

**ESTUDIO PRELIMINAR DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE LA
DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ UTILIZANDO LODO
ESTIÉRCOL DE CERDO COMO INÓCULO**

MARÍA CLAUDIA QUINTERO VEGA

YULI PAOLA RONDÓN CASTRO

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

2012

**ESTUDIO PRELIMINAR DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE LA
DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ UTILIZANDO LODO
ESTIÉRCOL DE CERDO COMO INÓCULO**

MARÍA CLAUDIA QUINTERO VEGA

YULI PAOLA RONDÓN CASTRO

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

Directora

DEBORA ALCIDA NABARLATZ

Ingeniera Química, Ph. D.

Codirector

HUMBERTO ESCALANTE HERNADEZ

Ingeniero Químico, Ph. D.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BUCARAMANGA

2012

A DIOS dueño de mi vida, fuente inagotable de fe, amor y humildad con la cual he tratado de realizar todos mis sueños y propósitos.

A mis padres Rodolfo y Cecilia quienes con su amor, comprensión, sacrificio y continuo apoyo hicieron que todas aquellas metas que me había propuesto conseguir fueran posibles, haciendo de mí una persona llena de principios y valores para toda la vida.

A mis hermanos Robinson, Anderson y Sain Andres por su apoyo incondicional.

A mis abuelos y tíos que de una forma u otra soñaron conmigo este proyecto de vida.

A mis amigas Yusely y Yuli que con su apoyo y amistad desinteresada permanecieron a mi lado en los momentos tristes y felices de mi vida.

A Luis Carlos por estar a mi lado apoyándome.

A mis amigos y compañeros de ingeniería química que iniciaron y compartieron conmigo este gran sueño.

Maria C.

A Dios todo poderoso por permitirme día a día desarrollar este proyecto de vida.

A mi papá Rafael a quien todo le debo, por su paciencia por su ayuda y colaboración, dándome fuerzas y ánimo para seguir adelante y nunca rendirme demostrándome que lo que se quiere se logra.

A mi mamita María Inés por creer en mí, por su entrega, apoyo y amor incondicional.

Gracias a los dos por darme la oportunidad de cumplir mi meta, los amo.

A mis hermanos Diana, Rafael y Fredy por compartir conmigo gratos momentos y darme ánimo todos los días.

A mis sobrinitas Julieth, Paula y Adriana lucia por ser el motor de mi vida, son la más grande alegría que puedo tener, por su capacidad para hacerme sonreír todos los días, las amo.

A toda mi familia por sus consejos, apoyo y cariño.

A Yusefy y María Claudia por estar siempre conmigo por sus consejos por su ayuda incondicional y desinteresada por darme todos los días ánimos, por sus locuras, dios te doy gracias por haberlas puesto en mi camino por que las tengo conmigo desde el colegio, infinitas gracias.

A todos mis amigos por permitirme compartir tantos momentos con ustedes. En el camino nos volveremos a ver.

Yuli Paola

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros más sinceros agradecimientos a:

Los profesores de la escuela de Ingeniería Química quienes con sus conocimientos nos enseñaron los fundamentos ingenieriles.

A nuestra directora la Doctora Debora Nabarlatz por guíanos, y bríndanos su apoyo incondicional y conocimientos en el desarrollo de esta investigación.

A nuestro codirector el Doctor Humberto Escalante por su profesionalismo, colaboración y exigencia a la hora de analizar y presentar resultados.

A la Doctora Liliana Castro por sus aportes, colaboración, paciencia y apoyo incondicional, brindándonos sus conocimientos, experiencia y asesoramiento en la digestión anaerobia.

Al Ingeniero Guillermo por su colaboración y paciencia.

Al laboratorio de procesos de la Escuela de Química por su apoyo cuando necesitábamos implementos.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	18
1. MARCO TEÓRICO	20
1.1 BENEFICIO DE CAFÉ	21
1.2 DIGESTIÓN ANAEROBIA (DA).....	22
1.2.1 Hidrólisis	22
1.2.2 Acidogénesis.....	22
1.2.3 Acetogénesis.....	22
1.2.4 Metanogénesis	23
1.3 VARIABLES DEL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA (DA)	24
1.3.1 Temperatura.....	24
1.3.2 pH	24
1.3.3 Relación inóculo/sustrato (RIS)	24
1.3.4 Azúcares Reductores Totales (ART).....	25
1.3.5 Ácidos Grasos Volátiles (AGV)	25
1.3.6 Alcalinidad Total (AT)	25
1.3.7 Potencial de Biometanización (PBM)	25
1.4 GRUPOS TRÓFICOS PRESENTES EN LOS CONSORCIOS ANAEROBIOS DEL LODO ESTIÉRCOL DE CERDO	26
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	27
2.1 ETAPA 1. ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL pH	29
2.2 ETAPA 2: INFLUENCIA DE LA RELACION INÓCULO/SUSTRATO	29
2.3 ETAPA 3: ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA	30
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	31
3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL SUSTRATO.....	31
3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL INÓCULO.....	31
3.3 INFLUENCIA DEL pH EN LA DA DE MC	32
3.4 INFLUENCIA DE LA RELACIÓN INÓCULO/SUSTRATO EN LA DA DE MC	35

3.5 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA DA DE MC.....	39
4. CONCLUSIONES.....	43
BIBLIOGRAFÍA	44
ANEXOS	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fruto de café	20
Figura 2. Proceso de beneficio de café	21
Figura 3. Representación esquemática de la digestión anaerobia.....	23
Figura 4. Diagrama de la metodología experimental para el proceso de DA de MC.	27
Figura 5. Cinética de Consumo de ART a RIS 2 T=39°C pH= 4,3 y pH= 7.	32
Figura 6. Concentración de AGV, pH y relación AGV/ AT para la DA de MC a pH=4,3 y pH=7 RIS 2 T=39°C	33
Figura 7. Cinética de producción de CH ₄ RIS 2 T=39°C pH=4,3 y pH=7.	34
Figura 8. Cinética de Consumo de ART a diferentes RIS T=39°C pH=7	35
Figura 9. Concentración de AGV, pH, AGV/AT a diferentes RIS T=39°C pH=7	36
Figura 10. Cinética de producción de CH ₄ a diferentes RIS T=39°C pH=7	38
Figura 11. Evolución de sólidos volátiles en comparación con el volumen de CH ₄ acumulado T=39°C pH=7.....	39
Figura 12. Cinética de Consumo de ART a RIS 2 T=25°C 30°C 39°C pH=7	40
Figura 13. Concentración de AGV, pH, T=25°C 30°C 39°C y pH=7	40
Figura 14. Relación AGV/AT, RIS 2 T=25°C 30°C 39°C pH=7	41
Figura 15. Cinética de producción de CH ₄ a RIS 2 T=25°C 30°C 39°C pH=7	42

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Recuento de los grupos tróficos presentes en el LEC.....	26
Tabla 2. Condiciones de operación para la DA de MC.....	28
Tabla 3. Variables a monitorear, periodicidad de la medición y método analítico.....	28
Tabla 4. Cantidades agregadas de sustrato para cada RIS	29
Tabla 5. Caracterización fisicoquímica del sustrato	31
Tabla 6. Caracterización fisicoquímica del inóculo LEC	31
Tabla 7. Volumen acumulado y rendimiento de producción de metano.....	37

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Protocolo de recolección de muestras de mucílago de café	48
Anexo B. Caracterización fisicoquímica del mucílago de café y lodo estiércol de cerdo....	49
Anexo C. Determinación de la Concentración de Azúcares Reductores Totales (ART).....	51
Anexo D. Determinación de la concentración de Ácidos Grasos Volátiles (AGV), Alcalinidad Total (AT)	52
Anexo E. Determinación de sólidos totales fijos y volátiles en muestras sólidas y semisólidas	54
Anexo F. Método de desplazamiento Alcalino	56
Anexo G. Estudio del Arte Influencia RIS	57
Anexo H. Registro Fotográfico	59

NOMENCLATURA

ART = Azúcares Reductores Totales (g/L)

AGV = Ácidos Grasos Volátiles (mg/L)

AT = Alcalinidad Total (mg CaCO₃/L)

LEC = Lodo Estiércol de Cerdo

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: ESTUDIO PRELIMINAR DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ UTILIZANDO LODO ESTIÉRCOL DE CERDO COMO INÓCULO.*

AUTOR: MARÍA CLAUDIA QUINTERO VEGA, YULI PAOLA RONDÓN CASTRO. **

PALABRAS CLAVES: Mucilago de café, biogás, bioproceso, inóculo, sustrato, batch.

CONTENIDO: El mucilago de café (MC) se obtiene después de la etapa de despulpe de café, representando el 14,85% del peso del fruto. En Colombia se estima la producción de MC en 233251 toneladas. Este residuo posee elevada carga orgánica, acidez y sólidos sedimentables y al ser vertidos al medio, ocasionan un problema ambiental. La caracterización fisicoquímica del MC indica que este residuo posee una adecuada relación carbono/nitrógeno de 20,4; particularidad que lo hace idóneo como fuente de carbono para la producción de biogás mediante digestión anaerobia (DA). La investigación se centró en la evaluación de la producción de metano mediante la DA de MC estudiando la influencia de las variables pH, la relación inóculo/sustrato y temperatura utilizando lodo estiércol de cerdo como inóculo, variando el volumen de operación y dejando fijo el volumen de inóculo utilizando un reactor tipo batch.

Como resultados, se identificó que el lodo estiércol de cerdo es un inóculo adecuado para la degradación de MC. Se determinó que es conveniente realizar un control de pH debido a que la mayor producción de metano se obtuvo a pH 7 con un volumen de 2770,8 mL; se seleccionó la relación inóculo/sustrato de 2 g SV de inóculo/ g SV de sustrato como favorable para el aprovechamiento de sustrato con un rendimiento de producción de $0,73 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ de sustrato adicionado. Se observó que el aumento de la temperatura permite incrementar la producción de metano, la mayor producción se obtuvo a 39°C . Finalmente la investigación muestra que es viable la producción de biogás mediante la DA de MC, con lo cual se demuestra que es posible resolver problemas de contaminación generados por este residuo.

* Proyecto de Grado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química. Directora Debora Nabarlatz Ing. Química Ph. D. Codirector Humberto Escalante Ing. Químico Ph. D.

ABSTRACT

TITLE: PRELIMINARY STUDY OF PRODUCTION BIOGAS FROM ANAEROBIC DIGESTION OF COFFEE MUCILAGE USING MUD PIG MANURE AS INOCULUM.

AUTHOR: MARÍA CLAUDIA QUINTERO VEGA, YULI PAOLA RONDÓN CASTRO.

KEYWORDS: Mucilage coffee, biogas, inoculum, substrate, batch.

The coffee mucilage (CM) is obtained after pulping stage coffee, representing 14.85% of the weight of the fruit. In Colombia, production is estimated at 233,251 tons MC. This residue has high organic content, acidity and settleable solids and to be discharged into the environment, causing an environmental problem. The physicochemical characterization of MC indicates that this residue has a proper carbon / nitrogen ratio of 20.4; particularity that makes it ideal as a carbon source for the production of biogas through anaerobic digestion (AD). The research focused on the evaluation of the production of methane by MC AD studying the influence of pH varying the ratio inoculum / substrate temperature using pig manure sludge as inoculum, varying the operating volume and fixed volume leaving inoculum using a batch reactor.

As a result, it was found that the pig manure slurry is a suitable seed for MC degradation. It was determined that is suitable to control the pH due to increased production of methane was obtained at pH 7 with a volume of 2770.8 mL, was selected relationship inoculum / substrate inoculum SV 2 g / g substrate SV as favorable for the use of substrate with a yield of 0.73 m³ CH₄ /kg SV substrate added. It was observed that the increase in temperature allows to increase the production of methane; higher production is obtained at 39°C. Finally, the research shows that it is feasible biogas production by DA MC, which is shown to be possible to solve pollution problems generated by this residue.

* Grade Work

** Physical Chemical Engineering Faculty. Chemical Engineering School. Director. Debora Nabarlatz, Chemical Engineer Ph. D. Codirector Humberto Escalante, Chemical Engineer Ph. D.

INTRODUCCIÓN

Colombia, en el año 2011, produjo 534000 toneladas de café pergamino seco, equivalentes a 2563200 toneladas de fruto fresco o café cereza. Por la calidad del café Colombia ocupa el tercer puesto a nivel mundial en las exportaciones de café después de Brasil y Vietnam (Federacafé, 2011).

Durante el beneficio de café cereza se genera un gran volumen de residuos sólidos y líquidos como lo son la pulpa y el mucílago. Estos residuos poseen elevada carga orgánica, acidez y sólidos sedimentables y al ser vertidos al medio, ocasionan un problema ambiental. Actualmente estos residuos son almacenados en fosas al aire libre para su posterior auto-biodegradación en presencia de oxígeno, generando malos olores y derrames dentro de los cafetales, los cuales afectan las propiedades fisicoquímicas del suelo, retardando el crecimiento de la vegetación.

El agotamiento de los combustibles fósiles ha incrementado el interés de producción y uso de biocombustibles a partir de fuentes renovables. La biomasa está constituida por carbono, hidrógeno y oxígeno y ésta estructura molecular es la responsable de su contenido energético. La biomasa residual agrícola se genera en los procesos de transformación natural o artificial de las especies vegetales, sin formar parte del producto principal (Crotti y Miller, 2006). Es entonces cuando los residuos generados por la agroindustria del café juegan un papel importante en la transformación de los mismos con fines energéticos.

El mucílago de café (MC) se obtiene después de la etapa de despulpe de café, representando el 14,85% del peso del fruto. Por cada kilogramo de café cereza se producen 0,091 litros de MC (Rodríguez y Zambrano, 2010). En Colombia se estima la producción de MC en 233251 toneladas.

El Centro de Investigación Nacional de Café en Colombia (Cenicafé), ha realizado diversos estudios para la utilización de MC, como: producción de alcohol etílico,

obtención de pectinas a partir de la pulpa y mucílago de café, mezcla de mucílago con pulpa como sustrato en la alimentación de la lombriz roja para la producción de abonos orgánicos, utilización de mucílago de café en la alimentación porcina y el cultivo de hongos tropicales sobre residuos agroindustriales presentes en la zona cafetera (Rodríguez, 1999).

La caracterización fisicoquímica del MC indica que este residuo posee una adecuada relación carbono/nitrógeno de 20,4; particularidad que lo hace idóneo como fuente de carbono para la producción de biogás mediante digestión anaerobia (DA) (Li *et al.*, 2011).

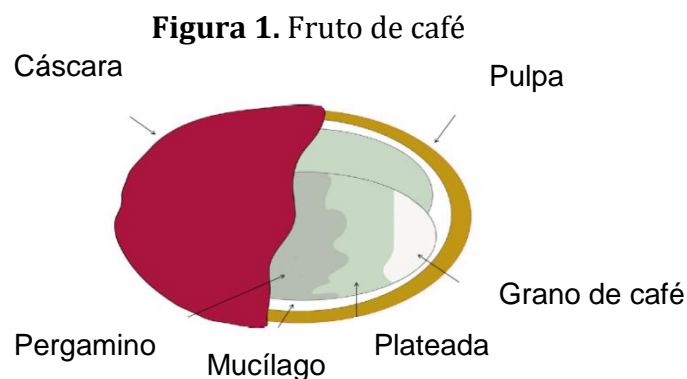
Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue estudiar la producción de biogás a partir MC como sustrato mediante DA utilizando como inóculo los consorcios microbianos presentes en el lodo estiércol de cerdo (LEC), determinando la influencia de variables de operación como pH, relación inóculo / sustrato (RIS) y temperatura.

1. MARCO TEÓRICO

El café colombiano es la denominación que se le otorga al café 100% arábigo (*Coffea arábica*) proveniente de la familia de las *rubiáceas* nativo de Etiopía; es la principal especie cultivada para la producción de café, obtenida a partir de las semillas tostadas (Chalarca, 1998).

El café llegó a Santander a finales del siglo XVIII allí se difundió a los demás departamentos; Antioquia, Tolima, Caldas, Valle del Cauca, Risaralda, Quindío, Cundinamarca y Nariño entre otros (Chalarca, 1998). En el año 2011, en Colombia los cultivos de café ocuparon una extensión de tierra equivalente a 921 mil hectáreas (Federacafé, 2011).

El fruto de café, (figura 1) está compuesto por la pulpa, formada por una superficie lisa o pericarpio. Envuelto por el pericarpio se encuentra el mucílago o mesocarpio, constituido por una capa gruesa de tejido esponjoso de aproximadamente 0,5 mm de espesor, rico en azúcares y pectinas. Los granos o almendras se encuentran revestidos por una doble membrana: la primera llamada comúnmente pergamino (endocarpio), de color amarillo pálido y de consistencia dura y frágil; la segunda, llamada plateada (tegumento seminal) más fina que la anterior y adherida al grano (albumen) (Esquivel y Jiménez, 2011).

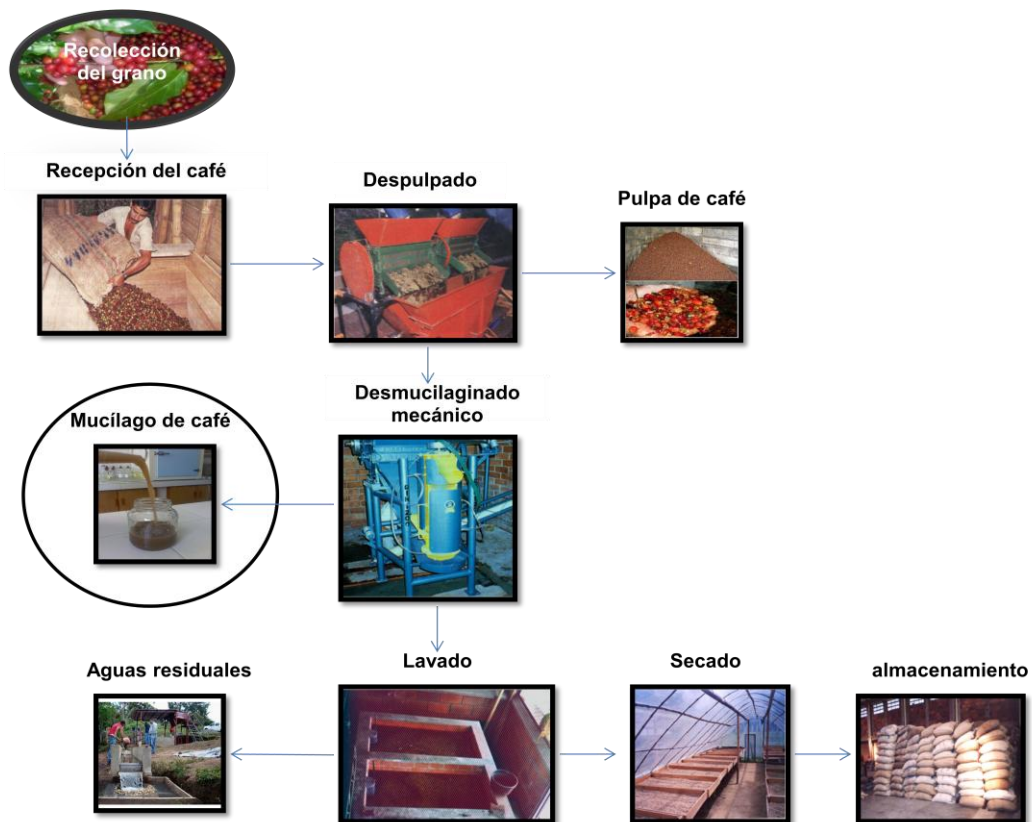


Fuente: Esquivel y Jiménez, 2011

1.1 BENEFICIO DE CAFÉ

En Colombia, el beneficio de café se realiza por vía húmeda. Este proceso consiste en un conjunto de operaciones realizadas para transformar el café cereza en café pergamino seco, minimizando las incidencias frente al medio ambiente, conservando la calidad exigida por las normas de comercialización, evitando pérdidas del producto y eliminando procesos innecesarios, como el consumo excesivo de agua, logrando así, el aprovechamiento de sus subproductos (Federacafé, 2011).

Figura 2. Proceso de beneficio de café.



Fuente. Federacafé, 2011

El MC se obtiene durante la etapa de desmucilaginado mecánico. Según sus propiedades fisicoquímicas este residuo sin un manejo adecuado representa un problema ambiental. (Rodríguez y Zambrano, 2010) En Colombia se estima la producción de MC en 233251 toneladas (Federacafé, 2011).

1.2 DIGESTIÓN ANAEROBIA (DA)

La DA es un proceso biológico natural en ausencia de oxígeno donde una comunidad de bacterias descompone la materia orgánica y produce biogás que contiene principalmente metano y dióxido de carbono. El proceso no sólo reduce la contaminación orgánica, sino que también proporciona una nueva fuente de energía (Zeng *et al.*, 2010).

Los residuos sólidos orgánicos tales como residuos biológicos, lodos, estiércol de ganado vacuno y porcino son ampliamente utilizados como inóculos en el proceso de DA para la producción de energía, teniendo en cuenta una concentración correcta para evitar una limitación de la biomasa y una sobrecarga de materia orgánica en el bioreactor (Angelidaki *et al.*, 2009; González y García, 2009).

Etapas de la digestión anaerobia:

1.2.1 Hidrólisis

La hidrólisis consiste en la transformación enzimática de macromoléculas complejas y de mayor peso molecular como polisacáridos, lípidos, proteínas y grasas en compuestos simples y solubles, tales como aminoácidos, azúcares, ácidos grasos de cadena larga y glicerina, por la acción de enzimas extracelulares como *bacteroides*, *clostridium* y bacterias facultativas como *estreptococos* (Yadvika *et al.*, 2004).

1.2.2 Acidogénesis

En la acidogénesis la materia orgánica disuelta durante la hidrólisis es biodegradada a ácidos grasos volátiles (ácido acético, propiónico, butírico), hidrógeno, dióxido de carbono, y alcoholes por bacterias acidogénicas (Pandey *et al.*, 2011).

1.2.3 Acetogénesis

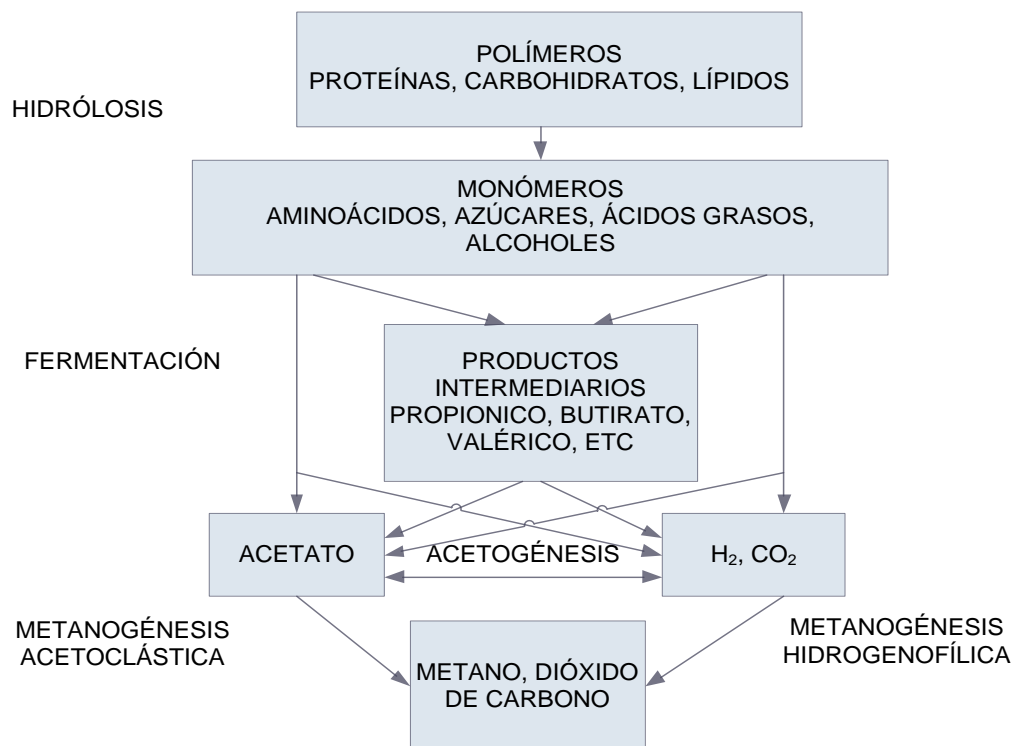
Durante el proceso de acetogénesis, los ácidos grasos volátiles (AGV) junto con el etanol se convierten en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono por acción de un

grupo denominado organismos acetogénicos productores de hidrógeno (Poh y Chong, 2009).

1.2.4 Metanogénesis

Existen dos tipos de bacterias metanogénicas, las que utilizan ácido acético (acetoclásticas) y las que utilizan hidrógeno (hidrogenofílicas). Las bacterias acetoclásticas convierten el ácido acético en dióxido de carbono y metano, se desarrollan muy lentamente e influyen apreciablemente en el pH del sistema por la eliminación de ácido acético y la formación de dióxido de carbono; además son las responsables de la mayoría de metano producido. Las bacterias hidrogenofílicas convierten el hidrógeno y dióxido de carbono a metano y controlan el potencial redox del proceso (Castillo *et al.*, 2007).

Figura 3. Representación esquemática de la digestión anaerobia.



Fuente. Castillo *et al.*, 2007

1.3 VARIABLES DEL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA (DA)

La DA es un sistema de interacciones complejas lo que la hace susceptible a sufrir alteraciones por la variación de condiciones internas y externas. A continuación se presentan las variables más representativas que intervienen en el proceso

1.3.1 Temperatura

La temperatura afecta directamente la velocidad de las reacciones biológicas, influenciando la actividad metabólica de los microorganismos que intervienen. La digestión anaerobia se lleva a cabo en tres intervalos de temperatura: el psicrófilico menor de 30° C, mesófilico que va de 30-40°C y el termófilico de 50-60°C. Sin embargo los microorganismos anaerobios son más activos en intervalos de temperaturas mesófilico y termófilico (Appels *et al.*, 2008; Yadvika *et al.*, 2004).

1.3.2 pH

El proceso de DA está relativamente limitado a un intervalo de pH entre 6,8–7,2. Valores de pH inferiores a 4 y superiores a 9,5 puede llevar a un desequilibrio en el proceso. Debido a que la actividad de la población metanogénica es altamente vulnerable a los cambios de pH comparado con las demás poblaciones presentes en los lodos (Madigan *et al.*, 2006; Poh y Chong, 2009; Yadvika *et al.*, 2004).

1.3.3 Relación inóculo/sustrato (RIS)

Estudios demuestran que la producción de metano es inversamente proporcional a la carga de sólidos volátiles de sustrato adicionada, ya que al aumentar la carga orgánica en el proceso se evidencia un nivel de saturación inicial en la DA. Esta saturación puede generar que los niveles de ácidos grasos volátiles se eleven, provocando un efecto de inhibición en los microorganismos anaerobios. Un valor óptimo de RIS en el proceso de DA asegura la presencia de los tres grupos de bacterias necesarios para la biodegradación de la materia orgánica (Chen y Hashimoto, 1996; Eskicioglu y Ghorbani, 2011).

1.3.4 Azúcares Reductores Totales (ART)

El rendimiento de la etapa hidrolítica de la DA puede ser expresado por la cinética de consumo de ART. La alta concentración inicial de ART favorece el arranque del proceso y promueve el buen funcionamiento del reactor durante el proceso de DA. Los ART son compuestos solubles que son fácilmente metabolizados por los microorganismos, permitiendo llevar a cabo las etapas de la DA (Madigan *et al.*, 2006).

1.3.5 Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

Los ácidos grasos volátiles son el resultado de la fase de acidogénesis y son principalmente ácido acético, propiónico y butírico (Pandey *et al.*, 2011).

La inhibición de los microorganismos metanogénicos debido a la toxicidad, a cambios en los factores ambientales, o a las condiciones de limitación de nutrientes provoca la acumulación de AGV principalmente acetato, además de hidrógeno, ocasionando a su vez una disminución de los valores de pH. El efecto negativo causado por la acumulación de AGV se puede mitigar manteniendo el pH dentro del rango óptimo (Appels *et al.*, 2008; Wang *et al.* 1999).

1.3.6 Alcalinidad Total (AT)

Es la capacidad del sistema para soportar y amortiguar la presencia de ácidos sin disminuir su pH. Esto ocurre por el efecto buffer debido a la presencia de iones hidroxilo (OH^-), Carbonato (CO_3^{2-}) y bicarbonato (H_2CO_3^-). Valores típicos de alcalinidad para estos procesos están entre 1500 y 7500 mg CaCO_3/L (Castillo E, *et al.* 2007; Charles *et al.*, 2009).

1.3.7 Potencial de Biometanización (PBM)

El PBM determina el máximo rendimiento de metano y la capacidad de biodegradabilidad de un sustrato. En los ensayos de PBM se debe considerar emplear un inóculo adecuado, óptimas condiciones ambientales y una adecuada concentración de sustrato dentro de los bioreactores.

El PBM puede describirse como el volumen de metano acumulado (medido en condiciones estándar de presión y temperatura) por la cantidad de sustrato adicionado en términos de sólidos volátiles ($\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg SV}$) (Angelidaki *et al.*, 2009; Raposo *et al.* 2006).

1.4 GRUPOS TRÓFICOS PRESENTES EN LOS CONSORCIOS ANAEROBIOS DEL LODO ESTIÉRCOL DE CERDO

Para que el proceso de digestión anaerobia sea estable, debe existir una relación simbiótica equilibrada entre los diferentes grupos tróficos. Esta puede ser alterada por la presencia de microorganismos competitivos o por fallas en la operación del reactor (sobrecarga, toxicidad, deficiencia de nutrientes, etc.) (Castro, 2011).

En la tabla 1 se presenta el recuento de grupos tróficos realizado en estudios anteriores mediante la Técnica del Número Más Probable (NMP) descrita en el *Stándard Methods* (Castro, 2011).

Tabla1. Recuento de los grupos tróficos presentes en el LEC.

GRUPOS METABÓLICOS	LEC NMP/g SSV
Bacterias Anaerobias Estrictas (BAS)	$3,5 \times 10^9$
Bacterias Fermentadoras de Glucosa (BFG)	$8,0 \times 10^{11}$
Bacterias Fermentadoras de Lactato (BFL)	$1,7 \times 10^9$
Bacterias Sulfato Reductoras del Acetato (BSRA)	$1,8 \times 10^6$
Bacterias Metanogénicas del Acetato (BMA)	$1,3 \times 10^9$
Bacterias Metanogénicas Hidrogenofilicas (BMH)	$2,5 \times 10^7$
Bacterias Metanogénicas del Metanol (BMM)	$2,0 \times 10^4$

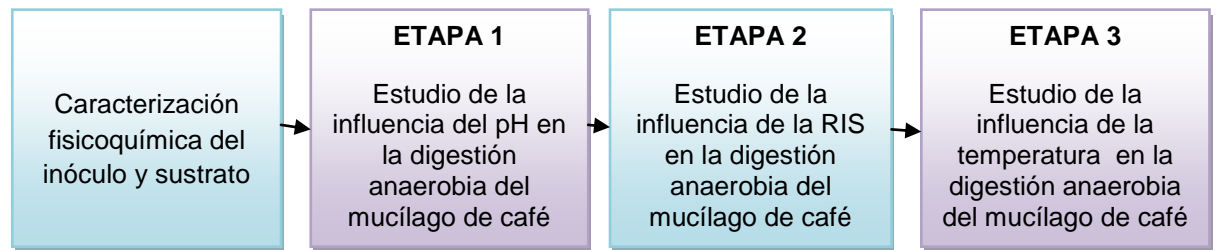
Fuente: (Castro, 2011).

Según el estudio realizado se concluye que la densidad de Metanógenos presentes en el LEC es suficiente para lograr estabilidad en el proceso y generar rendimientos altos de producción de CH_4 (Castro, 2011).

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Un diagrama general de la metodología empleada se presenta en la figura 4.

Figura 4. Diagrama de la metodología experimental para el proceso de DA de MC.



Mucílago de Café (MC): sustrato para la DA

El MC, que se utilizó como sustrato en la DA, se adquirió durante el proceso de beneficio de café de la Finca El Progreso del municipio de San Gil, Santander. Este muestreo se realizó teniendo en cuenta el protocolo de toma de muestra de campo (Anexo 1). A la muestra de MC se le realizó una caracterización fisicoquímica, incluyendo relaciones C/N, pH, sólidos totales y volátiles (ST, SV), densidad, humedad, cenizas.

Lodo Estiércol de Cerdo (LEC): inóculo para la DA

El LEC, que se utilizó como inóculo en la DA, se adquirió en la porcícola “Puerto Ferrayo” ubicada en el municipio de la Mesa de los Santos, Santander. A la muestra de LEC se le realizó una caracterización fisicoquímica, incluyendo pH, nitrógeno amoniacal, nitrógeno total, carbono orgánico oxidable, ST, SV.

La caracterización fisicoquímica de MC y LEC fue realizada por el Laboratorio Químico de Consultas Industriales UIS (Anexo 2).

Proceso de DA del MC

La DA de MC se llevó a cabo mediante un proceso discontinuo en botellas de vidrio de 500 mL. Las cuales se gasificaron con CO₂, para garantizar anaerobiosis. La influencia de variables como pH, RIS y temperatura fueron evaluadas mediante pruebas preliminares, en un período de 18 días. A los bioreactores se adicionó

una cantidad determinada de sustrato (MC) e inóculo (LEC) y posteriormente se taparon con corchos de butilo y se sellaron con agrafes de aluminio.

Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Se incluyó un experimento denominado blanco que contenía una cantidad fija de inóculo, completando el volumen de operación con agua destilada. Para obtener el volumen final de CH₄ producido por el sustrato se restó el volumen de metano producido por el blanco.

Para el estudio de pH, RIS y temperatura se trabajó teniendo en cuenta las siguientes variables de operación y variables a monitorear.

En la tabla 2 se presentan las variables de operación establecidas para la DA de MC.

Tabla 2. Condiciones de operación para la DA de MC.

Variable de entrada	Unidad
Volumen Reactor	500 mL
Temperatura	°C
Volumen de Operación	mL
Cantidad Sustrato	mL
Cantidad Inóculo	mL
RIS	g SV/g SV
Tiempo de operación	18 días

En la tabla 3 se presentan las variables a monitorear, la periodicidad de medición y el método utilizado para cuantificar el rendimiento del proceso de DA de MC.

Tabla 3. Variables a monitorear, periodicidad de la medición y método analítico.

VARIABLES A MONITOREAR	UNIDAD	PERIODICIDAD	MÉTODO
Concentración de ART	g/L	Diario	Colorimétrico usando ácido 3-5 dinitrosalicílico (DNS) (Anexo 3)
Concentración de AGV,AT	mg/L	Cada 3 días	Titulación (Anexo 4)
Concentración de SV	g/L	Cada 3 días	Gravimétrico (Anexo 5)
pH		Cada 3 días	Potenciométrico/NTC 5167
Volumen de Metano	mL	Diario	Desplazamiento alcalino (Anexo 6)

2.1 ETAPA 1. ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL pH

El proceso de DA está relativamente limitado a un intervalo de pH entre 6,8–7,2 (Madigan *et al.*, 2006; Poh y Chong, 2009; Yadvika *et al.*, 2004). El MC es un sustrato ácido con pH 4,3 por lo tanto se hace necesario evaluar la producción de CH₄ estudiando la influencia del pH.

Para el estudio del efecto del pH sobre la producción de CH₄ a partir del MC, se estudiaron 2 niveles: pH 4,3 y 7. El valor más bajo de pH corresponde al pH original del MC y el pH 7 se obtuvo con un ajuste, utilizando una solución de NaHCO₃ 1,2 N al inicio del experimento.

Los experimentos se realizaron en bioreactores de 500 mL conteniendo una RIS de 2 g SV de inóculo/g SV de sustrato, durante un tiempo de operación de 18 días a 39°C. Los valores de RIS y temperatura se establecieron como valores óptimos de la literatura (Yadvika *et al.*, 2004; Raposo *et al.*, 2006).

2.2 ETAPA 2: INFLUENCIA DE LA RELACION INÓCULO/SUSTRATO

Para evaluar la influencia de la RIS se realizaron cuatro experimentos. El volumen de sustrato se varió para cada RIS dejando constante el volumen de inóculo como se indica en la tabla 4.

Tabla 4. Cantidades agregadas de sustrato para cada RIS

RIS (g SV de inóculo/ g SV de sustrato)	Cantidad de inóculo/ cantidad de sustrato (mL de inóculo/ mL de sustrato)
1	160/210
1,5	160/145
2	160/108
2,5	160/87

La DA fue evaluada durante un tiempo de operación de 18 días a 39°C con un ajuste de pH 7. Los valores de RIS seleccionados para el presente estudio fueron determinados mediante una revisión bibliográfica. Estos valores se encuentran dentro del rango de 0,5 a 3 g SV de inóculo/g SV sustrato (Anexo 7)

La selección de la mejor RIS se realizó teniendo en cuenta el rendimiento de producción de metano ($Y_{P/S}$), expresado en $m^3 CH_4/kg$ de SV de MC, garantizando un mejor aprovechamiento de sustrato. El $Y_{P/S}$ se calculó dividiendo el volumen de metano 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:

Ecuación 1

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{\Delta S}$$

Donde:

P: producto formado.

S: Cantidad inicial de sustrato en g SV.

2.3 ETAPA 3: ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

En los procesos anaeróbicos la temperatura tiene un efecto significativo sobre la cinética de crecimiento, el rendimiento de biomasa y producto (Yadvika *et al.*, 2004).

En esta etapa se estudió la influencia de la temperatura en la producción de CH_4 se realizaron tres experimentos a $25^\circ C$ $30^\circ C$ y $39^\circ C$ con el fin de encontrar la temperatura más favorable para la DA del MC, y poder evitar la necesidad de calentamiento del bioproceso operando dentro del rango mesofílico con valores bajos de temperatura.

La DA fue evaluada durante un tiempo de operación de 18 días con un ajuste de pH 7 y una RIS de 2 g SV de inóculo/ g SV de sustrato. Estos valores fueron establecidos como condiciones favorables para la producción de CH_4 en el estudio de las etapas anteriores.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL SUSTRATO

En la tabla 5 se presenta la caracterización fisicoquímica del MC con el fin de determinar el contenido de materia orgánica biodegradable.

Tabla 5. Caracterización fisicoquímica del sustrato

Parámetro	Valor
Relación C/N	20,4
pH (Unidades de pH)	4,3
Cenizas (%)	1,39
Humedad (%)	95,88
Densidad (g/mL)	1,02
Sólidos Totales (g/L)	25,47
Sólidos Volátiles (g/L)	17,03

El MC posee una relación C/N de 20,4 indicando que es una biomasa viable para la producción de biogás mediante DA (Li *et al.*, 2011). Sin embargo el pH del MC es ácido (4,3) y las investigaciones reportan un pH óptimo para la DA entre 6,8–7,2 (Poh y Chong, 2009; Yadvika *et al.*, 2004). Los valores de los parámetros medidos se encuentran dentro del rango reportado por diferentes autores (Mata *et al.*, 2000; Raposo *et al.*, 2011).

3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL INÓCULO

En la tabla 6 se presenta la caracterización fisicoquímica del inóculo LEC.

Tabla 6. Caracterización fisicoquímica del inóculo LEC

Parámetro	Valor
pH (Unidades de pH)	7,5
Nitrógeno Amoniacal (mg N-NH ₃ /L)	1321
Nitrógeno Total (mg N/L)	1680
Sólidos Totales (g/L)	74,4
Sólidos Volátiles (g/L)	42,2
Carbono Orgánico Oxidable Total (mg/L)	4905

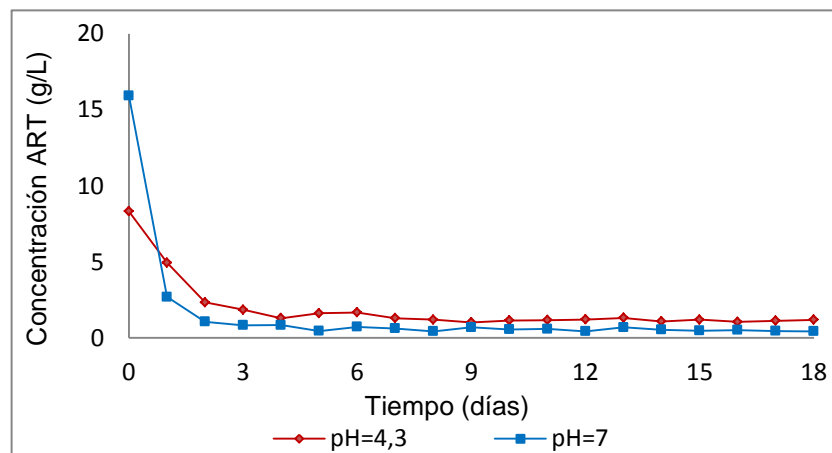
El inóculo tiene un pH mayor a 7, el cual mejora la digestión anaerobia. La cantidad de nitrógeno amoniacal puede causar inhibición, ya que de acuerdo a

algunas investigaciones concentraciones entre 50 y 1000 mg/L no presentan reacciones adversas, pero concentraciones superiores a 1500 mg/L presentan inhibición de la metanogénesis por efecto tóxico (Strik *et al.*, 2006). El nitrógeno amoniacal presente en el estiércol de cerdo es menor a 1500 mg/L lo cual favorece la DA.

3.3 INFLUENCIA DEL pH EN LA DA DE MC

En la figura 5 se muestra la cinética de consumo Azúcares Reductores Totales (ART) para una RIS 2 T=39°C pH de 4,3 y 7 durante la DA del MC.

Figura 5. Cinética de Consumo de ART a RIS 2 T=39°C pH= 4,3 y pH= 7.

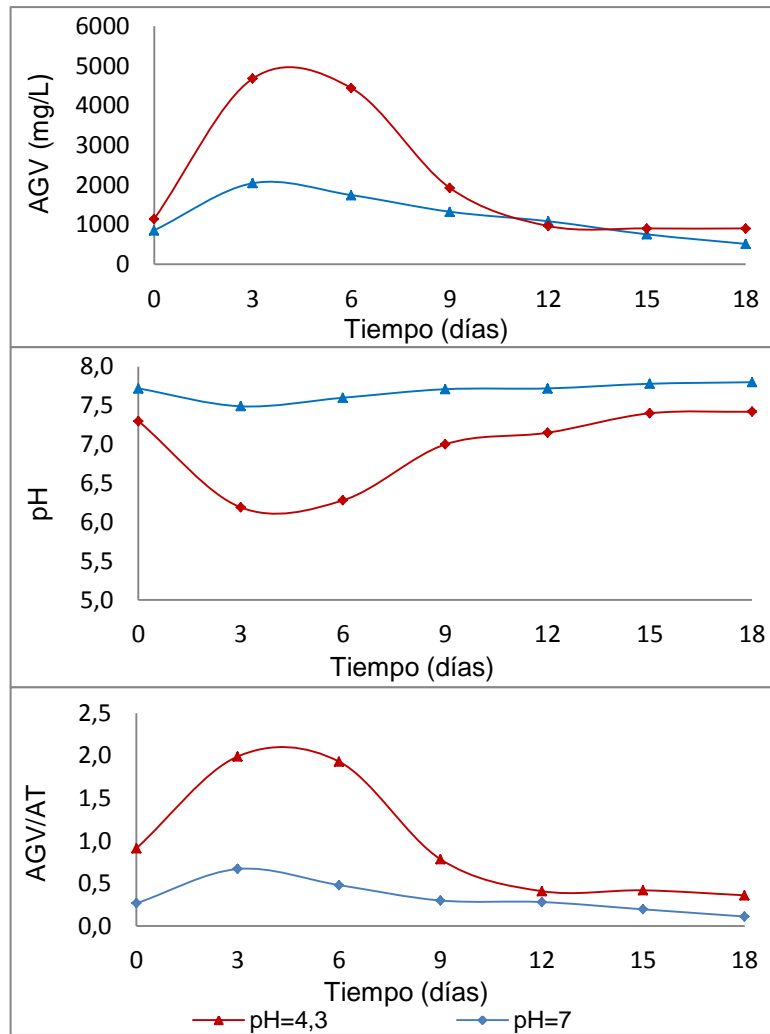


No se incluyen barras de error debido a que es de $\pm 1\%$

La cinética de consumo de ART para los dos experimentos presenta inicialmente una alta concentración de ART con un rápido consumo, lo cual favorece el arranque del reactor alcanzando un alto rendimiento de la hidrólisis. Este comportamiento es coherente con el metabolismo de las bacterias facultativas encargadas de llevar a cabo las etapas de hidrólisis y acidogénesis (Angelidaki *et al.* 2011). A partir del día 2 la concentración de ART se mantuvo constante, lo que indica estabilidad dentro del bioreactor.

En la figura 6 se presentan el comportamiento de la concentración AGV, pH y la relación AGV / AT a 39°C y diferente pH.

Figura 6. Concentración de AGV, pH y relación AGV/ AT para la DA de MC a pH=4,3 y pH=7 RIS 2 T=39°C



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

En la figura 6 se muestra que el comportamiento de AGV, pH y relación AGV/AT presentan una misma tendencia durante la DA para los dos experimentos.

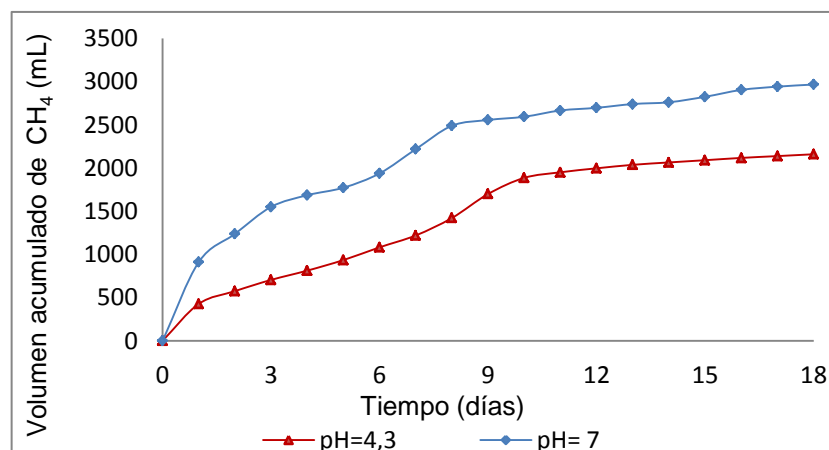
La concentración de AGV inicia con un crecimiento durante los tres primeros días, luego se evidencia un consumo durante la DA. Este consumo en la concentración de AGV favorece la producción de acetato y subsecuentemente la producción de metano (Wang *et al.* 1999). Los AGV a pH 4,3 presentaron valores en un intervalo de 900 mg/L a 4680 mg/L que comparados con los obtenidos a pH 7 son muy altos, esto ocasionó una disminución drástica en el pH de 7,3 a 6,2. La DA con un

ajuste de pH 7 mantuvo el valor de óptimo de pH cercano al nivel neutro en un rango de 7,5 a 7,8 durante la DA. Los valores de AGV reportados en las pruebas son menores a los 6000 mg/L de AGV, según la literatura valores mayores a esta concentración de AGV presenta un efecto inhibitorio en la DA (Appels *et al.*, 2008). Sin embargo con un pretratamiento en el pH de MC se presenta una mejor estabilidad del bioproceso.

El rango apropiado de AGV/AT para la DA reportado por la literatura se encuentra entre 0,1-0,4 sin riesgo de acidificación en el bioreactor (Raposo *et al.*, 2011). La relación AGV/AT a pH 4,3 reportó valores entre 0,4-1,9 presentando una falla en el bioproceso. El experimento a pH 7 mantuvo la relación AGV/AT en el rango de 0,1-0,6, cercano al rango apropiado para la DA. Esto se debe a valores altos en la AT los cuales ejercieron un efecto tampón sobre el bioproceso, soportando y amortiguando la presencia de ácidos sin disminuir su pH, favoreciendo el desarrollo de los microorganismos metanogénicos. (Charles *et al.*, 2009).

En la figura 7 se muestra la cinética de producción de CH₄ para una RIS 2 T=39°C pH de 4,3 y 7 durante la DA del MC, teniendo en cuenta la corrección temperatura y presión estándar.

Figura 7. Cinética de producción de CH₄ RIS 2 T=39°C pH=4,3 y pH=7.



La cinética de producción de CH₄ para los dos valores de pH presenta la misma tendencia de crecimiento y estabilización alcanzando su máxima producción a los

11 días de la DA. Sin embargo se aprecian diferencias significativas en la producción de CH₄ con ajuste pH 7.

El volumen acumulado de metano fue de 2770,8 mL y 2158 mL para pH de 7 y 4,3 respectivamente. Se observa que a pH 7 hubo una mayor producción de CH₄ en el primer día de la DA. Esto se debe a que cada grupo bacteriano que contribuye en el bioproceso tiene un pH óptimo dentro del cual puede crecer. Un pH de 4,3 logra inestabilidad llevando a una acumulación de AGV causando la caída del pH (Madigan *et al.*, 2006). De esta manera se demostró el efecto negativo que causan los valores de pH ácidos en la estabilización de los bioreactores (Poh y Chong, 2009).

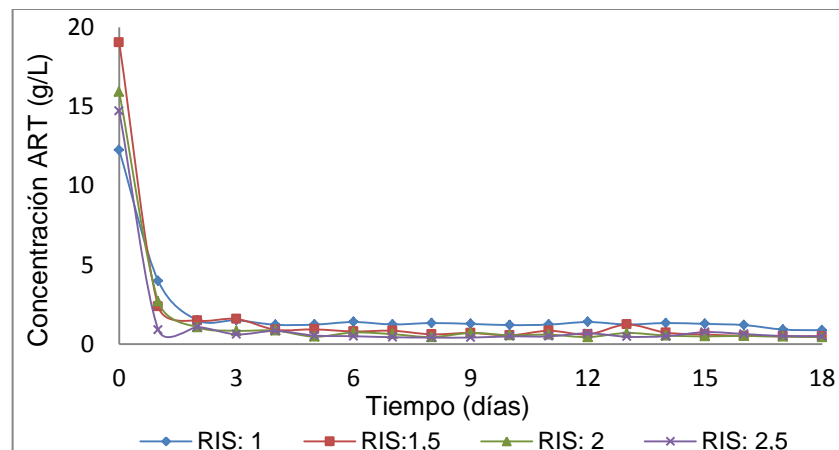
La producción de metano con un ajuste de pH 7 es comparable con valores de producción utilizando otro tipo de sustrato como: Aguas residuales provenientes de la industria palmera y el Bagazo de fique, con un volumen de 2740 ml y 2285 ml de metano, respectivamente (Castro, 2011, Herrera y Niño, 2012).

Teniendo en cuenta la producción de metano y estabilidad del bioproceso se evidencia la necesidad de ajustar el pH del MC para posteriores estudios.

3.4 INFLUENCIA DE LA RELACIÓN INÓCULO/SUSTRATO EN LA DA DE MC

En la figura 8 se muestran la cinética de Consumo de Azúcares Reductores Totales (ART) durante la DA de MC para diferente RIS T=39°C y ajuste de pH 7.

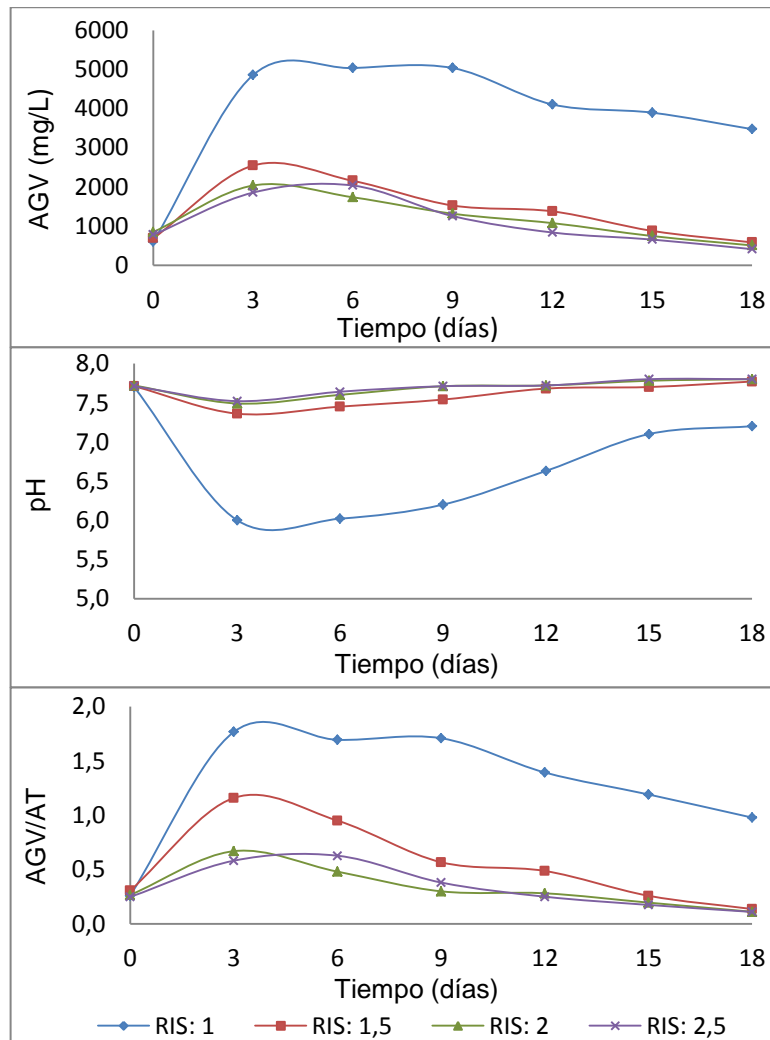
Figura 8. Cinética de Consumo de ART a diferentes RIS T=39°C pH=7



La cinética de consumo de concentración de ART durante los dos primeros días de la DA es rápida para todos los experimentos. Después de este tiempo la concentración de ART se mantiene constante, evidenciando la estabilidad de la actividad hidrolítica (Angelidaki et al., 2011; Madigan et al., 2006).

En la figura 9 se observa el comportamiento de los AGV, pH y relación AGV/AT. Para diferentes RIS T=39 °C y ajuste de pH 7 en la DA de MC.

Figura 9. Concentración de AGV, pH, AGV/AT a diferentes RIS T=39°C pH=7



En la figura 9 se muestra el comportamiento de los AGV para todas las RIS, presentando un crecimiento durante los tres primeros días de la DA, y luego una disminución hacia el final del proceso. Este consumo en la concentración de AGV

favorece la producción de acetato y subsecuentemente la producción de metano (Wang *et al.*, 1999; Raposo *et al.*, 2009).

La RIS 1 alcanzó la máxima producción de AGV a 5040 mg/L y presentó un lento consumo de AGV, Sin embargo este valor de AGV se encuentra dentro del rango aceptable para una adecuada DA. (Appels *et al.*, 2008; Castillo *et al.*, 2007).

El pH en todos los experimentos disminuyó en los primeros días de la DA de MC. En el día 3 obtuvo el valor mínimo y a partir de ahí empezó a incrementarse manteniéndose constante al final del bioproceso. Los valores más bajos de pH fueron para la RIS 1 lo cual se debe a los altos valores en la concentración de AGV. Para las RIS 1,5 2 y 2,5 el valor de pH se mantuvo cerca al rango apropiado de 6,8-7,2 reportados en la literatura (Poh y Chong, 2009; Yadvika *et al.*, 2004).

En el comportamiento de la relación AGV/AT se observa la misma tendencia para todas las RIS, sin embargo se observa que para las RIS 1 y 1,5 se alcanza valores más altos entre 0,2-1,8 lo cual se traduce a un desbalance en la DA, generando una acumulación de AGV (Rijn *et al.*, 1994). El rango apropiado de AGV/AT para la DA reportado por la literatura se encuentra entre 0,1-0,4 sin riesgo de acidificación en el bioreactor (Raposo *et al.*, 2011). Para las RIS 2 y 2,5 se obtuvo valores de AGV/AT en el rango de 0,1-0,65 debido a que el MC es un sustrato ácido, sin embargo no se presenta inhibición en el proceso.

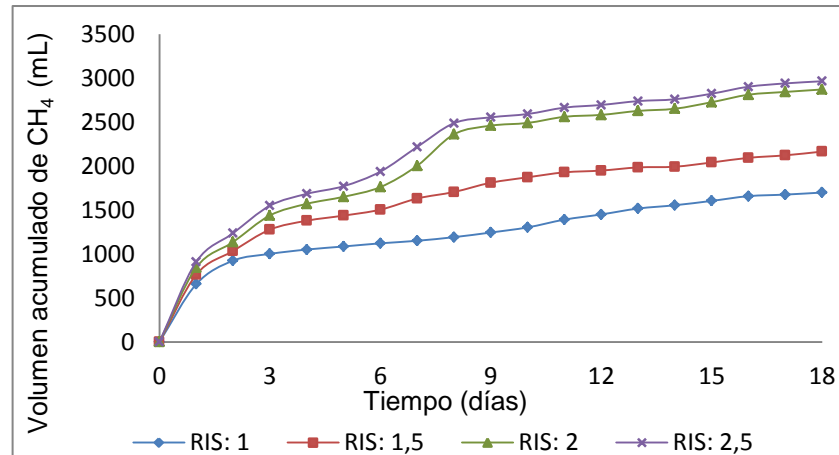
En la tabla 7 se presenta el volumen acumulado de CH₄ y rendimiento ($Y_{P/S}$) para cada RIS durante el proceso de DA del MC a T=39°C y ajuste de pH 7

Tabla 7. Volumen acumulado y rendimiento de producción de metano.

RIS	Volumen acumulado de metano (mL)	$Y_{P/S}$ (m ³ de CH ₄ /kg SV de sustrato)
1	1639,5	0,25
1,5	2089,4	0,41
2	2770,8	0,73
2,5	2861,3	0,81

En la figura 10 se muestran la cinética de producción de CH₄ durante la DA de MC para diferente RIS a T=39°C y ajuste de pH 7.

Figura 10. Cinética de producción de CH₄ a diferentes RIS T=39°C pH=7

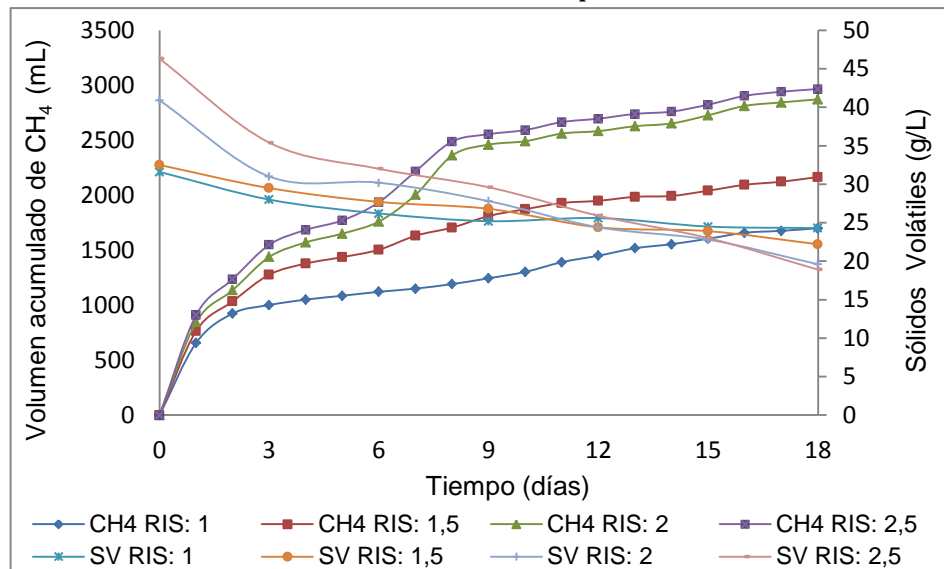


En la figura 10 se observa un arranque favorable para la DA en todos los experimentos, sin embargo a partir del segundo día se observan diferencias significativas en la producción de metano.

Como se presenta en la tabla 7 la mayor producción de metano fue para la RIS 2,5 con un volumen de 2861,3 mL y la menor producción fue para la RIS de 1 con un volumen de 1639,5 mL. Esto demuestra que la producción de metano es inversamente proporcional a la carga orgánica adicionada, mostrando una disminución significativa del rendimiento de metano al disminuir el valor de RIS. (Eskicioglu y Ghorbani, 2011). Con el fin de aprovechar el sustrato sin afectar significativamente la producción de metano, se seleccionó la RIS 2 como favorable para el bioproceso con un rendimiento de 0,73 m³ CH₄/kg de SV de MC adicionado. Éste valor es mayor comparado con el rendimiento de 0,3 y 0,47 m³ CH₄/kg de SV obtenido en la DA de las aguas residuales de la industria palmera y desechos de alimentos, respectivamente (Herrera y Niño, 2012; Cho *et al.*, 1995).

En la figura 11 se evidencia el proceso de DA a partir de MC mediante la evolución de sólidos volátiles en comparación con el volumen de CH₄ acumulado. Para diferentes RIS a T=39 °C y ajuste de pH 7.

Figura 11. Evolución de sólidos volátiles en comparación con el volumen de CH₄ acumulado T=39°C pH=7



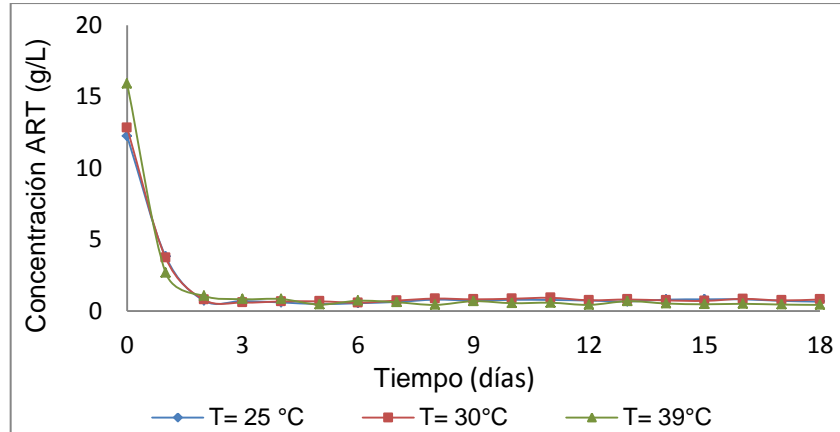
Como se aprecia en la figura 11 a medida que disminuyen la concentración de SV aumenta la producción de CH₄, siendo un comportamiento propio de la DA. La máxima producción de CH₄ es alcanzada por la RIS 2,5, por ende obtuvo la mayor remoción de materia orgánica representada por la concentración en SV de 59,18%p. El porcentaje de remoción de sólidos volátiles para RIS 1 1,5 y 2 reportó valores de 23,10%p 31,60%p 52,1%p respectivamente.

Los porcentajes de remoción de sólidos volátiles para la DA a partir del MC son menores a los reportados en el estudio sobre el efecto de la RIS en la DA a partir de vinazas provenientes de una planta de bioetanol, con valores que se encuentran dentro del rango de 83%-94%p de remoción de Sólidos Volátiles (Eskicioglu U y Ghorbani M. 2011). Sin embargo en este estudio se alcanzó altos rendimientos en la producción de metano para las RIS de 2 y 2,5.

3.5 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA DA DE MC

En la figura 12 se muestra la cinética de consumo de la concentración de Azúcares Reductores Totales (ART) en la DA de MC, para una RIS 2 a T=25°C 30°C 39°C y ajuste de pH 7.

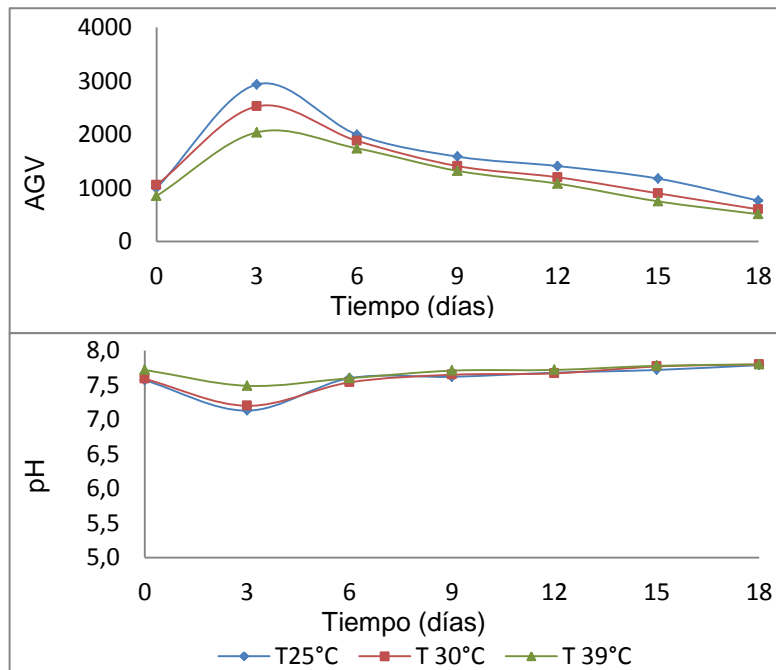
Figura 12. Cinética de Consumo de ART a RIS 2 T=25°C 30°C 39°C pH=7



La cinética de los ART muestra al inicio del bioproceso un rápido consumo logrando una estabilidad en el segundo día de DA para las tres temperaturas. Se observa que la actividad hidrolítica no se ve afectada por el cambio de temperatura, ya que la cinética de consumo de ART a 25 °C 30 °C y 39°C muestra un comportamiento análogo hasta el final de la digestión.

En la figura 13 se observa el comportamiento de la concentración de AGV, pH durante la DA a T=25° 30°C y 39°C. RIS 2 y ajuste de pH 7.

Figura 13. Concentración de AGV, pH, T=25°C 30°C 39°C y pH=7



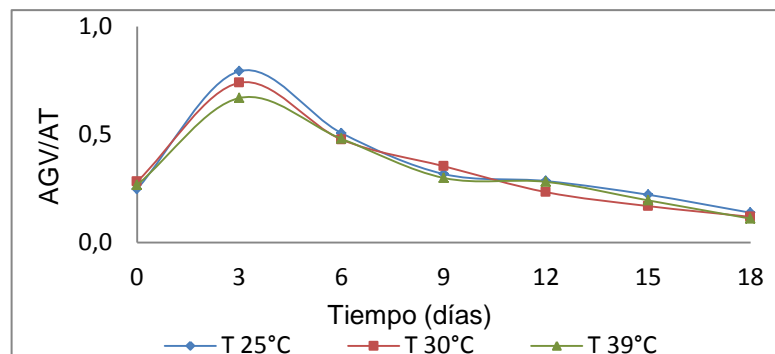
Como se muestra en la figura 13 todos los experimentos presentan una misma tendencia en el comportamiento de AGV, pH durante la DA.

La concentración de AGV inicia con un crecimiento durante los tres primeros días, luego se evidencia un consumo de AGV hasta el final de la DA. La máxima producción de AGV fue de 2937 mg/L, 2525 mg/L y 2040 mg/L para temperaturas de 25°C, 30°C y 39°C, respectivamente. Estos valores no superan el valor de concentración mínima de inhibición de 6000 mg/L de AGV (Appels *et al.*, 2008; Castillo *et al.* 2007). Los resultados muestran que para el rango mesofílico el proceso de DA se desarrolla convenientemente para convertir los AGV en acetato y subsecuentemente en metano.

El comportamiento del pH presenta una disminución durante el arranque de la DA. A medida que se reducen los AGV el pH aumenta logrando una estabilización. Los valores de pH reportados a temperaturas de 25°C 30°C y 39°C se mantuvieron dentro del rango apropiado de 6,8-7,2 reportados en la literatura (Poh y Chong, 2009; Yadvika *et al.*, 2004). Sin embargo a 39°C se presenta una menor caída del pH manteniendo la estabilidad del proceso.

En la figura 14 se observa el comportamiento de la relación AGV/AT durante la DA a T=25° 30°C y 39°C. RIS 2 y ajuste de pH 7.

Figura 14. Relación AGV/AT, RIS 2 T=25°C 30°C 39°C pH=7

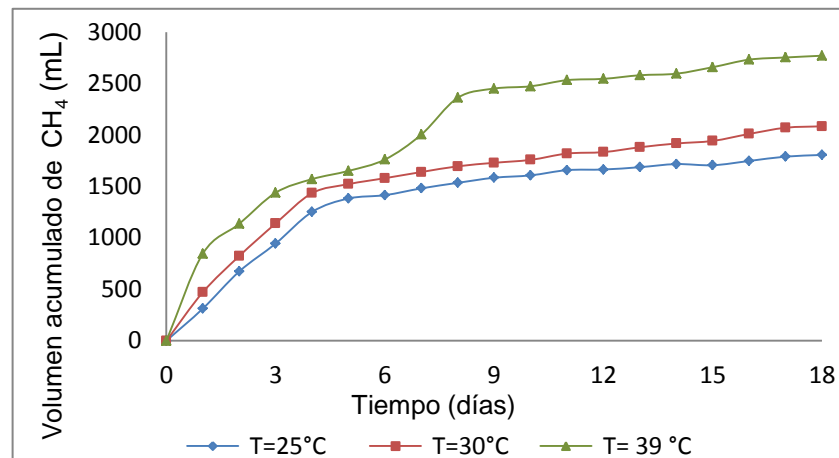


El comportamiento de la relación AGV/AT en todos los experimentos presenta una misma tendencia durante la DA. La relación AGV/AT en este estudio obtuvo valores en el rango de 0,1-0,8 sin presentar inhibición. Sin embargo a 39°C se

presenta los valores más bajos de AGV/AT logrando una mejor estabilización del bioproceso. La literatura recomienda un rango de AGV/AT entre 0,1-0,4 sin riesgo de acidificación, una vez estabilizado el proceso (Raposo et al., 2006).

En la figura 15 se muestra la cinética de producción de CH₄ en la DA de MC. Para una RIS 2 T= 25°C 30°C 39°C y ajuste de pH 7 teniendo en cuenta la corrección temperatura y presión estándar.

Figura 15. Cinética de producción de CH₄ a RIS 2 T=25°C 30°C 39°C pH=7



En la figura 15 se observa que la cinética de producción de metano para todos los experimentos muestra la misma tendencia, con un arranque favorable para la DA.

El volumen de metano obtenido fue de 1806,2 mL 2084,6 mL 2770,8 mL a 25°C 30°C y 39°C, respectivamente. La mayor producción de metano se obtuvo a 39°C y la menor a 25°C. Esto se debe a que la temperatura afecta directamente la velocidad de las reacciones biológicas, influenciando la actividad metabólica de los microorganismos que intervienen en la DA. A bajas temperaturas una mayor cantidad de materia orgánica permanece sin degradarse debido a que la hidrólisis de sólidos es más lenta (Appels *et al.*, 2008). La producción de CH₄ obtenida en este estudio es comparable con la reportada en el estudio de la influencia de carga orgánica y temperatura del proceso de DA del bagazo de fique con volúmenes de metano de 1700 mL y 2400 mL a 21°C y 39°C, respectivamente (Gómez y Parra, 2011).

4. CONCLUSIONES

El lodo estiércol de cerdo es un inóculo adecuado para la degradación de sustratos como el mucílago de café. Estos consorcios exhiben eficientes actividades hidrolíticas y metanogénicas. Así como una buena afinidad al sustrato.

Se determinó que para la producción de biogás a partir de mucílago de café es necesario realizar un control de pH ya que la mejor producción se obtuvo a pH 7 con un volumen de 2770,8 mL de metano.

La producción de biogás mediante DA de mucílago de café, depende de la relación inóculo/ sustrato y de las condiciones de operación. Se seleccionó la RIS 2 como favorable para el aprovechamiento del sustrato con una producción de 2770,8 mL de metano, un rendimiento de $0,73 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ de sustrato adicionado y una remoción de sólidos volátiles de 52,1% a temperatura de 39 °C y pH 7.

Se observó que un aumento en la temperatura permite incrementar la producción de metano logrando una estabilización en el bioproceso. La mayor producción de metano se obtuvo a 39° C con un volumen de 2770,8 mL de metano.

Esta investigación muestra que es viable la producción de metano a partir de 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.

BIBLIOGRAFÍA

ANGELIDAKI, I. KARAKASSHEV, D. BATSTONE, D. PLUGGE, C. STAMS, A. *Bionethanation and its potencial. Methods in Metano Metabolim*. Editos Rosenzweig and Ragsdale. Editorial Elsevier Applied Science, Ingraterra, 2011, p. 328-347.

APPELS, L. BAEYENS, J. DEGREVE, J. DEWIL, R. *Principles and potential of the digestion of waste- activated sludge*. Progress in Energy and Combustion Science., 34. 2008, p. 755-781.

CASTILLO, E. VERGARA, M. CRISTANCHO, D. ARENAS, L. MARTINEZ, A. HERNANDEZ, M. LUNA, H. CASTILLO, J. SANDOVAL, C. *Digestión anaerobia una alternativa para el tratamiento de residuos sólidos urbanos*. Universidad Industrial de Santander, Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales. Bucaramanga. 2007, p. 13-21.

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.

CHALARCA, J. *Vida y hechos del café en Colombia*. Primera edición. Santafé de Bogotá D.C. Colombia, 1998, p. 11-14.

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.

CROTTI, C. MILLER, S. Implementación del modelo Cropsyst para la simulación del rendimiento del cultivo de maíz en una región de Argentina. Centro de Investigaciones, observación y monitoreo territorial y ambiental. Santa fe. Argentina. 2006, p. 2-4.

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.

ESQUIVEL, P. JIMENEZ, V. *Functional properties of coffee and coffee by-products*: Food Research International, Costa Rica. 2011.

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, (Federecafé). *Descripción del Proceso Productivo y Beneficio de café*. Guía Ambiental para el Sector Cafetero. Capítulo 6. Segunda edición. Marzo 2011, internet. <<http://www.federaciondecafeteros.org>>.

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, (Federecafé). Publicaciones *.El Comportamiento de la Industria Cafetera de Colombiana*. Marzo 2011. Internet. <<http://www.federaciondecafeteros.org>>.

GOMEZ, S. PARRA, E. *Influencia de la carga de sustrato y la temperatura sobre los parámetros cinéticos de la etapa hidrolítica del proceso de digestión anaerobia del bagazo de fique*. Trabajo de investigación. Universidad Industrial de Santander, Colombia, 2011, p. 27-28.

GONZALEZ.C, GARCIA.P. *Impact of substrate to inoculum ratio in anaerobic digestion of swine slurry*. Biomass and bioenergy 3. 2009, p. 1065–1069.

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.

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

MADIGAN, M. MARTINKO, J. PARKER, J. BROCK. *Biología de los microorganismos*. Pearson Prentice Hall., 10, 2006, p. 151-168.

MATA, A. MACE, S. LLABRES, P. *Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives*. Bioresource Technology, 2000, p. 3- 16.

MECHAN, S. PARRA, L. *Producción de metano a partir de bagazo de fique pretratado con NaOH*. Trabajo de investigación. Universidad Industrial de Santander, Colombia. 2010, p. 27.

PANDEY, P. NDEGWA, P. SOUPIR, M. ALLDREDGE, R. PITTS, M. *Efficacies of inocula on the startup of anaerobic reactors treating dairy manure under stirred and unstirred conditions*. Biomass and bioenergy 35. 2011, p. 2705- 2720.

POH.P, CHONG. M. *Development of anaerobic digestion methods for palm oil*. Bioresource Technology.,100. 2009, p. 1–9.

QUINTERO, M. *Estudio de consorcios microbianos para la producción de biogás a partir de residuos del fique*. Trabajo de Investigación. Universidad Industrial de Santander, Colombia. 2011, p. 24-64.

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, 2006, Vol 41, p. 1444-1450.

RAPOSO, F. BORJA, R. MATIN, M. MARTIN, A. RUBIA, M. RINCON, B. *Influence of inoculum–substrate ratio on the anaerobic digestion of sunflower oil cake in batch mode: Process stability and kinetic evaluation*. Chemical Engineering Journal.,149. 2009, p. 70-77.

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.

- RIJN, J. FONAREV, N. BERKOWITZ, B. *Anaerobic treatment of intensive fish culture effluents: digestion of fish feed and release of volatile fatty acids.* Aquaculture., 133. 1995, p. 9-20.
- RODRÍGUEZ, N. ZAMBRANO, D. *los productos del café: fuente de energía renovable.* Programa de investigación científica, Chinchiná (Colombia), Cenicafé. Avances técnicos., 393. 2010, p. 3.
- ROGRÍGUEZ, N. *Seminario Internacional Gestión integral de residuos solidos y peligrosos, siglo XXI. Manejo de Residuos en la Agroindustria Cafetera.* Centro Nacional de Investigaciones de café (Cenicafé). Chinchiná, Colombia. 1999, p. 10.
- RUBIA, M. RAPOSO, F. RINCON, B. BORJA, R. *Evaluation of the hydrolytic-acidogenic step of a two-stage mesophilic anaerobic digestion process of sunflower oli cake.* Bioresource Technol., 100. 2009, p 4133-4138.
- SHUJUAN, Z. XIANZHENG, Y. XIASHOUANG, S. YANLING Q. *Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and orthophosphate release from anaerobic digestion of Microcystis spp.* Journal of Hazardous Materials., 178. 2010, p. 89–93.
- STRIK, A. DOMNANOVICH, M. HOLUBAR, P. *A pH based control of ammonia in biogas during anaerobic digestion of artificial pig manure and maize silage.* Process Biochemistry, 2006, p. 1235–1238.
- WANG, Q. KUNINOBU, M. OGAWA, H. KATO, Y. *Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion.* Biomass & Bioenergy, . 16. 1999, p. 407-416.
- YADVIKA. SANTOSH. SREEKRISHNAN, T. SANGEETA, K. VINEET, R. *Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques -a review.* Bioresource Technology 95. 2004, p.1–10.

ANEXOS

Anexo A. Protocolo de recolección de muestras de mucílago de café

Objetivo: Recoger muestras de mucílago generado durante la etapa de beneficio de café.

Materiales y Reactivos:



- Nevera de Icopor
- Hielo
- Guantes de látex
- Tiras reactivas de pH
- Frascos de un litro
- Cinta de enmascarar
- Marcadores permanentes

Procedimiento

Para la toma de muestras de mucílago es necesario realizarla en los meses de recolección de fruto maduro, que va desde finales de octubre a finales de enero de cada año.

1. Solicitar al manipulador de las máquinas de beneficiado de la finca que empiece el proceso de beneficiado del café cereza.
2. Recoger en los frascos el mucílago que se va generando en la etapa de desmucilaginado mecánico.
3. Medir el pH, cerrar inmediatamente y rotular las muestras con nombre del lugar, día y fecha de la toma de muestra.
4. Transportar las muestras hasta el laboratorio donde se van a realizar los experimentos y mantenerlas refrigeradas hasta su posterior uso.

Anexo B. Caracterización fisicoquímica del mucílago de café y del lodo estiércol de cerdo

	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
Ciente:	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

	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.	12-149	Fecha de emisión:	Abril 12 de 2012
Cliente:	HUMBERTO ESCALANTE		
Dirección del cliente:	Universidad Industrial de Santander Ingeniería Química		
Solicitud de servicio No.	12-138	No. de muestras:	02
Fecha de recepción de las muestras:	Marzo 15 de 2012		
Muestras recibidas por:	Johanna Riveros		
Fecha de análisis:	Marzo 16 de 2012 –Abril 12 de 2012		

1. ANALISIS FISICOQUIMICO

Codificación de la Muestra:	12-138-01	Tipo de muestra:	Puntual
Identificación de la muestra:	Lodo Estiércol de Cerdo		
Matriz de la muestra:	Lodo		
Muestreo realizado por:	El Cliente		
Lugar y punto de muestreo:	Universidad Industrial de Santander /Tanque de Almacenamiento		
Fecha del muestreo:	Marzo 15 de 2012		

PARAMETRO	RESULTADO	METODO
Nitrógeno Total (mg N/L)	1680	Kjeldahl / Titrimétrico
Nitrógeno Amoniacal (mg N-NH ₃ /L)	1321	Titrimétrico
Relación (C/N)	2,92	Cálculo Matemático
Carbono Orgánico Oxidable Total (mg/L)	4905	Espectrofotométrico

Anexo C. 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.

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 2mL 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 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 ESTANDAR DE GLUCOSA

Se preparan las muestras de glucosa con concentraciones conocidas, se aplica el método DNS y se lee su absorbencia 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 D. 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; a este pH. 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.

$$\text{Alcalinidad} = (B * N_{HCL} * 50.000)/V$$

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 CaCO₃/litro).

$$\text{ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES} = D * N_{NaOH} * 60.000/V$$

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.

- Biftalato de potasio
- NaOH
- HCL
- Fenolftaleína.

Anexo E. 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:

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

Procedimiento:

Sólidos volátiles

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

Análisis de la muestra

Transfiérase la muestra hasta un horno frío y caliéntese hasta $550\pm 50^{\circ}\text{C}$ e incinérese durante una hora, enfríese en desecador para equilibrar la temperatura y pésese.

Sólidos totales

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

Enfríense en el desecador, pésese y consérvese en el desecador hasta que haya de usarse.

Análisis de la muestra

Muestra líquida: agítese para homogeneizarla, a continuación colóquese de 20 a 50 g en una placa de evaporación y pésese, evapórese hasta desecación al baño maría, séquese a 103-105°C, durante una hora enfríese para equilibrar la temperatura en un desecador individual con desecante activo y pésese.

Cálculos:

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

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

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 F. Método de desplazamiento Alcalino

(Método de medición volumen de metano)

MATERIALES

- Biodigestor 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. Estudio del Arte Influencia RIS

ARTÍCULO	INÓCULO / SUSTRATO	RIS (g SV/g SV)	CONCLUSIONES	REFERENCIAS
Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests.	Aguas residuales / Maíz	3 2 1,5 1	El rendimiento de metano a diferentes relaciones, mostro solo una ligera variación en la RIS 3 con un valor medio de 211 ml de CH ₄ /g SV agregados. La RIS 1 presento una mayor velocidad de producción específica de metano, pero una menor producción a causa de la formación y estabilidad de los productos intermedios de AGV.	RAPOSO F. BANKS C. SIEGERT I. BORJA R, <i>Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests.</i> Process Biochemistry, 2006, Vol 41, p. 1444-1450.
Effect of inoculum/substrate ratio on mesophilic anaerobic digestion of bioethanol plant whole stillage in batch mode.	Lodos digestores de una planta de tratamiento de aguas residuales / Vinazas	3,67 0,92 0,46	En el rango de RIS 3,67 a 0,46 (g SV inoculo/g SV sustrato) la velocidad de biodegradación de la vinaza disminuyo significativamente al disminuir la RIS lo que indica una inhibición y una sobrecarga en el reactor sin embargo la RIS no afecto los rendimientos de metano en los días finales.	ESKICIOGLU, C. GHORBANI, M. <i>Effect of inoculum/substrate ratio on mesophilic anaerobic digestion of bioethanol plant whole stillage in batch mode.</i> Reviews, <i>Process Biochemistry</i> 2011, p.1682–1687
Influence of inoculum– substrate ratio on the anaerobic digestion of sunflower oil cake in batch mode: Process stability and kinetic evaluation.	Lodo granular de reactor anaerobio industrial para el tratamiento de aguas residuales / SuOC derivado del aceite de girasol	3,0 2,0 1,5 1,0 0,8 0,5	Los resultados demuestran la estabilidad adecuada del lote de mesófilos en el proceso de la DA. Para las RIS en el rango de 0,8 a 3,0 la producción de metano disminuyo con RIS de 0,5 que muestra la ocurrencia de una inhibición por la concentración de sustrato.	RAPOSO, F. BORJA, R. <i>Influence of inoculum– substrate ratio on the anaerobic digestion of sunflower oil cake in batch mode: Process stability and kinetic evaluation.</i> 2009. p.70-77.

Effect of feed to inoculum ratios on biogas yields of food and green wastes	Lodo anaerobio de digestores anaerobios de las aguas residuales municipales / Residuos de alimentos y recortes de césped.	5,0 4,0 3,1 1,6	El valor más alto de producción de metano se obtuvo con RIS altas. El mayo valor de producción de metano de obtuvo con una RIS de 3,1.	LIU, G. ZHANG, R. <i>Effect of feed to inoculum ratios on biogas yields of food and green wastes.</i> 2009. p. 5103–5108.
Influence of substrate-to-inoculum ratio on the batch anaerobic digestion of bean curd refuse-okara under mesophilic conditions	Lodos de depuradora de aguas residuales municipales / Cáscara de frijol.	3,0 0,9 0,6 0,1	El mayor rendimiento de metano, se obtuvo para RIS entre el rango de 0,6 a 0,9. Los rendimientos bajos de metano se obtuvieron en el rango de 1,6 a 3,0.	ZHOU, Y. ZHANG, Z. NAKAMOTO, T. LI, Y. YANG, Y. UTSUMI, M. SUGIURA, N. <i>nfluence of substrate-to-inoculum ratio on the batch anaerobic digestion of bean curd refuse-okara under, mesophilic conditions.</i> 2011. p. 3251-3256.

Anexo H. Registro Fotográfico



Medición de CH₄ por el método de desplazamiento alcalino



Incubación de los experimentos



Bioreactor para medición
Azúcares Reductores Totales
(ART)



Medición AGV, Alcalinidad