

**DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ UTILIZANDO
ESTIÉRCOL BOVINO COMO INÓCULO**

SAYANA YAREIMA TELLEZ REYES

JENNIFER NAYIVE VEGA BUITRAGO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2012

**DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ UTILIZANDO
ESTIÉRCOL BOVINO COMO INÓCULO**

SAYANA YAREIMA TELLEZ REYES

JENNIFER NAYIVE VEGA BUITRAGO

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero
Químico**

Directora

DEBORA ALCIDA NABARLATZ

Ingeniera Química, Ph.D.

Codirector

HUMBERTO ESCALANTE HERNÁNDEZ

Ingeniero Químico, Ph.D.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2012

DEDICATORIA

A dios gracias por llenarme de fuerzas y perseverancia todos estos años, por ser quien me acompañó incondicionalmente y nunca me fallo, por hacer de mí un ser humano con corazón e inteligencia y sobre todo por darme una gran herramienta de lucha al poner en mi camino esta hermosa carrera que ejerceré con el mayor orgullo de todos.

A mis papas y hermanas quienes siempre confiaron en mis capacidades apoyándome en todo momento bueno y malo, a ti Jaidercito que eres mi consentido y motivo de superación. A ustedes mi familia les dedico esto con la esperanza de que sea un motivo de unión y de fortaleza.

Y si, a mis amigos, a ellos que comenzaron y finalizaron esta inigualable etapa dándome sus mejores energías, sus más sabios consejos, sonrisas que me llenaban de vida y por brindarme siempre ese abrazo oportuno, a ustedes les agradezco y les dedico este logro: a mi hermosa Sonia, Migue, Cami, Ari, Juan, Xihomy, Erikita, Angelilla y Jeje.

Para ustedes con cariño...

Saya

DEDICATORIA

A Dios quien multiplicó mis fuerzas cuando no tenía ninguna, quien sustentó diariamente mi corazón de esperanza, quien fue mi Padre y Divino Compañero de sonrisas y lágrimas, quien curó mis heridas y me consoló por quien logré este triunfo, mi gran galardón, por quien sigo luchando y para quien vivo cada día, mi mas grande amor, mi vida, mi todo. “Gracias Dios no lo hubiera logrado si no fuera por tu amor, bondad, misericordia y gracia”.

A mis papas quienes con amor y esfuerzo me trajeron hasta acá, quienes soñaron primero este sueño y con paciencia me guiaron hasta acá y con la confianzapuesta en mi me inspiraron a luchar por ese sueño que hoy se hace realidad.

A mi hermano Jeffer quien fue, es y será el mejor compañero, amigo y hermano que Dios me haya podido dar, que con sus consejos, celos y regaños siempre fue mi ejemplo a seguir cuando más difícil me parecía el camino.

A mis tías Yadi y Luci y demás familiares por los consejos y la confianza depositada en mí.

A kathe, Julian, Angel, Carlos, Aleja, Nicol, Fredy, Anita, Alex, Said, Saya, Norida, Cami, Soni, Ari, Tata, Migue, Angelita, Juanjo, Clarita, Viticor, y demás compañeros por cumplir mis caprichos, por acogerme como a una hermana, porque con su alegría, amistad y compañía hicieron de este camino una experiencia de vida única e inolvidable.

A motica, Juli, Chopis, Chuchi, Kike, Pedro, mis boliquesas, Checho, la cuñis, el compa, carrusel, y demás amigos por ser los culpables de tantos momentos inolvidables.

A todas aquellas personas que con su cariño y compañía me acogieron en esta bella ciudad de Bucaramanga: Familias Nova Acuña, Vergel Ortiz, Gélvez Almeida, Dulcey León e Iglesia de la 22.

Jejé

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de biotecnología y su personal, por su apoyo institucional y financiero.

A la Dra. Debora Nabarlatz, directora de este proyecto, quien con su apoyo y dedicación nos acompañó en cada paso de este proceso.

Al Dr. Humberto Escalante, por sus recomendaciones, apoyo y confianza.

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	17
1. METODOLOGÍA	25
1.1 CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO Y SUSTRATO	25
1.2 DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ	26
1.2.1 Influencia del pH	27
1.2.2 Influencia de la RIS	28
1.2.3 Influencia de la temperatura	29
2. RESULTADOS Y ANÁLISIS	30
2.1 EFECTO DEL pH	30
2.2 RESULTADOS DE LA DIGESTION ANAEROBIA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ	34
2.2.1 Etapa hidrolítica	34
2.2.2 Etapa acidogénica - acetogénica	35
2.2.3 Etapa metanogénica	38
2.3 EFECTO DE LA RIS Y TEMPERATURA SOBRE EL COEFICIENTE DE RENDIMIENTO YP/S	40
3. CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFIA	43
ANEXOS	48

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Fruto de café	19
Figura2. Proceso de beneficio húmedo de café.	20
Figura 3. Esquema de reacciones de la Digestión Anaerobia	22
Figura 4. Consumo de ART a 39°C y RIS=1,5	30
Figura 5. Concentración de AGV, pH y relación AGV/ AT a RIS 1,5 y 39°C	31
Figura 6. Producción acumulada de biogás a 39°C y RIS 1,5	33
Figura 7. Concentración de ART a 20; 30 y 39°C	35
Figura 8. Concentración de AGV a 20; 30 y 39°C	36
Figura 9. Relación AGV/AT y variación de pH a 20,30 y 39°C	37
Figura 10. Producción de biogás y concentración de SV a 20,30 y 39°C	39
Figura 11. Análisis de medias para el YP/S a las RIS y temperaturas evaluadas	40

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del estiércol bovino	26
Tabla 2. Variables a monitorear, periodicidad y método analítico	27
Tabla 3. Cantidades de MC y de EB para cada RIS	28
Tabla 4. Diseño factorial	29
Tabla 5. Rendimientos calculados para las cada RIS y temperatura.	40

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Caracterización fisicoquímica del mucílago de café	48
Anexo B. Caracterización del Estiércol Bovino	49
Anexo C. Determinación de sólidos totales fijos y volátiles en muestras sólidas y semisólidas	51
Anexo D. Determinación de la Concentración de Azúcares Reductores Totales (ART)	53
Anexo E. Determinación de la concentración de Ácidos Grasos Volátiles (AGV), Alcalinidad Total (AT)	54
Anexo F. Método de desplazamiento Alcalino	56
Anexo G. Registro Fotográfico	57

NOMENCLATURA

ART = Azúcares Reductores Totales (g/L)

AGV= Ácidos Grasos Volátiles (mg/L)

AT = Alcalinidad Total (mg CaCO₃/L)

EB= Estiércol Bovino

MC = Mucílago de Café

RIS= Relación Inóculo/Sustrato (SV de inóculo/g SV de sustrato)

ST=Sólidos Totales (mg/L)

SV= Sólidos Volátiles (mg/L)

Y_{p/s}= Rendimiento de producto en sustrato (m³ CH₄/ kg de SV)

C/N= Carbono/ Nitrógeno

%p= porcentaje en peso

RESUMEN

TÍTULO: DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL MUCILAGO DE CAFÉ UTILIZANDO ESTIERCOL BOVINO COMO INÓCULO.*

AUTORES: TELLEZ REYES SAYANA YAREIMA
VEGA BUITRAGO JENNIFER NAYIVE

PALABRAS CLAVES: Digestión anaerobia, mucílago de café, relación inóculo/sustrato, azúcares reductores totales (ART), ácidos grasos volátiles (AGV), alcalinidad total (AT).

DESCRIPCIÓN:

En el presente trabajo de investigación se llevó a cabo el proceso de digestión anaerobia del mucílago de café usando estiércol bovino como inóculo, donde se evaluó la influencia de variables como pH, la relación inoculo sustrato (RIS) y la temperatura, sobre la producción de biogás del proceso.

Se estudiaron dos niveles de pH: 4,3 y 7. El pH más bajo corresponde al pH del mucilago de café, mientras que el pH 7 se obtuvo ajustándolo con una solución de bicarbonato de sodio. Los experimentos a pH 7 evidenciaron estabilidad en el proceso y un aumento de la producción de biogás. Con base en estos resultados se estudió la influencia de la RIS y temperatura a pH 7, sobre el rendimiento del proceso.

Para la influencia de RIS y temperatura a pH 7, se trabajó a tres niveles de RIS (1; 1,5; 2), a temperaturas de operación de (20°C; 30°C; 39°C). Durante el experimento se evaluó el comportamiento de cada una de las etapas de la digestión anaerobia y finalmente se calculó el coeficiente de rendimiento. La mejor configuración para el proceso se encontró cuando los reactores fueron operados a 39°C con una RIS de 1, alcanzando un volumen acumulado de biogás de 2906 mL y un máximo rendimiento de 0,89 m³ de biogás / Kg SV de mucilago de café.

*Trabajo de Grado.

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Directora: DeboraNabarlatz. Codirector: Humberto Escalante.

ABSTRACT

TITLE: ANAEROBIC DIGESTION OF MUCILAGE OF COFFEE USING BOVINE DUNG AS INOCULUM.

AUTHORS: TELLEZ REYES SAYANA YAREIMA

VEGA BUITRAGO JENNIFER NAYIVE

KEYWORDS: Anaerobic digestion, coffee mucilage, Relationship inoculum / substrate (RIS), total reducing sugars (ART), volatile fatty acids (VFA), total alkalinity (TA).

DESCRIPTION:

In the present research was carried out the anaerobic process of coffee's mucilage using cattle dung as inoculum, where the influence of variables such as pH, inoculums-substrate ratio (ISR) and temperature were evaluated on the biogas production process.

Two levels of pH were estimated: 4,3 y 7. The lowest pH corresponds to the coffee's mucilage, whereas the other was obtained by adjusting it with a solution of sodium bicarbonate. The experiments with the highest pH show stability in the process and an increase of the biogas production.

To evaluate the influence of ISR and temperature at pH 7, three levels of ISR were studied (1; 1,5; 2), at three different temperatures (20°C, 30°C, 39°C). During the experiment the behavior of each stage of anaerobic digestion was evaluated and the yield coefficient was finally calculated. The best configuration for this process is at 39°C and an ISR of 1, reaching a cumulative gas volume of 2906 ml an a maximum yield of 0,89 m3 of biogas/ Kg VS of coffee's mucilage.

*Work degree.

**Faculty of Physicochemical Engineering. Department of Chemical Engineering. Director: Debora Nabarlatz. Co director: Humberto Escalante.

1. INTRODUCCIÓN

Los residuos de producción en la agroindustria colombiana en general están siendo desaprovechados. Muchas de estas industrias utilizan solamente un pequeño porcentaje de la biomasa producida y el restante pasa a ser fuente de contaminación de los recursos naturales. En el caso de la agroindustria del café, solamente se utiliza el 9,5% del peso del fruto fresco en la preparación de la bebida, mientras que el 90,5% de éste queda en forma de residuo (Calle, 1997).

En el proceso llamado “beneficio húmedo del café” se consumen grandes cantidades de agua y un gran porcentaje del fruto procesado se considera de poco o nulo valor económico y, por consiguiente, es designado como desecho. Entre estos residuos se encuentra el mucílago que, por ser un residuo líquido, es vertido comúnmente en los ríos o almacenado en fosas al aire libre para su auto-biodegradación generando un grave problema ambiental (Pérez *et al.*, 2010). El mucílago de café (MC) representa alrededor del 14,85% del peso del fruto fresco y varía según la especie, la variedad, el estado de madurez y la humedad del fruto. En promedio se estima que por cada kilogramo de café cereza sin seleccionar se producen 91 mL de mucílago fermentado, con una composición del 85 a 89% de agua, 8 a 10% de sustancias pépticas y azúcares, 1% de proteínas, 0,1% de lípidos y 0,45% de minerales. Esto lo hace un excelente sustrato para el crecimiento de hongos, bacterias y otros microorganismos benéficos y deseables para la recuperación de la vida en los suelos que se encuentran agotados por el maltrato provocado por algunas de las prácticas utilizadas en la agricultura convencional (Federacafé, 2011).

En el año 2011, Colombia produjo 468.540 toneladas de café, de las cuales se exportó el 99% de ellos, posicionándose así en el sexto lugar a nivel mundial después de Vietnam, Brasil, Honduras, Indonesia e India (Café de Colombia, 2012).

Debido a la escasez y los altos precios del petróleo, la necesidad de los países de variar y aumentar su matriz energética, ha impulsado a la investigación y producción de los biocombustibles tales como biogás, biodiesel, bioetanol, etc. Actualmente, se han encontrado varias fuentes de producción de biocombustibles, pero la mayoría de esas fuentes surgen a partir de alimentos básicos como papa, yuca, maíz, etc., (Federacafé, 2010) lo cual lo hace menos atractivo para su desarrollo. A diferencia de estos, el tratamiento de residuos orgánicos no sólo contribuye a la producción de biogás para abastecer parte de la demanda energética, sino que además contrarresta el problema de contaminación en ríos y cultivos aledaños.

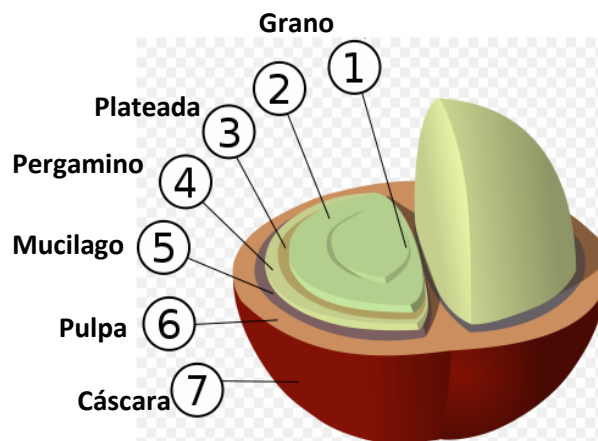
Se ha demostrado que de los métodos más usados para la reducción de carga orgánica y producción de biogás, la digestión anaerobia (DA) resulta adecuada debido al bajo costo de operación y a la baja producción de lodos residuales (Bello y Castillo, 1998).

La presencia de nutrientes como carbono y nitrógeno son necesarios para el desarrollo de las comunidades microbianas encargadas de la producción de biogás. La caracterización fisicoquímica del MC nos muestra una relación carbono/nitrógeno de 20,4 (anexo A), la cual hace favorable la utilización del mucílago de café como sustrato para la producción de biogás mediante DA (Castro, 2012).

Aprovechando todas las características mencionadas, este proyecto de grado tiene como objetivo evaluar la producción de biogás mediante el proceso de digestión anaerobia, usando como sustrato mucílago de café y como inóculo estiércol bovino, permitiendo determinar así la influencia de diferentes variables de operación como son el pH, la relación inóculo/sustrato y la temperatura.

El fruto de café (figura 1) consiste en un grano al que se adhieren dos finas capas desde el interior hacia el exterior. Envolviendo la semilla se encuentra la piel de plata o plateada (3), seguida por otra llamada pergamino o endocarpio (4) y posteriormente está una capa más gruesa y esponjosa llamada mucílago (5) que es rico en azúcares y pectina. Por último, se encuentra la pulpa o mesocarpio (6) y la piel exterior o pericarpio (7) (Schutgens y Van Lier, 2010).

Figura 1. Fruto de café



Fuente: SCHUTGENS, 2010

Colombia es un país reconocido por cultivar un café de alta calidad; la especie más producida en Colombia es el arábigo o *Coffea arábica* propio de la zona tropical; por esta razón el café 100% arábigo es denominado como Café Colombiano (Federacafé, 2010). Santander fue el primer departamento donde llegaron las primeras semillas de café, sin embargo, actualmente ocupa el octavo puesto como mayor cultivador. En el 2011, en Colombia se reportaron 921.100 hectáreas de café cultivadas de las cuales el 5% pertenecen a Santander. (Federacafé, 2011).

PROCESO DE BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ

Existen dos formas de procesar el café, por vía seca y por vía húmeda. En Colombia se realiza por vía húmeda la cual consiste en un conjunto de operaciones realizadas para transformar el café cereza en café pergamino seco mediante la separación de las partes del fruto y secado de los granos empleando grandes volúmenes de agua (Produce, 2003). Una vez se ha obtenido el café despulpado se encuentra listo para eliminar el mucílago que recubre al grano de café usando agua como medio extractor.

Figura2. Proceso de beneficio húmedo de café.



Fuente: PRODUCE, 2003

DIGESTIÓN ANAEROBIA

La digestión anaerobia es un bioproceso de fermentación natural estable y autorregulado donde se convierte la materia orgánica residual en una mezcla de gases por medio de una comunidad bacteriana en ausencia de oxígeno (figura 3). La composición del biogás producido depende del material digerido y del funcionamiento del proceso, pero especialmente está compuesto por metano y dióxido de carbono (MutemiMuthangya, 2009).

La utilización de reactores anaerobios para el tratamiento de aguas residuales ha crecido desde 1982 orientándose principalmente al tratamiento de aguas residuales agroindustriales, ya que este proceso, no sólo reduce el problema de contaminación, sino que es una fuente de energía que opera a bajo costo (Bello y Castillo, 1998).

En el proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica intervienen diversos grupos de bacterias anaerobias facultativas y anaerobias estrictas las cuales utilizan en forma secuencial los productos metabólicos generados por cada grupo. Las etapas que describen el proceso de la digestión anaerobia son:

Hidrólisis. También llamada despolimerización es llevada a cabo por enzimas extracelulares llamadas hidrolasas. Consiste en la descomposición biológica de macromoléculas orgánicas como carbohidratos, lípidos y proteínas a monómeros o dímeros como glucosa, amoniacó, ácidos grasos de cadena larga, glicerol y dióxido de carbono. Esta etapa depende principalmente del tamaño de la partícula, el pH, la producción de enzimas, la difusión y la absorción de enzimas a partículas por esta razón la etapa de hidrólisis puede limitar la velocidad global del proceso si se tratan residuos con altos contenidos de sólidos (Martí, 2006).

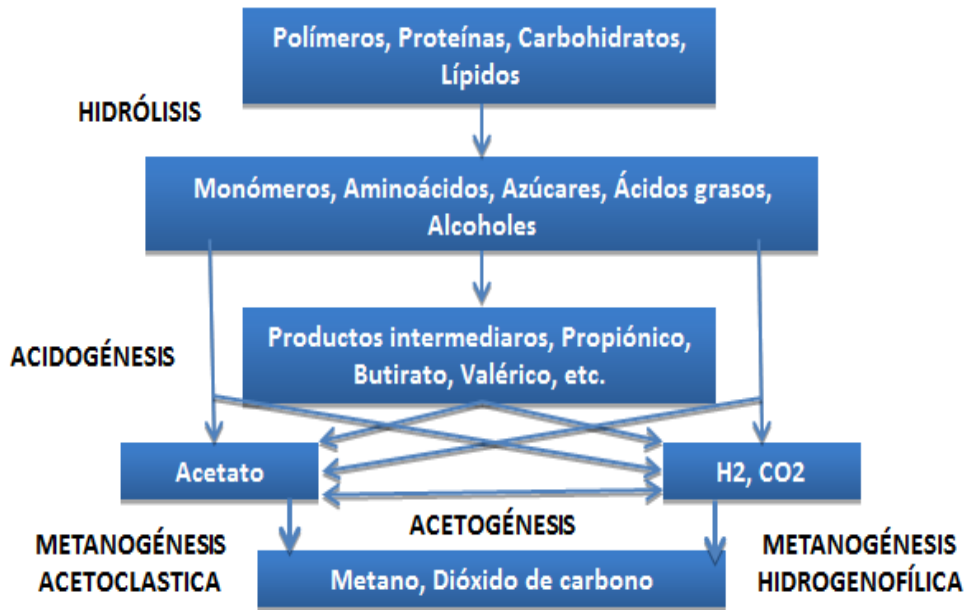
Acidogénesis. Las bacterias acidogénicas son las encargadas de la biodegradación de las moléculas orgánicas solubles para la producción de ácidos

grasos volátiles como el ácido acético, propiónico y butírico. En los productos también se obtiene hidrógeno, dióxido de carbono y alcoholes. De esta manera pueden ser posteriormente utilizadas por las bacterias metanogénicas (Martí, 2006).

Acetogénesis. En la acetogénesis ocurre principalmente la producción de ácido acético a partir de ácidos grasos de cadena corta y cadena larga por medio de un grupo bacteriano acetogénico. Esta etapa puede ser interrumpida por la acumulación de gas hidrógeno disuelto en el medio (Hidalgo, 2001).

Metanogénesis. Los microorganismos metanogénicos completan el proceso de digestión. Existen dos grupos: las bacterias acetoclásticas que convierten el ácido acético en dióxido de carbono y metano e influyen en el pH del sistema debido a la conversión de ácido acético en dióxido de carbono; las bacterias hidrogenofílicas usan el hidrógeno y el dióxido de carbono para la producción de metano y controlan el potencial redox (Martí, 2006).

Figura 3. Esquema de reacciones de la Digestión Anaerobia



Fuente: Martí, 2006

VARIABLES DE OPERACIÓN EN LA DIGESTIÓN ANAEROBIA (DA)

Temperatura. En los procesos anaerobios la temperatura se puede encontrar a tres niveles: psicrófilico menor a 30° C, mesófilico de 30 a 40°C y termófilico de 50 a 60°C. Es uno de los factores ambientales que más afecta el crecimiento y la supervivencia microbiana, la velocidad de reacción, la actividad metabólica de los microorganismos, la viscosidad, la tensión superficial, la velocidad de transferencia de gases y el nivel de degradación de sólidos. Como consecuencia con una mayor temperatura se podría reducir el volumen del reactor tratando la misma cantidad de residuo, se aumenta la tasa de digestión y la eficiencia en la hidrólisis (Cho *et al.*, 1995).

pH. Cada grupo de bacterias presente en la digestión anaerobia necesita un pH óptimo y específico. La acidogénesis tiene un pH óptimo de 6.0 mientras que la metanogénesis y la acetogénesis tienen un pH óptimo aproximado de 7.0, entonces la digestión anaerobia está relativamente limitada a un intervalo de pH de 6,0– 8,5. El pH puede reducirse debido a la acumulación de ácidos grasos volátiles, sin embargo, no siempre la acumulación de ácidos grasos volátiles se manifiesta como una caída del pH debido a la capacidad buffer de algunos tipos de residuos (Cho *et al.*, 1995).

Relación inóculo/sustrato (RIS). La RIS se constituye en un parámetro operacional. Se expresa en función del contenido de sólidos volátiles en el inóculo por la concentración de sólidos volátiles adicionados en el sustrato. Tiene una influencia casi de forma lineal sobre el rendimiento de biogás (Chen y Hashimoto, 1996).

Azúcares Reductores Totales (ART). Los ART son compuestos solubles que son fácilmente metabolizados por los microorganismos, permitiendo llevar a cabo las etapas de la DA. La alta concentración inicial de ART favorece el arranque del

proceso y promueve el buen funcionamiento del reactor durante el proceso de DA (Madigan *et al.*, 2006).

Ácidos Grasos Volátiles (AGV). Los AGV son producidos en la etapa de acidogénesis. Los incrementos en la carga orgánica pueden generar que los niveles de los AGV se eleven, disminuyendo el pH y provocando un efecto de inhibición en la biota.

Alcalinidad Total (AT). El efecto buffer ocurre debido a la presencia de iones hidroxilo (OH^-), carbonato ($\text{CO}_3^{=}$) y bicarbonato (H_2CO_3^-), el cual hace que el sistema soporte y amortigüe la presencia de ácidos sin disminuir su pH.

Sustrato. El mucilago de café (MC) se utilizará como sustrato debido a que en la caracterización fisicoquímica se encontró una buena relación C/N necesaria para un buen proceso de DA, lo cual influye directamente en el tiempo de retención del proceso y la conversión de los sólidos totales y volátiles hacia metano (Li *et al.*, 2011).

Inóculo. El tipo de inóculo es un factor importante que influye en el arranque y operación de un digestor, ya que aporta el consorcio microbiano que lleva a cabo la DA (Forero y Zúñiga, 2003).

1. METODOLOGÍA

La DA utilizando como sustrato MC y como inóculo estiércol bovino (EB) se llevó a cabo en dos etapas. La primera consistió en el estudio preliminar de la influencia del pH del sustrato en la digestión; en la segunda etapa se realizó el proceso de DA utilizando diferentes RIS y temperatura para evaluar cómo estos parámetros afectan el rendimiento en biogás ($Y_{P/S}$).

1.1 CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO Y SUSTRATO

La muestra de MC utilizada en el estudio se adquirió durante el proceso de beneficio húmedo del café en la finca Loma Redonda en el Municipio de San Vicente de Chucurí, Santander. Las muestras se almacenaron en recipientes herméticos y se transportaron al laboratorio de biotecnología de Ingeniería Química de la UIS, donde fueron refrigeradas. A la muestra de MC se le realizó la caracterización fisicoquímica, incluyendo relación C/N, pH, sólidos totales (ST) y volátiles (SV), densidad, humedad y cenizas. Estos análisis se realizaron en el Laboratorio Químico de Consultas Industriales de la Universidad Industrial de Santander (Anexo A). La composición fisicoquímica del MC, indica que contiene 10,53 gramos de sólidos volátiles por litro y que posee una relación carbono/nitrógeno de 20,4 adecuada para el desarrollo de las comunidades microbianas encargadas de la producción de biogás, lo cual hace favorable al MC para ser utilizado como sustrato en el proceso de DA (Rivas *et al*, 2010).

El EB usado como inóculo en la DA se adquirió en el frigorífico Vijagual ubicado en el Municipio de Rionegro, Santander. A la muestra de estiércol se le realizó la caracterización fisicoquímica incluyendo pH, ST, SV, Alcalinidad y AGV (Tabla 1).

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del estiércol bovino.

Parámetro	Unidades	EB
pH		7,91
ST	g/L	71±1,17
SV	g/L	55±0,52
Alcalinidad	mg CaCO ₃ /L	7000±70,7
AGV	mg/L	2040±84,5

1.2 DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ

La DA del MC fue llevada a cabo mediante un proceso discontinuo en botellas de vidrio de 500 mL, las cuales se gasificaron con Dióxido de Carbono, para garantizar anaerobiosis. A los reactores se les adicionó una cantidad determinada de sustrato MC e inóculo EB. Posteriormente se taparon con corchos de butilo y se sellaron con agrafes de aluminio. La influencia de variables como pH, RIS y temperatura fueron evaluadas durante un tiempo de digestión de 18 días.

Cada uno de los experimentos se realizó por triplicado. Se incluyó un montaje experimental denominado blanco que contenía una cantidad fija de inóculo, completándose el volumen de operación con agua destilada. Al blanco se le realizó un seguimiento donde se apreció el comportamiento de las variables más importantes de la DA del EB (Anexo B).

Para obtener el volumen final de biogás producido sólo por el sustrato, se le restó el volumen producido por el blanco. La configuración de los digestores consistió en 21 botellas para cada montaje, 3 correspondientes a la medición de biogás producido, 3 para el blanco, 14 en el seguimiento de los AGV y finalmente 1 para la medición de ART.

Para estudiar la evolución de la DA se muestra la Tabla 2 donde se presentan las variables a monitorear, la periodicidad de medición y el método utilizado para cuantificar el rendimiento del proceso.

Tabla 2. Variables a monitorear, periodicidad y método analítico.

Variables a monitorear	Unidad	Periodicidad	Método
Concentración de ART	g/L	Diario	Colorimétrico usando ácido 3-5 Dinitrosalicílico (DNS) (Anexo D)
Concentración de AGV,AT	mg/L	Cada 3 días	Titulación (Anexo E)
Concentración de SV	g/L	Cada 3 días	Gravimétrico (Anexo B)
pH		Cada 3 días	Potenciométrico/NTC 5167
Volumen de biogás	mL	Diario	Desplazamiento alcalino (Anexo F)

El volumen de biogás producido se calculó de acuerdo a la ecuación 1:

$$V_{NTP} = V * \frac{(P_0 - P_v) * T_0}{P_{atm} * T} \text{ [Ecuación 1]}$$

Donde; V_{NTP} = Volumen de gas en condiciones estándar de temperatura y presión (T=273,15 K, P=1013,25 mbar).

V = Volumen de gas generado (mL).

P_0 = Presión atmosférica en la medición (mbar).

T_0 = Temperatura de metano en condiciones normales (273,15 K)

P_v = Presión de vapor a la presión y temperatura de la medida (mbar).

1.2.1 Influencia del pH. La digestión anaerobia es susceptible a variaciones de pH, por lo que existen rangos donde el crecimiento microbiano es óptimo.

Al ser el MC un sustrato ácido con pH 4,3 se hace necesario estudiar si al interactuar con el EB de pH 8, se neutraliza el sistema.

Para el estudio de la influencia del pH sobre la producción de biogás a partir del MC, se estudiaron 2 niveles de pH: 4,3 y 7. El valor más bajo de pH corresponde al pH original del MC y el pH 7 se obtuvo ajustándolo, utilizando una solución de NaHCO_3 1,2 N al inicio del experimento. Los experimentos se realizaron en reactores de 500 mL, con un volumen de operación de 269 mL y una RIS de 1,5 g SV de inóculo / g SV de sustrato, durante un tiempo de operación de 18 días a 39°C.

1.2.2 Influencia de la RIS. Para evaluar la influencia de la RIS se realizaron experimentos con 3 niveles de RIS. El volumen agregado de sustrato se varió para cada RIS, dejando constante el volumen de inóculo de tal forma que la relación másica entre EB y el MC arrojara los valores de RIS trabajados (Tabla 3).

Tabla 3. Cantidades de MC y de EB para cada RIS.

RIS (g SV EB / g SV MC)	mL de EB / mL de MC
1	60 / 310
1,5	60 / 209
2	60 / 157

Para la selección de la mejor RIS se tuvo en cuenta el rendimiento de producción de biogás ($Y_{P/S}$), expresado en $\text{m}^3 \text{CH}_4$ / kg de SV de MC, garantizando un mejor aprovechamiento de sustrato. El $Y_{P/S}$ se calculó dividiendo el volumen de gas acumulado a condiciones estándar de presión y temperatura al final del tiempo de la digestión, por la cantidad de sustrato (g SV) adicionado (Raposo *et al.* 2006). La determinación de $Y_{P/S}$ se realizó usando la siguiente ecuación:

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad [\text{Ecuación 2}]$$

Donde;

P= producto formado (m^3)

S= cantidad inicial de sustrato (Kg de SV)

1.2.3 Influencia de la temperatura. En el digester se debe procurar mantener un microclima cálido para conservar una tasa de producción de biogás alta (Bidlingmaie, 2006). En esta etapa se estudió la influencia de la temperatura en la producción de biogás, se estudiaron 3 niveles (20°C, 30°C y 39°C) con el fin de encontrar la temperatura más favorable para la DA del MC de acuerdo al biogás producido.

La influencia de la RIS y la temperatura sobre la producción de biogás se evaluó mediante un diseño factorial 3^2 (Tabla 4).

Tabla 4. Diseño factorial.

Variables	Niveles		
	Bajo	Medio	Alto
RIS g SV/ g SV	1	1,5	2
Temperatura °C	20	30	39

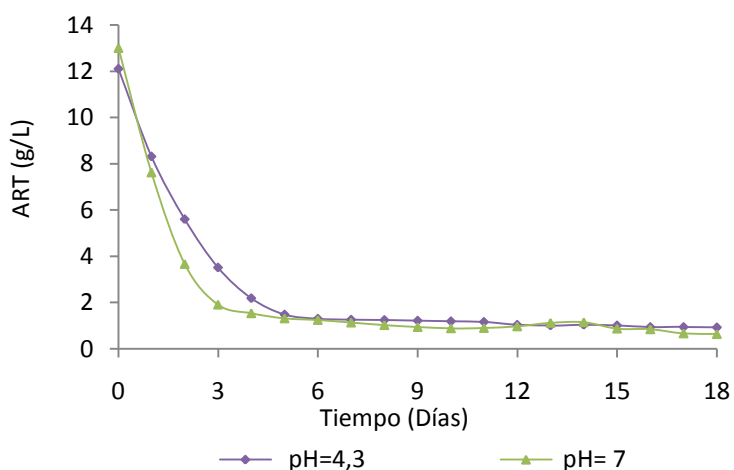
Con el diseño de experimentos 3^2 se pretende encontrar la mejor configuración entre RIS y temperatura, la cual nos brinde una buena estabilidad y un valor óptimo de rendimiento en el proceso.

2. RESULTADOS Y ANÁLISIS

2.1 EFECTO DEL pH

El rendimiento de la etapa de hidrólisis en la DA se presenta en función de los ART. La evolución de los azúcares obtenida en los dos experimentos a RIS 1,5 y 39°C, se observa en la figura 4 para cada uno de los dos valores de pH trabajados (4,3 y 7).

Figura 4. Consumo de ART a 39°C y RIS=1,5.

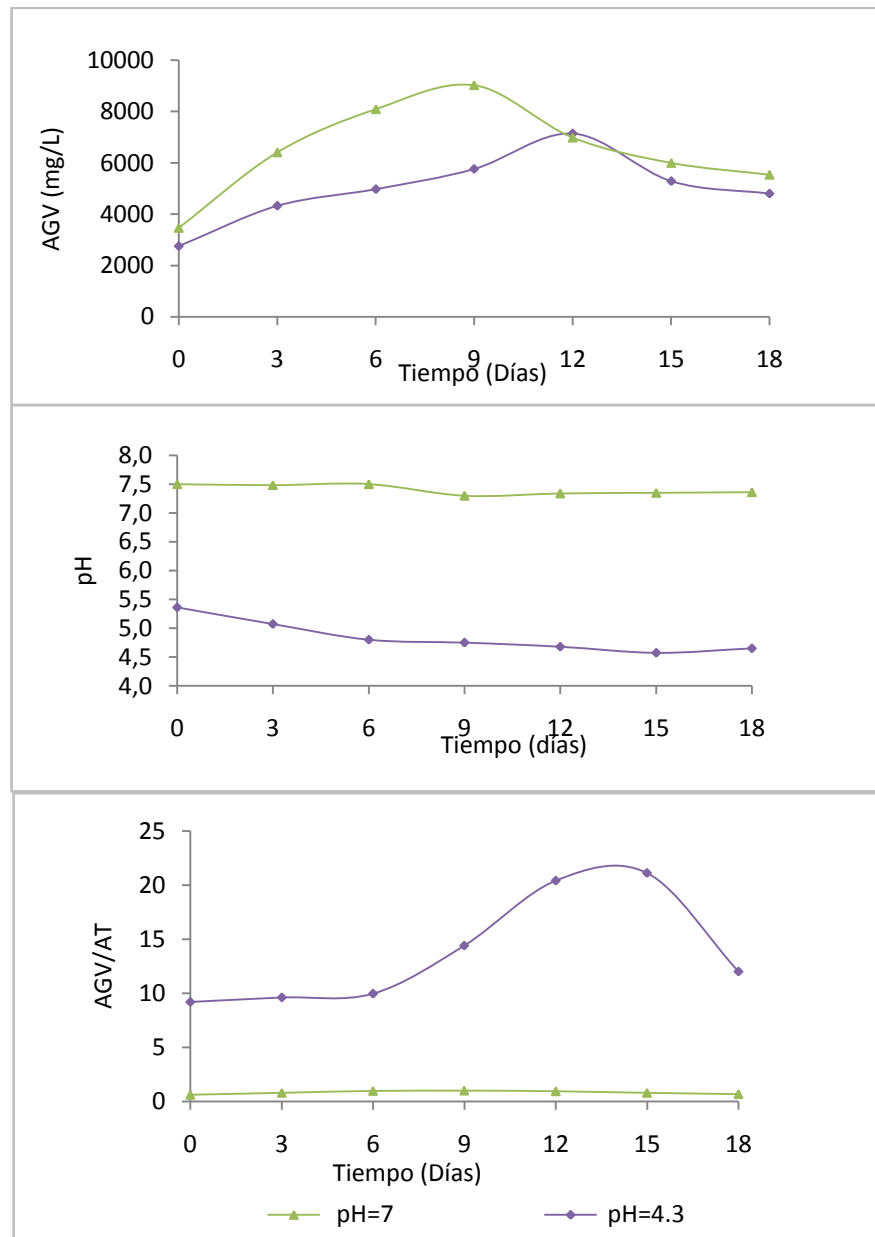


No se incluyen barras de error debido a que es de $\pm 1\%$

El comportamiento de reducción de los ART evidencia una buena etapa hidrolítica para los dos niveles de pH estudiados. Se observa que al tercer día hay una drástica caída de los azúcares gracias a la adecuada degradación del sustrato por parte de las bacterias facultativas encargadas de la hidrólisis y acidogénesis. Los experimentos se estabilizan al cuarto día de digestión sin importar el pH, ya que las bacterias hidrolíticas toleran un amplio rango de este parámetro.

Los resultados de la etapa acidogénica (AGV), el comportamiento del pH y la capacidad buffer del sistema medida en la relación AGV / AT, se muestran en la figura 5.

Figura 5. AGV, pH y relación AGV/ AT a RIS=1,5 T=39°C



No se incluyen barras de error debido a que es de $\pm 1\%$

En la figura 5 se muestra el comportamiento de los AGV, los cuales inician con un incremento los primeros días de la digestión. En un reactor estable los AGV son utilizados a la misma tasa en la que son producidos (Martí, 2006). El experimento a pH 7 presenta una mayor producción de ácidos, de los cuales una mayor cantidad comparada con los existentes a pH 4,3 se consumen dando lugar a la producción de acetato y así mismo de CH₄.

En digestores operados con EB, el pH varía entre 6,7 y 7,5 con límites de 6,5 a 8,0 (Hayes *et al.*, 1979). Cuando la digestión mantiene este rango de pH, es un indicador de que está operando correctamente. Para analizar el comportamiento del pH, vemos que el experimento que arrancó con pH 7 se mantuvo en un rango estable (7,3 - 7,5) para llevar a cabo la digestión. Esto no ocurrió con el que inició en 4,3 ya que sólo llegó hasta un pH 5,4 y fue disminuyendo en el transcurso del proceso hasta un valor de 4,6, lo que muestra fallas en el reactor al no ser un pH tolerable por las bacterias metanogénicas.

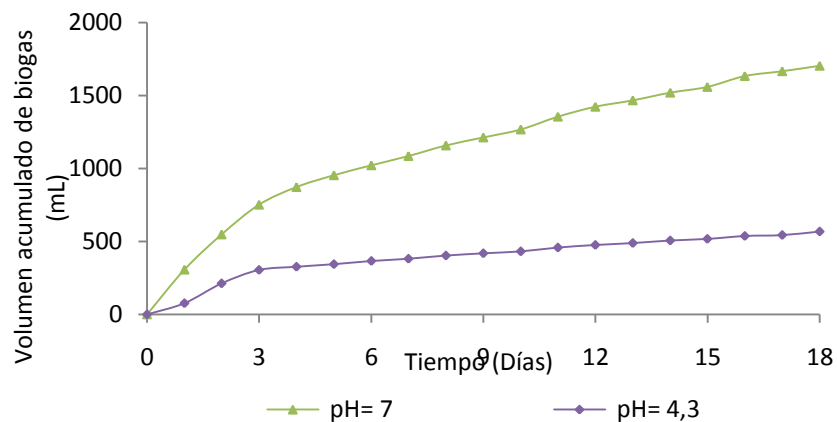
Los AGV son un indicador del desempeño del proceso así como la AT. Estos dos parámetros brindan información para mantener en balance a los productores y los consumidores del ácido. El pH está en función de los AGV y de la AT, cabe aclarar que una alta producción de ácidos no refleja necesariamente una disminución en el pH si en el sistema hay una alta alcalinidad, ya que eso significa que la capacidad buffer amortigua el pH. De lo anterior se concluye que la disminución del pH fue provocada por una baja alcalinidad.

El rango apropiado de AGV/AT para la DA reportado por la literatura se encuentra entre 0,1-0,8 sin riesgo de acidificación en el reactor (Raposo *et al.*, 2011). La gráfica de AGV / AT a pH 4,3 reportó valores entre 9 - 20, lo que evidencia fallas en el proceso debido a la baja alcalinidad. El experimento a pH 7 mantuvo una adecuada relación AGV/AT siempre cercana al límite recomendado, debido a los altos valores de AT que ejercieron un efecto tampón sobre el proceso, soportando

y amortiguando la presencia de ácidos sin disminuir su pH, favoreciendo así el desarrollo de los microorganismos metanogénicos (Charles *et al*, 2009).

En la figura 6 se presenta la producción acumulada de biogás a RIS 1,5 y 39°C para pH 4,3 y 7.

Figura 6. Producción acumulada de biogás a 39°C y RIS 1,5.



No se incluyen barras de error debido a que es de $\pm 1\%$

El experimento a pH 4,3 presenta una baja producción de biogás en los primeros días de digestión, además de estabilizarse muy rápido llegando a un volumen acumulado al día 18 de 560 mL. Estos resultados muestran una inhibición por pH, lo cual perjudica gravemente a las bacterias metanogénicas. Con respecto a las pruebas a pH 7, éste presenta una pendiente más elevada, indicando que en los primeros días de digestión hay una mayor producción de biogás y no se estabiliza tan rápido, alcanzando un volumen acumulado de 1710 mL al día 18 de producción.

Teniendo en cuenta los resultados de esta etapa preliminar, vemos que para una mejor producción y estabilidad en el proceso se hace necesario un ajuste en el pH,

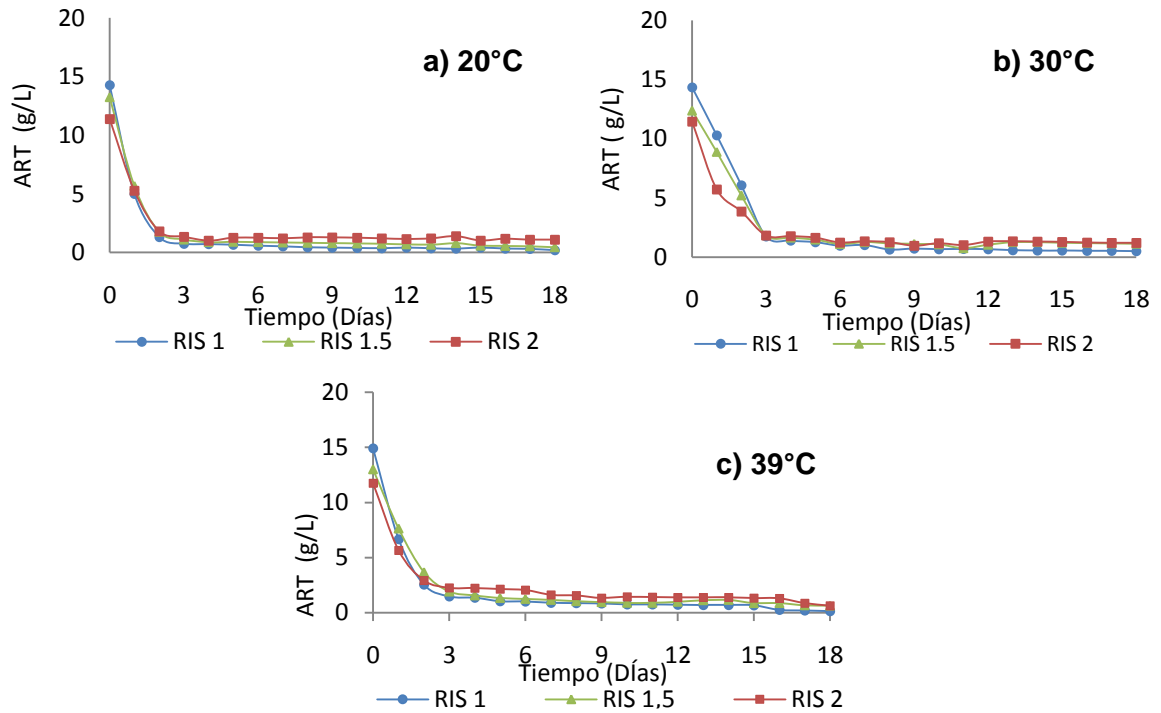
lo que nos permite empezar el desarrollo del diseño de experimentos con un ajuste de pH en 7 para el MC al iniciar cada montaje.

2.2 RESULTADOS DE LA DIGESTION ANAEROBIA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ

En esta etapa se muestra el comportamiento del proceso de DA para cada carga de sustrato alimentada a los digestores: RIS (1; 1.5; 2) operados a tres temperaturas (20°C; 30°C; 39°C).

2.2.1 Etapa hidrolítica. En la figura 7 se aprecia el consumo de ART para cada una de las temperaturas a diferentes RIS. Inicialmente, existe una alta concentración de ART, lo que indica la presencia de materia orgánica soluble disponible para la digestión. La concentración inicial varió entre 11,3 y 15 g/L, mostrando un rápido consumo al tercer día de la DA para todos los experimentos. Después de este tiempo la concentración de ART se estabiliza en valores cercanos a 0, evidenciando una rápida hidrólisis de la materia orgánica y la estabilidad de la etapa hidrolítica en el proceso.

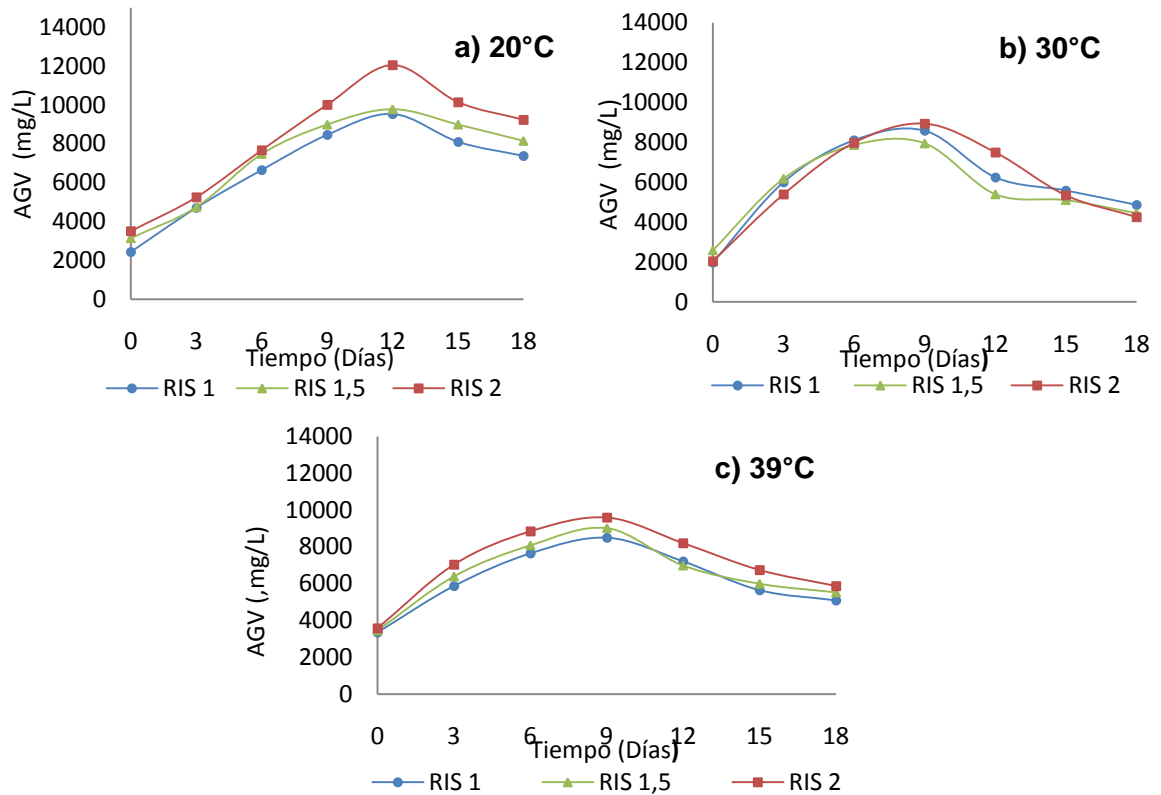
Figura 7.a) b) y c) concentración de ART a 20; 30; 39°C respectivamente.



No se incluyen barras de error debido a que es de $\pm 1\%$

2.2.2 Etapa acidogénica - acetogénica. Los AGV son productos intermedios de la DA y su comportamiento es un indicador eficaz de la evolución del proceso. Una acumulación de AGV indica disminución en la velocidad de degradación de los mismos por parte de las bacterias acetogénicas. La concentración de AGV inicia con un aumento hasta el día 9, luego se evidencia un consumo en el transcurso de la DA, lo cual favorece la producción de acetato y subsecuentemente la producción de biogás. Todos los experimentos mostraron concentraciones de AGV inferiores al límite recomendado de 13000 mg/L, donde a valores superiores las reacciones de fermentación se ven afectadas (Viéitez y Ghosh, 1999). A 30 y 39°C los AGV disminuyen a partir del día 9, recuperación que es más lenta a 20°C, la cual inicia en el día 12, alcanzando una máxima concentración de AGV de 12060 mg/L.

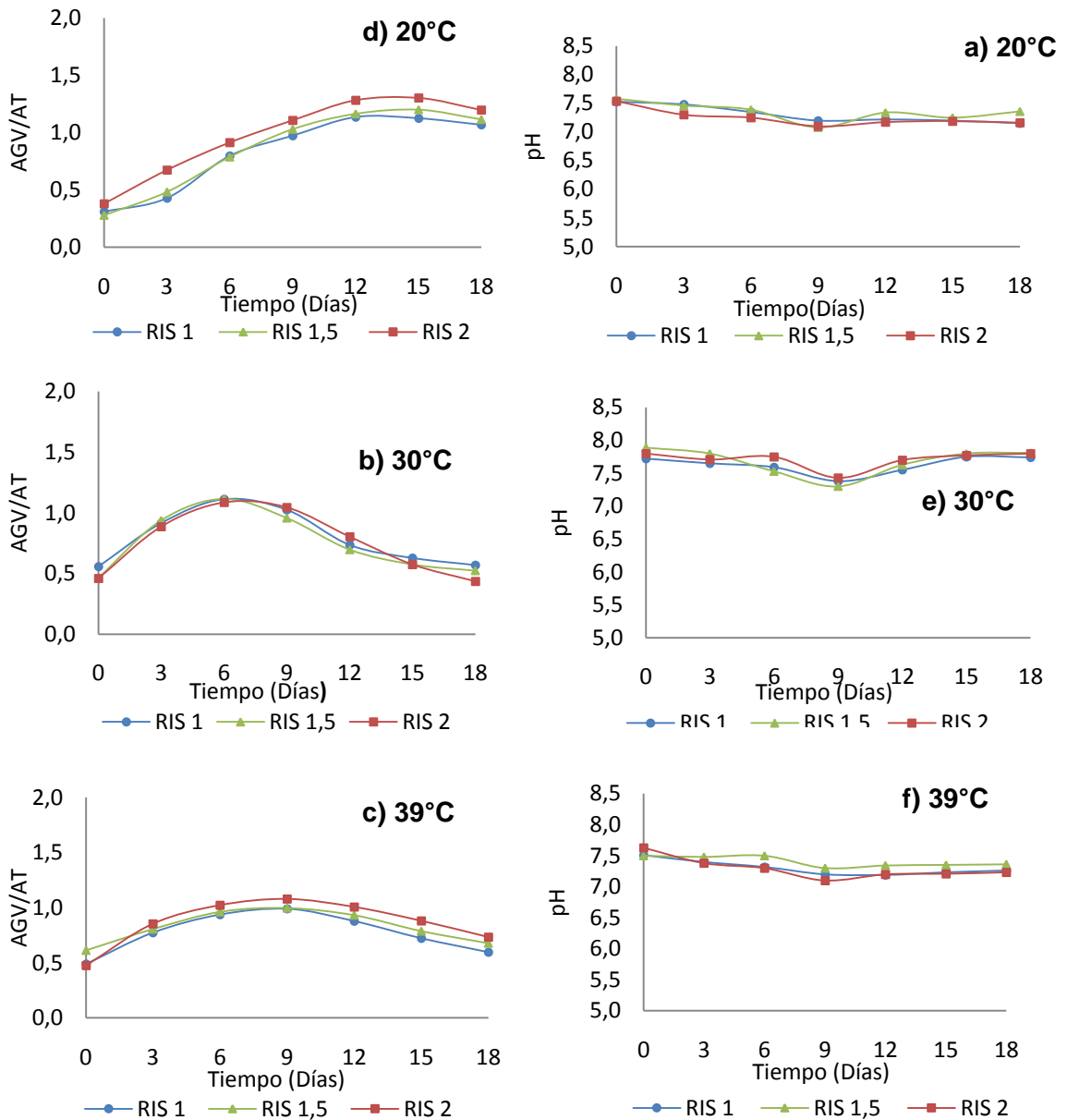
Figura 8.a) b) y c) concentración deAGV a 20; 30 y 39°C respectivamente.



No se incluyen barras de error debido a que es de $\pm 1\%$

La relación AGV / AT muestra un aumento al iniciar la digestión debido a la rápida producción de ácidos dentro del reactor, pero a medida que la DA avanza el sistema aumenta su capacidad buffer y contrarresta la concentración de ácidos con la alcalinidad que adquiere el sistema.

Figura 9.a) b) y c) relación AGV/AT a 20; 30 y 39°C respectivamente. d) e) y f) variación de pH a 20; 30 y 39°C respectivamente.



No se incluyen barras de error debido a que es de $\pm 1\%$

Todos los experimentos presentaron valores de AGV/AT cercanos al rango recomendado (0,1-0,8), sin embargo las subidas de la relación fueron más

evidentes a 20°C, al compararse con 30 y 39°C, donde los pequeños valores de la relación AGV/AT son observados en todo momento.

El pH en todos los experimentos disminuye levemente en los primeros días de la DA. En el día 9 alcanzó su mínimo valor y de ahí empezó a incrementar moderadamente. En general, todos los experimentos presentaron un pH estable para llevar a cabo la digestión ya que este parámetro varió entre 7,16 y 7,89, siempre dentro del rango recomendado, dando lugar a la estabilidad del sistema.

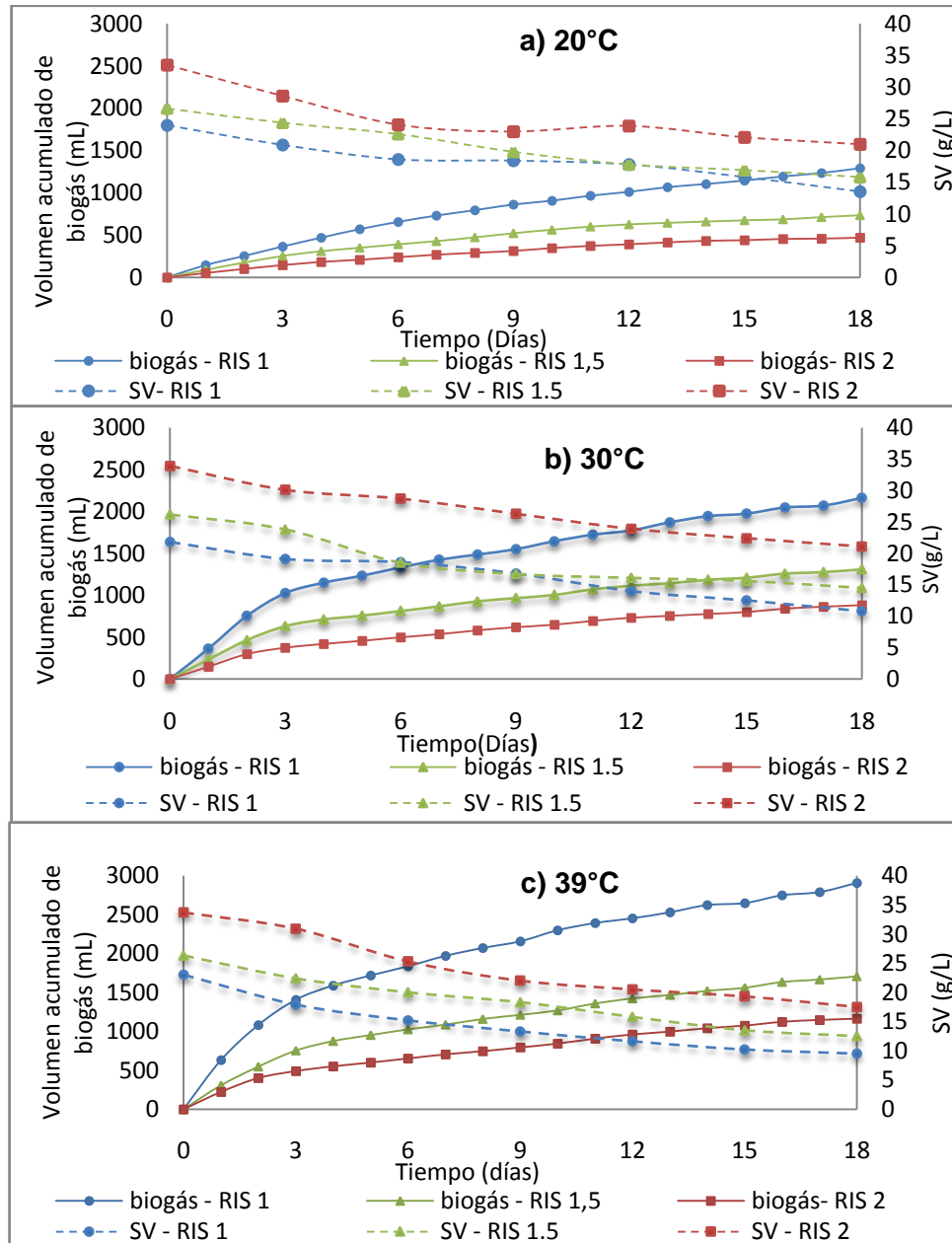
2.2.3 Etapa metanogénica. En la figura 10 se describe la producción de biogás a condiciones normales de presión y temperatura para cada experimento. La producción de biogás mejora al aumentar la temperatura de operación y al disminuir la RIS. La mayor producción de biogás se alcanzó a 39°C y a RIS 1 con un volumen acumulado de 2906 mL, y una remoción de sólidos del 58,7%, siendo este porcentaje el más alto en todos los experimentos. Esto sucede debido a que al disminuir la concentración de SV aumenta la producción de biogás, el cual es un comportamiento propio de los procesos de DA (Eskicioglu y Ghorbani, 2011). Estos resultados se correlacionan con los obtenidos en la evaluación de las etapas anteriores de la DA, demostrando que todas las etapas del proceso son simultáneas y dependientes unas de otras.

El volumen de biogás obtenido de 2906 mL, es comparable con valores de producción utilizando otro tipo de sustrato como aguas residuales provenientes de la industria palmera y el bagazo de fique, con un volumen de 2740 mL y 2285 mL, respectivamente (Castro, 2012; Herrera y Niño, 2012).

Con el fin de obtener la mayor producción de biogás se seleccionó la RIS 1 a una temperatura de operación de 39°C como favorable para el bioproceso con un rendimiento de 0,89 m³ biogás/ kg de SV de MC adicionado. Este valor es mayor comparado con el rendimiento de 0,3 y 0,47 m³ biogás/ kg de SV obtenido en la

DA de las aguas residuales de la industria palmera y desechos de alimentos, respectivamente (Herrera y Niño, 2012; Choet *al.*, 1995).

Figura 10.a) b) y c) producción de biogás y concentración de SV a 20; 30 y 39°C respectivamente.



No se incluyen barras de error debido a que es de $\pm 1\%$

2.3 EFECTO DE LA RIS Y TEMPERATURA SOBRE EL COEFICIENTE DE RENDIMIENTO $Y_{P/S}$

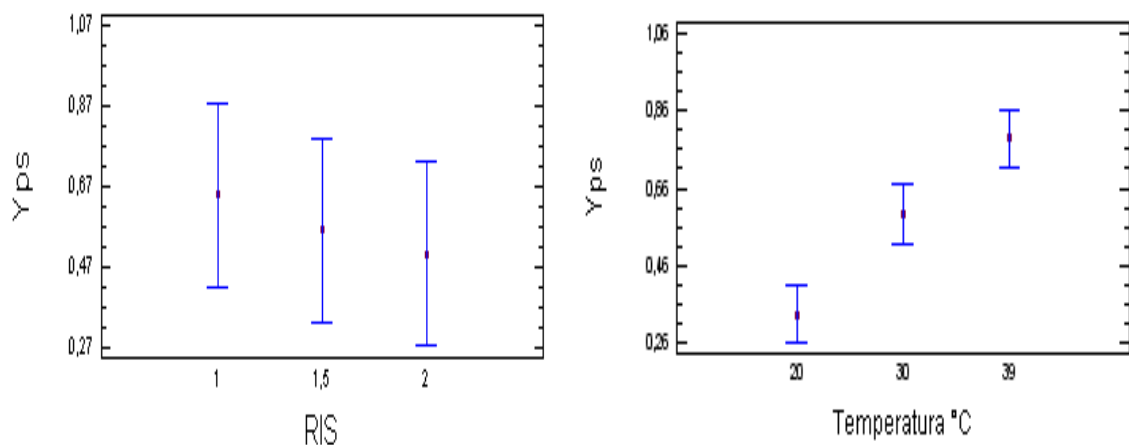
Para cada una de las RIS y temperaturas se calculó el $Y_{P/S}$ mediante la ecuación 2, el cual se expresa como el volumen (m^3) de biogás acumulado durante 18 días de digestión por la cantidad de sustrato (Kg de SV adicionado). Los resultados obtenidos (Tabla 5) muestran que los máximos rendimientos se alcanzaron cuando los digestores fueron operados a $39^\circ C$.

Tabla 5. Rendimientos calculados para las cada RIS y temperatura.

Temperatura [$^\circ C$]	20			30			39		
RIS [g SV EB / g SV de MC]	1	1,5	2	1	1,5	2	1	1,5	2
$Y_{P/S}$ [m ³ biogás / kg de SV de MC]	0,40	0,33	0,28	0,66	0,59	0,53	0,89	0,77	0,70

En la figura 13 se observa que al realizar un análisis de medias para los valores de $Y_{P/S}$ correspondientes a cada RIS, el valor de la función probabilidad P arroja 0,7389 siendo mayor a 0,05, por lo tanto no existe una diferencia estadísticamente significativa entre un nivel de RIS a otro con un nivel de confianza del 95%.

Figura 11. Análisis de medias para el $Y_{P/S}$ a las RIS y temperaturas evaluadas.



Para evaluar el efecto de la temperatura en el $Y_{P/S}$, se realizó el mismo tratamiento descrito anteriormente con un valor P de 0,0010 inferior a 0,05, demostrando que existen diferencias estadísticamente significativas entre cada nivel de temperatura.

Por los resultados anteriores se demuestra que la temperatura de operación tiene un mayor efecto en el $Y_{P/S}$ del proceso, comparado con la carga de sustrato alimentada al reactor.

3. CONCLUSIONES

La DA del MC requiere evaluar el pH inicial del sustrato y llevarlo a pH neutro, debido a que la mejor producción y estabilidad del proceso se obtuvo fijando su pH inicial en 7.

La producción de biogás a partir del MC mostró su mejor comportamiento cuando los digestores son alimentados con una carga orgánica de 1 g SV EB / g SV de MC y son operados a una temperatura de 39 °C, condiciones en las cuales alcanzó un volumen acumulado de biogás de 2906 mL.

Se demostró experimental y estadísticamente que la variable que más afecta al $Y_{P/S}$ es la temperatura, la cual trabajada a 39°C alcanzó un máximo rendimiento de 0.89 m³ biogás / kg de SV de MC.

Esta investigación mostró la viabilidad de la DA del mucílago de café, con lo cual es posible resolver problemas de acumulación y contaminación debida a los grandes volúmenes que se generan de este residuo durante el beneficio húmedo de café, a la vez que se obtiene una fuente de energía renovable, como el biogás.

BIBLIOGRAFIA

BELLO-MENDOZA R. and CASTILLO RIVERA F. Start-up of an Anaerobic Hybrid (UASB/Filter Reactor treating Wastewater from a coffee Processing Plant. Centro de investigaciones Ecológicas del Sureste, Tapachula, Chiapas, México, 1998.

BIDLINGMAIER W. BioCycle Journal of Composting and Organics Recycling. Fifth ORBIT Conference Probes Anaerobic Digestion. 47(9), 42-49, 2006.

Café de Colombia, 2012. Publicaciones: Colombia al sexto lugar de exportación de café. 29 de agosto 2012. internet. <<http://www.cafecolombiano.com>>.

Café de Colombia, 2010. Publicaciones: El café de Colombia. Internet. <<http://www.cafecolombiano.com>>.

CALLE, H. Subproductos del café. Chinchiná (Colombia). Cenicafe. 1977. p. 84 (boletín técnico N° 6).

CARBONELL, VILANOVA, M. 1974. Beneficiado rápido y eficiente del café mediante el uso de soda cáustica. En: Cleves, R. Justificación de un proyecto para investigar la obtención de pectina a partir del mucílago del café. Departamento de Estudios Técnicos y Diversificación. Proyecto 1. Sub-proyecto 5. Oficina del Café, San José, Costa Rica.

CASTRO, LILIANA DEL PILAR. Proceso Integral para la digestión anaerobia del bagazo de fique. Trabajo de investigación. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 2012, p. 41-53.

CHARLES, W. WALKER, L. CORD-RUWISCH, R. Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresource Technology* 100.2009, p. 2329–2335.

CHEN, T. HASHIMOTO, A. Effects of pH and substrate:inoculum ratio on batch methane fermentation. *Bioresource Technology* 56. 1996, p. 179-186.

CHO, J. PARK, S. CHANG, H. Biochemical methane potential and solid state anaerobic digestion of Korean food wastes. *Bioresource Technology*.1995. P. 245-253.

ESKICIOGLU, U. GHORBANI, M. Effect of inoculum/substrate ratio on mesophilic anaerobic digestion of bioethanol plant whole stillage in batch mode. *Process Biochemistry*, 2011, p. 1682-1687.

Federación nacional de cafeteros de Colombia, (Federacafé, 2010). Publicaciones. Los subproductos del café: Fuente de energía renovable. Marzo 2010. Internet. <<http://www.federaciondecafeteros.org>>.

Federación nacional de cafeteros de Colombia, (Federacafé, 2011). Publicaciones. Información estadística cafetera – producción colombiana de café - volumen mensual desde 1956. 2011. Internet. <<http://www.federaciondecafeteros.org>>.

Federación nacional de cafeteros de Colombia, (Federacafé, 2012). Publicaciones. Factores, procesos y controles en la fermentación del café. Agosto de 2012. Internet. <<http://www.federaciondecafeteros.org>>.

FORERO W.; ZUÑIGA J.M. Evaluación de la actividad metanogénica de lodos. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia, Colombia, 2003.

HAYES, T.D., W.J. JEWELL, D.S. ORTO, K.J. FRANCONI, A.P. GENSCHENER; D.F. SHERMAN. Anaerobic digestion of cattle manure. pp. 255-286. In: A. Stafford, B.I. Wheatle y D.E. Hughes. Anaerobic digestion. Applied Science Publishers. London, England. Art 353. 1979.

HERRERA, D. NIÑO, D. Evaluación del potencial de producción de biogás a partir de aguas residuales provenientes de la industria palmera mediante digestión anaerobia. Trabajo de investigación. Universidad Industrial de Santander, Colombia, 2012, p. 24.

HIDALGO M. D. y GARCÍA ENCINAP. A., Influencia del sulfato en la degradación anaerobia de materia orgánica. Grupo de tecnología ambiental. Universidad de Valladolid, 2001.

LI, PARK Y., ZHU S., Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. Renew susteneg rev.15. 2011, p. 821-826.

MADIGAN, M. MARTINKO, J. PARKER, J. BROCK. Biología de los microorganismos. Pearson Prentice Hall. 2006, p. 151-168.

MARTÍ ORTEGA NURIA., Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process. Florida, USA, 2006.

MUTEMI MUTHANGYA, ANTHONY MANONI MSHANDETE AND AMELIA KAJUMULO KIVAISI, Enhancement of anaerobic digestion of sisal leaf decoration residues by biological. Journal of agricultural and biological science. ISSN 1990-6145. Julio 2009.

PEREZ DIAZ NOARYS, MSC. RAISA M. CASTILLO RAMOS, DRA.C. LEILA R. CARBALLO ABREU, MSC JOSÉ ÁNGEL VELIZ GUTIÉRREZ. Impacto ambiental en el cultivo y procesamiento del café y su repercusión social. Universidad de Pinar del Río; Departamento de Química.

PUERTA Q., G.I. Rendimientos y calidad de coffea arabica L., según el desarrollo del fruto y la remoción del mucílago; Cenicafé 61(1): 67-89. 2010<[http://www.cenicafe.org/es/publications/arc061\(01\)067-089.pdf](http://www.cenicafe.org/es/publications/arc061(01)067-089.pdf)>.

PRODUCE, Programa Estratégico de necesidades de investigación, Fundación Chiapas A.C y el Instituto Tecnológico y de estudios superiores de Monterrey Campus. México, 2003.

PUERTA Q., G.I. Influencia del beneficio del café; Cenicafé 61(1): 67-89. 2010 [http://www.cenicafe.org/es/publications/arc050\(01\)078-088.pdf](http://www.cenicafe.org/es/publications/arc050(01)078-088.pdf).

RAPOSO F., BANKS C. SIEGERT I. BORJA R, Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. En: Process Biochemistry, Vol. 41, p. 1444-1450, 2006.

RAPOSO, F. RUBIA, M. FERNÁNDEZ, V. BORJA, R. Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2011, p.861–877.

RIVAS SOLANO, OLGA; VARGAS, MARGIE. Biodigestores: factores químicos, físicos y biológicos relacionados con su productividad. Tecnología en Marcha, Vol. 23, N.º 1, Enero-Marzo 2010, P. 39-46.

RODRIGUEZ VALENCIA NELSON. Manejo de residuos en la agroindustria cafetera, Seminario internacional gestión integral de residuos sólidos y peligrosos, Cenicafé.

SCHUTGENS GIELJAM, VAN LIER JULES. Anaerobic treatment of coffee wastewater: A study on monitoring and implementation of biogás at finca El socorro. Delft University of Technology, Matagalpa, Nicaragua., Agosto 2010.

VIÉITEZ ER, GHOSH S. Biogasification of solid waste by two phase anaerobic fermentation. *Biomass and Bioenergy* 1999;16(5): 299-309.

ANEXOS

Anexo A. Caracterización fisicoquímica del mucílago de café

	LABORATORIO QUÍMICO DE CONSULTAS INDUSTRIALES	Código: F-PA-02	
	POST-ANALITICO	Versión: 05	
	INFORME DE RESULTADOS	Fecha: 2012/01/16	
		Página 1 de 2	



Acreditación por el IDEAM según la Resolución No. 1659 de 2011, en los parámetros pH, DBO₅, DQO, SST, fenoles, SAAM, grasas y aceites en aguas, metales totales y disueltos en aguas, metales totales en suelos y toma de muestras puntuales y compuestas



Autorización del Ministerio de la Protección Social, mediante la resolución 5534 de 2010, para la realización de análisis físicos, químicos y microbiológicos al agua para consumo humano

Informe de resultados No.	12-015	Fecha de emisión:	Enero 30 de 2012
Cliente:	HUMBERTO ESCALANTE		
Dirección del cliente:	Universidad Industrial de Santander / Escuela Ingeniería Química		
Solicitud de servicio No.	12-015	No. de muestras:	1
Fecha de recepción de las muestras:	Enero 18 de 2012		
Muestras recibidas por:	Johanna Riveros		
Fecha de análisis:	Enero 19 de 2012 - Enero 30 de 2012		

1. ANALISIS FISICOQUIMICO

Codificación de la Muestra:	12-015-01	Tipo de muestra:	Puntual
Identificación de la muestra:	Mucílago de Café		
Matriz de la muestra:	Materia Prima		
Muestreo realizado por:	María Claudia Quintero		
Lugar y punto de muestreo:	San Gil / Finca El Progreso		
Fecha del muestreo:	Enero 18 de 2012		

PARAMETRO	RESULTADO	MÉTODO/ NORMA
pH (Unidades de pH)	5,64	Potenciométrico/ NTC 5167
Temperatura (°C)	25,0	Termométrico / SM 2550 B
Humedad (%)	95,88	Gravimétrico/ NTC 5167
Cenizas (%)	1,39	Gravimétrico/ NTC 5167
Carbono Orgánico Oxidable Total (%C)	1,53	Titrimétrico/ NTC 5167
Nitrógeno (%N)	0,075	Kjeldhal-Titrimétrico/ NTC 5167
Relación C/N	20,4	-----
Fósforo (%P ₂ O ₅)	0,0323	Espectrofotométrico/NTC 5167
Calcio (%CaO)	0,0285	Absorción Atómica/ NTC 5167
Cobre (%Cu)	0,00032	Absorción Atómica/ NTC 5167
Magnesio (%MgO)	0,0070	Absorción Atómica/ NTC 5167
Potasio (%K ₂ O)	0,345	Absorción Atómica/ NTC 5167
Sodio (%Na)	0,0034	Absorción Atómica/ NTC 5167
Hierro (% Fe)	0,0203	Absorción Atómica/ NTC 5167
Zinc (% Zn)	0,00002	Absorción Atómica/ NTC 5167
Manganeso (% Mn)	0,00107	Absorción Atómica/ NTC 5167
Azufre (%S)	*<L.D	Espectrofotométrico/ NTC 5167

Ciudad Universitaria Carrera 27 Calle 9 – Edificio Camilo Torres/ Laboratorio 222
 Conmutador: (7) 6344000 Ext. 2465. Telefax: (7) 6349009
 Página web: <http://ciencias.uis.edu.co/lqci/> E-mail: laboratorioquimicodeconsultas@uis.edu.co
 Bucaramanga - Colombia

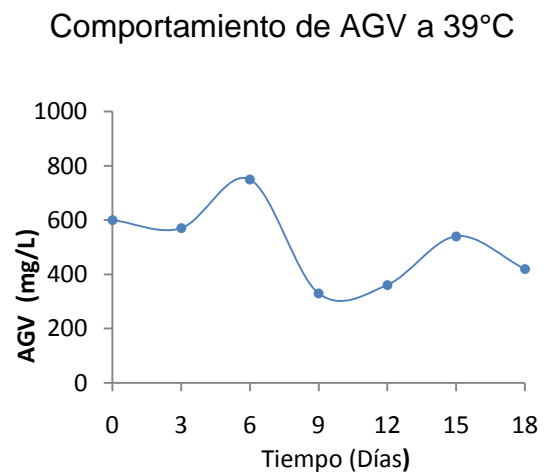
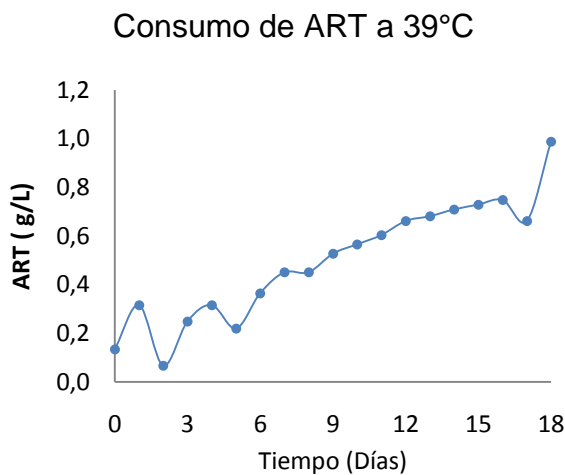
Anexo B. Caracterización del Estiércol Bovino

La caracterización del estiércol bovino se realizó mediante un proceso discontinuo en botellas de vidrio de 500 mL, las cuales se gasificaron con CO₂, para garantizar anaerobiosis.

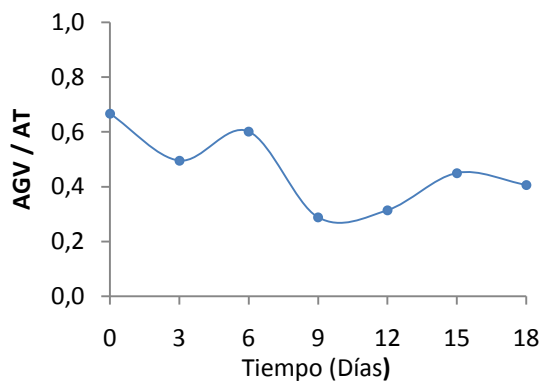
A los bioreactores se les adicionó una cantidad de 60 mL de EB y 209 mL de agua, las cuales son las mismas que se agregaron en la DA del mucílago para obtener la RIS 1.5. Posteriormente se taparon con corchos de butilo y se sellaron con agrafes de aluminio.

La incubadora donde se llevó a cabo la digestión anaerobia operó a 39°C.

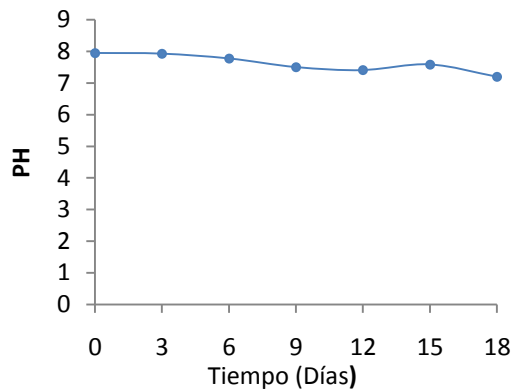
La configuración de los digestores consistió en 11 botellas para cada montaje, 3 correspondientes a la medición de biogás producido, 7 en el seguimiento de los AGV y finalmente 1 la para la medición de ART.



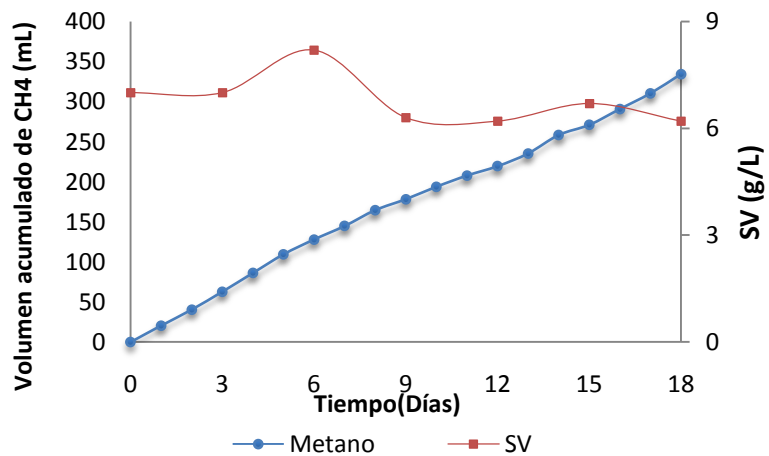
Relación AGV/ATa 39°C



Variación del pH a 39°C



Volumen acumulado de biogása 39°C



Anexo C. Determinación de sólidos totales fijos y volátiles en muestras sólidas y semisólidas

Este método se aplica a la determinación de sólidos totales y fracciones volátiles en muestras sólidas y semisólidas como lodos aislados en procesos de tratamientos de aguas limpias y residuales entre otros.

Instrumentos:

- Crisoles
- Horno de mufla para operar a $550\pm 50^{\circ}\text{C}$
- Desecador provisto de un desecante que contiene un indicador colorimétrico de concentración de humedad
- Horno de secado operaciones $103-105^{\circ}\text{C}$
- Balanza de análisis

Procedimiento:

Sólidos totales

Caliente la placa en un horno a $103-105^{\circ}\text{C}$ durante una hora.

Enfríe en el desecador, pese y conserve en el desecador hasta que haya de usarse.

Análisis de la muestra: Muestra líquida: agite para homogeneizar, a continuación coloque 50 g en una placa de evaporación y pese, evapore hasta desecación al baño maría, seque a $103-105^{\circ}\text{C}$, durante un día y enfríe para equilibrar la temperatura en un desecador individual con desecante activo y pese.

Sólidos volátiles

Incinere una placa de evaporación limpia en un horno de mufla a $550\pm 50^{\circ}\text{C}$ durante una hora.

Análisis de la muestra: Transfiera la muestra hasta un horno frío y caliente hasta $550\pm 50^{\circ}\text{C}$ e incinere durante una hora, enfríe en desecador para equilibrar la temperatura y pese.

Cálculos:

$$\% \text{ sólidos totales} = \frac{(A - B) * 100}{C - B}$$

$$\% \text{ sólidos volátiles} = \frac{(A - D) * 100}{A - B}$$

A= peso del residuo seco + placa, mg

B = peso de la placa

C= peso de la muestra húmeda + placa, mg

D = peso del residuo + placa después de ignición, mg

Anexo D. Determinación de la Concentración de Azúcares Reductores Totales (ART)

El método DNS o del ácido 3-5 dinitrosalicílico es un método colorimétrico, desarrollado para la cuantificación de azúcares reductores por la degradación de la celulosa durante los procesos de fermentación. Es un método rápido y reproducible.

REACTIVO DNS

- Mezclar y disolver en 250 mL de agua destilada 8 g de NaOH y 150 g de tartrato sodio potasio.
- Se agregan 5 g de ácido dinitrosalicílico.
- Aforar a 500 mL con agua destilada.
- Almacenar a temperatura ambiente y proteger de la luz.

PROCEDIMIENTO

- Agregar 4 mL de reactivo a 2 mL de muestra y 2 mL de agua destilada usando tubos tapa rosca.
- Dejar en baño con agua en ebullición durante 5 minutos.
- Detener la reacción en un baño de hielo.
- Agregar 4 mL de agua destilada, y dejar reposando durante 15 minutos.

Leer la densidad óptica a 540 nm contra un blanco obtenido en el procedimiento anterior pero agregando agua destilada en lugar de muestra.

- **Construcción de la curva estándar de glucosa**

Se preparan las muestras de glucosa con concentraciones conocidas, se aplica el método DNS y se lee su absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm. Con los datos obtenidos se traza un gráfico lineal de la concentración de glucosa (azúcar reductor) como una función de absorción, y así se determina la ecuación que relaciona las dos cantidades.

Anexo E. Determinación de la concentración de Ácidos Grasos Volátiles (AGV), Alcalinidad Total (AT)

La determinación de los ácidos grasos volátiles se realizó por medio de una titulación, es un método a través del cual se determina el bicarbonato y los ácidos grasos volátiles en soluciones acuosas.

La muestra es centrifugada o filtrada y se lleva a un pH de 3,0 con ácido clorhídrico (HCL) 0,1N.

El bicarbonato será convertido en dióxido de carbono y los ácidos grasos volátiles estarán presentes en solución en la forma no ionizada. Después la muestra es sometida a calentamiento hasta ebullición con un sistema de condensación para remover el CO₂, la solución restante se titula con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1N hasta alcanzar un pH de 6,5.

Los ácidos grasos volátiles (y quizás otros ácidos) serán convertidos ahora a su forma disociada.

Los equivalentes de bicarbonato y AGV se pueden calcular a partir de los volúmenes de ácido y base utilizados en la titulación (Rojas 1988).

Las relaciones utilizadas son las siguientes.

$$\text{Alcalinidad} = (B * N_{HCL} * 50000)/V$$

En donde:

B= volumen de HCl usado para disminuir el pH en mL.

V= volumen de muestra tomada para el análisis en mL.

N_{HCL}= concentración de ácido clorhídrico (Normalidad).

Las unidades de alcalinidad son (mg de $CaCO_3/L$).

$$\text{ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES} = D * N_{NaOH} * 60000/V$$

En donde

D= volumen de NaOH en mL requerido para elevar el pH después de haber usado HCl.

V= volumen de muestra tomada para el análisis en mL.

N_{NaOH} =concentración de hidróxido de sodio (normalidad).

Las unidades de Ácidos Grasos Volátiles son (mg de Ac. Acético/Litro).

Para la preparación de HCl y NaOH se utilizan los siguientes reactivos.

- $C_8H_5KO_4$ (Biftalato de potasio)
- NaOH
- HCl
- Fenolftaleína.

Anexo F. Método de desplazamiento Alcalino (Método de medición volumen de biogás)

MATERIALES

- Digestor anaerobio
- Solución 0,1 N de NaOH
- Fenolftaleína
- Mangueras y agujas
- Recipiente colector de 1 L

PROCEDIMIENTO

Cada reactor se conecta con la botella de desplazamiento alcalino por medio de una red de mangueras de plásticos y agujas. El biogás producido en el reactor se burbujea en la solución alcalina con fenolftaleína como indicador y pH mayor de 12, en la cual el CO_2 es absorbido y el volumen de gas metano desplaza un volumen igual de la solución alcalina. El volumen de la solución desplazada fuera de la botella en el recipiente colector es equivalente al volumen de metano generado en el sistema.

Método desplazamiento alcalino



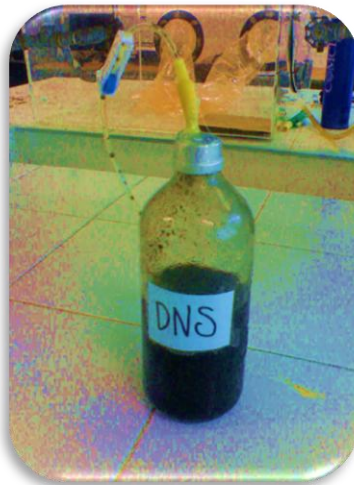
Anexo G. Registro Fotográfico



Medición de CH_4 por el método de desplazamiento alcalino



Incubación de los experimentos



Bioreactor para medición de Azúcares Reductores Totales (ART)