203–210. <http://revistas.ulvr.edu.ec/index.php/yachana/article/view/47>
- Streitwieser, D. A., & Cadena, I. A. (2018). Preliminary study of biomethane production of organic waste based on their content of sugar, starch, lipid, protein and fibre. *Chemical*

*Engineering Transactions*, 65, 661–666. <https://doi.org/10.3303/CET1865111>

TULSMA. (2003). *Norma De Calidad Ambiental Para El Manejo Y Disposición Final De Desechos Sólidos No Peligrosos*. 26.

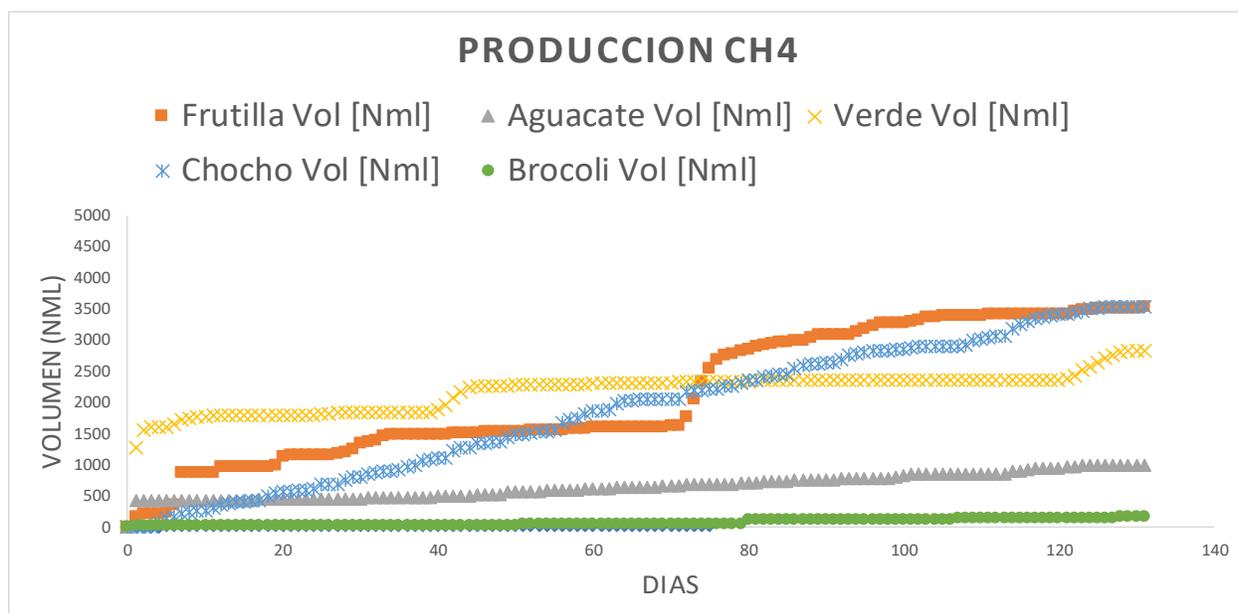
**ANEXO A: ESQUEMA DE DIGESTORES ANAEROBIOS SISTEMA AMPTS II**

**ANEXO B: DISEÑO EXPERIMENTAL BIODIGESTORES**

**ANEXO C: COMPOSICIÓN QUÍMICA RESULTADO DE CARACTERIZACIÓN PARA  
CADA BIOMASA Y BIOL: FRUTILLA, CHOCHO, AGUACATE, PLATANO VERDE Y  
BRÓCOLI**

	<b>Biomasa</b>				<b>Biol</b>			
	<b>Ceniza (%)</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Celulosa (%)</b>	<b>Humedad %</b>	<b>Ceniza (%)</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Celulosa (%)</b>	<b>Humedad %</b>
<b>Glucosa (Frutilla)</b>	0.68	3.18	3.11	82.9	0.29	1.97	0.02	98.28
<b>Proteína (Chocho)</b>	0.44	41.93	5.13	38.51	0.45	23.48	2.64	97.81
<b>Lípido (Aguacate)</b>	1.60	2.17	3.00	76.77	0.62	0.95	0.82	82.8
<b>Almidón (Platano verde)</b>	1.33	1.81	3.3	61.82	1.51	0.32	3.07	94.74
<b>Fibra (Brócoli)</b>	0.81	3.96	3.48	90.86	1.57	1.2	1.12	96.38

**ANEXO D: CURVA PRODUCCION DIARIA DE METANO CH<sub>4</sub> PARA BIOMASAS:  
FRUTILLA, AGUACATE, VERDE, CHOCHO, BRÓCOLI**



### ANEXO E: RESULTADOS ANÁLISIS BIOLES

<b>Biol</b>	<b>COD (mg/L)</b>	<b>Sólidos Totales (mg/ml)</b>	<b>Alcalinidad (mgCaCO<sub>3</sub>/L)</b>	<b>AGV (mgac-eq/L)</b>	<b>v/v %CH<sub>4</sub></b>	<b>v/v%CO<sub>2</sub></b>
<b>Frutilla</b>	6067.95	0.0200	186.00	768.99	47.6	52.39
<b>Chocho</b>	7597.47	0.0300	483.60	1926.41	48.47	51.52
<b>Aguacate</b>	6035.90	0.0316	1286.20	987.18	50.34	49.65
<b>Platano verde</b>	5927.00	0.0385	-	1000.91	47.49	52.5
<b>Brócoli</b>	6108.70	0.0240	262.80	1049.77	46.88	53.11