

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Investigación del potencial de los subproductos del proceso de obtención de etanol
lignocelulósico para la producción de biogás mediante fermentación anaerobia y su análisis
por cromatografía de gases.

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Ciencias Químicas, mención
Química Analítica

MAYCKEL SEBASTIÁN CALERO SILVA

Quito, 2011

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, mención Química Analítica, del candidato Mayckel Sebastián Calero Silva ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fecha: 17 de octubre de 2011

Dr. Javier Carvajal Barriga

Director de la Disertación

DEDICATORIA

*A mi abuelito Florentino (†), y
a mis abuelitas Rosario y Monserrat,*

SIGAN LUCHANDO

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mis padres, quienes siempre me han brindado todo su amor, confianza y apoyo; a ustedes les debo todo.

A mi hermano Daniel, por ser quien alegra mi vida.

A mis abuelitos César y Rosario, porque siempre han sido como padres para mí.

Al Centro Neotropical Para la Investigación de la Biomasa (CNIB), y a su director el Dr. Javier Carvajal por haberme brindado la oportunidad, la confianza y todo el apoyo para poder sacar adelante este trabajo.

A mis compañeros del CNIB, Michael Venegas, Genoveva Granda, Patricia Portero, Edgar Salas, Karina Paredes, Fernanda Yauri, Doyle Beaty y Milton Medina Pazmiño, por la toda la ayuda brindada.

A la Mtr. Yolanda Jibaja y al Ing. Marcelo Parreño por sus invaluable enseñanzas, y por sus acertadas observaciones en beneficio de este trabajo.

Al Msc. Ramiro Merino, por su confianza mostrada conmigo y su constante preocupación a lo largo de la elaboración de esta tesis.

A todos los grandes amigos que hice durante los años de universidad.

TABLA DE CONTENIDOS

PRELIMINARES

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	4

CAPÍTULO I

1. Parte Teórica	5
1.1. La biomasa	5
1.2. La biomasa lignocelulósica	6
1.2.1. Celulosa.....	7
1.2.2. Hemicelulosa.....	7
1.2.3. Lignina.....	8
1.3. El biogás	9
1.4. La digestión anaerobia	11
1.4.1. Etapas de la digestión anaerobia.....	11
1.5. La producción de biogás	13
1.5.1. Digestores de régimen estacionario (batch).....	14
1.5.2. Digestores de régimen semi continuo.....	14
1.5.3. Digestores de régimen continuo.....	15
1.6. Factores que influyen en la producción de biogás	15
1.6.1. Materia prima.....	15

1.6.2. Relación carbono-nitrógeno.....	16
1.6.3. Masa seca.....	16
1.6.4. Masa volátil.....	16
1.6.5. Temperatura.....	16
1.6.6. Valor del pH.....	17
1.6.7. Promotores e inhibidores de fermentación.....	17
1.7. Producción de biogás a partir de los subproductos de la producción de bioetanol.....	18
1.8. Análisis de la demanda química de oxígeno.....	19
1.9. Análisis de la composición química de biogás por cromatografía de gases..	20
1.9.1. Clases de cromatografía de gases.....	22
1.9.2. Columnas cromatográficas para el análisis de biogás.....	23
1.9.3. Detector de conductividad térmica.....	24
1.10. Alcance del trabajo.....	25
1.11. Objetivos.....	27
1.11.1. Objetivo general.....	27
1.11.2. Objetivos específicos.....	27

CAPÍTULO II

2. Materiales y métodos.....	28
2.1. Obtención de la materia prima para los ensayo.....	28
2.1.1. Raquis de palma africana.....	28
2.1.2. Raquis de banano de seda.....	28
2.2. Tratamientos de la biomasa previos a la obtención de biogás.....	28

2.3. Caracterización de los subproductos destinados a la producción de biogás...	29
2.3.1. Análisis de sólidos totales.....	29
2.3.1.1. Materiales.....	29
2.3.1.2. Equipos.....	29
2.3.1.3. Procedimiento.....	29
2.3.2. Análisis de sólidos volátiles.....	30
2.3.2.1. Materiales.....	30
2.3.2.2. Equipos.....	30
2.3.2.3. Procedimiento.....	31
2.3.3. Cálculo de carbono orgánico.....	31
2.3.4. Análisis de nitrógeno total.....	32
2.3.4.1. Materiales.....	32
2.3.4.2. Equipos.....	32
2.3.4.3. Reactivos.....	32
2.3.4.4. Procedimiento.....	33
2.3.5. Análisis de grasa cruda.....	34
2.3.5.1. Materiales.....	34
2.3.5.2. Equipos.....	34
2.3.5.3. Reactivos.....	35
2.3.5.4. Procedimiento.....	35
2.3.6. Análisis de carbohidratos estructurales.....	36
2.3.6.1. Materiales.....	36
2.3.6.2. Equipos.....	36
2.3.6.3. Reactivos.....	37
2.3.6.4. Procedimiento.....	37

2.4. Preparación de biodigestores para los ensayos.....	38
2.4.1. Materiales.....	38
2.4.2. Equipos.....	39
2.4.3. Reactivos.....	39
2.5. Ensamblaje de los biodigestores.....	39
2.6. Carga de los biodigestores.....	40
2.6.1. Inóculo.....	41
2.6.2. Biodigestores de ensayo.....	41
2.6.3. Biodigestor de control.....	42
2.7. Monitoreo de la producción de Biogás.....	42
2.8. Análisis de la demanda química de oxígeno (DQO).....	43
2.8.1. Materiales.....	43
2.8.2. Equipos.....	44
2.8.3. Reactivos.....	44
2.8.4. Procedimiento.....	44
2.8.4.1. Preparación de las soluciones de concentración conocida para la curva de calibración.....	44
2.8.4.2. Digestión.....	46
2.8.4.3. Análisis colorimétrico.....	46
2.8.4.4. Análisis de las muestras.....	45
2.9. Análisis de la composición química de biogás por cromatografía de gases..	46
2.9.1. Materiales.....	47
2.9.2. Equipos.....	47
2.9.3. Reactivos.....	47
2.9.4. Toma de muestra y método de inyección.....	47

2.9.5. Configuración del cromatógrafo de gases y modos de operación.....	48
2.9.6. Análisis cualitativo.....	48
2.9.7. Análisis cuantitativo.....	49

CAPÍTULO III

3. Resultados y Discusión.....	50
3.1. Resultados.....	50
3.1.1. Caracterización de los desechos lignocelulósicos.....	50
3.1.2. Caracterización del inóculo.....	51
3.1.3. Resultados de la producción de biogás.....	52
3.1.3.1. Biogás a partir del subproducto de raquis de palma africana.....	52
3.1.3.2. Biogás a partir del subproducto de raquis de banano.....	54
3.1.4. Resultados de los análisis de la demanda química de oxígeno.....	56
3.1.4.1. Curva de calibración.....	56
3.1.4.2. Análisis de la DQO del contenido de los biodigestores.....	58
3.1.5. Resultados de los análisis de la composición química del biogás.....	58
3.1.5.1. Calibración del cromatógrafo de gases.....	58
3.1.5.2. Análisis de la composición química del biogás del subproducto de palma.....	60
3.1.5.3. Análisis de la composición química del biogás del subproducto de banano.....	62
3.2. Discusión.....	64
3.2.1. Producción de biogás en base a la concentración de sólidos totales.....	64
3.2.2. Producción de biogás en base a la cantidad de DQO reducido.....	64
3.2.3. Factores que afectan la producción de biogás entre subproductos.....	65

3.2.3.1. Influencia de la carga orgánica del biodigestor.....	66
3.2.3.2. Influencia de la complejidad de la estructura química de la biomasa.....	67
3.2.3.3. Influencia del tipo de microorganismos que actúan en cada etapa de la digestión anaerobia.....	68
3.2.4. Aspectos de importancia para el análisis de biogás por cromatografía de gases.	68
3.2.5. Potencial energético del biogás obtenido.....	69
3.2.6. Potencial de residuo de la digestión anaerobia como biofertilizante.....	71

CAPÍTULO IV

4. Conclusiones y recomendaciones.....	72
4.1. Conclusiones.....	72
4.2. Recomendaciones.....	74
Bibliografía.....	75
Anexos.....	81

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1.	Composición típica del biogás.....	9
Tabla 2.1.	Condiciones de operación de los diferentes módulos del cromatógrafo.	48
Tabla 3.1.	Caracterización química de los subproductos utilizados para la producción de biogás.....	50
Tabla 3.2.	Caracterización química del inóculo utilizado para fermentar cada tipo de desecho lignocelulósico.....	51
Tabla 3.3.	Cantidades de biomasa y fuente de nitrógeno usada en los digestores de prueba para cada tipo de desecho lignocelulósicos.....	51
Tabla 3.4.	Producción de biogás de los biodigestores con subproducto de raquis de palma africana y su respectivo biodigestor control.....	53
Tabla 3.5.	Producción de biogás de los biodigestor con subproducto de raquis de banano y su respectivo biodigestor control.....	55
Tabla 3.6.	Valores de concentración y absorbancia de los estándares con los que se construyó la curva de calibración para el análisis de la DQO.....	57
Tabla 3.7.	Resultados del análisis de la DQO inicial y final para los biodigestores de palma y banano.....	58
Tabla 3.8.	Valores obtenidos en la calibración del equipo de cromatografía.....	59
Tabla 3.9.	Composición química semanal del biogás producido por los biodigestores del subproducto de raquis de palma.....	60
Tabla 3.10.	Composición química semanal del biogás producido por los biodigestores del subproducto de raquis de banano.....	62

Tabla 3.11.	Volumen real de biogás producido por cada subproducto lignocelulósico bajo las mismas condiciones.....	64
Tabla 3.12.	Volumen de biogás en base a la cantidad de DQO reducido.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Origen y fuentes de biomasa energética.....	5
Figura 1.2. Conversión de la biomasa a calor y energía mecánica.....	6
Figura 1.3. Estructura de la celulosa.....	7
Figura 1.4. Estructura de la hemicelulosa.....	8
Figura 1.5. Estructura de la lignina.....	8
Figura 1.6. Ciclo del biogás.....	10
Figura 1.7. Esquema general de un cromatógrafo de gases.....	22
Figura 1.8. Corte transversal comparativo de una columna con material de empaque y una columna tubular abierta.....	24
Figura 1.9. Esquema general de los procesos y subproductos envueltos en la producción de biogás y bioetanol lignocelulósico.....	26
Figura 2.1. Diagrama de ensamblaje de los biodigestores usados en los ensayos...	40
Figura 3.1. Producción semanal de biogás en los biodigestores con subproducto de raquis de palma africana y su respectivo biodigestor control.....	53
Figura 3.2. Comparación de la producción total de biogás de los biodigestores con subproducto de raquis de palma africana y su biodigestor de control....	54
Figura 3.3. Producción semanal de biogás en los biodigestores con subproducto de raquis banano y su respectivo biodigestor control.....	55
Figura 3.4. Comparación de la producción total de biogás de los biodigestores con subproducto de raquis de banano y su biodigestor de control.....	56
Figura 3.5. Curva de calibración usada para la cuantificación de la DQO.....	57
Figura 3.6. Cromatograma del gas estándar.....	59

Figura 3.7. Concentraciones por semana de los diferentes gases componentes del biogás producido por el biodigestor 1 de subproducto de palma africana.....	61
Figura 3.8. Concentraciones por semana de los diferentes gases componentes del biogás producido por el biodigestor 2 de subproducto de palma africana.....	61
Figura 3.9. Concentraciones por semana de los diferentes gases componentes del biogás producido por el biodigestor 1 de subproducto de banano.....	63
Figura 3.10. Concentraciones por semana de los diferentes gases componentes del biogás producido por el biodigestor 2 de subproducto de banano.....	63
Figura 3.11. Valores de pH para cada biodigestor de ensayo en la primera semana de digestión.....	67
Figura 3.12. Cantidad material lignocelulósico en sólidos volátiles necesario para producir 1 m ³ de biogás.....	70

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Resultados de los análisis de caracterización de la biomasa de los raquis de palma y banano.....	82
Anexo 2: Resultado detallado de los análisis de la DQO.....	83
Anexo 3: Certificado de análisis de la mezcla de gases estándar utilizado para la calibración del cromatógrafo de gases usado en esta investigación.....	84
Anexo 4: Certificado de funcionamiento de las columnas cromatográficas utilizadas en la investigación.....	85
Anexo 5: Cálculo de la energía producida en la combustión de 1 m ³ biogás bajo condiciones normalizadas con 70 % de metano.....	88
Anexo 6: Cromatogramas de los análisis semanales del biogás producido por cada biodigestor de ensayo.....	89

RESUMEN

El principal objetivo de este trabajo fue determinar el potencial para producir biogás, mediante digestión anaerobia, que poseen los subproductos generados en la transformación de la biomasa lignocelulósica a bioetanol, a partir de dos de los desechos agrícolas de mayor abundancia en Ecuador: el raquis de la palma africana (*Elaeis guineensis*), y el raquis del banano (*Musa paradisiaca*).

Para esto, se determinó la cantidad de materia biodegradable en cada tipo de biomasa, con el fin de garantizar condiciones favorables para la digestión anaerobia, la cual se realizó en biodigestores de régimen discontinuo (batch) de 250 mL de capacidad, cargados con 150 g de una mezcla del desecho lignocelulósico de prueba, estiércol de vaca, y agua con una concentración final de 10 % de sólidos volátiles a 37 °C. Tanto al inicio como al final de la digestión anaerobia, se realizó análisis de la demanda química de oxígeno (DQO) con el fin de estimar la cantidad de materia biodegradable transformada en biogás; de igual manera, a lo largo de todo el proceso se analizó el biogás producido mediante cromatografía de gases multidimensional, para conocer su composición química y estimar su potencial energético.

Los resultados obtenidos demostraron la factibilidad para obtener biogás tanto con los subproductos de raquis de palma como de banano, estimando una producción de 421 y 335 litros de biogás respectivamente bajo condiciones ambientales normalizadas, por cada kilogramo de DQO reducido, y alcanzando concentraciones de metano entre 60 y 70 %.

Palabras clave: biogás, digestión anaerobia, cromatografía de gases, DQO, desechos lignocelulósicos, palma africana, banano.

ABSTRACT

The main objective of this research was to test the production potential of biogas, through anaerobic digestion which have subproducts remaining from the lignocellulosic matter conversion to bioethanol of two important agricultural wastes in Ecuador: oil palm rachis (*Elaeis guineensis*) and banana rachis (*Musa paradisiaca*).

First of all, each kind of biomass was characterized in order to estimate the biodegradable fraction of the lignocellulosic matter and to ensure the best conditions for the anaerobic digestion process, which was carried in 250 mL batch regime biodigestors loaded with a 150 g mixture of the lignocellulosic waste, cow manure and water, containing a volatile solids concentration of 10 % and working at 37 °C. Both at the beginning and the end of the process chemistry oxygen demand (COD) analysis were performed to evaluate the organic matter transformed in biogas. During the process the biogas obtained was reckoned and analyzed by multidimensional gas chromatography with the purpose of estimating its energy potential in bases on its chemical composition.

The results obtained showed the possibility to produce biogas with both lignocellulosic subproducts; estimating a production of 421 liters with the palm rachis oil and 335 liters with the banana rachis, under environmental normalized conditions, per each COD kilogram degraded. Moreover the methane concentration of the biogas obtained ranged values among 60 and 70 %.

Keywords: biogas, anaerobic digestion, gas chromatography, COD, lignocellulosic wastes, oil palm, banane

INTRODUCCIÓN

La sociedad actual está envuelta en un continuo desarrollo, la industrialización y el avance tecnológico logrado en el último siglo ha sido posible gracias al uso efectivo de la energía, tanto así, que su tasa de consumo se ha convertido en el parámetro con el cual se mide el desarrollo de las naciones y el nivel de vida de las personas [1]. Sin embargo las fuentes energéticas utilizadas mayoritariamente a lo largo de este periodo, han sido la causa directa para varios problemas tanto a nivel económico, social y ambiental.

El acelerado crecimiento de la población, la grave crisis ambiental, el agotamiento de los recursos y los desequilibrios sociales, son factores que obligan a acometer una nueva política energética [2]. En la actualidad, los estudios e investigaciones apuntan a obtener y desarrollar nuevas fuentes y tecnologías que permitan ampliar la matriz energética, basada actualmente en los combustibles fósiles (petróleo, carbón y gas natural), y que al mismo tiempo soporten la creciente demanda.

Las denominadas bioenergías, son una de las alternativas que han tomado mayor fuerza para convertirse a futuro en el principal proveedor energético de la humanidad; este tipo de energía proviene del proceso de conversión de recursos biorenovables; los cuales por definición, “son recursos naturales sustentables, lo que significa que el recurso se renueva por sí mismo a tal rapidez que estará disponible para futuras generaciones” [3].

CAPÍTULO I

PARTE TEÓRICA

1.1. LA BIOMASA

La biomasa está definida como toda la materia orgánica, a excepción de los combustibles fósiles, como: cultivos, maderas, productos animales, masa celular microbiana, residuos y productos, que se renueva año tras año [4]. Es originada por los seres vivos, principalmente gracias a la actividad fotosintética de plantas, pero también es producida por animales, insectos, microorganismos y como subproductos de la actividad humana [5].

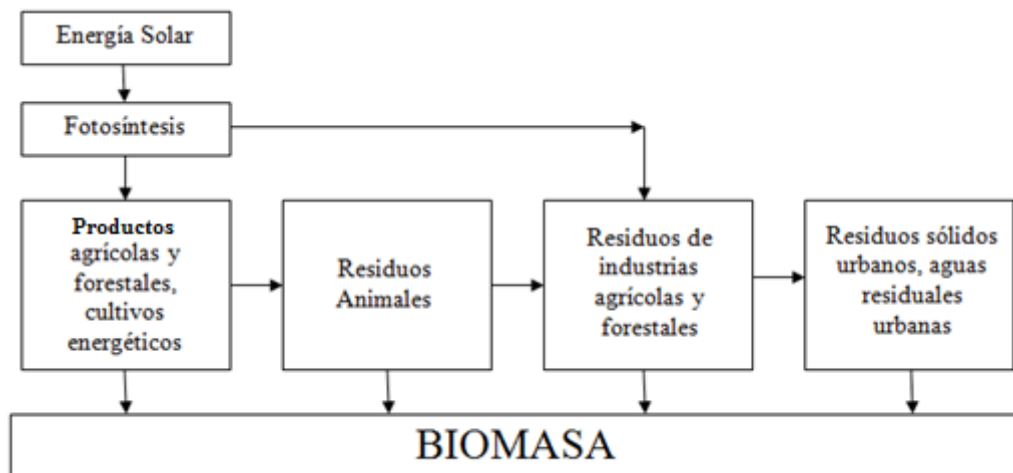


Figura 1.1. Origen y fuentes de biomasa energética [5]

Como fuente de energía, la biomasa, ha estado ligada a la humanidad prácticamente desde sus inicios; actividades como la quema de leña en busca de calor, han sido realizadas por las sociedades desde tiempos inmemorables, mientras que otras aplicaciones como el uso de aceites vegetales y grasa animal para la iluminación data de hace 40000 años según

evidencia encontrada en cuevas de la edad Paleolítica situadas en Europa [3]; sin embargo, en los últimos años, el desarrollo y la evolución de tecnologías han permitido transformar la biomasa en combustibles sustentables y con alto potencial energético [4], a través de tecnologías y procesos más refinados.

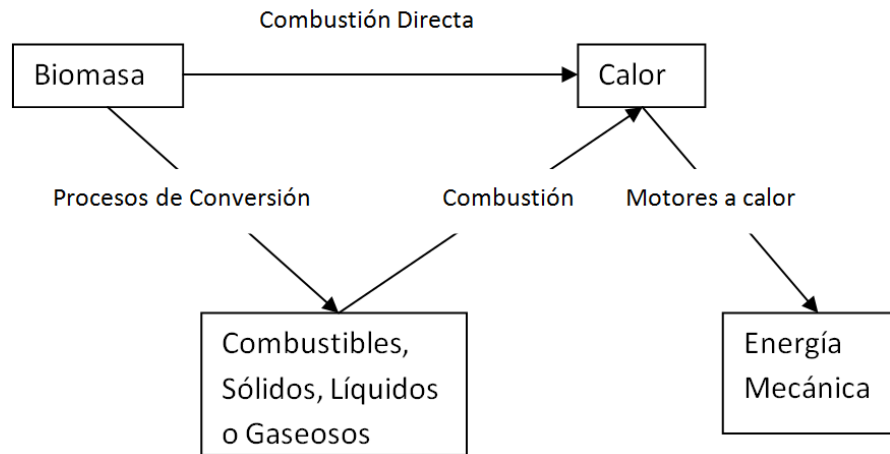


Figura 1.2. Conversión de la biomasa a calor y energía mecánica

1.2. LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

La búsqueda de nuevas materias primas destinadas a la producción de biocombustibles, y que al mismo tiempo no atenten contra el normal suministro de recursos hacia la población humana y animal, ha desembocado en el uso del material lignocelulósico.

La lignocelulosa es el más abundante componente de la biomasa producida por la fotosíntesis, anualmente se forman 200000 millones de toneladas en todo el mundo [6]; siendo el principal componente de la pared celular de la plantas; químicamente está formada por tres polímeros: celulosa, hemicelulosa y lignina, cuya concentración y porcentaje varía según la especie de la planta e incluso según su etapa de crecimiento [7].

1.2.1. CELULOSA

Es un polímero formado por subunidades de D-glucosa, unidas mediante enlaces glucosídicos β -1,4; en la lignocelulosa se encuentra tanto de una forma cristalina altamente organizada, como de una manera porosa amorfa poco ordenada, formando fibras independientes y unidas entre sí mediante puentes de hidrógeno [8], ver figura 1.3.

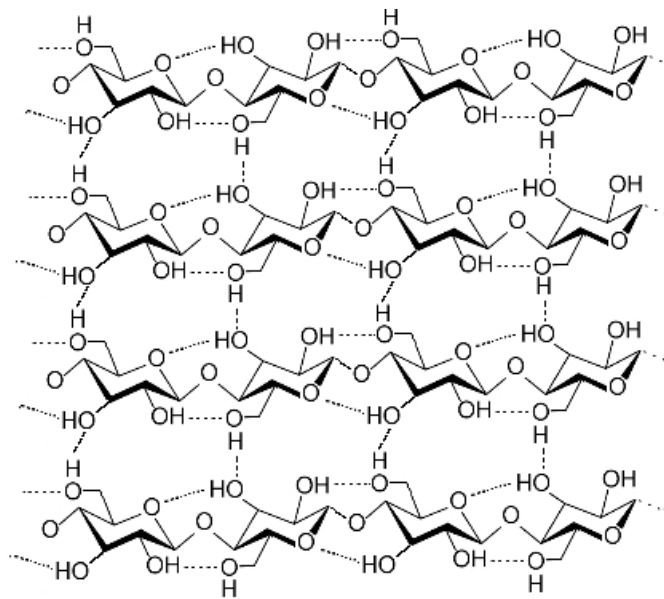


Figura 1.3. Estructura de la celulosa

1.2.2. HEMICELULOSA

La hemicelulosa constituye un carbohidrato de estructura compleja, formado en su mayor parte por monosacáridos de cinco carbonos como la xilosa y arabinosa, además de hexosas como la manosa, glucosa y galactosa este polímero sirve como unión entre la celulosa y la lignina, dando al complejo una estructura rígida [8], ver figura 1.4.

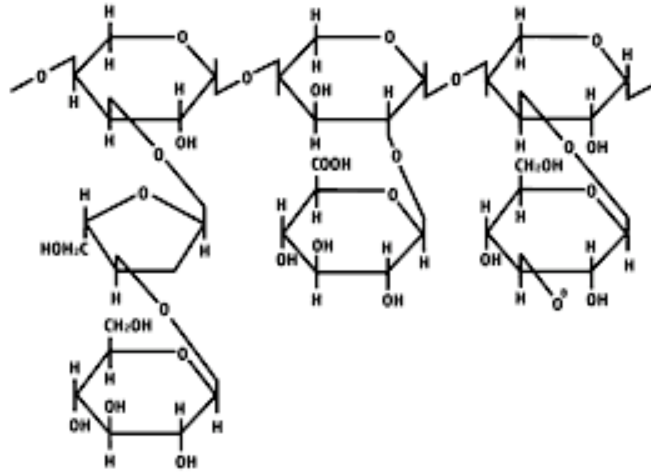


Figura 1.4. Estructura de la hemicelulosa

1.2.3. LIGNINA

La lignina representa un heteropolímero conformado por tres diferentes tipos de unidades fenilprolicas, que se mantienen unidas mediante enlaces fuertes como puentes de hidrógeno; la función de la lignina es ofrecer un soporte estructural, impermeabilidad y resistencia frente al ataque oxidativo y microbiológico [8], ver figura 1.5.

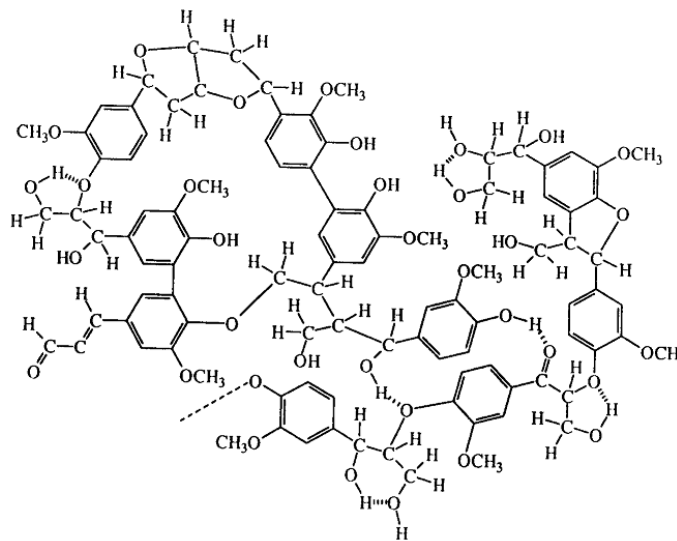


Figura 1.5. Estructura de la lignina

1.3. EL BIOGÁS

El término biogás incluye a todo gas producido por la digestión anaerobia de la materia orgánica [5]; en condiciones de ausencia de oxígeno varios tipos de bacterias degradan y transforman este material hasta una forma de gas inflamable compuesto en su mayor parte de metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2), además de otros gases, en menores concentraciones.

Tabla 1.1. Composición típica del biogás [9]

Compuesto	% moles
Metano (CH_4)	50 - 80
Dióxido de Carbono (CO_2)	20 - 40
Nitrógeno (N_2)	0 - 5
Hidrógeno (H_2)	0 - 0,1
Amoniaco (NH_3)	0,02 - 0,5
Sulfuro de Hidrógeno (H_2S)	0,05 - 1
Oxígeno (O_2)	0 - 0,5

Tanto el metano como el dióxido de carbono son considerados dentro del grupo de gases de invernadero o (GHG, por sus siglas en inglés) responsables del calentamiento global; sin embargo, el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC, por sus siglas en inglés) no considera al dióxido de carbono del biogás como un GHG sino como un biogénico, es decir, parte natural del ciclo del carbono.

Por otra parte, el metano tiene un mayor aporte al calentamiento global, ya que retiene el calor 21 veces más que el dióxido de carbono [10], por lo que su captura y combustión vía generadores, quemadores o algún otro dispositivo tiende a ser beneficioso en la reducción de su impacto al medio ambiente.

Al mismo tiempo la biogásificación de desechos sólidos, vía digestión anaerobia, resulta bastante atractiva gracias a facilidades como: [11]

- Se puede procesar material tanto seco como húmedo.
- No se requiere cultivos de bacterias puros o esterilidad.
- El biogás que se obtiene es de calidad, de fácil almacenamiento y uso.
- El biogás puede ser usado en varios estados y niveles de pureza.
- El residuo de la digestión es útil como biofertilizante.
- La combustión del metano, evita su emisión a la atmósfera.

Adicionalmente, la materia orgánica es abundante y el biogás obtenido puede ser transformado en varios tipos de energía y subproductos ya que el proceso está envuelto en un ciclo continuo como se demuestra en la figura 1.6.

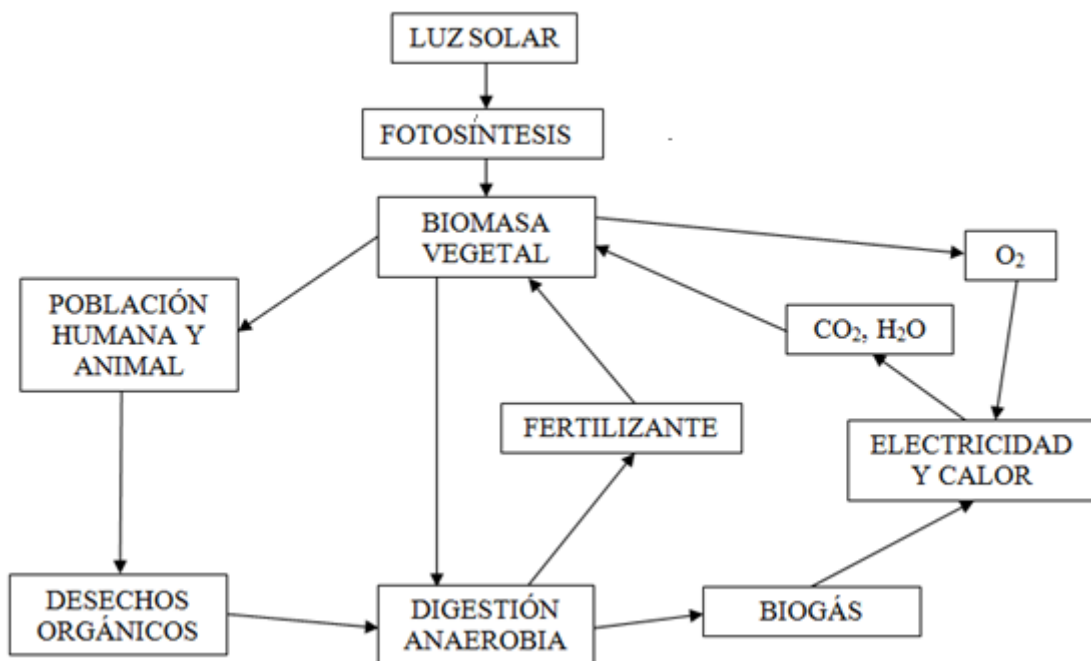


Figura 1.6. Ciclo del biogás

1.4. LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

“Se describe como un proceso biológico microbiano que degrada la materia orgánica tanto en un sustrato con propiedades fertilizantes como en biogás” [12]. Tradicionalmente la digestión o fermentación anaerobia ha sido aplicada en el tratamiento de lodos, aguas de descarga y tratamiento de residuos municipales, con el fin de reducir su impacto ambiental así como de obtener subproductos aprovechables [13].

1.4.1. ETAPAS DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA Y FORMACIÓN DE BIOGÁS

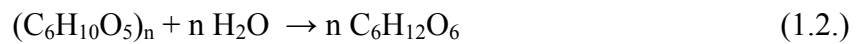
Durante la bioconversión de materiales lignocelulósicos a biogás, las etapas envueltas en el proceso tienen distinta velocidad; la degradación de la celulosa ocurre en semanas, la de las hemicelulosas y proteínas en días y la de las moléculas pequeñas, como azúcares, ácidos grasos y alcoholes, en horas, pero la lignina no es degradada en la mayoría de los sistemas de digestión anaeróbica [14].

Considerando a la celulosa como el componente principal de la biomasa lignocelulósica, se puede englobar en términos generales su descomposición vía anaerobia en la siguiente reacción [15].



La reacción (1.1.) unifica un proceso que resulta de la suma de tres etapas, en las que intervienen diferentes grupos de microorganismos, y de donde el metano se obtiene recién en la última de ellas [15].

La primera etapa, denominada etapa fermentativa o hidrólisis, consiste en la degradación de los polímeros orgánicos complejos constituyentes de la biomasa, originando moléculas más simples, mediante la acción de una serie de enzimas producidas por los microorganismos, las cuales actúan como biocatalizadores [15,16]; este proceso se puede representar en la siguiente reacción.

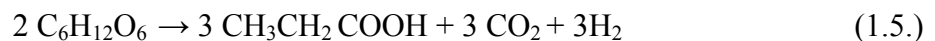


En la segunda etapa, conocida como acidogénica, intervienen bacterias que en un proceso de dos subetapas, producen la deshidrogenación de la glucosa hasta ácidos orgánicos de cadena corta como el ácido acético y ácido propiónico.

- Formación del ácido acético:



- Formación del ácido propiónico:

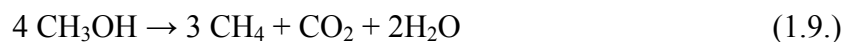
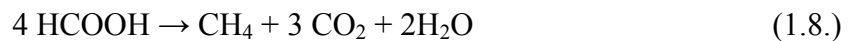
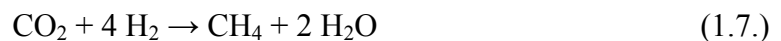


En esta segunda etapa también puede haber una producción en menor cantidad de ácidos como el butírico, además de la descarboxilación de aminoácidos para formar cetoácidos, ácido pirúvico y ácido láctico [16].

En la tercera fase, denominada metanogénica, intervienen microorganismos pertenecientes al dominio de las *archeas* [17], que para prosperar necesitan de un medio estrictamente anaeróbico del cual consumen el CO₂ como fuente de carbono, y el H₂ para generar la energía y el poder reductor necesario para completar el proceso, el que puede prolongarse por varias semanas [16]; esta etapa se la puede englobar en la siguiente ecuación, responsable de la mayor parte del metano presente en el biogás.



Otras vías para la producción del metano están representadas en las siguientes reacciones:



1.5. LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS

Reportes indican que la primera referencia del uso de biogás data del año 1600 DC, pero recién a inicios de siglo XX su producción se volvió controlada y con fines económicos cuando en la ciudad de Exeter, Gran Bretaña, el gas proveniente de la cloaca municipal fue utilizado para abastecer el sistema de alumbrado público [18].

En la actualidad, muchos países europeos han establecido condiciones favorables para la construcción de biodigestores y la producción de electricidad a partir de biogás, Alemania ha liderado este rol en Europa con casi 4000 plantas, la mayoría de ellas en granjas para la cogeneración [19].

Un biodigestor básicamente constituye un contenedor cerrado, hermético e impermeable (llamado reactor), dentro del cual se deposita el material orgánico a fermentar en determinada dilución de agua para que se descomponga, produciendo gas metano y fertilizantes orgánicos ricos en nitrógeno, fósforo y potasio [20].

Los digestores se clasifican por el proceso o modo de operación, llenado y vaciado. La clasificación general los define en digestores de régimen estacionario o lotes (batch), de régimen semi continuo, y de régimen continuo [21].

1.5.1. DIGESTORES DE RÉGIMEN ESTACIONARIO (BATCH)

También conocidos como de lote, este tipo de biodigestores reciben sólo una carga la cual es retirada una vez que la producción de biogás decae o cuando la digestión anaerobia ha degradado a totalidad la materia orgánica; este tipo de digestores son aplicados principalmente cuando el abastecimiento del material no se realiza de manera continua sino periódica [21].

1.5.2. DIGESTORES DE RÉGIMEN SEMI CONTINUO

En este tipo de biodigestores se realiza una carga inicial grande y a medida que el proceso avanza, se recarga con volúmenes menores y se recoge el efluente en cantidades similares; una ventaja con respecto al régimen en batch, es que al introducir material fresco al digestor hay una renovación de nutrientes por lo que el biogás resultante tiende a ser de mejor calidad [21].

1.5.3. DIGESTORES DE RÉGIMEN CONTINUO

Los digestores de régimen continuo fueron desarrollados principalmente para el tratamiento de aguas residuales y en la actualidad su uso se ha extendido al manejo de todo tipo de sustratos [21]; aquí, el efluente recolectado es similar al material añadido periódicamente, la biomasa renovada debe ser fluida y homogénea. Este tipo de biodigestores suelen ser de gran capacidad (mayor a 15 m³) y altamente automatizados, su principal desventaja es que permite una baja concentración de sólidos.

1.6. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS

El proceso de fermentación anaerobia para la producción de biogás, está conformado por varias etapas en las que intervienen diferente tipos de microorganismos, quienes no responden de igual manera a la influencia de determinados factores físicos y químicos.

Estos factores son capaces de alterar la cantidad y la rapidez con la que la biomasa es descompuesta, así como de constituirse en los responsables directos de la calidad del biogás resultante. Entre los principales factores involucrados en el proceso están los siguientes:

1.6.1. MATERIA PRIMA

La cantidad y calidad del biogás obtenido está íntimamente relacionado con el tipo de biomasa y su composición; la cantidad de proteínas, grasas, carbohidratos y nutrientes son aspectos críticos a la hora de escoger el material a fermentar; por otra parte materias primas con altas cantidades de lignina necesitan de pretratamientos como cortado, macerado, o compostaje a fin de liberar las sustancias aprovechables [22].

1.6.2. RELACIÓN CARBONO-NITRÓGENO

Las bacterias tienden a consumir estos elementos durante el proceso de digestión; el carbono, principalmente en forma de carbohidratos, actúa como fuente de energía, mientras que el nitrógeno, en forma de proteínas, nitratos y amoníaco, actúa como un nutriente favoreciendo el crecimiento microbiano. Existen muchos criterios en lo referente a esta relación, pero se reconoce en general como aceptable una relación carbono-nitrógeno (C/N) 20-30:1 [23].

1.6.3. MASA SECA

La masa seca se define como la cantidad de sólidos que contiene la biomasa. Este parámetro se calcula como la materia seca total que es cargada diariamente al digestor. El porcentaje de sólidos óptimo que debe llevar el digestor se encuentra entre el 7 y 15 %, lo cual se logra mezclando la biomasa con agua, o recirculando el biol o bioabono en el caso de los digestores continuos [21].

1.6.4. MASA VOLÁTIL

Representa el contenido de materia orgánica que contiene la biomasa, este parámetro es importante ya que muestra la cantidad de material que puede ser transformado a biogás durante la fermentación. Es primordial además señalar que las bacterias metanogénicas son capaces de convertir toda la masa volátil a excepción de la lignina. [24].

1.6.5. TEMPERATURA

La temperatura se encuentra dentro de los factores con mayor relevancia dentro del proceso anaerobio ya que afecta directamente la velocidad con la que los microorganismos degradan el material dentro del digestor. Existen tres rangos en los que generalmente

trabaja la digestión anaerobia: un rango psicrófilico (por debajo de 25°C), mesófilico (25 - 45°C) y un rango termófilico (45 – 60°C) [25].

1.6.6. VALOR DEL pH

Resulta un punto crítico durante el proceso de digestión anaerobia; para mantener un equilibrio dinámico en el sistema, se debe trabajar con valores que oscilen entre 6,5 y 8 [9, 26]; valores fuera de estos límites pueden inhibir el proceso e incluso detenerlo por completo. Para corregir el pH se puede utilizar bases diluidas, hidróxido de amonio o bicarbonatos, estos últimos bastante efectivos ya que poseen un efecto buffer siendo capaces de regular por sí mismos los cambios del pH [22], resultando esto un punto clave, ya que así se puede prevenir el colapso del sistema.

1.6.7. PROMOTORES E INHIBIDORES DE FERMENTACIÓN

Los promotores son materiales que pueden fomentar la degradación de la materia orgánica y aumentar la producción de gas; la urea y el carbonato de calcio (CaCO_3) han dado buenos resultados, el primero acelera la producción de metano y la degradación del material, mientras que el segundo es útil para la generación de gas y para aumentar la concentración de metano [23].

Por otra parte, la digestión anaerobia como todo proceso biológico es sensible a la acción de materiales y sustancias que pueden tener un efecto tóxico e inhibitorio sobre la actividad microbiana. Altas concentraciones ácidos grasos volátiles, sulfuro de hidrógeno (H_2S), sales y metales pesados constituyen los inhibidores más comunes [26].

1.7. PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE LOS SUBPRODUCTOS DE LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

En la producción de bioetanol lignocelulósico, se generan subproductos que pueden ser transformados vía digestión anaerobia en biogás. La conexión entre la producción de biogás y bioetanol lignocelulósico resulta en la reducción de los costos del proceso, menor uso de fuentes de energía fósil, y la reutilización de excesos de material y subproductos mediante el uso de tecnologías adecuadas [24]; provocando paralelamente, una disminución en el impacto al ambiente.

Tradicionalmente la producción de biogás ha formado parte de las empresas licoreras, quienes utilizan los desechos de su producción para generar una fuente de energía, capaz de abastecer en parte la demanda de la misma industria, y que permita al mismo tiempo, reducir la excesiva cantidad de desperdicios generados durante esta actividad [27]; equipos para la producción de biogás han sido utilizados exitosamente en destilerías, asociando estos procesos y tecnologías dentro del concepto de biorrefinería.

“El término biorrefinería se lo puede adjudicar a una instalación que integra procesos de conversión de biomasa y equipos para producir combustibles, energía eléctrica, calor y productos químicos” [28]; siendo la producción de bioetanol, como un combustible líquido para el transporte, su principal propósito. Durante el proceso, la innovación radica en la integración de los subproductos para la generación de biogás mediante la fermentación anaerobia [29].

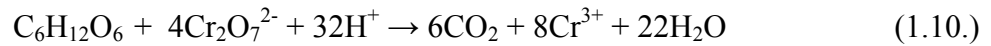
1.8. ANÁLISIS DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

Asociado a la producción de biogás, el análisis de la DQO cobra importancia ya que representa un buen indicativo de la cantidad de materia orgánica que se ha transformado en gas, mediante el proceso de fermentación anaerobia [21].

“La Demanda Química de Oxígeno conocida por sus iniciales como DQO”, es una medida del oxígeno requerido para oxidar todos los compuestos presentes en el agua, tanto orgánicos como inorgánicos, por medio de la acción de agentes fuertemente oxidantes en un medio ácido” [30]. Según el tipo de materia orgánica, esta puede ser oxidada por medios biológicos en periodos de tiempo que van desde los pocos días y semanas hasta muchos años, por lo que el ensayo prácticamente consiste en acelerar esta oxidación mediante medios químicos.

Este ensayo involucra una digestión de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4), en la cual interviene también sulfato de plata (AgSO_4) como catalizador a temperatura de 150 °C; durante esta digestión, el carbono de la materia orgánica, es oxidado con el ion dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) el cual, rápidamente cede oxígeno para formar en conjunto dióxido de carbono (CO_2), la transición del oxígeno desde el ion dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) hasta (CO_2), provoca la reducción del cromo en estado hexavalente, hasta cromo trivalente (Cr^{3+}).

En resumen, el análisis de la DQO determina la cantidad de materiales basados en carbón, mediante la medición de la cantidad de oxígeno con la que estos reaccionan [31]; el proceso para un carbohidrato puede englobarse en la siguiente ecuación.



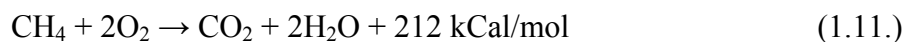
Después de la digestión, el análisis cuantitativo de la DQO se la puede realizar mediante una titulación del exceso de oxidante con un agente reductor, o mediante la medición colorimétrica de la intensidad del color remanente del dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) o de la cantidad reducida a cromo trivalente (Cr^{3+}) [30]; cabe señalar que los iones cloruro (Cl^-) representan una seria interferencia en este análisis, la cual puede ser evitada con el uso de pequeñas cantidades de sulfato de mercurio (II) (HgSO_4).

El análisis de la DQO mediante métodos colorimétricos, es viable gracias a que ambas formas iónicas del cromo, involucradas en el proceso, absorben en la región visible del espectro electromagnético pero a diferentes longitudes de onda; es así que para un análisis de muestras con una DQO baja, se usa la longitud de onda de 420 nm en la que absorbe el ion dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$); mientras que para muestras con valores de DQO altos se trabaja a 620 nm, correspondiente al cromo trivalente (Cr^{3+}) [31].

1.9. ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE BIOGÁS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

El análisis de la composición química de biogás obtenido mediante el proceso de fermentación o digestión anaerobia de la biomasa es de crucial importancia ya que esto permite conocer la calidad del gas producido, y por lo tanto su potencial como fuente de energía aprovechable.

La eficacia del biogás está directamente relacionada con la concentración de sus diferentes gases componentes, siendo considerado un producto de alta calidad aquel que tiene mayoritariamente metano, debido a que este gas libera energía durante su combustión.



La cromatografía es un poderoso método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia [32]; esta agrupa un conjunto importante y diverso de métodos, que permite separar componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas, que en muchas ocasiones resulta imposible por otros medios [33]; constituyendo la cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés) la técnica utilizada cuando se trata de muestras en estado gaseoso como el gas natural, gases de caldera, gases fijos, biogás, etc.

Según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, (IUPAC, por sus siglas en inglés), la cromatografía es un método físico de separación, en el cual los componentes a ser separados son distribuidos entre dos fases, una de las cuales es una fase estacionaria, mientras que la otra es una fase móvil que fluye en una dirección definida.

Los diferentes procesos cromatográficos son nombrados de acuerdo al estado físico de la fase móvil; por lo tanto en la cromatografía de gases la fase móvil es un gas químicamente inerte, mientras que en la cromatografía líquida la fase móvil es un líquido puro o en mezcla [34].

Otro aspecto que diferencia también a cada proceso cromatográfico, es el equipo o instrumental con el cual se trabaja.

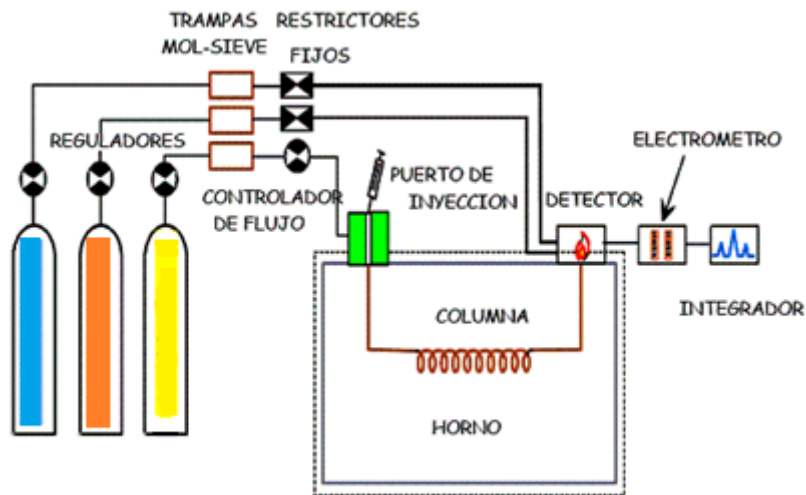


Figura 1.7. Esquema general de un cromatógrafo de gases

1.9.1. CLASES DE CROMATOGRAFÍA DE GASES

Tradicionalmente la cromatografía de gases ha sido dividida en dos grupos: la cromatografía gas-líquido y la cromatografía gas-sólido. La primera se basa en la distribución de los analitos de la muestra entre la fase móvil gaseosa y la fase estacionaria, la cual constituye un líquido inmovilizado sobre la superficie de un sólido inerte; este tipo de cromatografía es la más utilizada debido a la gran cantidad y variedad de análisis que se puede realizar con las columnas disponibles en el mercado [32].

Por su parte la cromatografía gas-sólido, se fundamenta en la retención de los analitos en una fase estacionaria sólida como consecuencia de la adsorción física; este tipo de cromatografía es útil para separar especies, como gases de bajo peso molecular, las cuales no pueden ser retenidas en columnas para cromatografía gas-líquido [32].

1.9.2. COLUMNAS CROMATOGRÁFICAS PARA EL ANÁLISIS DE BIOGÁS

El análisis de los componentes de muestras gaseosas como gas natural y biogás ha llevado a menudo al uso de la cromatografía de gases multidimensional, ya que una sola columna no es capaz de separar por sí misma la amplia variedad de compuestos que poseen este tipo de muestras [35]. En estos análisis se puede conjugar tanto el uso de columnas de relleno como columnas abiertas de capa porosa (PLOT, por sus siglas en inglés), las cuales pueden ser conectadas en serie, y según la necesidad, aisladas una de otra mediante la acción de válvulas o conmutadores instalados en el cromatógrafo.

Las columnas con material de relleno, poseen como adsorbente un tamiz molecular el cual es un intercambiador iónico, de silicato de aluminio cuyo tamaño de poro depende del tipo de catión asociado; la separación se produce por exclusión, es decir moléculas con tamaños pequeños atravesarán los poros del material de relleno fácilmente, teniendo de esta manera tiempos de retención bajos; mientras que a medida que el tamaño de las moléculas aumenta, el paso de éstas a través de la columna será más obstruido, lo que se traduce en tiempos de retención mayores; estas columnas han sido ampliamente utilizadas en el análisis de gases con bajo peso molecular como el nitrógeno (N_2), oxígeno (O_2), metano (CH_4), hidrógeno (H_2), y algunos gases nobles como el helio (He) [34].

Las columnas abiertas de capa porosa PLOT poseen generalmente como fase estacionaria, estireno polimerizado con divinilbenceno, adherido a la pared interna de la columna, dándose la separación en base a la afinidad que este polímero tenga con los analitos de la muestra; este tipo de columnas ha sido ampliamente utilizado en la separación de especies polares como el dióxido de carbono (CO_2), vapor de agua (H_2O), sulfuro de hidrógeno (H_2S), entre otras [32].

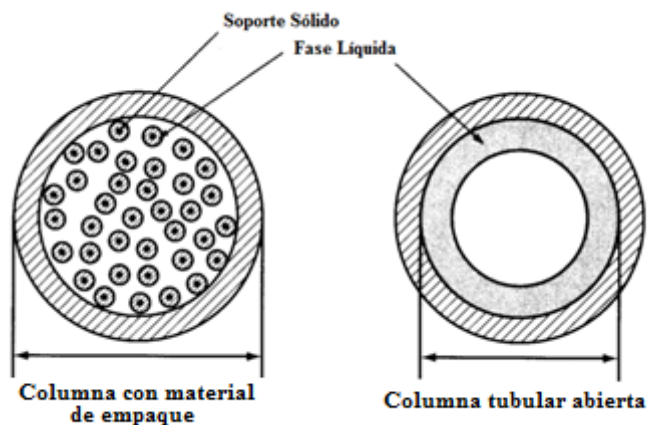


Figura 1.8. Corte transversal comparativo de una columna con material de empaque y una columna tubular abierta [34]

1.9.3. DETECTOR DE CONDUCTIVIDAD TÉRMICA (TCD)

El detector de conductividad térmica (TCD, por sus siglas en inglés), fue uno de los primeros detectores utilizados en la cromatografía de gases, con una amplia aplicación incluso hasta nuestros días; el funcionamiento de este detector se basa en la medición de la conductividad térmica de un analito en el gas portador, comparada con la conductividad térmica del gas portador puro [34].

El sensor de este tipo de detector consiste en un filamento de platino, oro o wolframio, el cual es calentado eléctricamente, a un potencial constante, llegando hasta una temperatura la cual depende de la conductividad térmica del gas circundante.

El helio y el hidrógeno, gases químicamente inertes, con conductividades térmicas de 0.138 y 0.172 (W/K.m) a 20°C respectivamente, son los adecuados para ser el gas de arrastre en la cromatografía de gases con TCD, esto se debe a que la mayoría de los compuestos orgánicos poseen conductividades térmicas de 6 a 10 veces menores que las

del helio y el hidrógeno, razón por la cual, mínimas cantidades de analito mezcladas con el gas de arrastre proveniente de la columna representarán un marcado descenso en la conductividad térmica de la mezcla, lo que se traduce en el aumento de la temperatura del detector [36].

Entre las principales ventajas de este detector están su facilidad de uso, bajo costo, su universalidad frente a compuestos orgánicos e inorgánicos, y su carácter no destructivo, mientras que por otro lado su principal desventaja radica en su baja sensibilidad con respecto a otros tipos de detectores [32, 37].

1.10. ALCANCE DEL TRABAJO

Este trabajo pretende determinar la capacidad para la producción de biogás, mediante fermentación anaerobia, que poseen los subproductos orgánicos procedentes del proceso de conversión de la biomasa lignocelulósica en bioetanol de segunda generación a partir de dos de los desechos agrícolas más abundantes producidos en el Ecuador: el raquis de la palma africana o palma aceitera *Elaeis guineensis* y el raquis del banano de seda, también conocido como plátano o guineo, *Musa paradisiaca*; el esquema general del proceso al cual se someten los desechos lignocelulósicos, para obtener bioetanol y biogás se representa en la figura 1.9. Los cuadros sombreados marcan los aspectos y procesos tratados en este trabajo.

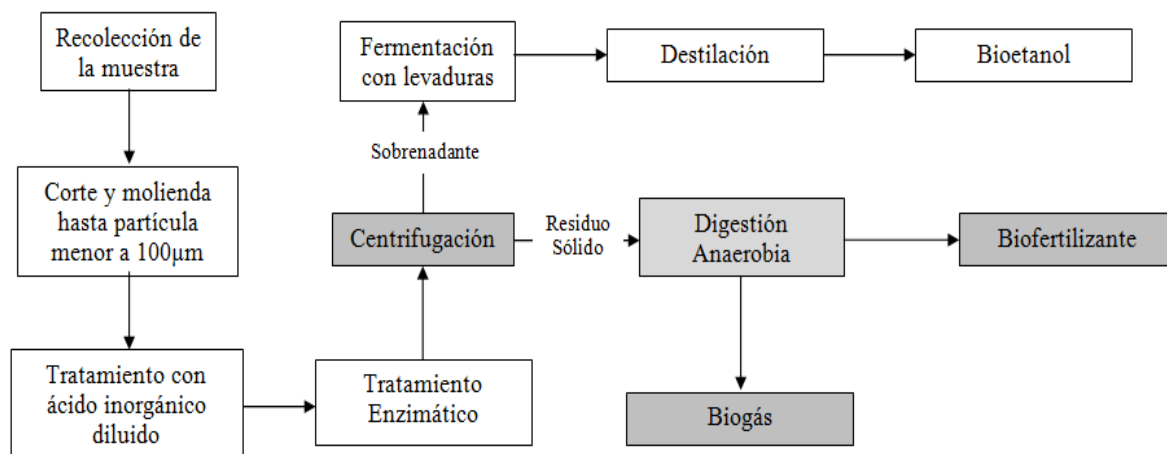


Figura 1.9. Esquema general de los procesos y subproductos envueltos en la producción de biogás y bioetanol lignocelulósico.

1.11. OBJETIVOS

1.11.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar el potencial para producir biogás, mediante fermentación anaerobia, que poseen los subproductos generados en la transformación de la biomasa lignocelulósica a bioetanol, a partir de dos de los desechos agrícolas de mayor abundancia en Ecuador: el raquis de la palma africana (*Elaeis guineensis*), y el raquis del banano (*Musa paradisiaca*).

1.11.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar el biogás obtenido a partir de los diferentes subproductos lignocelulósicos, mediante cromatografía de gases multidimensional con detector de conductividad térmica (TCD).
- Realizar análisis de la demanda química de oxígeno del contenido de los biodigestores de cada subproducto lignocelulósico, como indicativo de la cantidad de materia orgánica transformada a biogás a través de la fermentación anaerobia.
- Caracterizar químicamente los subproductos de raquis de palma y banano, provenientes de la producción de etanol lignocelulósico, con el fin de establecer condiciones favorables para la digestión anaerobia y la producción de biogás.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA LOS ENSAYOS

2.1.1. RAQUIS DE PALMA AFRICANA

El raquis de palma africana utilizado para esta investigación fue suministrado al laboratorio mediante la colaboración de la Asociación Nacional de Cultivadores de Palma Aceitera (ANCUPA).

2.1.2. RAQUIS DE BABANO DE SEDA

Este desecho se recolectó aleatoriamente en los principales mercados de la zona centro-norte del Distrito Metropolitano de Quito.

2.2. TRATAMIENTOS DE LA BIOMASA PREVIOS A LA OBTENCIÓN DE BIOGÁS

Una vez que se tuvo el raquis de palma africana y el raquis de banano de seda, se sometió a éstos a diferentes procesos, físicos y químicos con el fin de adecuar la materia orgánica para poder obtener etanol lignocelulósico; durante estos procesos se obtuvo un subproducto sólido el cual fue utilizado para los diferentes ensayos de productividad de biogás.

2.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS SUBPRODUCTOS DESTINADOS A LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS

La biomasa recolectada, tanto del raquis de palma como del raquis de banano, se la analizó químicamente; los parámetros determinados y los métodos usados para esto se muestran a continuación; todos los ensayos se realizaron por duplicado (Anexo N°1).

2.3.1 ANÁLISIS DE SÓLIDOS TOTALES

El análisis se lo realizó según el método para determinación de sólidos totales en biomasa LAP-001 elaborado por el Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL, por sus siglas en inglés).

2.3.1.1 MATERIALES

- Cápsulas de porcelana
- Espátulas metálicas
- Desecador con material desecante

2.3.1.2 EQUIPOS

- Balanza analítica, *SARTORIUS CP-1248*
- Estufa, *SHEL LAB 1350-GX*

2.3.1.3 PROCEDIMIENTO

- Colocar en cápsulas de porcelana debidamente rotuladas y taradas, entre 1 y 2 g de muestra pesada lo más exactamente posible en una balanza analítica.
- Secar las cápsulas con la muestra en una estufa a 105 ± 3 °C por 3 horas.
- Dejar enfriar las cápsulas hasta temperatura ambiente en un desecador.

- Pesar las cápsulas, y repetir los pasos: secar, enfriar y pesar hasta obtener pesos constantes ($\pm 0,1$ mg).

Los cálculos para determinar la cantidad de sólidos totales en la biomasa se los realizó en base a la ecuación 2.1.

$$\% \text{ de Sólidos Totales} = \frac{x_2 - x_1}{X} \times 100 \quad (2.1.)$$

Donde:

x_1 = Peso de la cápsula en g

x_2 = Peso de la cápsula más la muestra seca en g

X = Peso de la muestra en g

2.3.2 ANÁLISIS DE SÓLIDOS VOLÁTILES

El análisis se lo realizó según el método para determinación de cenizas en biomasa LAP-005 elaborado por el NREL,

2.3.2.1 MATERIALES

- Crisoles de porcelana de 50 mL
- Espátulas metálicas
- Desecador con material desecante

2.3.2.2 EQUIPOS

- Balanza analítica, *SARTORIUS CP-1248*
- Mufla, *THERMO FB-1415M*

2.3.2.3 PROCEDIMIENTO

- Poner en crisoles debidamente rotulados y tarados, entre 0,5 y 1 g de muestra, pesados lo más exactamente posible en una balanza analítica.
- Calcinar las muestras en una mufla a 575 ± 25 °C por 3 horas.
- Colocar los crisoles en un desecador hasta que alcancen temperatura ambiente.
- Pesarse los crisoles con la muestra calcinada, y repetir los pasos: calcinarse, enfriarse y pesarse hasta tener pesos constante ($\pm 0,1$ mg).

Los cálculos para determinar la cantidad de cenizas se realizaron en base a la ecuación 2.2.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{x_2 - X_1}{X} \times 100 \quad (2.2.)$$

Donde:

x_1 = Peso del crisol en g

x_2 = Peso del crisol con las cenizas en g

X = Peso muestra en g

El porcentaje de sólidos volátiles se calcula en base a la ecuación detallada a continuación.

$$\% \text{ de sólidos volátiles} = 100 - \% \text{ de cenizas} \quad (2.3.)$$

2.3.3. CÁLCULO DE CARBONO ORGÁNICO

La cantidad de carbono orgánico en las muestras se calculó en base al factor de Van Bemmelen, el cual se basa en una observación que determina que la materia orgánica generalmente contiene el 58 % de carbono, el cálculo se realizó conforme la ecuación 2.4.

$$\% \text{ Carbono orgánico} = \frac{\% \text{ de Sólidos Volátiles} \times 58}{100} \quad (2.4.)$$

2.3.4. ANÁLISIS DE NITRÓGENO TOTAL

El análisis de nitrógeno total en las muestras se lo realizó en base al método Kjeldahl como referencia se usó la norma oficial AOAC 960.52.

2.3.4.1. MATERIALES

- Vasos de precipitación de 100, 250 y 500 mL
- Pipetas graduadas y volumétricas de 5, 10, y 25 mL
- Bureta de 50 mL
- Matraces erlenmeyer de 250 mL
- Tubos de vidrio para digestión de 350 mL
- Agitadores de vidrio
- Espátulas metálicas
- Núcleos de ebullición

2.3.4.2. EQUIPOS

- Balanza analítica, *SARTORIUS CP-1248*
- Reactor de temperatura, *KJELDAHL VALP SCIENTIFIC-PK6*
- Destilador, *KJELDAHL VALP SCIENTIFIC-UDK12*

2.3.4.3. REACTIVOS

- Ácido sulfúrico concentrado

- Tableta catalizadora de sulfato cúprico y sulfato de sodio
- Solución de hidróxido de sodio al 40 %
- Solución indicadora Mortimer 0,016 % de rojo de metilo, 0,083 % de verde bromo cresol en etanol
- Solución valorada de ácido clorhídrico 0,05 N
- Solución de ácido bórico al 4 %
- Agua desionizada (resistividad 18,2 MΩ.cm a 25 °C)

2.3.4.4. PROCEDIMIENTO

- Colocar en un tubo de digestión de 350 mL cuantitativamente 0,2 g de muestra y añadir 20 mL de ácido sulfúrico concentrado, tres núcleos de ebullición y una tableta catalizadora.
- Digestar la muestra en un reactor de temperatura por 1 hora a 450 °C.
- Posteriormente, en el equipo de destilación, hacer reaccionar el contenido del tubo con suficiente hidróxido de sodio al 40 % para neutralizar el ácido sulfúrico; recolectar el amoníaco (NH₃) producido en esta reacción en un matraz erlenmeyer que contenga 25 mL de ácido bórico al 4 % y unas gotas de indicador de Mortimer, el cual debe virar de rojo a azul al contacto con el amoníaco.
- Titular el contenido del matraz erlenmeyer con ácido clorhídrico 0,05N valorado, hasta que la mezcla vire nuevamente a rojo.

Los cálculos para determinar la cantidad de nitrógeno total en las muestras secas se realizaron según la ecuación 2.5.

$$\% \text{ Nitrógeno Total} = \frac{V \times 14 \times N}{m} \times 100 \quad (2.5.)$$

Donde:

V = Volumen de ácido clorhídrico valorado consumido en la titulación

N = Normalidad real del ácido clorhídrico

m = Peso de la muestra

Para obtener el % de proteína se multiplicó el % de nitrógeno total por el factor 6,25, que proviene de asumir que la proteína posee en promedio un 16 % de nitrógeno.

2.3.5. ANÁLISIS DE GRASA CRUDA

El análisis de grasa cruda se lo realizó mediante extracción continua en Soxhlet con éter de petróleo; como referencia se siguió la norma AOAC 920.39.

2.3.5.1. MATERIALES

- Papel filtro
- Núcleos de ebullición
- Desecador con material desecante

2.3.5.2. EQUIPOS

- Equipo de extracción *SOXHLET* (matraz de 100 mL, cámara de extracción, condensador)
- Manta de calentamiento, *LabHEAT*
- Estufa, *SHEL LAB 1350-GX*
- Balanza analítica, *SARTORIUS CP-1248*

2.3.5.3. REACTIVOS

- Éter de petróleo

2.3.5.4. PROCEDIMIENTO

- Añadir 4 o 5 núcleos de ebullición al matraz del equipo de extracción Soxhlet, y colocar en una estufa a 70 °C por 1 hora; a continuación dejar enfriar el matraz en un desecador hasta temperatura ambiente.
- Pesar el matraz y repetir el procedimiento hasta obtener pesos constantes.
- Armar con papel filtro un cartucho de tamaño adecuado para ser colocado en la cámara de extracción del equipo Soxhlet.
- Colocar cuantitativamente en el cartucho 2 g de muestra seca, y ponerlo dentro de la cámara de extracción; cuidadosamente añadir éter de petróleo hasta que la cámara se llene completamente del solvente y este caiga hacia el matraz a través del sifón.
- Ensamblar el condensador del equipo de extracción, abrir el flujo de agua y realizar la extracción durante 3 horas.
- Desmontar el equipo y eliminar el exceso del solvente del matraz con el extracto en una estufa a 35 °C.
- Dejar enfriar el matraz en un desecador, y pesar, repetir los pasos: secar, enfriar y pesar hasta tener pesos constantes.

El cálculo del % de aceites y grasas totales en muestra seca se lo realizó en base a la ecuación detallada a continuación.

$$\% \text{ aceites y grasas} = \frac{x_2 - x_1}{X} \times 100 \quad (2.6.)$$

Donde:

x_1 = Peso del balón seco en g

x_2 = Peso del balón con el extracto en g

X = Peso de la muestra en g

2.3.6. ANÁLISIS DE CARBOHIDRATOS ESTRUCTURALES

Este análisis se lo realizó por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), basándose en el método NREL para el análisis de carbohidratos estructurales en biomasa; por carbohidratos estructurales se entiende a los monosacáridos que conforman parte de la biomasa; en el caso de la biomasa lignocelulósica los principales son glucosa y xilosa.

La puesta a punto del método del HPLC, así como la calibración del mismo fue realizada por personal del laboratorio en donde se realizó esta investigación.

2.3.6.1. MATERIALES

- Botellas de laboratorio de 100 mL
- Tubos de ensayo de 25 mL
- Balones de aforo clase A de 25 mL
- Viales de vidrio 1.5 mL con tapa
- Probeta graduada de 100 mL
- Agitadores de vidrio
- Papel aluminio

2.3.6.2. EQUIPOS

- Balanza analítica, *SARTORIUS CP-1248*

- Baño María, *PRECITHERM-PFV*
- Autoclave, *TUTTNAUER-3070*
- Cromatógrafo líquido de alta eficiencia, *AGILENT TECHNOLOGIES-1200* con detector de índice de refracción RID.

2.3.6.3. REACTIVOS

- Ácido sulfúrico 72% p/p
- Ácido sulfúrico 0.005N
- Agua desionizada (resistividad 18,2 MΩ.cm a 25°C)
- Solución de hidróxido de sodio 40 %

2.3.6.4. PROCEDIMIENTO

- Pesar 0,3 g de muestra seca y colocarlos en un tubo de ensayo de 25 mL.
- Añadir 3 mL de ácido sulfúrico al 72 % p/p y agitar vigorosamente.
- Colocar el tubo con muestra y ácido sulfúrico en baño maría a 30 °C por 2 horas.
- Trasvasar el contenido del tubo de ensayo a una botella de laboratorio de 100 mL y agregar 84 mL de agua desionizada.
- Tapar ligeramente la botella, sellarla con papel aluminio y autoclavar por 1 hora a 121 °C.
- Dejar enfriar la botella, y posteriormente tomar una alícuota de 20 mL, estabilizar el pH entre 5 y 6 con una solución de hidróxido de sodio al 40 %, y aforar hasta un volumen de 25 mL con agua desionizada.
- Colocar 1 mL de la muestra tratada o de una dilución adecuada de la misma en un vial de 1,5 mL para análisis por HPLC.

- El análisis por HPLC se realizó en un instrumento equipado con una columna de intercambio iónico Phenomenex Razex ROA H⁺, con ácido sulfúrico 0.005N como fase móvil y con un detector de índice de refracción.

En base a los resultados obtenidos, se realizó los cálculos para conocer el contenido total de monosacáridos estructurales (suma de glucosa y xilosa) en los subproductos lignocelulósicos de palma y banano en muestra seca empleando la siguiente ecuación.

$$\% \text{ de Azúcares Estructurales} = \frac{[\]_{HPLC} \times V_1 \times V_3}{V_2 \times P_m} \times 100 \quad (2.7.)$$

Donde:

$[\]_{HPLC}$ = Suma de las concentraciones de glucosa y xilosa en mg/mL dadas tras el análisis en HPLC

V_1 = Volumen total de la dilución del ácido sulfúrico en mL (87mL)

V_2 = Volumen de la alícuota en mL

V_3 = Volumen de aforo de la alícuota en mL

P_m = Peso de la muestra en mg

2.4. PREPARACIÓN DE BIODIGESTORES PARA LOS ENSAYOS

2.4.1. MATERIALES

- Botellas de laboratorio de 250 mL y 1000 mL
- Termómetro de mercurio de -10 a 100 °C
- Agitador magnético

- Tapones de caucho de varios diámetros
- Mangueras quirúrgicas
- Cilindro graduado de 500 mL
- Probeta de 1000 mL

2.4.2. EQUIPOS

- Placa de calentamiento y agitación magnética *BOECO MSH-420*
- pH-metro, *JENWAY-3305*

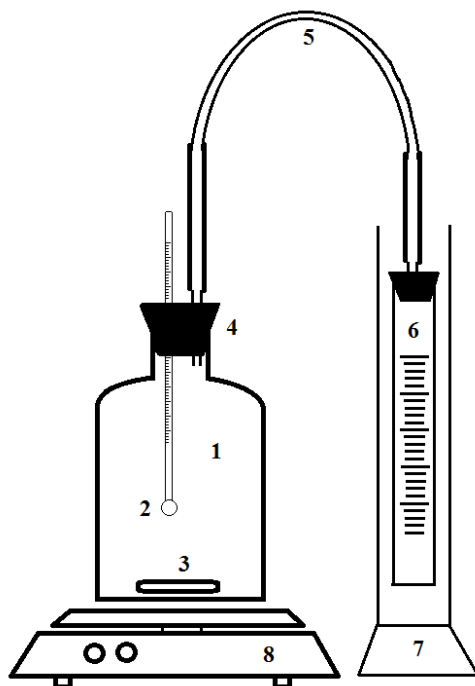
2.4.3. REACTIVOS

- Agua destilada
- Bicarbonato de sodio grado analítico
- Urea grado analítico

Los ensayos de producción de biogás se realizaron en biodigestores de régimen discontinuo (batch), a temperatura de 37 °C, es decir dentro del rango mesofílico, con una carga total de material a digerir de 150 g al 10 % en peso de sólidos volátiles. Para cada biodigestor se trabajó por duplicado; paralelamente se colocó un biodigestor de control.

2.5. ENSAMBLAJE DE LOS BIODIGESTORES

Los digestores para los ensayos fueron ensamblados de acuerdo a como se detalla en la figura 2.1.



1. Botella de laboratorio
2. Termómetro
3. Magneto para agitación
4. Tapón de caucho
5. Manguera
6. Cilindro plástico graduado
7. Probeta de vidrio
8. Placa de calentamiento y agitación magnética

Figura 2.1. Diagrama de ensamblaje de los biodigestores utilizados en los ensayos

El biogás producido es recolectado y medido en el cilindro graduado; en base a la cantidad de agua que éste desplaza hacia la probeta de vidrio en la cual está sumergido.

2.6. CARGA DE LOS BIODIGESTORES

Para la producción de biogás se debió originar una población de microorganismos (inóculo) y mantenerla en constante crecimiento para ser colocada en los biodigestores junto con la biomasa lignocelulósica a degradar.

2.6.1. INÓCULO

En un biodigestor de 1000 mL de capacidad, ensamblado acorde la figura 2.1, se colocó 800 mL de una mezcla de estiércol vacuno con agua, manteniendo una concentración de sólidos totales entre 5 y 8 % a 37 °C y bajo agitación constante.

Para mantener el crecimiento de microorganismos en fase exponencial¹, cada semana se purgó el biodigestor, extrayendo 100 mL de su contenido y posteriormente añadiendo 100 mL de caldo nutriente LB² al 2%.

Se consideró al inóculo como apto para proceder con los ensayos, cuando la producción de biogás del biodigestor fue constante y su concentración de metano igual o mayor al 50% (Anexo N°6).

2.6.2. BIODIGESTORES DE ENSAYO

En biodigestores de 250 mL de capacidad, se colocó una carga total de material a fermentar de 150 g, comprendidos en una mezcla entre el desecho lignocelulósico de prueba, el inóculo y agua destilada, en las cantidades que se detalla a continuación:

- La cantidad de desecho lignocelulósico de prueba seco en la que se tiene 10 g de sólidos volátiles.
- La cantidad de inóculo en la que se tiene 5 g de sólidos volátiles.
- Agua destilada hasta completar 150 g (carga total de sólidos volátiles del biodigestor 10% en peso).

¹ Fase exponencial o logarítmica: etapa de crecimiento bacteriano en donde las células se duplican por unidad de tiempo.

² LB (Lennox L Broth base): es un nutriente a base de NaCl, Triptona y extracto de levadura, que favorece el crecimiento de la población microbiana.

Posteriormente, se midió el pH de la mezcla de cada biodigestor, y de ser necesario se corrigió hasta 7,5 con bicarbonato de sodio; de la misma manera conociendo la relación original de C/N de la mezcla del biodigestor, se añadió urea hasta que la relación sea 25:1.

La cantidad de subproducto lignocelulósico y de inóculo, en los cuales se tiene 10 y 5 gramos de sólidos volátiles respectivamente; así como la cantidad de urea necesaria para llegar a la relación C/N deseada fue determinada en base a los resultados de los ensayos de caracterización.

2.6.3. BIODIGESTOR DE CONTROL

Para cada subproducto lignocelulósico se corrió en paralelo un biodigestor de control, el cual fue llenado únicamente con la cantidad de inóculo usada en los biodigestores de prueba con el desecho lignocelulósico, es decir la cantidad en la que se tiene 5 g de sólidos volátiles.

2.7. MONITOREO DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS

Los volúmenes de biogás producidos se reportaron bajo condiciones de temperatura y presión atmosférica normalizadas (273 °K y 1013 mbar). Durante cada medición, se tomó los valores de la presión y temperatura ambiente, con los que mediante la ecuación de la ley combinada de los gases (ver ecuación 2.8.), se transformó los volúmenes de biogás desde condiciones ambientales reales hasta condiciones ambientales normalizadas.

$$V_2 = \frac{P_1 V_1 T_2}{P_2 T_1} \quad (2.8.)$$

Donde:

V_1 = Volumen medido en condiciones ambientales reales

V_2 = Volumen en condiciones estándar

P_1 = Presión real en mbar

P_2 = Presión estándar (1013 mbar)

T_1 = Temperatura real en °K

T_2 = Temperatura estándar (273 °K)

Los volúmenes de biogás producidos, por cada biodigestor, se reportaron semanalmente a lo largo de todo el experimento.

2.8. ANÁLISIS DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

Los análisis de la DQO, se basaron en el método HACH de digestión de la muestra con una solución de dicromato en medio ácido a 150 °C, y con medición colorimétrica; como referencia se siguió el procedimiento detallado en el apéndice A del manual del reactor HACH modelo 45600.

2.8.1. MATERIALES

- Balones de aforo de 25, 50, 100 y 1000 mL clase A
- Tubos de plástico con tapa de 50 mL
- Pipeta automática de 0,1 a 1 mL
- Pipeta automática de 1 a 5 mL
- Vasos de precipitación de 100 y 250 mL
- Espátulas metálicas
- Agitadores de vidrio

- Celdas de vidrio para espectrofotómetro de 1 cm de ancho

2.8.2. EQUIPOS

- Reactor de temperatura, *HACH DBR-200*
- Espectrofotómetro UV-VIS, *THERMO SPECTRONIC- HELIOS BETA*
- Agitador eléctrico, *HEIDOLPH*
- Estufa, *SHEL LAB 1350-GX*

2.8.3. REACTIVOS

- Tubos de reactivo para DQO HACH de rango alto (0-1500 ppm)
- Ftalato ácido de potasio (KHP) grado analítico
- Agua desionizada (resistividad 18,2 M Ω .cm a 25°C)

2.8.4. PROCEDIMIENTO

Previo a los análisis de las muestras, se preparó una curva de calibración siguiendo los pasos detallados a continuación:

2.8.4.1. PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE CONCENTRACIÓN CONOCIDA PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN

- Secar en la estufa cantidad suficiente del reactivo patrón ftalato ácido de potasio (KHP), por 12 horas a 75 °C.
- Pesar 1,275 g del KHP secado, disolver en 500 mL de agua desionizada y aforar hasta 1 L, para tener una solución madre con una concentración de DQO de 1500 ppm (1,5 g/L).

- A partir de la solución madre preparar dos diluciones con concentraciones de DQO de 0,9 g/L y 0,3 g/L.

2.8.4.2. DIGESTIÓN

- Tomar 2 mL de cada una de las soluciones con concentración de DQO conocido y colocarlos en sendos tubos de reactivo, para análisis de DQO, marca HACH de rango alto (0 – 1500 ppm).
- Colocar los tubos de reactivo en el reactor de temperatura a 150 °C por 2 horas, después de este periodo, dejar enfriar los tubos hasta temperatura ambiente.

2.8.4.3. ANÁLISIS COLORIMÉTRICO

- Programar el espectrofotómetro a 620 nm de longitud de onda
- Encerar el equipo con agua desionizada
- Trasvasar aproximadamente 2 mL del contenido de un tubo digerido a una celda de vidrio, y medir su absorbancia en el espectrofotómetro.
- Repetir este proceso con el contenido de los demás tubos.

Una vez medidos los valores de absorbancia, se construyó la curva de calibración en el software Microsoft Excel, en función de sus respectivas concentraciones, además se obtuvo su coeficiente de determinación (R^2) y la ecuación de la recta.

2.8.4.4. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

El análisis de la DQO se realizó por duplicado en cada uno de los biodigestores de ensayo y sus respectivos biodigestores de control (Anexo N°2), tanto al inicio como al final del

proceso de fermentación anaerobia; el análisis se lo realizó según el siguiente procedimiento:

- Tomar de 1 a 2 mL de muestra del contenido del biodigestor.
- Preparar diluciones 1:100 y/o 1/200 según sea necesario; para que la toma de la cantidad de muestra a diluirse sea lo más representativa posible, homogenizar previamente con la ayuda de un agitador eléctrico
- Para la digestión y el análisis colorimétrico de las muestras se procedió de la misma manera que con el set de soluciones usadas para la preparación de la curva de calibración. (Revisar 2.8.4.2. y 2.8.4.3.).

La cuantificación se la hizo interpolando los valores de absorbancia en la curva de calibración, usando la ecuación de la recta.

Como control de calidad del análisis colorimétrico, con cada set de muestras se analizó paralelamente una muestra estándar de KHP con un valor de DQO conocido de 1000 mg/L; se aceptó la validez de los análisis cuando se obtuvo porcentajes de recuperación de esta solución entre el 95 y 105 % (Ver Anexo N°2).

2.9. ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL BIOGÁS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

El método para el análisis de la composición química del biogás y la calibración del equipo fueron desarrollados por personal de la empresa representante de Agilent Technologies en Ecuador, en base a aplicaciones de columnas de esta marca para el análisis de gases fijos y gas natural.

La composición química del biogás de cada biodigestor problema, fue analizada semanalmente.

2.9.1. MATERIALES

- Jeringa con seguro hermético de 2,5 mL *AGILENT TECHNOLOGIES*
- Pinzas quirúrgicas con seguro

2.9.2. EQUIPOS

- Cromatógrafo de gases *AGILENT TECHNOLOGIES-7890A*, con detector de conductividad térmica TCD.

2.9.3. REACTIVOS

- Estándar certificado de gases *SCOTTY*

2.9.4. TOMA DE MUESTRAS Y MÉTODO DE INYECCIÓN

El muestreo se realizó tomando 1 mL de muestra directamente de la manguera que conduce el biogás desde el biodigestor al cilindro graduado de recolección (ítem N°5 fig. 2.1.), para esto se utilizó una jeringa con seguro hermético.

La muestra se inyectó de forma manual directamente al puerto de inyección del cromatógrafo de gases.

2.9.5. CONFIGURACIÓN DEL CROMATÓGRAFO DE GASES Y MODOS DE OPERACIÓN

Para el análisis de la composición química del biogás obtenido a partir de las diferentes clases de biomasa lignocelulósica, se utilizó un cromatógrafo equipado con dos columnas conectadas en serie: Agilent-PLOT/Q de 30 m de longitud, 0.32 mm de diámetro y 20 µm de film y Agilent- MOLESIEVE 1909 IP-MS8 de 30 m de longitud, 0.32 mm de diámetro y 25 µm de film, y una válvula que desvía la dirección del flujo del gas de arrastre con la muestra, según la necesidad.

El dispositivo de detección fue un detector de conductividad térmica (TCD), y helio de alta pureza como gas de arrastre; las condiciones de operación de cada módulo del cromatógrafo de gases se muestran en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Condiciones de operación de los diferentes módulos del cromatógrafo.

Módulo	Temperatura de operación	Volumen de la muestra	Modo de operación
Puerto de inyección	40°C	1 mL	Split 1:50
Horno de columna	40°C	-	Isotérmica
Detector	250°C	-	-

2.9.6. ANÁLISIS CUALITATIVO

Los diferentes gases componentes del biogás fueron identificados en base a sus respectivos tiempos de retención, para lo que se calibró el equipo con una mezcla de gases estándar certificada marca Scotty que contiene CO₂, H₂, O₂, N₂ y CH₄. (Anexo N° 3).

2.9.7. ANÁLISIS CUANTITATIVO

El análisis cuantitativo se lo realizó en base a normalización de áreas, el cálculo para un analito X se realiza de acuerdo a la ecuación 2.9.

$$\text{Área \% } X = \left[\frac{A_x}{\sum_i(A_i)} \right] \times 100 \quad (2.9.)$$

Donde:

$\text{Área \% } X$ = Valor porcentual del área correspondiente al analito X

A_x = Área correspondiente al pico del analito X

$\sum_i(A_i)$ = Suma de las áreas de todos los picos cromatográficos separados.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. RESULTADOS

3.1.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS DESECHOS LIGNOCELULÓSICOS

La biomasa de raquis de palma y banano se caracterizó con el fin de definir condiciones favorables para realizar la digestión anaerobia, además para estimar la fracción de materia orgánica que puede ser degradada por esta vía.

Tabla 3.1. Caracterización química de los subproductos utilizados para la producción de biogás.

Parámetro	Unidades	Tipo de muestra	Subproducto	
			Raquis de palma	Raquis de banano
Sólidos Totales	%	húmeda	32,3	32,1
Sólidos Volátiles	%	seca	95,0	88,7
Nitrógeno Total	%	seca	1,8	1,4
Relación C/N	-	seca	31/1	37/1
Proteína	%	seca	11,2	8,8
Grasas	%	seca	7,6	1,2
Azúcares Estructurales (glucosa y xilosa)	%	seca	30,1	30,2

En base a estos resultados la cantidad de biomasa factible a degradar (suma de porcentajes de proteína, carbohidratos, y grasas) sería de 48,9 % para el subproducto de palma y de 40,2 % para el subproducto de banano en relación a la biomasa seca, o de 46,5% y 35,7%, respectivamente, en función de la cantidad de sólidos volátiles.

3.1.2. CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO

La cantidad de inóculo utilizado en los diferentes experimentos fue estimada en base a su concentración de sólidos volátiles; este ensayo se lo realizó previo a la colocación de cada set de biodigestores.

Tabla 3.2. Caracterización química del inóculo utilizado para fermentar cada tipo de desecho lignocelulósico

Parámetro	Unidades	Inóculo para biodigestores de:	
		Raquis de palma	Raquis de banano
Sólidos Totales	%	4,5	4,7
Sólidos Volátiles	%	4,2	4,1
Relación C/N	-	25/1	25/1

En base a los resultados de caracterización de los desechos lignocelulósicos y del inóculo de bacterias, se estandarizó la cantidad de biomasa a ser utilizada para que los resultados obtenidos puedan ser comparables entre los dos residuos de prueba; los biodigestores para el ensayo se cargaron de acuerdo a las cantidades de biomasa mostradas en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. Cantidades de biomasa y fuente de nitrógeno usada en los digestores de prueba para cada tipo de desecho lignocelulósico.

	Unidades	Para el desecho de:	
		Palma	Banano
Cantidad de desecho lignocelulósico para alcanzar 10 g de sólidos volátiles.	g	10,5	11,1
Cantidad de inóculo para alcanzar 5 g de sólidos volátiles.	g	119,0	122,0
Relación original C/N contenida en los biodigestores.	-	28/1	31/1
Fuente de nitrógeno agregada (Urea) para estabilizar la relación C/N	mg	90	130
Relación final C/N contenida en los biodigestores	-	26/1	26/1

Los biodigestores de control fueron cargados únicamente con la cantidad de inóculo en la que existen 5 de sólidos volátiles, es decir 118,8 y 121,6 g para la palma y el banano respectivamente.

3.1.3. RESULTADOS DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS

3.1.3.1. BIOGÁS A PARTIR DEL SUBPRODUCTO DE RAQUIS DE PALMA AFRICANA

La producción de biogás en batch a partir de raquis de palma, se llevó a cabo en un periodo de 12 semanas comprendidas entre los días 26 de noviembre de 2010 y 17 de febrero de 2011.

El volumen de biogás producido por cada réplica del experimento así como por el control se muestra en la tabla 3.4; todos los volúmenes de biogás están expresados en mililitros normalizados (mL N.) a las condiciones ambientales estándar (1 atm y 0 °C).

Tabla 3.4. Producción de biogás de los biodigestores con subproducto de raquis de palma africana y su respectivo biodigestor control

SEMANA	BIODIGESTOR 1		BIODIGESTOR 2		CONTROL	
	VOL. (mL)	VOL. ACUMULADO (mL)	VOL (mL)	VOL ACUMULADO (mL)	VOL (mL)	VOL ACUMULADO (mL)
1	358,0	358,0	46,2	46,2	48,2	48,2
2	18,2	376,2	261,5	307,7	82,9	131,1
3	32,2	408,4	55,0	362,7	52,3	183,4
4	79,4	487,8	50,5	413,2	160,2	343,6
5	92,3	580,1	40,1	453,3	119,1	462,7
6	251,5	831,6	44,4	497,7	87,4	550,1
7	532,7	1364,3	126,8	624,5	20,1	570,2
8	909,9	2274,2	363,8	988,3	0,0	570,2
9	601,2	2875,4	551,3	1539,6	0,0	570,2
10	180,0	3055,4	521,3	2060,9	0,0	570,2
11	277,9	3333,3	420,1	2481,0	0,0	570,2
12	33,0	3366,3	217,4	2698,4	0,0	570,2

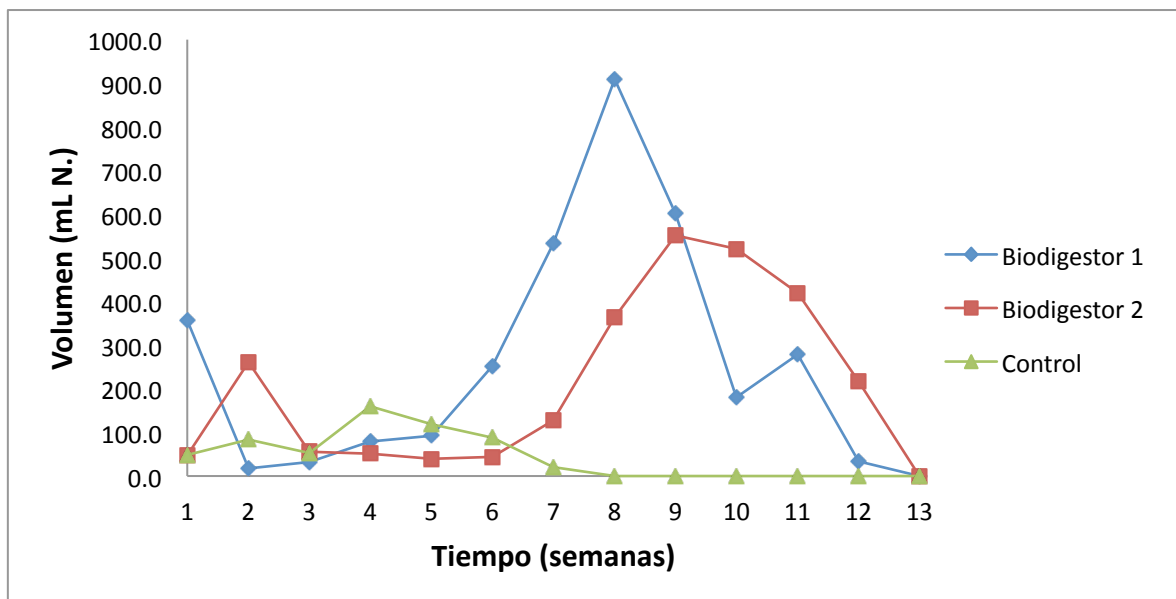


Figura 3.1. Producción semanal de biogás en los biodigestores con subproducto de raquis palma africana y su biodigestor control.

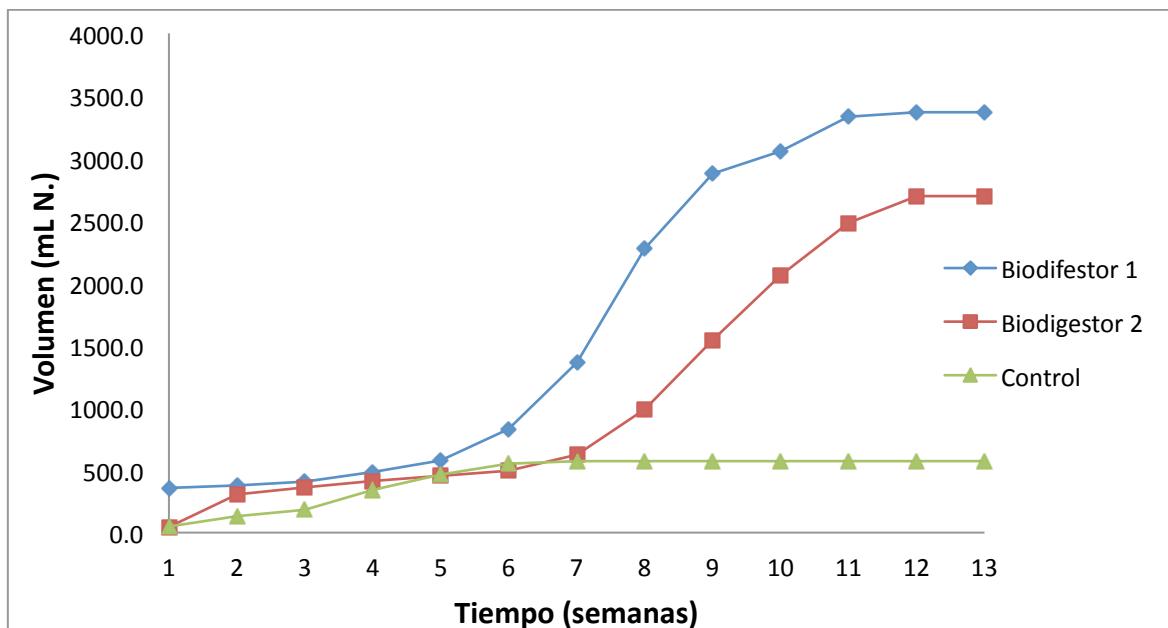


Figura 3.2. Comparación de la producción total de biogás de los biodigestores con subproducto de raquis de palma africana y su biodigestor de control

3.1.3.2. BIOGÁS A PARTIR DEL SUBPRODUCTO DE RAQUIS DE BANANO

La producción de biogás en batch a partir de raquis del banano, se llevó a cabo en un periodo de 9 semanas comprendidas entre los días 23 de febrero de 2011 y 26 de abril de 2011.

El volumen de biogás producido por cada réplica del experimento así como por el control se muestra en la tabla 3.5; todos los volúmenes de biogás están expresados en mililitros normalizados (mL N.) a las condiciones ambientales estándar (1 atm y 0 °C).

Tabla 3.5. Producción de biogás de los biodigestores con subproducto de raquis de banano y su respectivo biodigestor control

SEMANA	BIODIGESTOR 1		BIODIGESTOR 2		CONTROL	
	VOL. (mL)	VOL. ACUMULADO (mL)	VOL. (mL)	VOL. ACUMULADO (mL)	VOL. (mL)	VOL. ACUMULADO (mL)
1	315,7	315,7	751,7	751,7	26,9	26,9
2	0,0	315,7	30,8	782,5	30,7	57,6
3	74,6	390,3	79,9	862,4	30,3	87,9
4	185,5	575,8	76,1	938,5	32,1	120,0
5	536,6	1112,4	80,0	1018,5	44,1	164,1
6	280,3	1392,7	115,6	1134,1	130,3	294,4
7	18,9	1411,6	155,1	1289,2	163,7	458,1
8	0,0	1411,6	245,2	1534,4	152,7	610,8
9	0,0	1411,6	69,6	1604,0	96,8	707,6

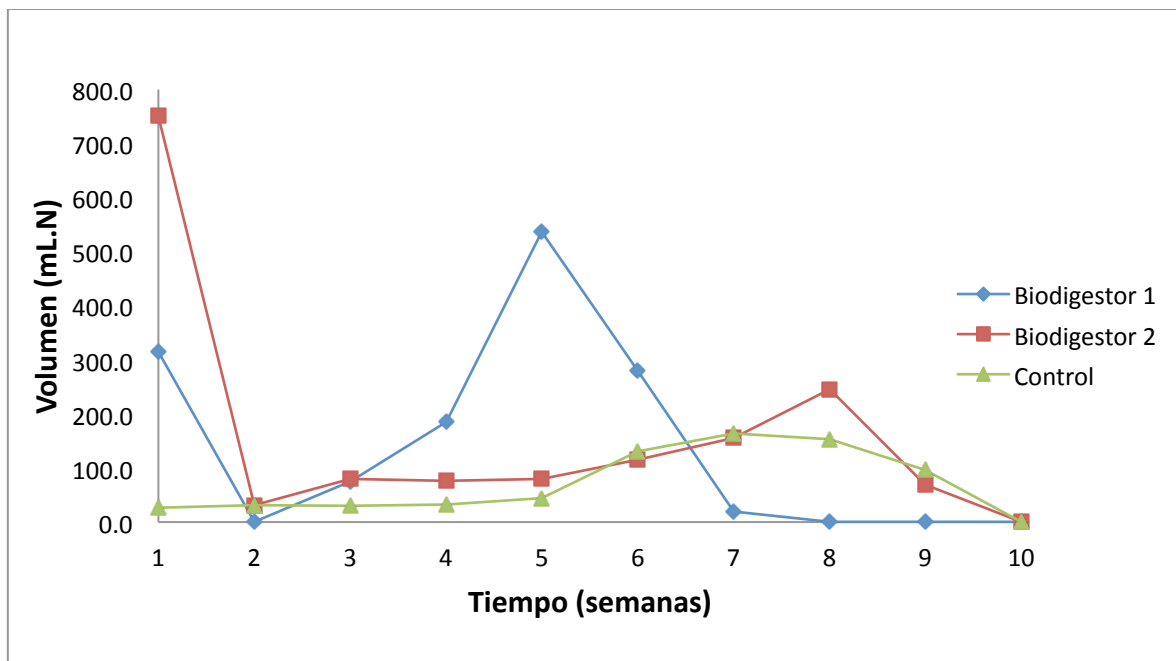


Figura 3.3. Producción semanal de biogás en los biodigestores con subproducto de raquis de banano y su biodigestor de control.

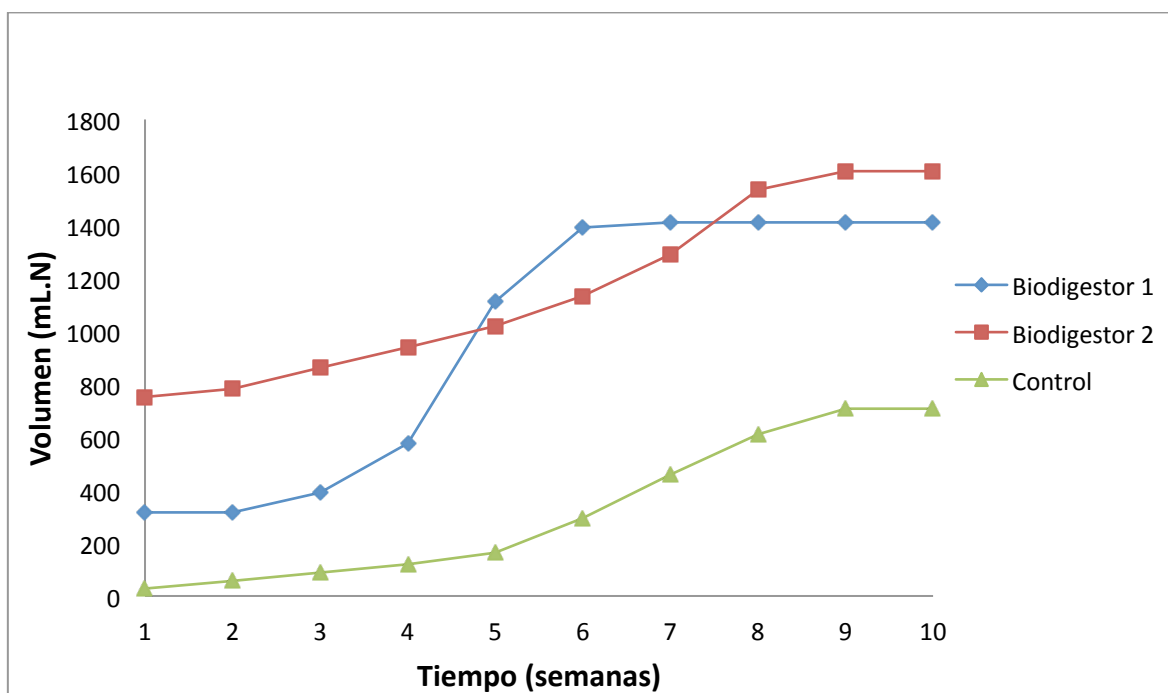


Figura 3.4. Comparación de la producción total de biogás de los biodigestores con subproducto de raquis de banano y su biodigestor de control

3.1.4. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

3.1.4.1. CURVA DE CALIBRACIÓN

En la tabla 3.6, se muestran los valores de absorbancia obtenidos para las diferentes soluciones estándar con las que se elaboró la curva de calibración para la medición de la DQO.

Tabla 3.6. Valores de concentración y absorbancia de los estándares con los que se construyó la curva de calibración para el análisis de la DQO.

Concentración (g/L)	Absorbancia
0	0,000
0.3	0,100
0.9	0,300
1.5	0,491

La figura 3.5 muestra la curva de calibración con la que se trabajó para la cuantificación de la concentración de la DQO de las muestras de los biodigestores de ensayo

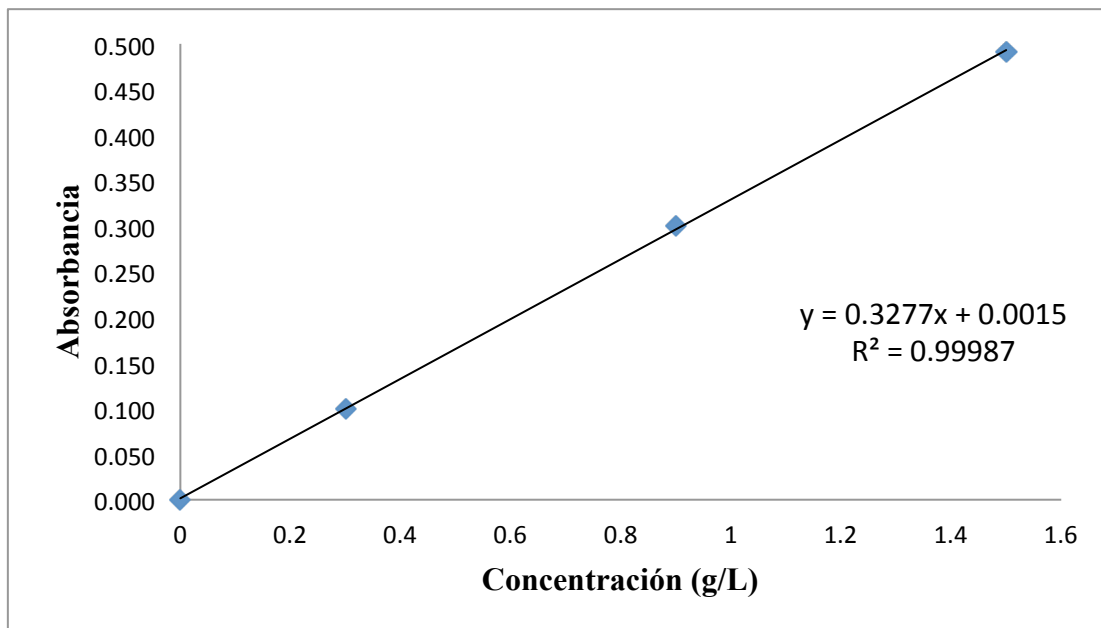


Figura 3.5. Curva de calibración usada para la cuantificación de la DQO

El coeficiente de determinación (R^2) para esta curva de calibración fue superior a 0,98, por lo que la curva se consideró adecuada para la cuantificación de la DQO de las muestras.

3.1.4.2. ANÁLISIS DE LA DQO DEL CONTENIDO DE LOS BIODIGESTORES

En la tabla 3.7 se muestran los promedios de los análisis por duplicado de la DQO inicial y final del contenido de los biodigestores de palma y banano.

Tabla 3.7. Resultados del análisis de la DQO inicial y final para los biodigestores de palma y banano

Subproducto lignocelulósico	Biodigestor	Conc. DQO inicial (g/L)	Conc. DQO final (g/L)	DQO reducido (g/L)	Porcentaje de DQO reducido (%)	Porcentaje promedio de DQO reducido (%)
Raquis de palma africana	1	143,7	91,4	52,3	36,4	33,2
	2	144,0	100,8	43,2	30,0	
Raquis de banano de seda	1	148,3	121,9	26,4	21,6	19,9
	2	153,3	129,8	23,4	18,1	

3.1.5. ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL BIOGÁS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

3.1.5.1. CALIBRACIÓN DEL CROMATÓGRAFO DE GASES

Para el análisis cualitativo y cuantitativo del biogás, primero se calibró el equipo de cromatografía con una mezcla de gases estándar; los tiempos de retención y factores de respuesta para cada compuesto se muestran en la tabla 3.8, mientras que su respectivo cromatograma se muestra en la figura 3.6.

Tabla 3.8. Valores obtenidos en la calibración del equipo de cromatografía de gases

Compuesto	Orden de Elución	Tiempo de retención (min)	Concentración en el estándar (% moles)	Área del pico	Factor de respuesta
CO ₂	1	2,108	20,00	7000,000	$2,857 \times 10^{-3}$
H ₂	2	3,038	2,00	33,942	$5,892 \times 10^{-2}$
O ₂	3	3,334	3,01	1100,000	$2,736 \times 10^{-3}$
N ₂	4	3,886	5,05	2100,000	$2,404 \times 10^{-3}$
CH ₄	5	4,480	69,94	$1,7 \times 10^4$	$4,114 \times 10^{-3}$

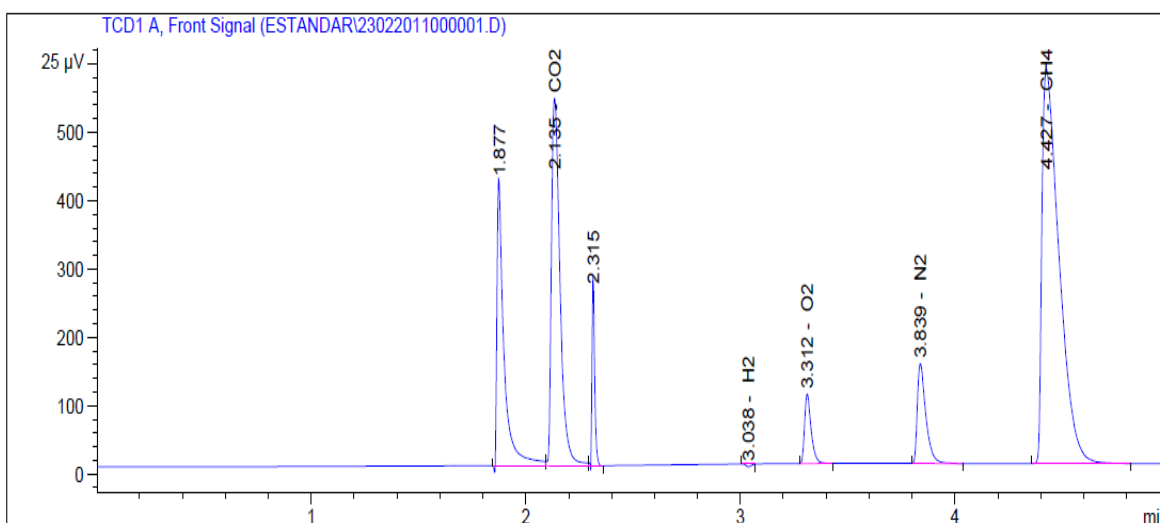


Figura 3.6. Cromatograma del gas estándar.

Los picos que se observan en el cromatograma del estándar (figura 3.6.) correspondientes a tiempos de retención 1.877 y 2,315 minutos, representan los momentos en los cuales la válvula que da paso selectivamente a cada una de las dos columnas cromatográficas se cierra y se abre durante la corrida de la muestra. Estos picos no son tomados en cuenta para la cuantificación por normalización de áreas.

3.1.5.2. ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL BIOGÁS DEL SUBPRODUCTO DE PALMA

En la tabla 3.9, se muestra la composición química del biogás de palma analizado semanalmente, para cada biodigestor de ensayo.

Tabla 3.9. Composición química semanal del biogás producido por los biodigestores con subproducto de raquis de palma

SEMANA	BIODIGESTOR 1				BIODIGESTOR 2			
	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	O ₂ (%)	N ₂ (%)	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	O ₂ (%)	N ₂ (%)
1	17,1	49,1	3,2	30,6	9,2	51,6	4,7	34,5
2	NA*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3	16,5	32,4	3,3	47,8	31,5	50,9	3,6	14,0
4	20,4	35,7	2,9	41,0	8,3	30,6	3,0	58,2
5	35,5	37,1	2,8	24,6	18,1	31,7	3,3	47,0
6	52,7	29,5	2,8	15,0	27,7	30,5	2,2	39,5
7	62,2	31,0	1,5	5,3	40,0	32,6	1,8	25,6
8	67,4	26,2	1,5	4,9	58,7	28,5	1,7	11,1
9	69,5	22,7	1,7	6,2	72,4	18,4	1,9	7,3
10	65,4	24,0	1,4	9,1	78,5	13,9	1,7	5,9
11	65,8	25,7	1,2	7,3	77,5	13,7	1,9	6,9
12	67,5	23,9	1,3	7,4	73,7	13,7	2,1	10,5

NA* = No se realizó el análisis por insuficiente cantidad de muestra

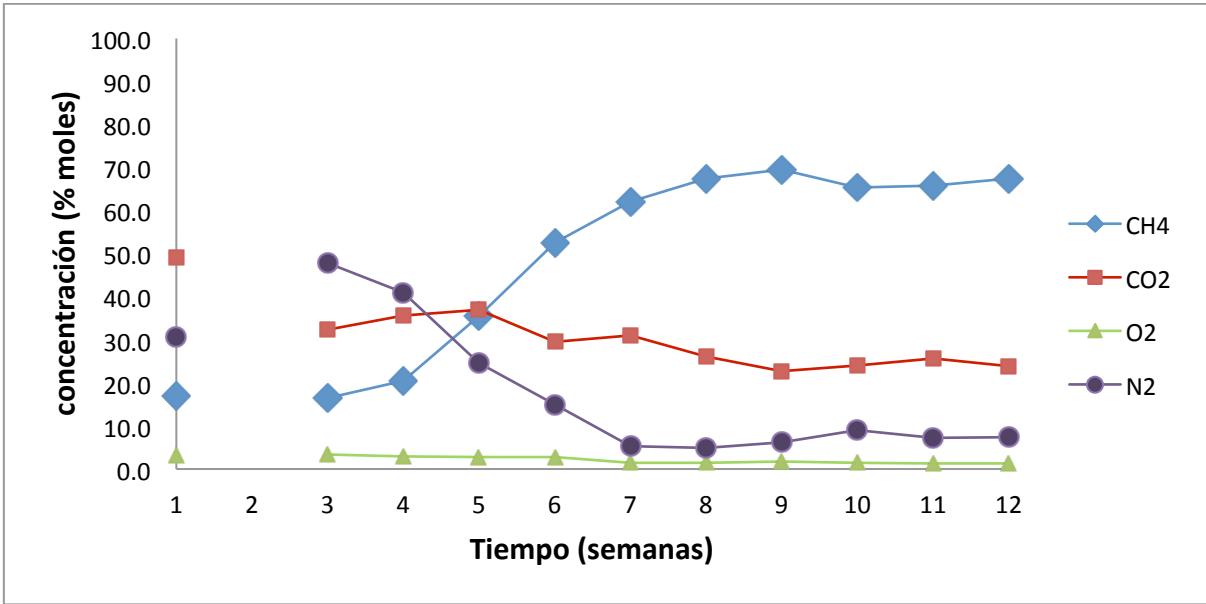


Figura 3.7. Concentraciones por semana de los diferentes gases componentes del biogás producido por el biodigester 1 de subproducto de palma africana.

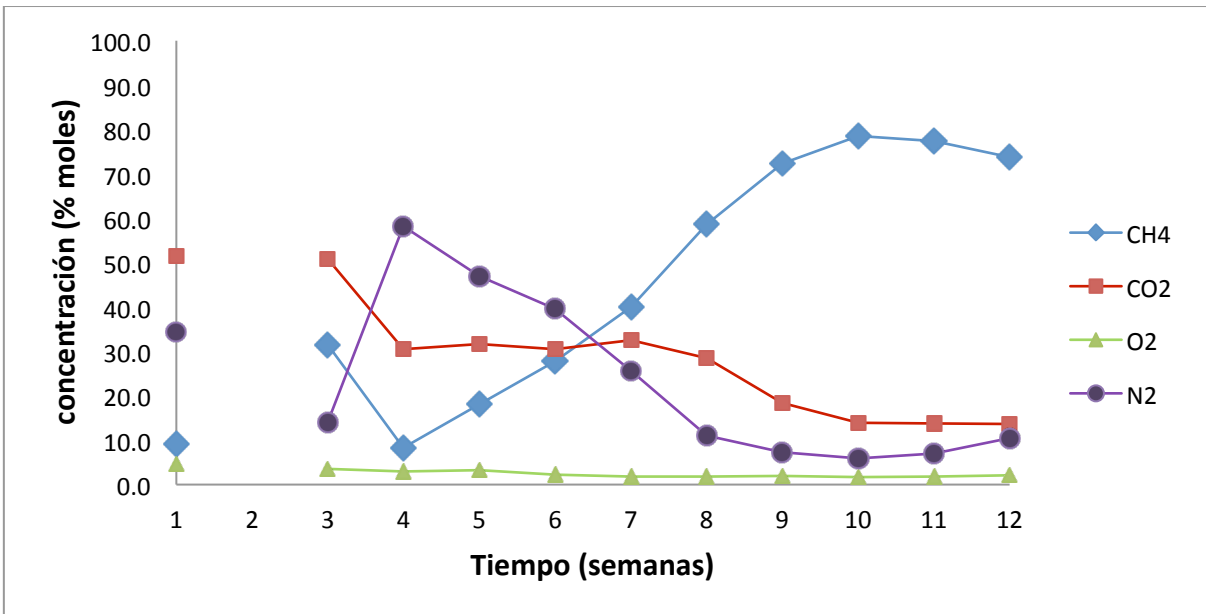


Figura 3.8. Concentraciones por semana de los diferentes gases componentes del biogás producido por el biodigester 2 de subproducto de palma africana.

3.1.5.3. ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL BIOGÁS DEL SUBPRODUCTO DE BANANO

En la tabla 3.10, se muestra la composición química del biogás de banano analizado semanalmente, para cada biodigestor de ensayo.

Tabla 3.10. Composición química semanal del biogás producido por los biodigestores con subproducto de raquis de banano

SEMANA	BIODIGESTOR 1					BIODIGESTOR 2				
	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	O ₂ (%)	N ₂ (%)	H ₂ (%)	CH ₄ (%)	CO ₂ (%)	O ₂ (%)	N ₂ (%)	H ₂ (%)
1	1,1	68,9	2,2	11,0	16,8	5,4	65,5	2,2	17,8	9,1
2	NA	NA	NA	NA	NA	11,0	46,3	2,4	40,3	ND
3	21,3	41,1	2,2	35,3	ND ⁺	14,5	42,2	3,6	39,8	ND
4	42,5	34,9	1,9	20,6	ND	21,1	35,9	3,0	40,0	ND
5	63,2	28,3	1,6	6,8	ND	49,0	25,5	2,0	23,5	ND
6	76,2	15,1	1,9	6,8	ND	61,4	15,7	2,6	20,4	ND
7	75,9	14,1	1,8	8,1	ND	71,2	10,7	2,7	15,5	ND
8	NA	NA	NA	NA	NA	75,8	9,2	2,8	12,1	ND
9	NA	NA	NA	NA	NA	78,8	9,5	2,3	9,4	ND

ND⁺ = Componente no detectado

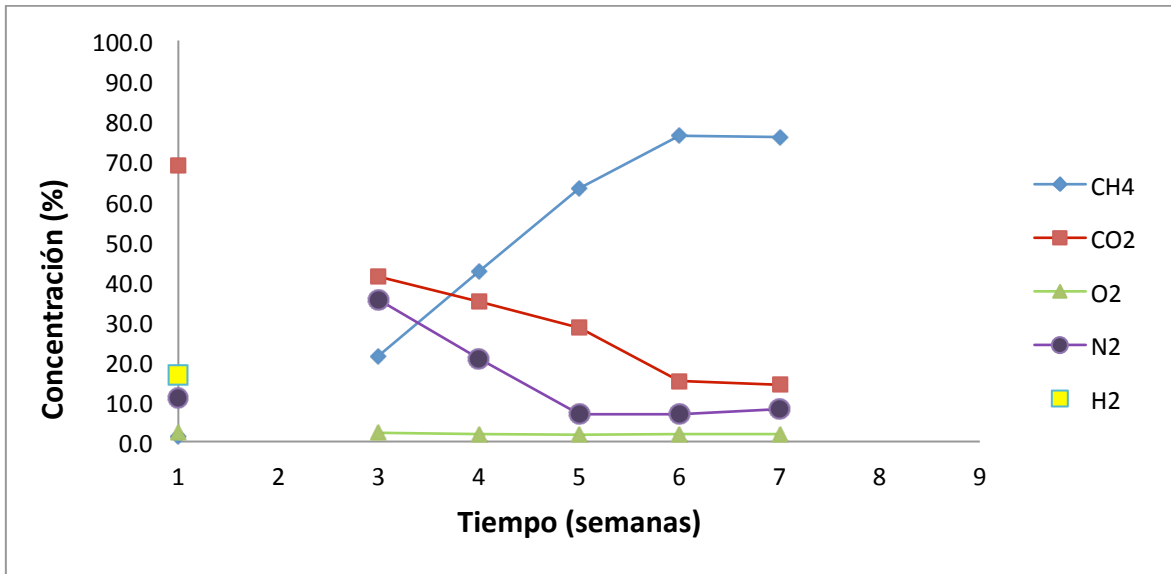


Figura 3.9. Concentraciones por semana de los diferentes gases componentes del biogás producido por el biodigester 1 de subproducto de banano.

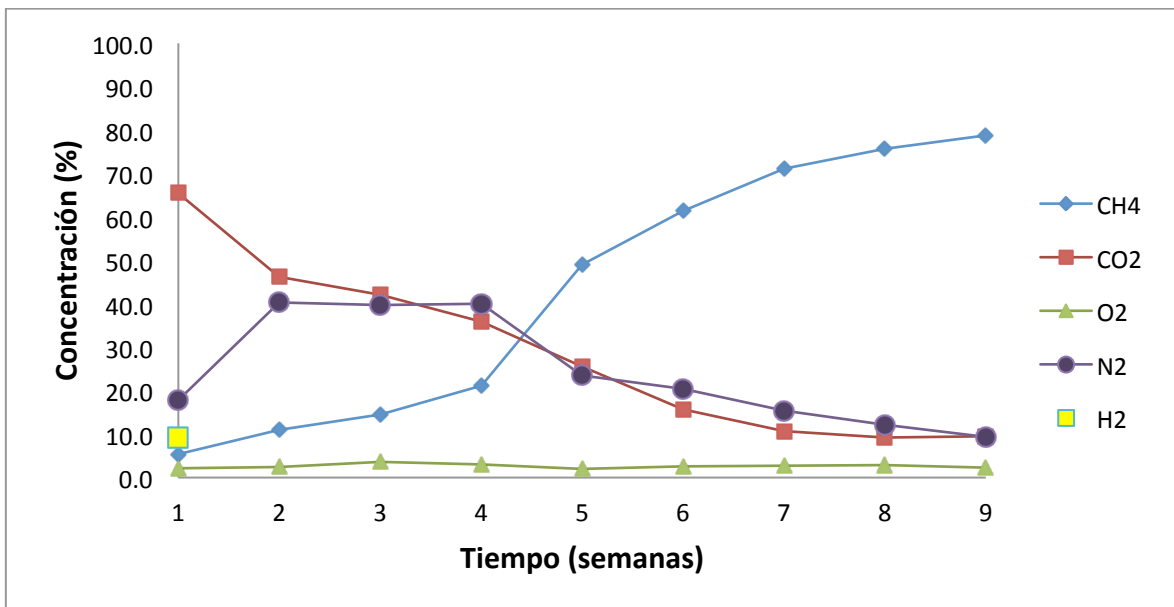


Figura 3.10. Concentraciones por semana de los diferentes gases componentes del biogás producido por el biodigester 2 de subproducto de banano.

3.2. DISCUSIÓN

3.2.1. PRODUCCIÓN DE BIOGÁS EN BASE A LA CONCENTRACIÓN DE SÓLIDOS VOLÁTILES

El objetivo de llevar biodigestores de control, fue determinar la cantidad de biogás producido únicamente por el subproducto lignocelulósico de interés, sin tomar en cuenta el aporte del inóculo.

Tabla 3.11. Volumen real de biogás producido por cada subproducto lignocelulósico bajo las mismas condiciones (10% de sólidos volátiles, 37°C, pH de 7 a 7,5 Relación C/N 26/1)

Subproducto lignocelulósico	Vol. Total biodigestor 1 (mL)	Vol. Total biodigestor 2 (mL)	Promedio (mL)	Vol. Biodigestor Control (mL)	Vol. aportado por el subproducto (mL)
Raquis Palma	3366,3	2698,4	3032,4	570,2	2462,2
Raquis Banano	1411,6	1604,0	1507,8	707,7	800,1

Basándose en estos resultados se puede estimar que el potencial para la producción de biogás de cada kilogramo de sólidos volátiles en condiciones normalizadas, sería de 246,2 litros para el subproducto de palma y 80,0 litros para el subproducto de banano.

3.2.2. PRODUCCIÓN DE BIOGÁS EN BASE A LA CANTIDAD DE DQO REDUCIDO

El promedio de la concentración inicial de la DQO de los biodigestores de palma y de banano fue de 143,9 g/L y 150,8 g/L respectivamente; lo que representaría que en un

volumen aproximado de 150 mL por cada biodigestor de ensayo, el contenido de la DQO inicial sería de 21,6 g y 22,6 g para los subproductos de palma y banano respectivamente.

Después de todo el periodo de digestión anaerobia se obtuvo una reducción de la DQO promedio, en los biodigestores de ensayo, de 33,2 % con el subproducto de palma y 19,9% con el subproducto de banano; es decir una reducción de 7,2 y de 4,5 g respectivamente; la cantidad de biogás producido por gramo de DQO reducido se muestran en la tabla 3.12.

Tabla 3.12. Volumen de biogás en base a la cantidad de DQO reducido

Subproducto lignocelulósico	Cantidad DQO inicial (g)	Cantidad DQO reducido (g)	Vol. Total de biogás (mL)	Vol. Biogás por gramo de DQO reducido (mL)
Raquis Palma	21,6	7,2	3032,4	421,1
Raquis Banano	22,6	4,5	1507,8	335,0

Los resultados de la tabla 3.12 se demuestran que un biodigestor trabajando bajo las mismas condiciones que en esta investigación, por cada kilogramo de DQO reducido produciría un volumen normalizado de 421,1 litros de biogás con el subproducto de palma y 335,0 litros con el subproducto de banano.

3.2.3. FACTORES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS ENTRE SUBPRODUCTOS

Tomando como referencia la cantidad de biogás producido por 10g de sólidos volátiles: 2462,2 mL para la palma y 800,1 mL para el banano, se observa una gran diferencia en la capacidad de producir biogás entre los subproductos lignocelulósico probados.

Si se compara las cantidades de material posible a ser degradado anaerobiamente (ver sección 3.1.1), 48,9 % para el raquis de palma y de 40,2 % para el raquis de banano, de biomasa seca, se esperaría que la producción total de biogás no debería diferir mucho entre cada desecho, lo que no se obtuvo por la determinada influencia de alguno de los factores que afectan a la digestión anaerobia como se explica a continuación.

3.2.3.1. INFLUENCIA DE LA CARGA ORGÁNICA DEL BIODIGESTOR

Entre los principales factores que afectan la producción de biogás están el tipo de desecho y la carga volumétrica; una excesiva carga volumétrica orgánica puede recaer en una elevada acidificación del biodigestor ya que las bacterias acidogénicas actúan más que las metanogénicas desfavoreciendo la producción de biogás [39].

Entre los productos que se obtiene en la fase acidogénica de la fermentación anaerobia se tiene hidrógeno gaseoso (ver ecuaciones 1.4 y 1.5); al revisar la composición química del biogás (ver tablas 3.9 y 3.10), se observa que durante la primera semana de digestión hubo producción de hidrógeno únicamente en los biodigestores de banano, lo que demostraría un desbalance hacia la fase acidogénica con este subproducto, justificando un pobre rendimiento de los biodigestores de este desecho traducida en una baja producción de biogás.

Por otra parte, un resultado que apoya esta hipótesis se tiene al observar los valores de pH obtenidos durante la primera semana (etapa acidogénica) de cada biodigestor de palma y banano; de los cuales los últimos muestran un mayor descenso en el pH durante este periodo como se muestra en la figura 3.11; se conoce que valores de pH menores a 6 y

mayores a 8 por periodos prolongados pueden inhibir el proceso de fermentación parcial o totalmente [39].

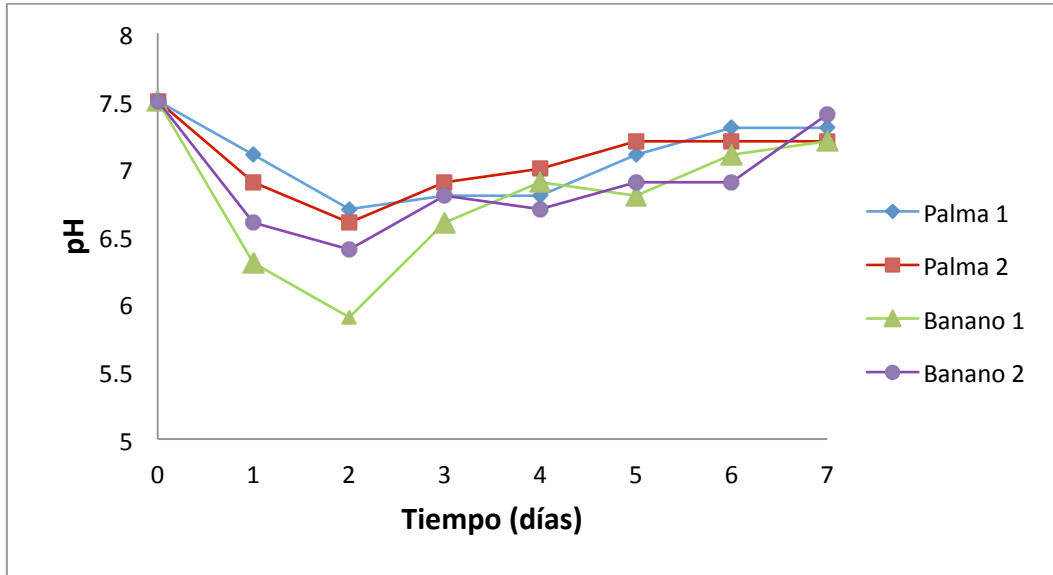


Figura 3.11. Valores de pH para cada biodigestor de ensayo en la primera semana de digestión

3.2.3.2. INFLUENCIA DE LA COMPLEJIDAD DE LA ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA BIOMASA LIGNOCELULÓSICA

Si se revisa los valores de la DQO reducida por el proceso de digestión anaerobia, se tiene valores promedio de 33,2 % para la palma y 19,9 % para el banano; los que no están cerca del total de materia orgánica posible a ser degradado estimado mediante los análisis de caracterización (ver sección 3.1.1).

Este efecto se puede atribuir a la complejidad del material lignocelulósico, el cual para liberar todos sus componentes biodegradables de la lignina, y degradar la parte cristalina de la celulosa requiere de pretratamientos ya sean físicos y/o químicos adecuados [24].

3.2.3.3. INFLUENCIA DEL TIPO DE MICROORGANISMOS QUE ACTÚAN EN CADA ETAPA DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

Durante la digestión anaerobia intervienen diversos tipos de microorganismos, en los que destacan bacterias facultativas, las cuales cobran importancia durante la fase de hidrólisis y la fase acidogénica degradando la biomasa y consumiendo oxígeno; mientras que durante la fase metanogénica actúan bacterias metanogénicas, mucho más sensibles que las facultativas a cambios de pH, temperatura y presencia de oxígeno, por lo que al inicio de esta etapa su población es reducida [9, 13].

Este comportamiento de las bacterias se observa en la baja producción de biogás en la mayoría de biodigestores durante la segunda semana de experimentación (fin de la etapa acidogénica e inicio de la etapa metanogénica) lo que representó escasez de muestra para ser analizada por cromatografía de gases.

Por otra parte se observa que la mayor producción por semana de biogás en todos los biodigestores, se da a partir de la segunda mitad del proceso de fermentación, lo que demuestra que el crecimiento de la población microbiana metanogénica es relativamente lento.

3.2.4. ASPECTOS DE IMPORTANCIA PARA EL ANÁLISIS DE BIOGÁS POR CROMATOGRFÍA DE GASES

Los diferentes gases que componen el biogás tienen propiedades físicas y químicas bastante heterogéneas, lo que afecta principalmente a la cuantificación de sus respectivas concentraciones, por lo que una correcta calibración es primordial para garantizar calidad en los resultados.

Con la calibración del equipo con un gas estándar, se puede conocer con certeza los tiempos de retención de cada analito además de superar la principal limitación que posee la cuantificación en base a áreas normalizadas, que es la diferente sensibilidad que presenta cada componente separado, es decir la respuesta que ofrece el detector frente a cada compuesto separado [34].

Mediante el uso de un estándar se puede conocer los valores de los factores de respuesta (f_x) de cada compuesto separado, como se muestra en la ecuación 3.1.

$$f_x = \frac{\text{Concentración del estandar para el compuesto } x}{\text{Área cruda del compuesto } x} \quad (3.1.)$$

Una vez obtenido el factor de respuesta se puede corregir el área de cada compuesto como se muestra en la ecuación 3.2.

$$\text{Área corregida del compuesto } x = f_x \times \text{Área cruda del compuesto } x \quad (3.2.)$$

Finalmente, ya corregida todas las áreas de los compuestos separados, se puede obtener sus respectivas concentraciones mediante la normalización de áreas (ver ecuación 2.9.).

3.2.5.POTENCIAL ENERGÉTICO DEL BIOGÁS OBTENIDO

Se conoce que vía combustión el metano produce 212,8 kCal/mol; de igual manera, por la ley de los gases ideales se sabe que 1 mol de un gas ideal, ocupa un volumen de 22.4 litros a 0 °C y 1 atm de presión; según esto se puede deducir que 1 m³ de metano contendría 44,6 moles de este gas produciendo vía combustión 9490,8 kCal.

El biogás que se obtuvo con los subproductos de palma y banano en esta investigación, alcanzó concentraciones de metano que oscilan el 60 y 70 %, por lo que si se trabajara en biodigestores continuos obteniendo regularmente biogás dentro de estas concentraciones de metano, por cada metro cúbico se tendría un valor energético entre 5694,5 y 6643,5 kCal o lo que representa de 6,6 a 7,7 kWh (Anexo N°5). Mediante motores una tercera parte de esta energía puede ser transformada en electricidad, que en términos prácticos permitiría mantener encendido un foco de 60 W por 6 horas.

La diferencia entre cada subproducto radica en la cantidad de material necesario para producir 1m³ de biogás. Según los resultados obtenidos (ver sección 3.2.1) se puede determinar que 4,2 kg de sólidos volátiles de subproducto de palma y 12,5 kg de sólidos volátiles de subproducto de banano serían necesarios para alcanzar el metro cúbico de biogás en condiciones normalizadas y bajo los mismos parámetros para la digestión anaerobia.

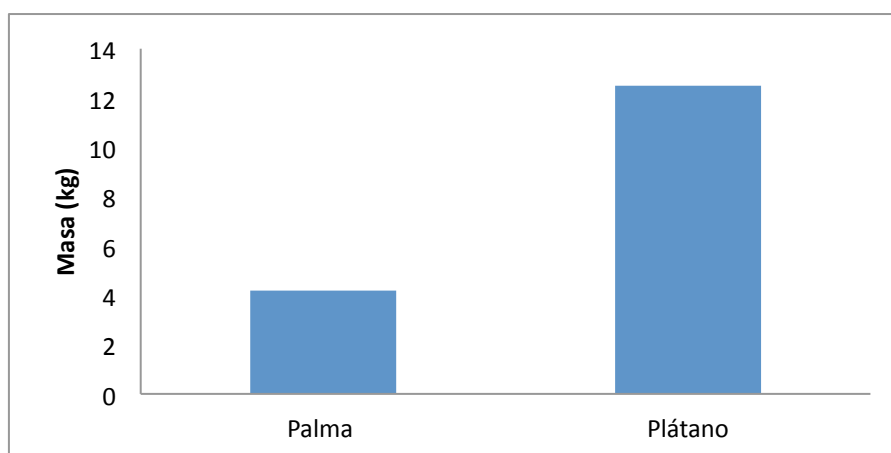


Figura 3.12. Cantidad material lignocelulósico en sólidos volátiles necesario para producir 1m³ de biogás.

3.2.6. POTENCIAL DEL RESIDUO DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA COMO BIOFERTILIZANTE

Una vez terminado el proceso de digestión anaerobia, el residuo no degradado de los biodigestores tienen un gran valor agronómico como biofertilizante, esto se debe a que la producción de biogás requiere ser dotada con ciertos nutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio, cuya concentración al inicio del proceso de digestión y al final del mismo tienden a mantener una relación de 1:1; por lo que estos nutrientes son útiles para el enriquecimiento de suelos [40].

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- Es posible la obtención de biogás a partir de los subproductos lignocelulósicos remanentes de la obtención de bioetanol de segunda generación, tanto de raquis de palma africana como de raquis de banano; siendo esto un aspecto de gran relevancia al momento de aprovechar al máximo el potencial energético que cada uno de estos desechos posee.
- La caracterización química de los subproductos utilizados resultó indispensable a fin de conocer la viabilidad de cada uno de ellos para ser transformado en biogás; además de proporcionar parámetros apropiados para adecuar los biodigestores de la mejor manera con el propósito de obtener abundante biogás y con alta concentración de CH₄.
- Si bien, la complejidad del material lignocelulósico no permitió transformar toda la materia orgánica biodegradable de cada subproducto en biogás, el cuidado minucioso de cada aspecto que afecta la eficiencia de los biodigestores se reflejó en la obtención de un biogás con alto poder calorífico tomando en cuenta su composición química, y en especial su concentración de metano, la cual superó el 70 % durante buena parte de los ensayos.

- En base a los volúmenes de biogás bajo condiciones normalizadas, estimados por cada kilogramo de sólidos volátiles (246 litros para el subproducto de palma y 80 litros para el subproducto de banano) se demuestra que las condiciones de digestión que favorecen a un tipo de biomasa, no necesariamente son adecuados para otro, o que la composición de la biomasa influye directamente sobre la productividad de biogás.
- El análisis de la DQO es una técnica analítica adecuada para conocer la cantidad aproximada de materia orgánica degradada y transformada en biogás; esto se debe a que es una técnica rápida y relativamente fácil de ejecutar, y su media es proporcional a la concentración de la materia orgánica.
- La cromatografía de gases multidimensional demostró ser una técnica analítica idónea para el análisis de muestras cuyos compuestos difieren en gran medida tanto en sus propiedades físicas como químicas; durante esta investigación, el uso conjugado de columnas cromatográficas de diferente naturaleza permitió separar por polaridad el CO₂ en una primera columna de los demás componentes del biogás, H₂, N₂, O₂ y CH₄, los cuales a su vez fueron separados en una segunda columna en base a sus respectivos tamaños moleculares.
- Según los resultados obtenidos, la cantidad de energía contenida en 1 m³ de biogás con 70% de metano en condiciones normalizadas es de 7.7 kWh; comparando con la energía de 1 litro de petróleo 9.1 kWh y 1 litro de diesel 9.8 kWh, se puede notar la diferencia energética a favor de los combustibles fósiles, sin embargo los beneficios económicos, sociales y ambientales que ofrece el biogás lo convierten en una alternativa atractiva.

- La posibilidad de obtener bioetanol de segunda generación, biogás y biofertilizante a partir de un solo tipo de desecho, demuestra la gran versatilidad que la biomasa lignocelulósica posee, lo que indiscutiblemente la posiciona como una firme candidata a ser una de las principales fuentes de energía del planeta a mediano plazo y cumpliendo con las exigencias que demanda el concepto de sustentabilidad.

4.2. RECOMENDACIONES

- Al ser Ecuador un país netamente agrícola, y por encontrarse en la zona de mayor diversidad biológica del planeta, la disponibilidad y diversidad de biomasa es enorme, razón por la cual se debe motivar el estudio y la investigación en todas las áreas de la ciencia y la tecnología involucradas en el aprovechamiento de este recurso, con el fin de obtener productos sustentables en beneficio de la humanidad y el ambiente.
- Con el fin de darle continuidad a este trabajo se recomienda realizar ensayos en régimen de digestión continuo, además variando parámetros como la carga orgánica de los biodigestores y su temperatura de funcionamiento.
- En la parte analítica sería aconsejable realizar la determinación de los ácidos orgánicos volátiles durante los primeros días de digestión, con el objeto de tener un mayor conocimiento del proceso de degradación de la materia orgánica durante este periodo y así prevenir un posible descenso en el rendimiento del biodigestor. De igual manera, se recomienda realizar un estudio de macro y micronutrientes antes de la digestión anaerobia, para poder proporcionar de mejores condiciones al proceso.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Lee, S., Spleight, J., Loyalka, S., (2007). *Handbook of alternative fuel technologies*, 1ª edición, Taylor & Francis group, New York.
- [2] Fernández, J. (2009). *Tecnología de las energías renovables*, 1ª edición, AMV Ediciones, Madrid.
- [3] Brown, R., (2003). *Biorenewable resources*, 1ª edición, Blackwell Publishing, Iowa.
- [4] Hiller, A., Stout, B. (1985). *Biomass energy a monograph*, 1ª edición, Tees Monograph Series, USA.
- [5] Damien, A. (2010). *La Biomasa: Fundamentos, Tecnologías y Aplicaciones*, 1ª edición, AMV Ediciones, Madrid.
- [6] Ragauskas, A., Williams, C., Daviso, B., Britovsek, G., Cairney J., Eckert, C., Frederick. W., Hallett J., Leak D., Liotta C., Mielenz J., Murphy, R., Templer, R., Tschaplinski, T., (2006). The path forward for biofuels and biomaterials. *Science*, 311, pp 484-489.
- [7] Cuervo. L., Folch, J., Quiroz, R., (2007). Lignocelulosa como fuente de azúcares para etanol, *BioTecnología*, 13, pp 11-25

- [8] Hendriks, A., y Zeemn, G. (2009), Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass, *Journal of Biotechnology*, 100, pp 10-18.
- [9] Cheng, J., (2009), *Biomass to Renewable Energy Processes*, 1ª edición, Taylor & Francis Group, New York.
- [10] Grupo Recursos Naturales. Los gases de efecto invernadero, http://www.inta.gov.ar/bellavista/info/revista/revista_2/Recursos_Naturales.pdf, 15 de febrero de 2011.
- [11] Chynoweth, D., Turick, C., Owens, J., Jerger, D., Peck, M., (1993), Biochemical methane potential of biomass and waste feedstock, *Biomass and Bioenergy*, 5, pp 95 – 111.
- [12] Rovira, L., (2005). Digestión anaerobia para el tratamiento de residuos orgánicos: estudio de las necesidades para la implantación en Perú, http://upcommons.upc.edu/revistes/bitstream/2099/2008/1/05_invest_JARAUTA.pdf , 17 de febrero de 2011.
- [13] Angelidaki, I., Ellegaard L., Kicer, B., (2003). Applications of the Anaerobic Digestion Process, *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, 82, pp 1 – 33.
- [14] Carrillo, L. (2003). Microbiología agrícola. Capítulo 5: Resumen y Biogás, <http://www.unsa.edu.ar/matbib/micragri/micagricap5.pdf>, 10 de julio de 2010.
- [15] Gonzáles, J. (2009). *Energías Renovables*, Editorial Reverté, S.A., Barcelona, España.

- [16] Hernández, A., (2001). Procedimiento de fermentación anaerobia combinada de residuos sólidos urbanos y lodos urbanos, http://www.espatentes.com/pdf/2199022_a1.pdf, 24 de febreros de 2010.
- [17]Hamilton, D., (2009). Anaerobic digestion of animal manures: Understanding the process, <http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-6278/BAE-1747web.pdf>, 24 de febrero de 2010.
- [18] Márquez, F., (2009). Biogás, su aprovechamiento y generación de electricidad, <http://www.energiauacm.org.mx/pdf/solar/biogas.pdf>, 24 de febrero de 2010.
- [19] European Biomass Association , (2009), *A biogas road map for Europe*. Bruselas, Bélgica.
- [20] Rojas, R., (2009), *Construcción de un biodigestor como alternativa de generación de energía eléctrica limpia*, Instituto Tecnológico de Ensenada, Ensenada.
- [21] Moncayo, G. (2009), *Dimensionamiento, Diseño y Construcción de Biodigestores y Plantas de Biogás*, 1ª edición, Aqualimpia Beratende Ingenieure, Santiago.
- [22] Hilbert, J. (2001), Manual para la producción de biogás, <http://www.inta.gov.ar/info/bioenergia/Manual%20para%20la%20producción%20de%20biogás%20del%20IIR.pdf>, 17 de agosto de 2010.

- [23] Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, (1996). *Fundamentos Básicos para el diseño de biodigestores anaeróbicos rurales*, Lima.
- [24] Bauer, A., Bösch, P., Friedl, A., Amon, T. (2009). Analysis of methane potentials of steam-explode wheat straw and estimation of energy yields of combined ethanol and methane production, *Journal of Biotechnology*, 142, pp 50 – 55.
- [25] Veeken, A., Hamelers, B. (2000). Effect of Substrate – seed mixing and leach ate recirculation on solid state digestion biowast, *Review Technology*, 5, pp 23 – 47.
- [26] Davidsson A., (2007). *Increase of biogas production at wastewater treatment plants*, Tesis de Ph.D., Lund University, Lund, Suecia.
- [27] Innovative Energie und Umwelttechnik INNOVAS, (2006). *Biogás en destilerías*, Múnich.
- [28] National Renewable Energy Laboratory, (2009). What is a Biorefinery?, <http://www.nrel.gov/biomass/biorefinery.html>, 26 de febrero de 2011.
- [29] Hartmann, H. Ahring B. (2006). *The future of biogas production*, Reporte de Investigación, Technical University of Denmark, Dinamarca.
- [30] Ruiz, R., Rodríguez, A., García, R., Chávez, A., Serrano, M., (2006). Determinación de la demanda química de oxígeno y su importancia en la ingeniería ambiental, *2º Foro académico nacional de Ingenierías y Arquitectura*, Morelia, México, pp 155-158.

[31] Stone, J. (1990). The chemistry of the chemical oxygen demand, <http://www.envexp.com/download/techsupport/articles/COD%20Article.pdf>, 10 de enero de 2011.

[32] Skoog, D., Holler, F., Nieman, T. (2001). *Principios de Análisis Instrumental*, 5ª edición, Mc Graw Hill, Madrid.

[33] Magaña, J., Torres, E., Martínez M., Sandoval, C., Hernández, R., (2006). *Producción de biogás a nivel de laboratorio utilizando estiércol de cabras*, Acta Universitaria, Universidad de Guanajuato, México.

[34] Mc.Nair, H., Miller, J. (2009). *Basic Gas Chromatography*, 2ª edición, Jhon Wiley and Sons Inc., New Jersey.

[35] Zhenghua, J. (2000). *GC/TCD Analysis of a natural gas sample on a single HP-PLOT Q column*, Reporte de aplicación, Agilent Technologies, USA.

[36] Linde Group. Thermal Conductivity Detector: Application Sheet, [http://hiq.linde-gas.com/international/web/lg/spg/like35lgspg.nsf/repositorybyalias/pdf_appl_tcd_hiq/\\$file/HiQ_GC_TCD\(appl\).pdf](http://hiq.linde-gas.com/international/web/lg/spg/like35lgspg.nsf/repositorybyalias/pdf_appl_tcd_hiq/$file/HiQ_GC_TCD(appl).pdf), 13 de diciembre 2010.

[37] Zhou, Y., Wang, C. (2003). *Analysis of permanent gases and methane with the Agilent 6820 Gas Chromatograph*, Reporte de aplicación, Agilent Technologies, Shanghai.

[38] Prochnow, A., Heiermann, M., Drenckhan, A., Schelle, H. (2005), Seasonal Pattern of Biomethanisation of Grass from Landscape Management. *Agricultural Engineering Internationa, the CIGR Ejournal*. Manuscript, 2.

[39] Cáceres, E., (2010). Producción de Biogás. Construcción de un Biodigestor, <http://es.scribd.com/doc/56658618/INGENIERIA-Produccion-de-Biogas-cursoPdf>, 17 de julio de 2011.

[40] Aparcana, S., Jansen, A., (2008). *Estudio sobre el valor Fertilizante de los productos del proceso “Fermentación Anaerobia” para producción de Biogás*, German ProfEC, Alemania.

ANEXOS

ANEXO N°1: “Resultados de los análisis de caracterización de la biomasa de los raquis de palma y banano”.

- Caracterización de la palma

Parámetro	Tipo de muestra	Muestra 1 (%)	Muestra 2 (%)	Promedio (%)	Coefficiente de Variación (%)
Sólidos totales	Húmeda	32,11	32,42	32,27	0,68
Sólidos volátiles	Seca	94,97	94,93	94,95	0,03
Nitrógeno total	Seca	1,84	1,77	1,81	2,74
Aceites y grasas	Seca	7,98	7,22	7,60	7,07
Azúcares estructurales	Seca	30,00	30,20	30,10	0,47

- Caracterización del banano

Parámetro	Tipo de muestra	Muestra 1 (%)	Muestra 2 (%)	Promedio (%)	Coefficiente de Variación (%)
Sólidos totales	Húmeda	32,11	32,07	32,09	0,09
Sólidos volátiles	Seca	88,72	88,77	88,75	0,04
Nitrógeno total	Seca	1,39	1,42	1,41	1,51
Aceites y grasas	Seca	1,16	1,33	1,25	9,66
Azúcares estructurales	Seca	28,80	31,60	30,20	6,56

ANEXO N° 2: “Resultado detallado de los análisis de la DQO”.

- DQO inicial

Desecho	Biodigestor	Muestra	Absorbancia	Factor de dilución	Concentración (g/L)	Promedio (g/L)
Palma	1	1	0,237	200	143,6	143,7
		2	0,237	200	143,6	
	2	1	0,241	200	146,1	144,0
		2	0,234	200	141,9	
	control	1	0,277	100	84,1	83,1
		2	0,271	100	82,2	
Banano	1	1	0,248	200	150,4	148,3
		2	0,241	200	146,1	
	2	1	0,251	200	152,4	153,3
		2	0,254	200	154,2	
	control	1	0,283	100	85,9	85,6
		2	0,281	100	85,3	

- DQO final

Desecho	Biodigestor	Muestra	Absorbancia	Factor de dilución	Concentración (g/L)	Promedio (g/L)
Palma	1	1	0,299	100	90,8	91,4
		2	0,303	100	92,0	
	2	1	0,334	100	101,4	100,8
		2	0,33	100	100,2	
	control	1	0,217	100	65,7	65,9
		2	0,218	100	66,1	
Banano	1	1	0,200	200	121,3	121,9
		2	0,202	200	122,5	
	2	1	0,214	200	129,8	129,8
		2	0,214	200	129,8	
	control	1	0,114	200	68,9	69,2
		2	0,115	200	69,5	

- Estándar 1000 ppm

Desecho	Etapa	Absorbancia	Factor de dilución	Concentración (ppm)	Porcentaje de recuperación (%)
Palma	Inicial	0,329	1	999,2	99,9
	final	0,337	1	1023,6	102,4
Banano	Inicial	0,321	1	974,8	97,5
	final	0,333	1	1011,4	101,1

ANEXO N°3: “Certificado de análisis de la mezcla de gases estándar utilizado para la calibración del cromatógrafo de gases usado en esta investigación”.



[Close Window](#) | [Save As](#) | [Print](#)

Shipped from:
6141 EASTON ROAD, BLDG 1
PO BOX 310
PLUMSTEADVILLE PA 18949-0310
Phone: 800-331-4953 Fax: 215-766-7226

CERTIFICATE OF ANALYSIS

FIELQUIMEC CIA LTDA RESIDENCIAL

"LA FLORENCIA"
MANZANA 4, CASA 3
PARROQUIA CALDERON
ECUADOR

PROJECT #: 01 -12597 -001
PO#: PO-21-2009
ITEM #: 0104C500167 14
DATE: 02Oct2009

ANALYTICAL ACCURACY: +/-2%
PRODUCT EXPIRATION: 02Oct2011

SCOTT LOT#: 927503L

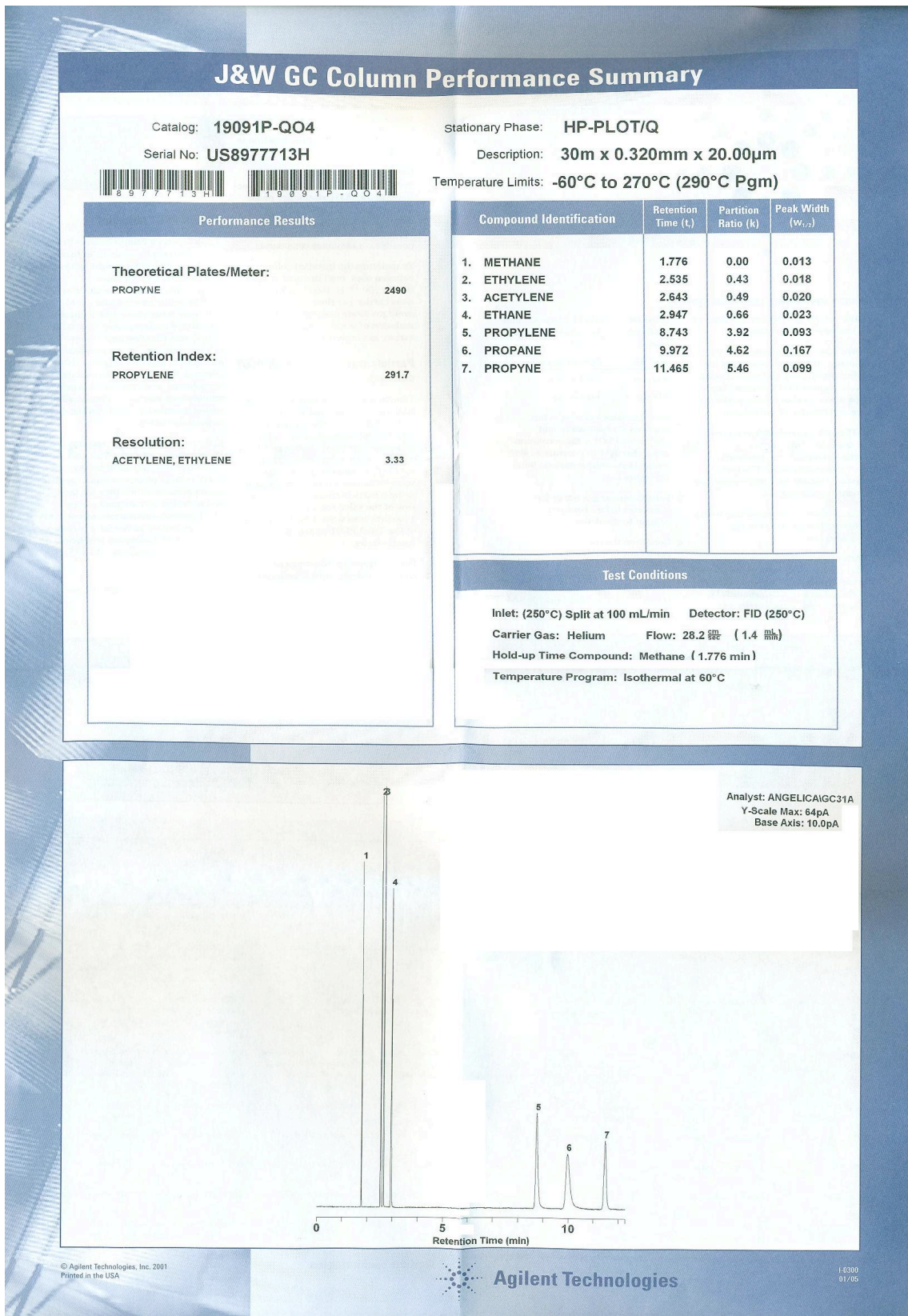
COMPONENT	REQUESTED GAS CONC MOLES	ANALYSIS (MOLES)
CARBON DIOXIDE	20. %	20.0 %
HYDROGEN	2. %	2.0 %
METHANE	70. %	69.94 %
NITROGEN	5. %	5.05 %
OXYGEN	3. %	3.01 %

MANUFACTURED DATE: 02Oct2009

SCOTTY SIZE: 14

APPROVED BY: (signature on file)
JAKE SENKOW

ANEXO N°4: “Certificado de funcionamiento de las columnas cromatográficas utilizadas en la investigación”.



J&W GC Column Performance Summary

Catalog: **19091P-MS8**

Serial No: **US9326717H**



Stationary Phase: **HP-MOLESIEVE**

Description: **30m x 0.320mm x 25.00µm**

Temperature Limits: **-60°C to 300°C**

Performance Results

Theoretical Plates/Meter:
CARBON MONOXIDE 1570

Compound Identification	Retention Time (t _r)	Partition Ratio (k)	Peak Width (w _{0.5})
1. NEON	1.452	0.00	0.016
2. ARGON	1.855	0.28	0.015
3. OXYGEN	1.885	0.30	0.017
4. NITROGEN	2.879	0.98	0.027
5. METHANE	3.692	1.54	0.032
6. CARBON MONOXIDE	9.082	5.26	0.099

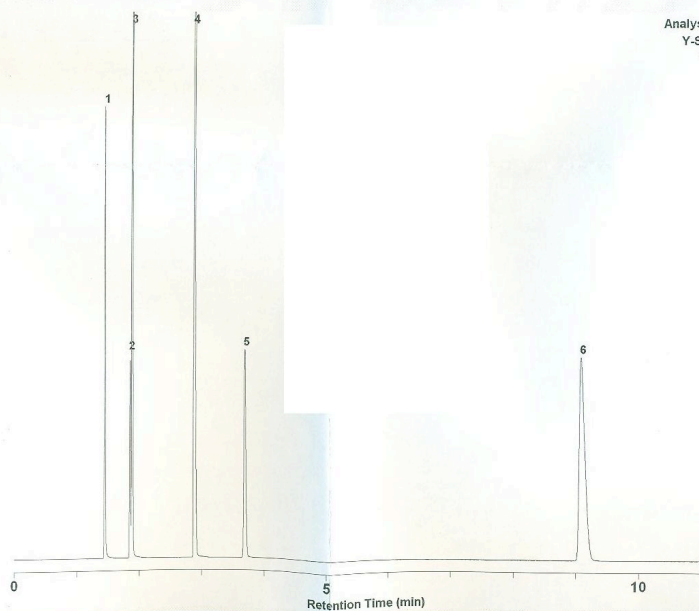
Test Conditions

Inlet: (200°C) Split at 75 mL/min Detector: TCD (220°C)

Carrier Gas: Helium Flow: 34.4 mL/min (1.7 mL/min)

Hold-up Time Compound: Neon (1.452 min)

Temperature Program: Isothermal at 40°C



Analyst: FRANGC35A
Y-Scale Max: 130mV
Base Axis: 18.5mV



ANEXO N°5: “Cálculo de la energía producida en la combustión de 1 m³ biogás bajo condiciones normalizadas con 70 % de metano”.

- Cálculo de las moles de metano contenidas en 1 m³ de biogás a 0 °C y 1013 mbar.

$$\text{moles de metano en } 1\text{m}^3 = \frac{1000 \text{ L} \times 1 \text{ mol}}{22,4 \text{ L}}$$

$$\text{moles de metano en } 1\text{m}^3 = 44,6 \text{ mol}$$

- Cálculo de las moles de metano en un biogás con 70% de metano.

$$\text{moles de metano en biogás} = \frac{44,6 \text{ mol} \times 70 \%}{100 \%}$$

$$\text{moles de metano en biogás} = 31,2 \text{ mol}$$

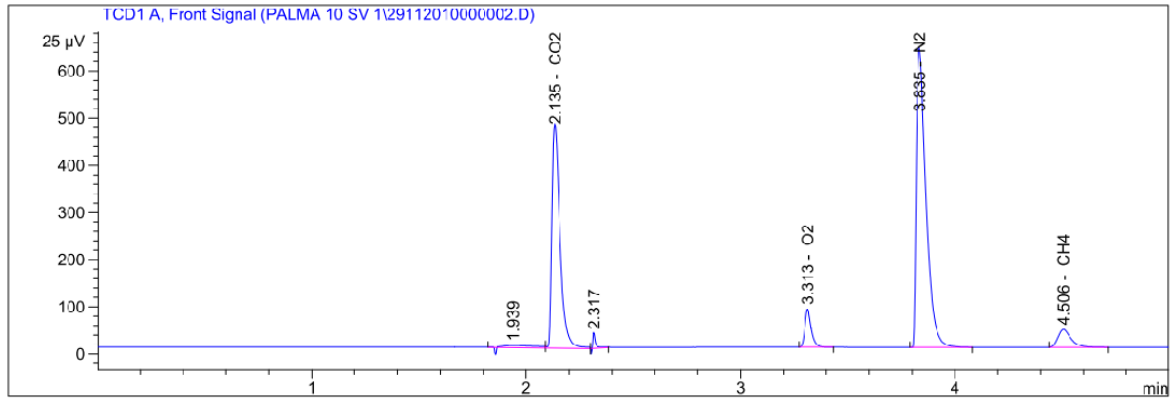
- Cálculo de la cantidad de energía producida vía combustión por 31,2 moles de metano.

$$\text{energía} = 31,2 \text{ mol} \times 212,8 \text{ kCal/mol}$$

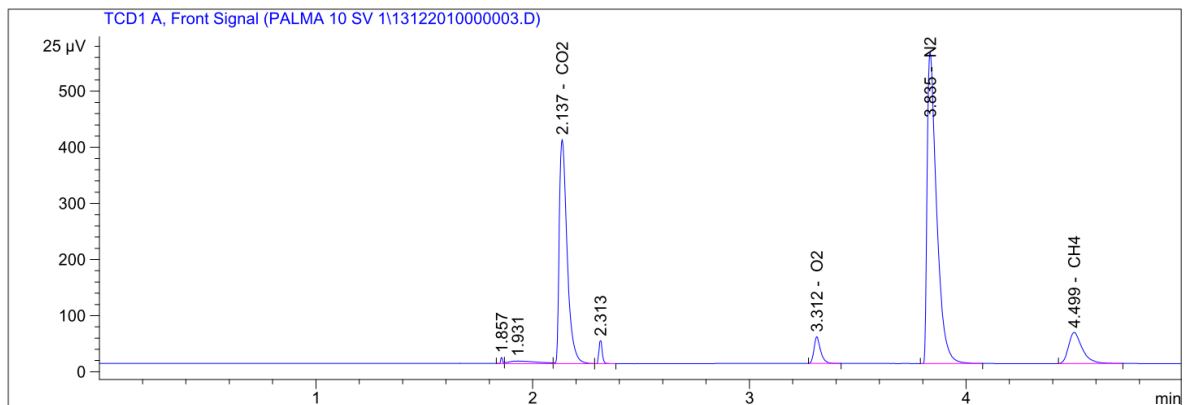
$$\text{energía} = 6643,6 \text{ kCal equivalente a } 7,7 \text{ kWh}$$

ANEXO N°6: “Cromatogramas de los análisis semanales del biogás producido por cada biodigestor de ensayo”.

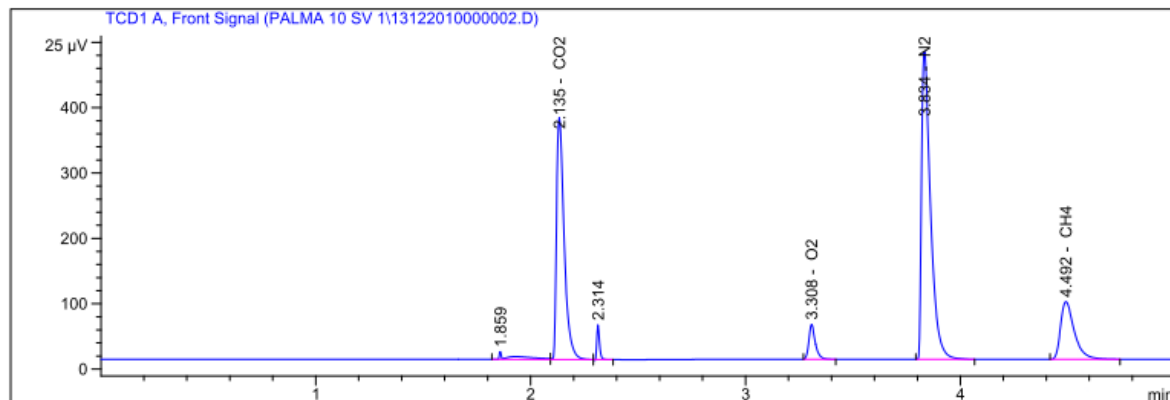
Biodigestor palma 1 semana 1



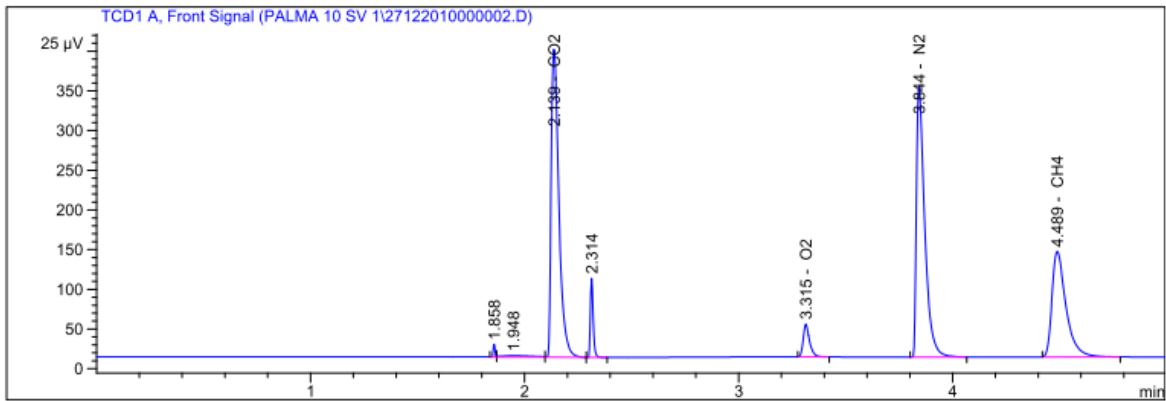
Biodigestor palma 1 semana 3



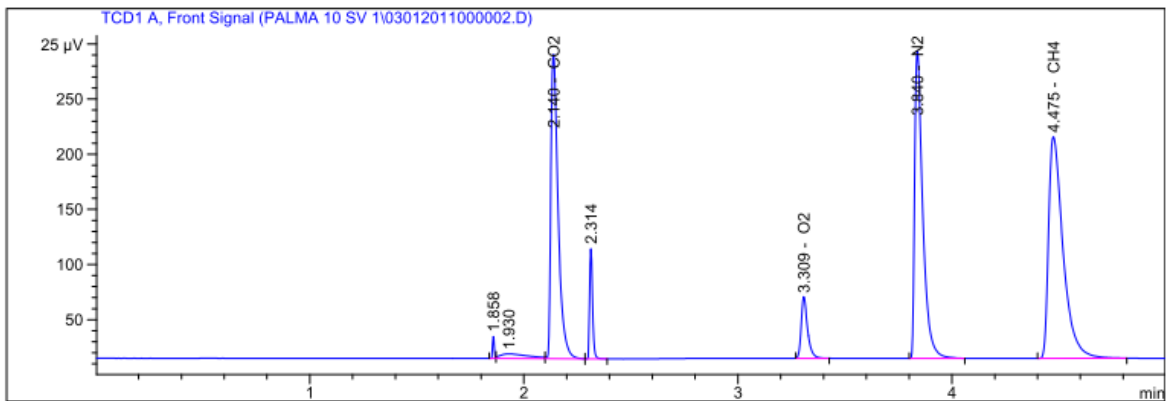
Biodigestor palma 1 semana 4



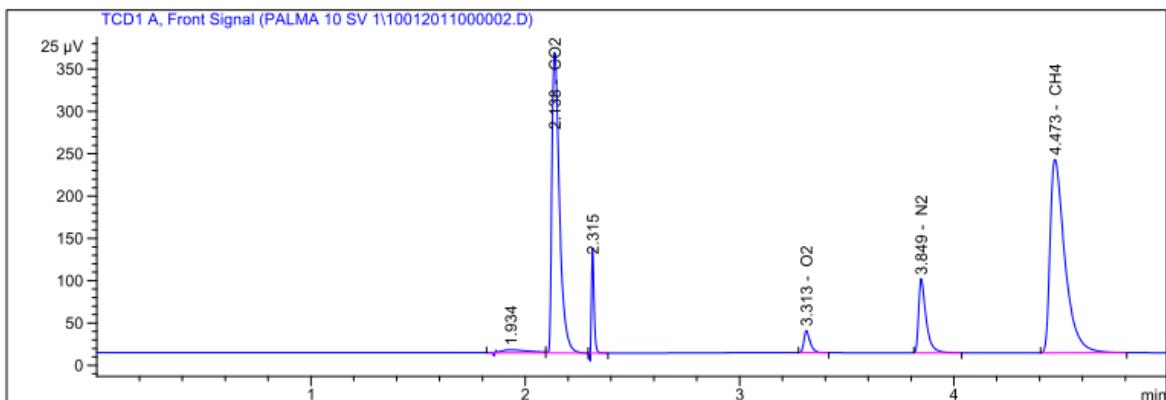
Biodigestor palma 1 semana 5



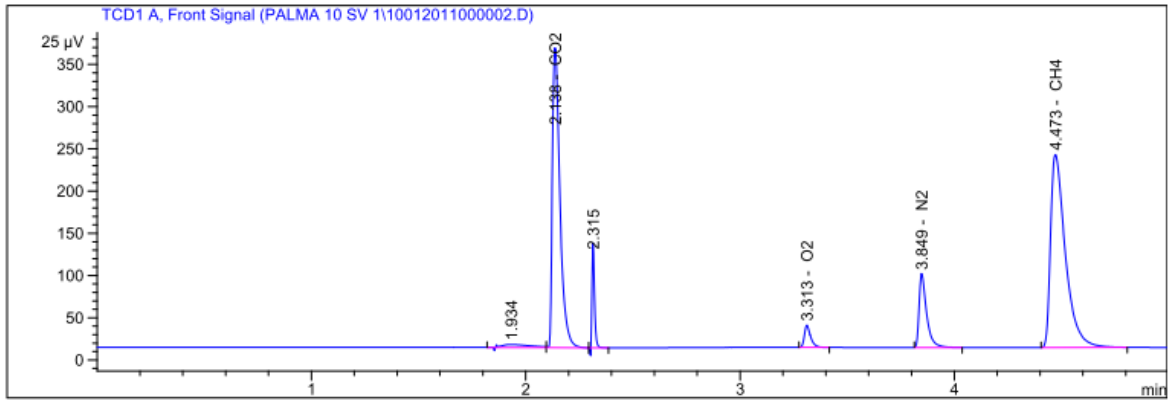
Biodigestor palma 1 semana 6



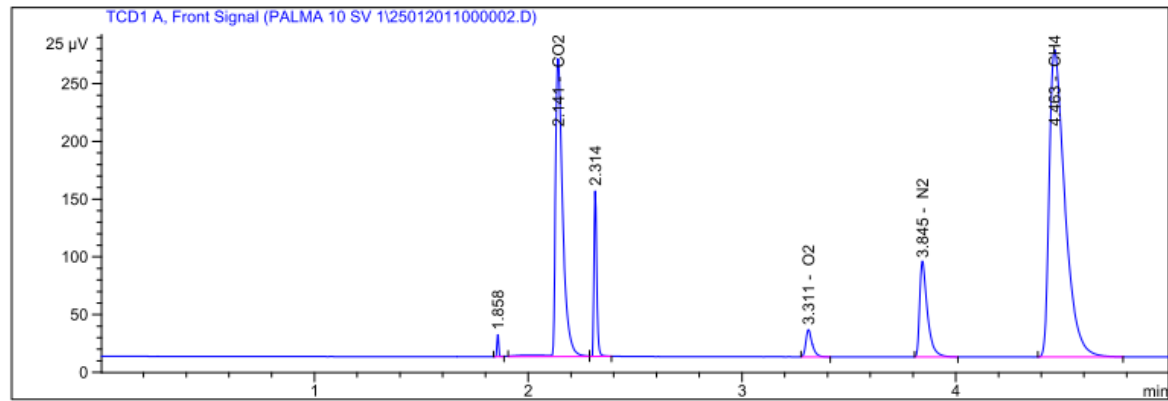
Biodigestor palma 1 semana 7



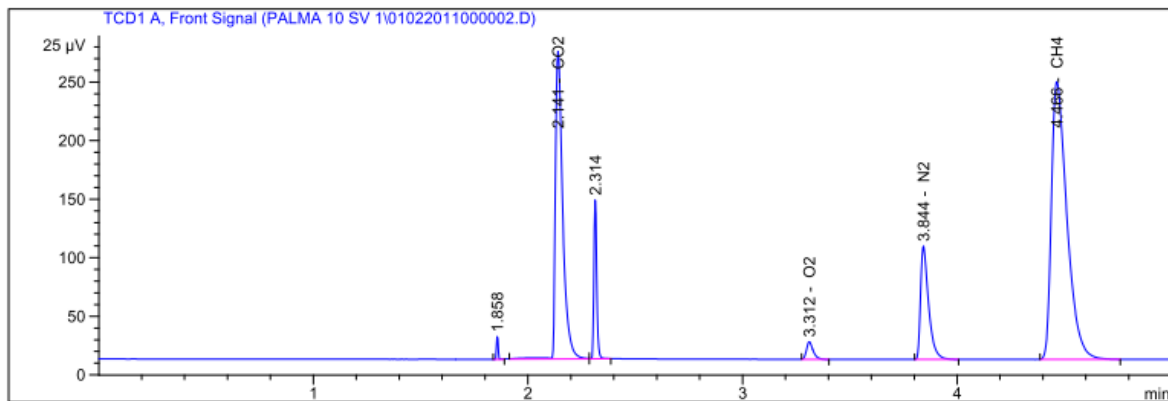
Biodigestor palma 1 semana 8



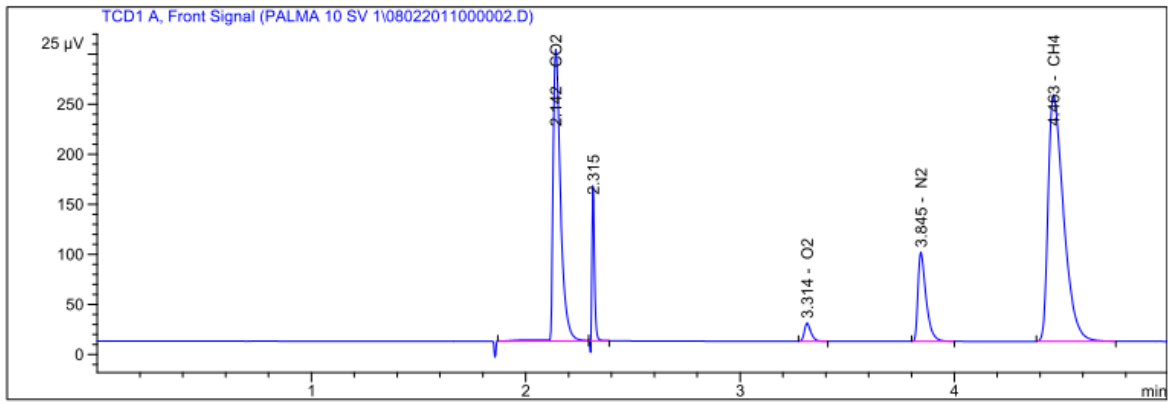
Biodigestor palma 1 semana 9



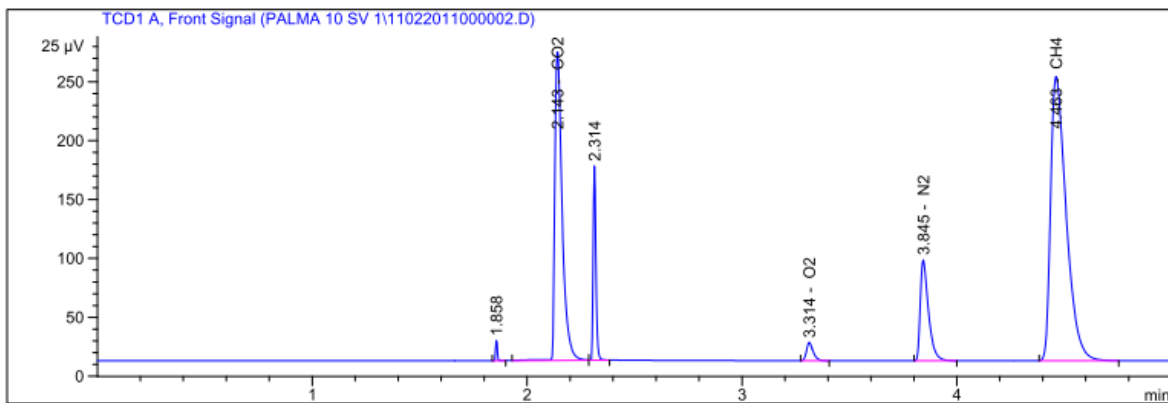
Biodigestor palma 1 semana 10



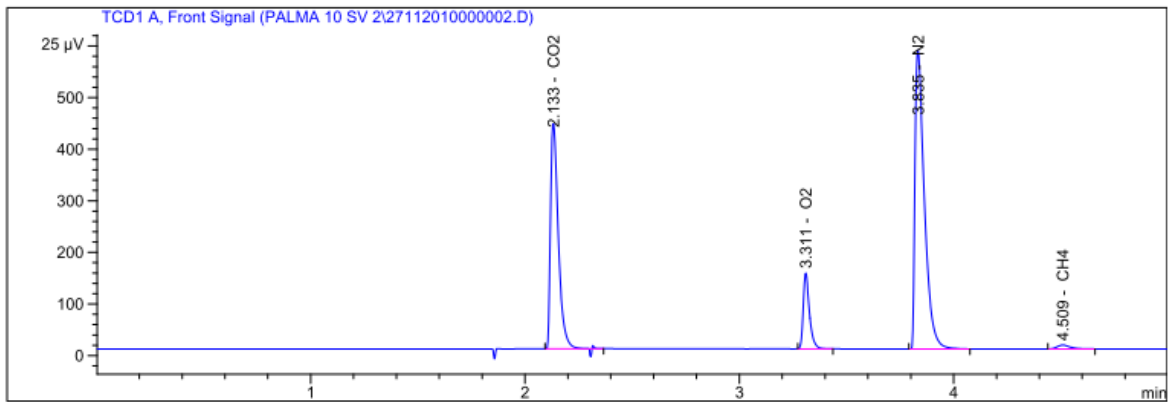
Biodigestor palma 1 semana 11



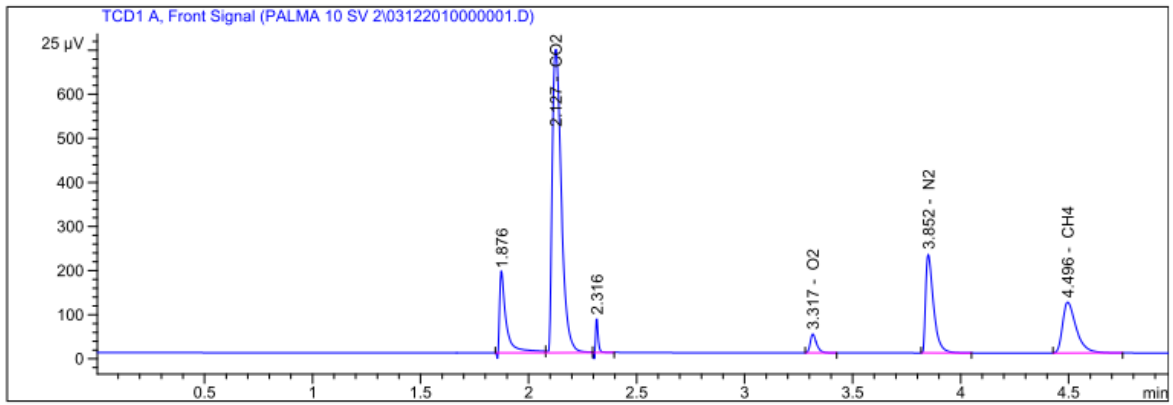
Biodigestor palma 1 semana 12



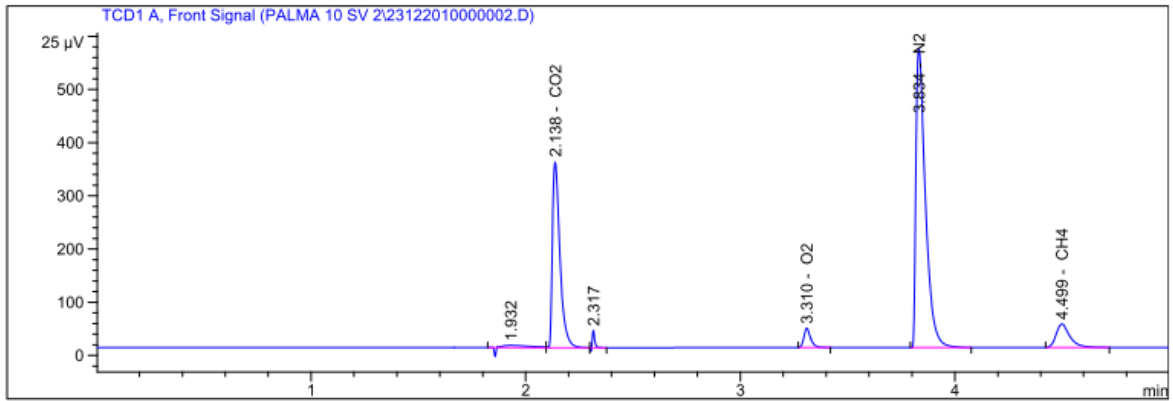
Biodigestor palma 2 semana 1



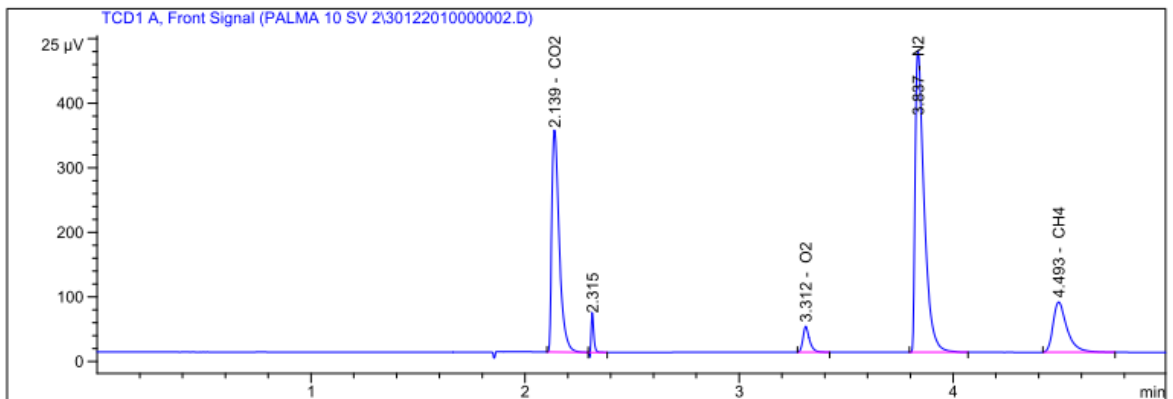
Biodigestor palma 2 semana 3



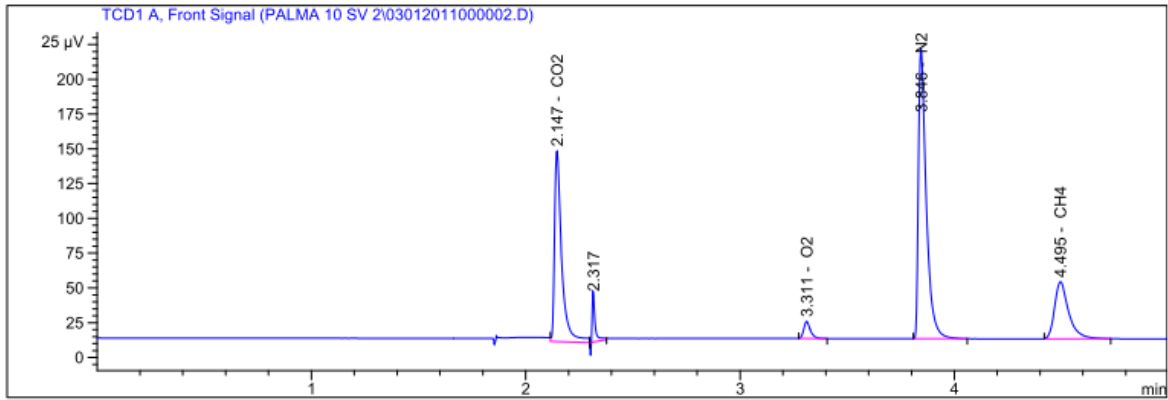
Biodigestor palma 2 semana 4



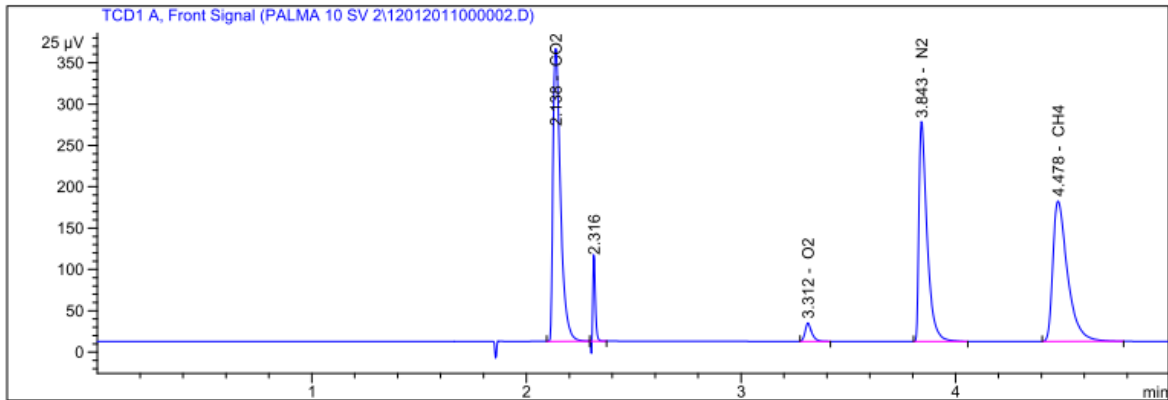
Biodigestor palma 2 semana 5



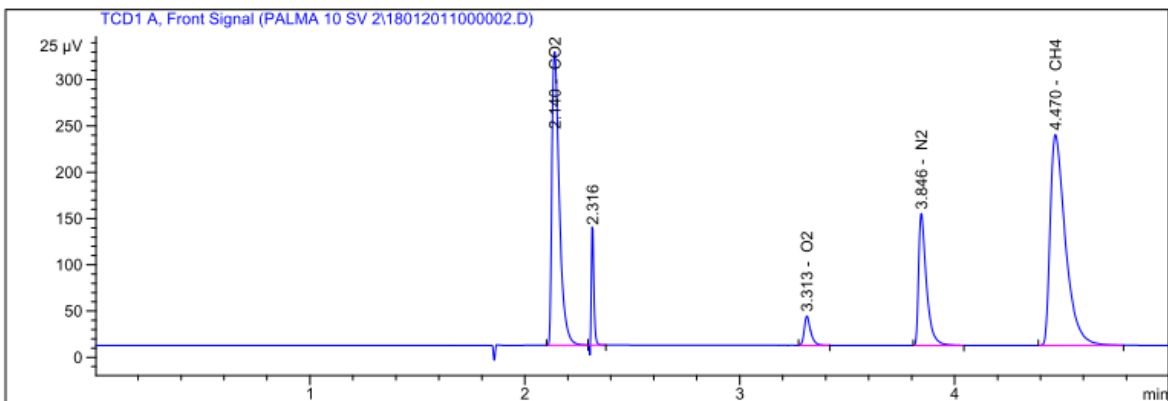
Biodigestor palma 2 semana 6



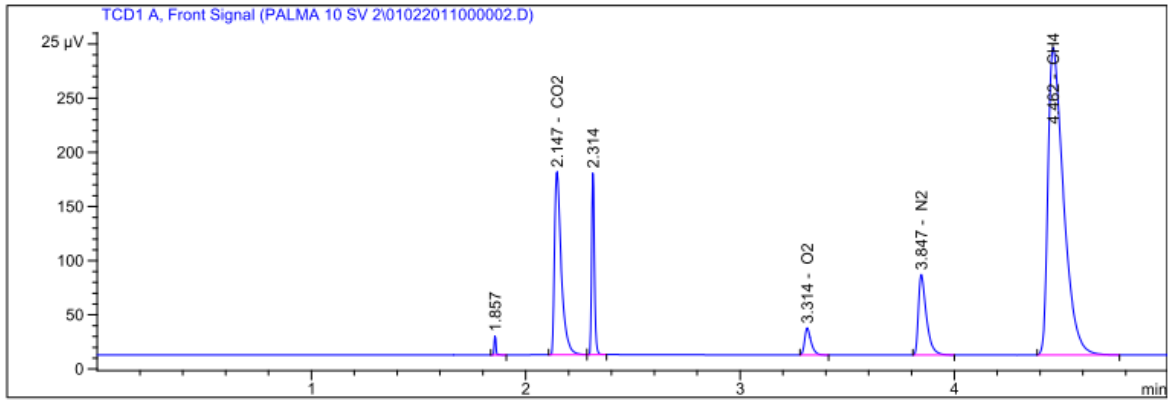
Biodigestor palma 2 semana 7



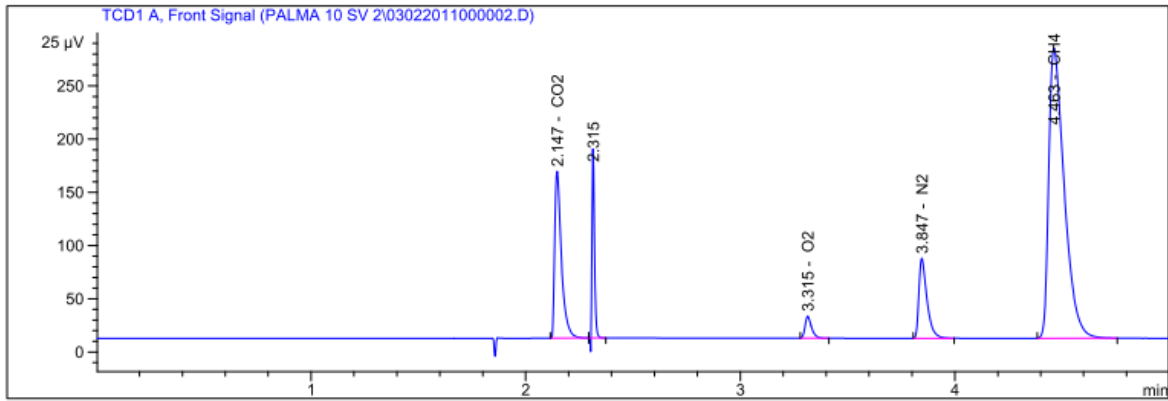
Biodigestor palma 2 semana 8



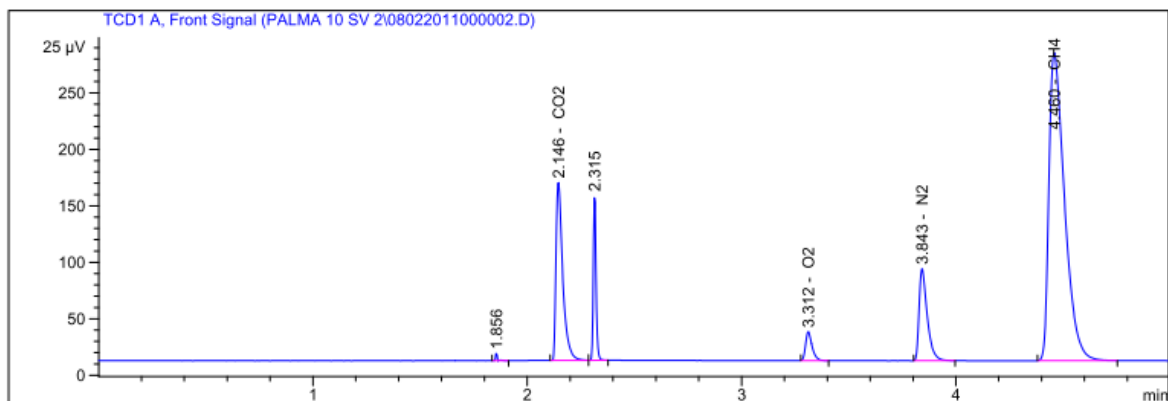
Biodigestor palma 2 semana 9



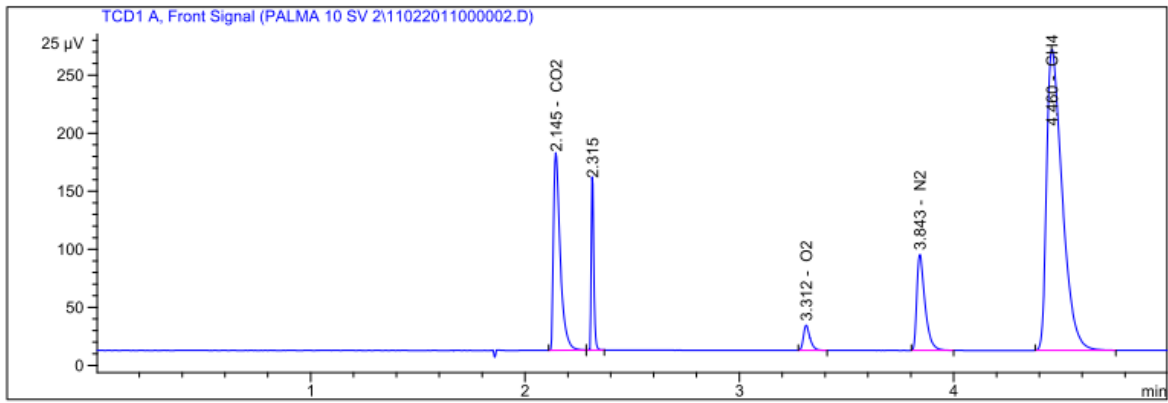
Biodigestor palma 2 semana 10



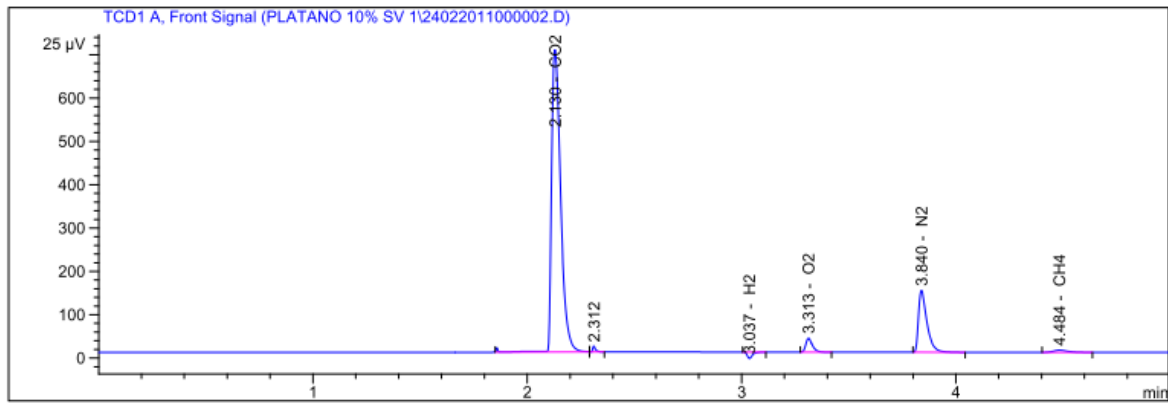
Biodigestor palma 2 semana 11



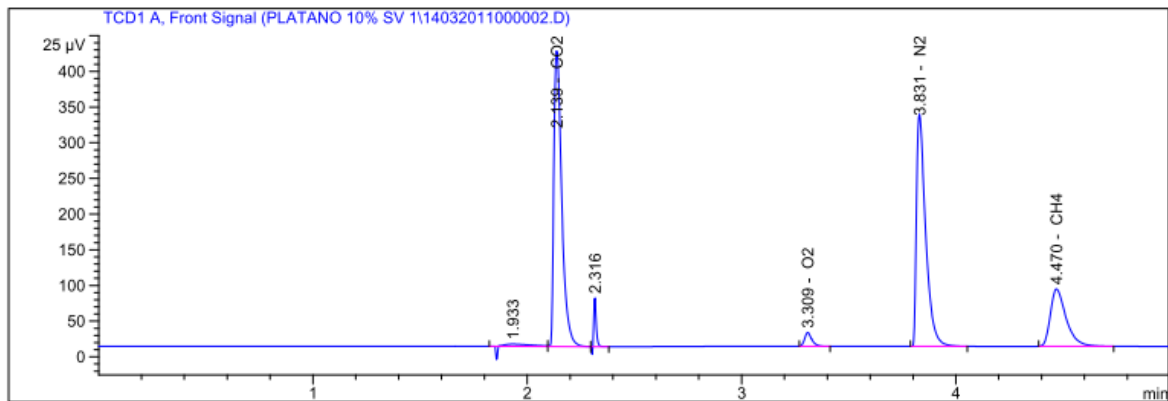
Biodigestor palma 2 semana 12



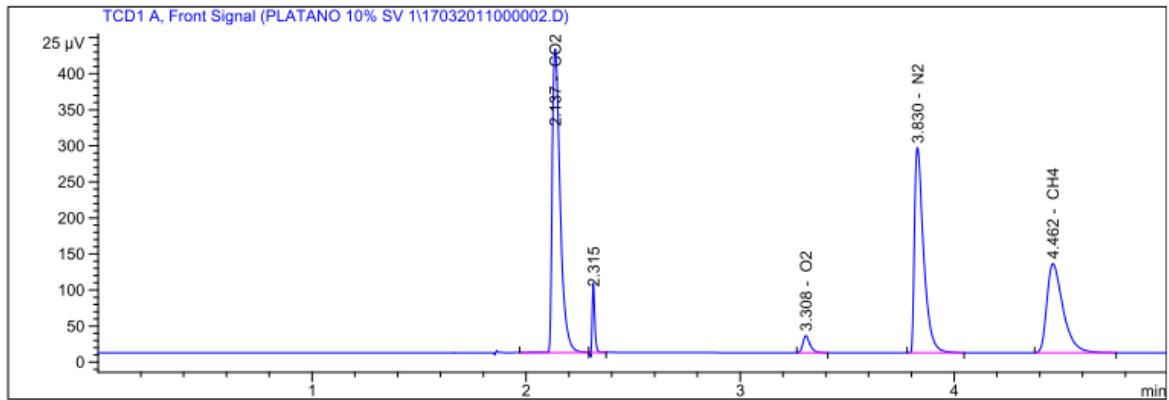
Biodigestor banano 1 semana 1



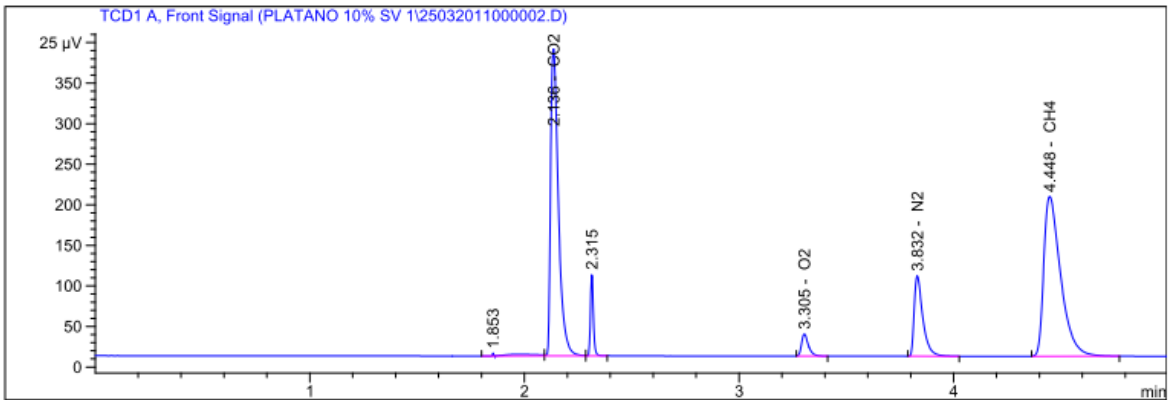
Biodigestor banano 1 semana 3



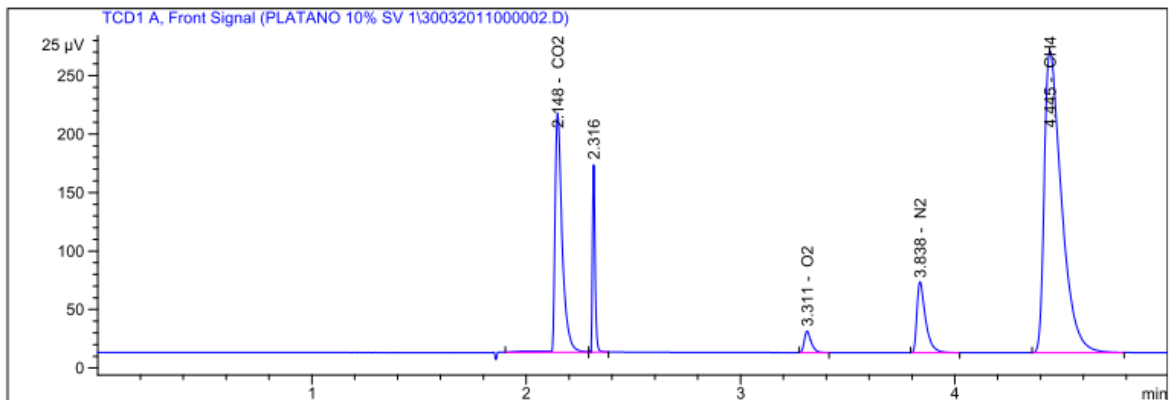
Biodigestor banano 1 semana 4



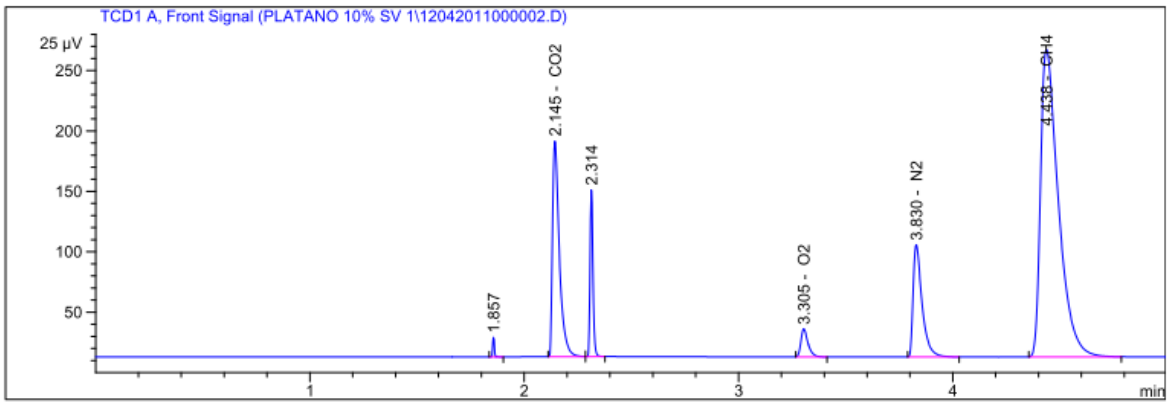
Biodigestor banano 1 semana 5



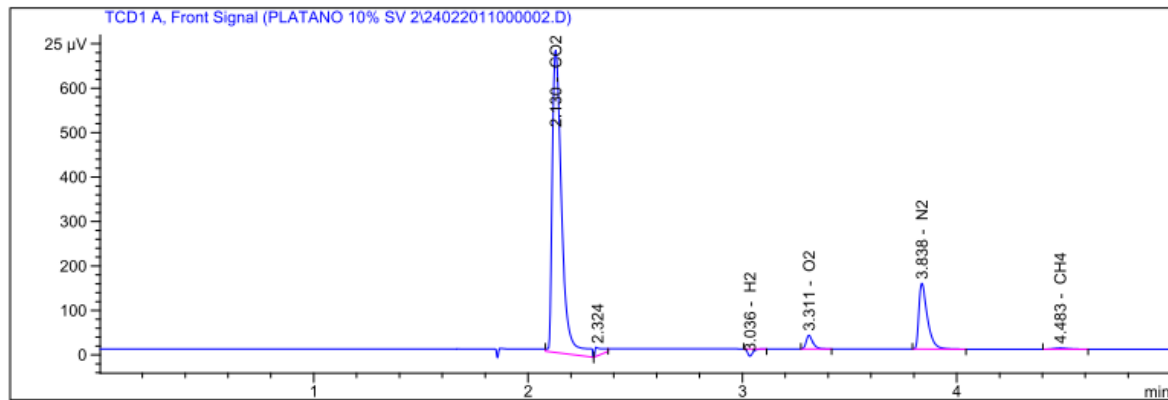
Biodigestor banano 1 semana 6



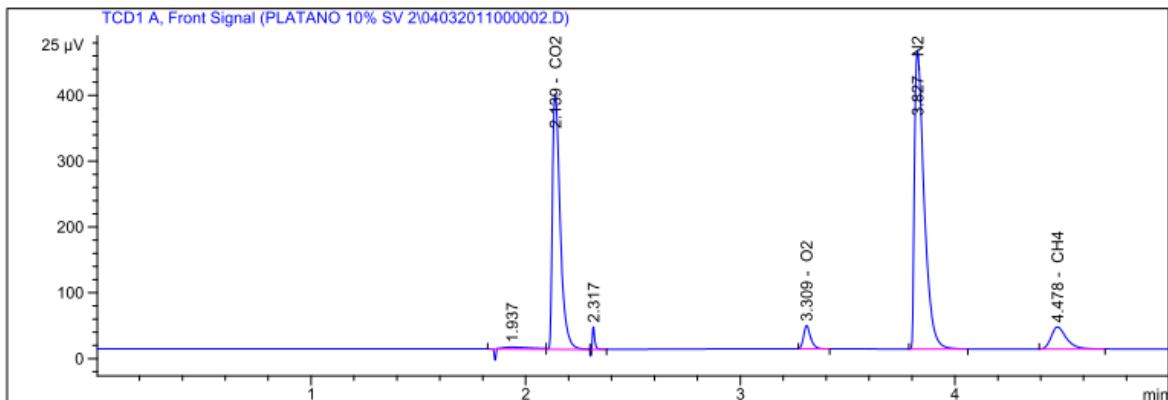
Biodigestor banano 1 semana 7



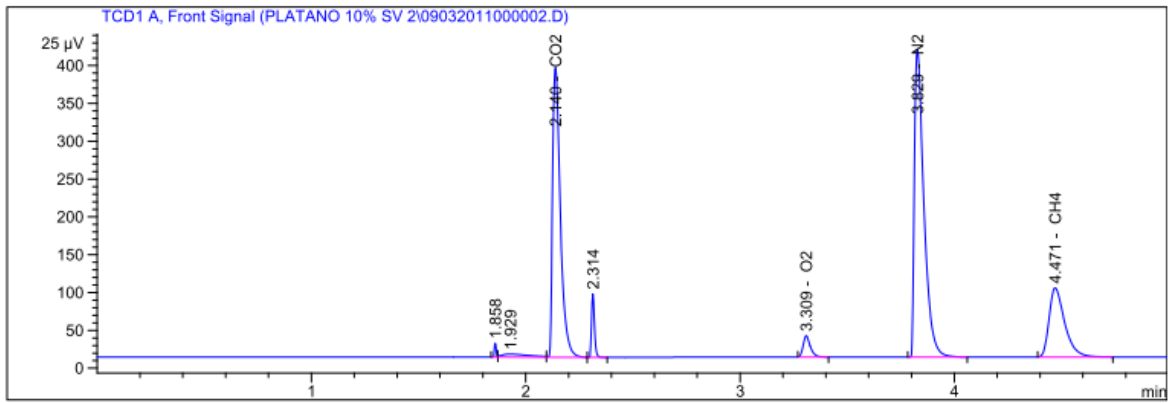
Biodigestor banano 2 semana 1



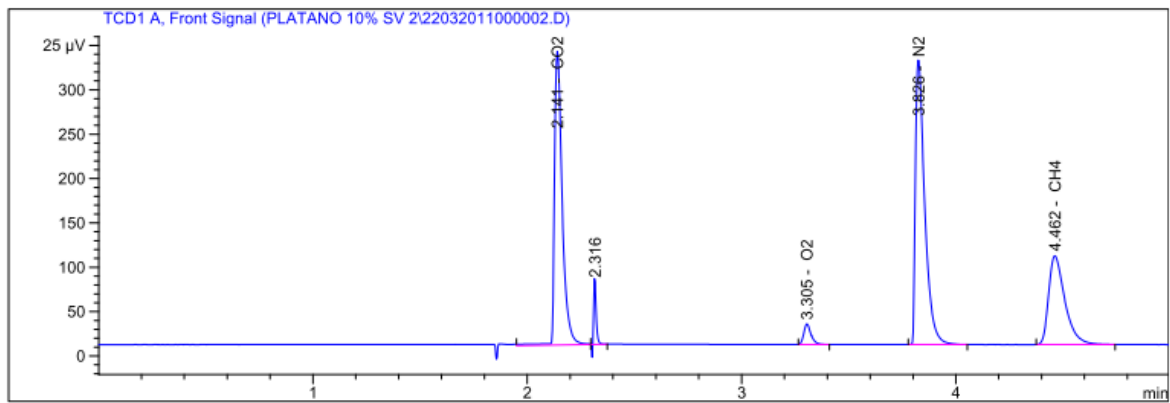
Biodigestor banano 2 semana 2



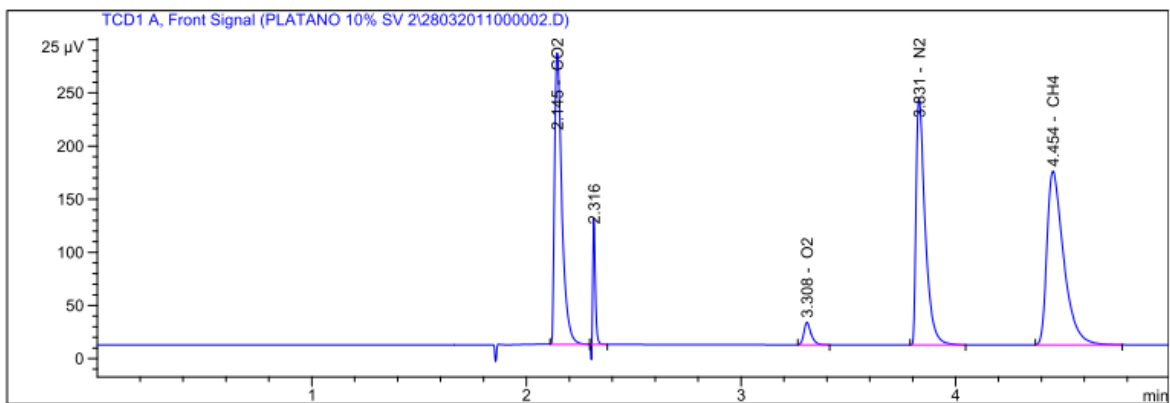
Biodigestor banano 2 semana 3



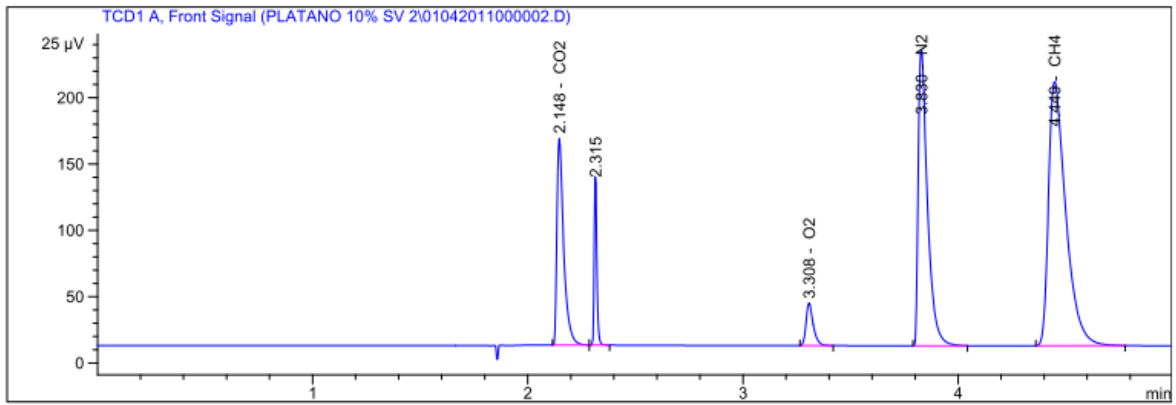
Biodigestor banano 2 semana 4



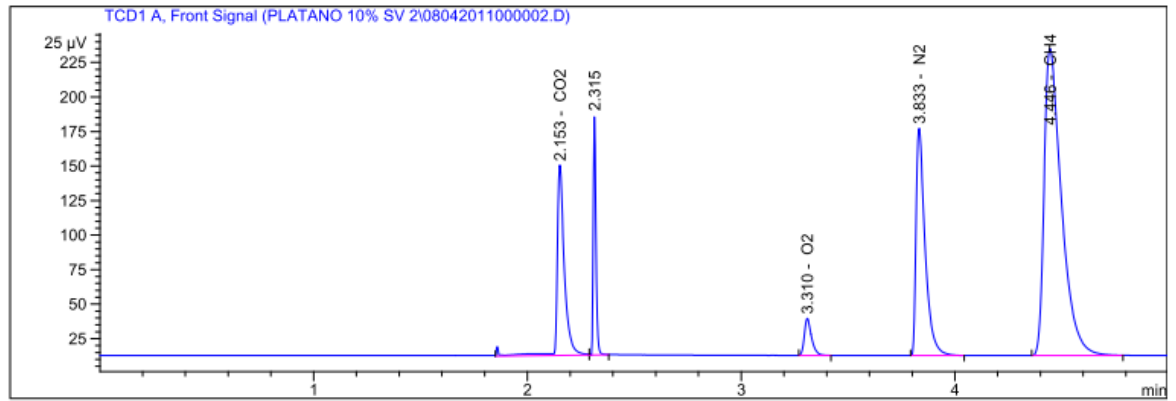
Biodigestor banano 2 semana 5



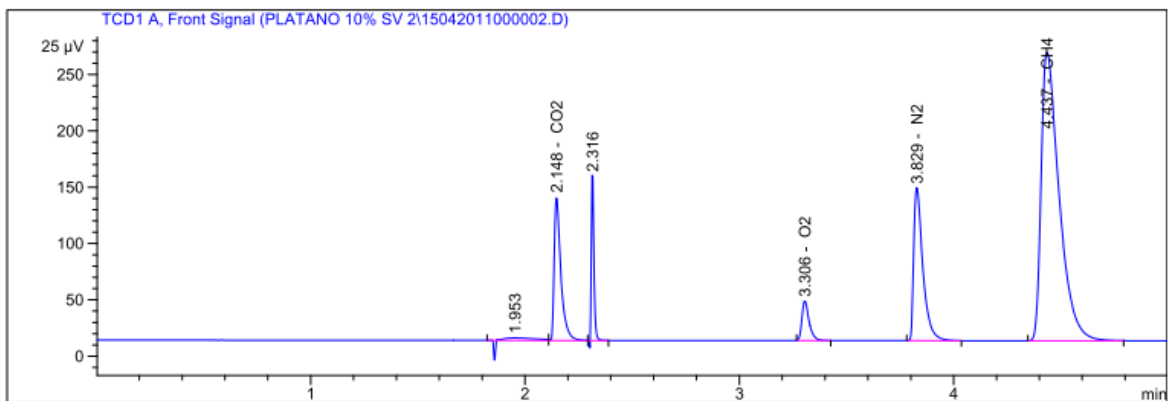
Biodigestor banano 2 semana 6



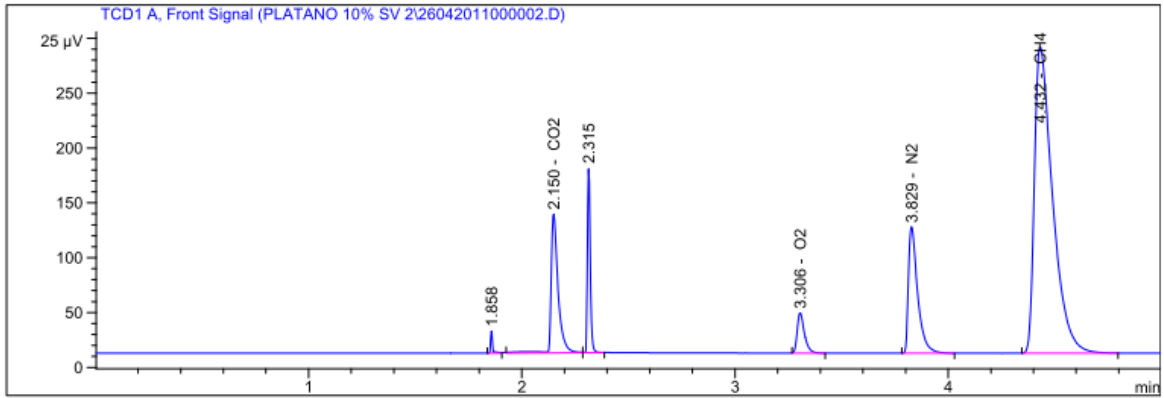
Biodigestor banano 2 semana 7



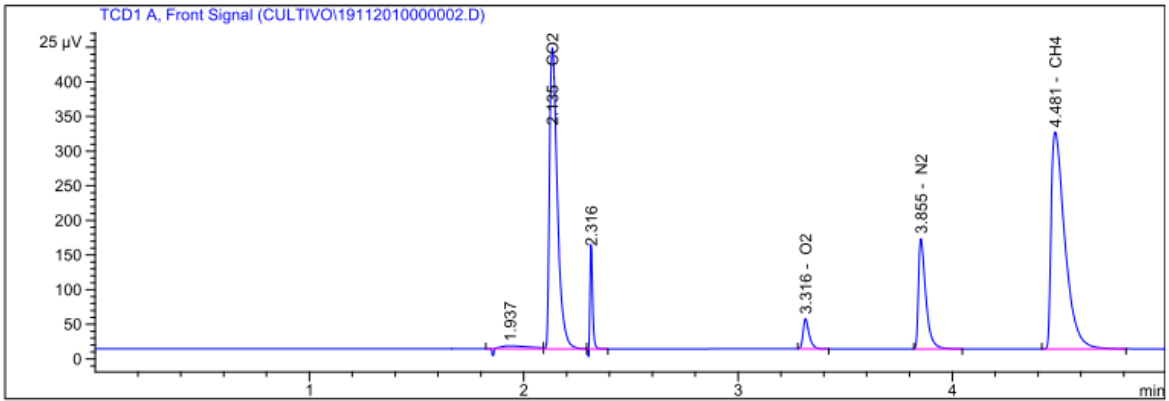
Biodigestor banano 2 semana 8



Biodigestor banano 2 semana 9



Biodigestor inculo para palma



Biodigestor inculo para banano

