

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS,  
BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
BIOTECNOLÓGICA**



**“COMPARACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGAS A PARTIR DE  
LENTEJA DE AGUA (*Lemna gibba*), COMO SUSTRATO  
ALTERNATIVO FRENTE A LA BIOMASA TRADICIONAL”**

**Tesis presentada por los bachilleres:**  
Herbert Bernardo Ramírez Rodríguez  
Oscar Rivera Cabrera

**Para optar el título profesional de:**  
INGENIERO BIOTECNÓLOGO

**AREQUIPA - PERÚ  
2014**

## AGRADECIMIENTOS

*Mientras redactamos estas líneas nos asalta un gran sentimiento de realización y de temor al mismo tiempo. Ninguno lo dice, pero una mirada cómplice de una amistad forjada durante más de 5 años, hace tácita la necesidad de darnos explicaciones. Solo cada uno de nosotros, en nuestros corazones, sabemos lo que significa el momento que estamos viviendo y las consecuencias que tendrá.*

*Sin embargo, como cuando sincronizábamos pensamientos para resolver las problemáticas presentadas por innumerables docentes a lo largo de nuestra formación académica, hacemos uso de nuestra química intelectual para expresar nuestros más profundos agradecimientos a quienes estuvieron a nuestro lado en cada momento, bueno y malo.*

*La presente tesis no es solo nuestra, sino que pertenece a aquellos maestros quienes infundieron en nosotros la chispa de la ciencia y de la investigación. A aquellos que nos dieron una segunda y hasta una tercera oportunidad. A aquellos que no nos dieron ni si quiera la primera oportunidad. A los padres, madres, hermanos y familiares quienes siempre nos apoyaron y hasta exigieron la culminación de nuestros estudios. A lo compañeros y amigos de clases por su amistad e incondicional apoyo. En general, cada persona y cada momento de nuestra existencia los cuales condujeron nuestro camino hasta el día de hoy.*

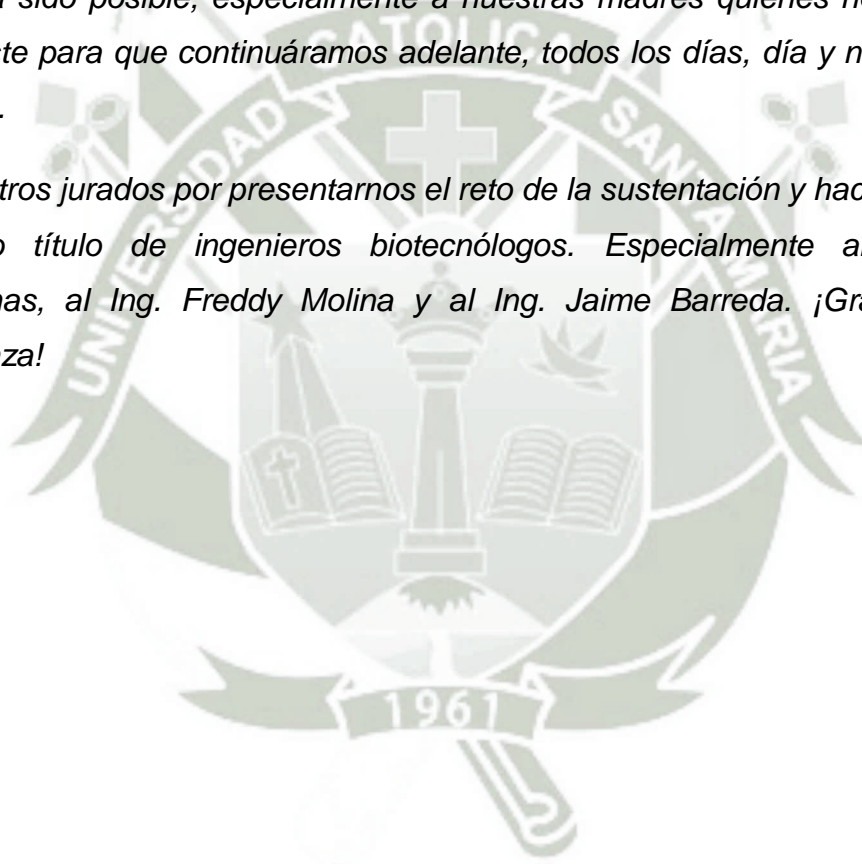
*Que este documento sea juez y jurado de nuestro paso por la Universidad Católica de Santa María, y deseamos de corazón que se considere piedra angular de los nuevos talentos que se están forjando dentro de las aulas de nuestra amada facultad. A TODOS MUCHAS GRACIAS!*

## **DEDICATORIA**

*Dedicamos nuestra tesis a nuestro asesor, el Ing. F. Javier Roque R. quien durante la realización de nuestro proyecto fue nuestra mano derecha y quien tuvo la paciencia, la bondad y el empeño para sacarnos profesionales. Es cierto que no fue nada fácil, ni mucho menos; sin embargo, gracias a su incondicional ayuda, todo parecía posible y fue muy divertido.*

*La dedicamos también, a nuestros padres quienes son responsables de todo lo que somos, de lo que fuimos y de lo que seremos. Sin ellos absolutamente nada hubiera sido posible; especialmente a nuestras madres quienes nos jugaron al desgaste para que continuáramos adelante, todos los días, día y noche, a cada hora. . .*

*A nuestros jurados por presentarnos el reto de la sustentación y hacerlo digno de nuestro título de ingenieros biotecnólogos. Especialmente al Dr. Jaime Cárdenas, al Ing. Freddy Molina y al Ing. Jaime Barreda. ¡Gracias por su confianza!*



## INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS.....	vi
INDICE DE FIGURAS.....	vii
GLOSARIO DE TECNISMOS .....	x
ABREVIATURAS EMPLEADAS .....	xii
<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>3</b>

### CAPITULO I

#### INTRODUCCIÓN

<b>1.1 FORMULACION DEL PROBLEMA.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2 HIPÓTESIS.....</b>	<b>7</b>
<b>1.3 OBJETIVOS .....</b>	<b>8</b>
• GENERAL.....	8
• ESPECÍFICOS.....	8
<b>1.4 VARIABLES E INDICADORES .....</b>	<b>9</b>

### CAPITULO II

#### MARCO TEÓRICO

<b>2.1 Lenteja de agua (<i>Lemna gibba</i>).....</b>	<b>10</b>
<b>2.2 Estiércol.....</b>	<b>13</b>
<b>2.3 Biogás.....</b>	<b>17</b>
<b>2.4 Tecnologías empleadas en la digestión anaeróbica.....</b>	<b>31</b>

### CAPITULO III

#### MATERIALES Y MÉTODOS

<b>3.1 Lugar de investigación .....</b>	<b>42</b>
<b>3.2 Lista de materiales utilizados.....</b>	<b>42</b>
3.3.1 Obtención de muestra de lenteja de agua ( <i>Lemna gibba</i> ) .....	44
3.3.2 Obtención de la muestra de estiércol vacuno.....	46
<b>3.4 Recolección de agua residual utilizada en el bioreactor.....</b>	<b>47</b>
<b>3.5 Instrumentación del bioreactor UASB.....</b>	<b>48</b>
<b>3.6 Técnicas analíticas empleadas. Análisis fisicoquímicos.....</b>	<b>48</b>
3.6.1 Determinación de potencial de hidrogeno: .....	48
3.6.2 Determinación de solidos totales: .....	49
3.6.3 Determinación de humedad .....	50
3.6.4 Determinación diaria de biogás.....	50

<b>3.7</b>	<b>Medición cuantitativa de biogás</b> .....	<b>52</b>
<b>3.8</b>	<b>Medición cualitativa de biogás</b> .....	<b>52</b>
	3.8.1 Descripción del método empleado .....	53
	3.8.2 Medición del volumen de gas generado:.....	54
	3.8.3 Estimación del porcentaje de metano presente:.....	55
<b>3.9</b>	<b>Methanococcus y Methanobacterium</b> .....	<b>56</b>
	3.9.1 Recolección y obtención de muestras.....	56
	3.9.2 Aislamiento y obtención de microorganismos .....	56
<b>3.10</b>	<b>FLUJOGRAMA DE ACTIVIDADES</b> .....	<b>58</b>
	❖ Obtención de la muestra de lenteja ( <i>Lemna gibba</i> ).....	58
	❖ Obtención de la muestra de estiércol.....	58
	❖ Determinación del potencial de hidrogeno .....	58
	❖ Determinación de Sólidos Totales.....	58
	❖ Determinación de Humedad .....	58
	❖ Determinación de la producción de biogás.....	58
	❖ Método no convencional. Procedimiento.....	58
	❖ Aislamiento e identificación de microorganismos .....	58
<b>CAPITULO IV</b>		
<b>RESULTADOS Y DISCUSION</b>		
<b>4.1</b>	<b>Obtención de la muestra de lenteja para los análisis físico-químicos pre y post tratamiento</b> .....	<b>59</b>
	4.1.1 Obtención de muestra de lenteja de agua ( <i>Lemna gibba</i> ).....	59
	4.1.2 Obtención de la muestra de estiércol vacuno.....	60
<b>4.2</b>	<b>Instrumentación de birreactor utilizado</b> .....	<b>61</b>
<b>4.3</b>	<b>Potencial de hidrógeno (pH). Bioreactor 2</b> .....	<b>61</b>
<b>4.4</b>	<b>Determinación de humedad. Bioreactor 2</b> .....	<b>62</b>
<b>4.5</b>	<b>Sólidos totales pre y post tratamiento. Bioreactor 2</b> .....	<b>63</b>
<b>4.6</b>	<b>Obtención de biogás mediante el método de las botellas</b> .....	<b>65</b>
<b>4.7</b>	<b>Obtención de bigas utilizando el bioreactor UASB</b> .....	<b>67</b>
<b>4.8</b>	<b>Medición del biogás utilizando el método no convencional</b> .....	<b>68</b>
<b>4.9</b>	<b>Determinación instrumental del porcentaje de biogás generado</b> .....	<b>71</b>
<b>4.10</b>	<b>Monitoreo de la Temperatura durante la fermentación</b> .....	<b>71</b>
<b>4.11</b>	<b>Análisis microbiológico de las bacterias metanogénicas presentes en el proceso (Methanococcus y Methanobacterium)</b> .....	<b>72</b>
<b>4.12</b>	<b>EVALUACION ESTADISTICA PARA VALIDAR LA PRODUCCION DE BIOGAS</b>	<b>75</b>

**CAPITULO V**

CONCLUSIONES..... 85

**CAPITULO VI**

RECOMENDACIONES..... 88

**CAPITULO VII**

REFERENCIAS..... 90

ANEXOS ..... 96



## INDICE DE TABLAS.

<b>TABLA 1.</b> Lista de ovinos donadores de estiércol.	46
<b>TABLA 2.</b> Concentraciones utilizadas para cada reactor	50
<b>TABLA 3.</b> Datos de la medición de pH en el reactor	61
<b>TABLA 4.</b> Resultados de la determinación de humedad	62
<b>TABLA 5.</b> Comparación porcentual del contenido de sólidos totales presentes	63
<b>TABLA 6.</b> Datos de producción de biogás	65
<b>TABLA 7.</b> Concentraciones de lenteja de aguay estiércol vacuno en cada reactor	66
<b>TABLA 8.</b> Datos de producción de biogás	67
<b>TABLA 9.</b> Porcentaje de metano del biogás.	70
<b>TABLA 10.</b> Comparación del porcentaje de metano en el biogás	71
<b>TABLA 11.</b> Datos de temperatura de biogás	71
<b>TABLA 12.</b> Resultados Gram del caldo MC y MB	72
<b>TABLA 13.</b> Resultados Gram de los agares MC y MB	73
<b>TABLA 14.</b> Evaluación y comparación del volumen de biogas producido en 5 bioreactores	74
<b>TABLA 15.</b> Evaluación y comparación del volumen del metano producido en 5 bioreactores	79

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Fotografía del lago Titicaca vista del satélite.	5
<b>FIGURA 2.</b> Fotografía de la bahía del lago Titicaca.	6
<b>FIGURA 3.</b> Determinación de variables e indicadores.	8
<b>FIGURA 4.</b> Composición de la lenteja de agua	9
<b>FIGURA 5.</b> Composición porcentual del estiércol de origen animal	13
<b>FIGURA 6.</b> Producción aproximada de estiércol de origen animal	16
<b>FIGURA 7.</b> Comparación de las fases de la digestión anaeróbica	19
<b>FIGURA 8.</b> Temperaturas de crecimiento de bacterias metanogénicas	22
<b>FIGURA 9.</b> Materiales con distintas concentraciones de celulosa	25
<b>FIGURA 10.</b> Tiempo de retención de cada materia prima	25
<b>FIGURA 11.</b> Crecimiento bacteriano	27
<b>FIGURA 12.</b> Compuestos inhibidores de la producción de biogás	29
<b>FIGURA 13.</b> Características de cada variable durante la digestión	32
<b>FIGURA 14.</b> Digestor regular con una entrada y una salida	32
<b>FIGURA 15.</b> Biodigestión continua.	33
<b>FIGURA 16.</b> Bioreactor con sistema de mezclado.	34
<b>FIGURA 17.</b> Reactores de agitación continua	35
<b>FIGURA 18.</b> Reactor de recolección de biomasa	36
<b>FIGURA 19.</b> Bioreactores de retención	37
<b>FIGURA 20.</b> Diagrama de un reactor UASB	37
<b>FIGURA 21.</b> Diseño de un bioreactor de lecho fluidizado	38
<b>FIGURA 22.</b> Diseño de los bioreactores de filtro	39



<b>FIGURA 23.</b> <i>Bioreactores de 1 etapa.</i>	40
<b>FIGURA 24.</b> <i>Bioreactor de 2 recamaras</i>	40
<b>FIGURA 25.</b> <i>Foto satelital del Lago Titicaca</i>	45
<b>FIGURA 26.</b> <i>Foto satelital de la granja Acequia Alta</i>	47
<b>FIGURA 27.</b> <i>Diseño del sistema de bioreactores</i>	51
<b>FIGURA 28.</b> <i>Sistema hidráulico usado para la medición del biogás</i>	54
<b>FIGURA 29.</b> <i>Muestreo de lenteja</i>	59
<b>FIGURA 30.</b> <i>Ovinos seleccionados y recolección del estiércol</i>	60
<b>FIGURA 31.</b> <i>Diseño esquemático de la instrumentalización del bioreactor UASB.</i>	
<b>FIGURA 32.</b> <i>Comparación del pH pre y post tratamiento.</i>	61
<b>FIGURA 33.</b> <i>Determinación de humedad</i>	63
<b>FIGURA 34.</b> <i>Comparación de Solidos Totales Pre y Post Tratamiento</i>	64
<b>FIGURA 35.</b> <i>Comparación de producción de biogás por el método de las botellas</i>	66
<b>FIGURA 36.</b> <i>Volúmenes de Biogás en el estiércol vacuno por el tiempo de retención obtenido en el reactor UASB</i>	67
<b>FIGURA 37.</b> <i>Construcción del sistema de medición de metano</i>	69
<b>FIGURA 38.</b> <i>Porcentaje de concentración de metano en el biogás de estiércol</i>	70
<b>FIGURA 39.</b> <i>Comparación de temperaturas</i>	72
<b>FIGURA 40.</b> <i>Diferencia del volumen de biogás producido en 5 reactores a los 5 días de evaluación.</i>	75
<b>FIGURA 41.</b> <i>Diferencia del volumen de biogás producido en 5 reactores a los 10 días de evaluación.</i>	75
<b>FIGURA 42.</b> <i>Diferencia del volumen de biogás producido en 5 reactores a los 15 días de evaluación.</i>	76
<b>FIGURA 43.</b> <i>Diferencia del volumen de biogás producido en 5 reactores a los 20 días de evaluación.</i>	76
<b>FIGURA 44.</b> <i>Diferencia del volumen de biogás producido en 5 reactores a los 25 días de evaluación.</i>	77
<b>FIGURA 45.</b> <i>Diferencia del volumen de biogás producido en 5 reactores a los 30 días de evaluación.</i>	77
<b>FIGURA 46.</b> <i>Diferencia del volumen de biogás producido en 5 reactores a los 35 días de evaluación.</i>	78

<b>FIGURA 47.</b> Diferencia del volumen de biogás producido en 5 reactores a los 40 días de evaluación.	78
<b>FIGURA 48.</b> Diferencia del volumen de metano producido en base al reactor control a los 10 días de evaluación.	80
<b>FIGURA 49.</b> Diferencia del volumen de metano producido en base al reactor control a los 15 días de evaluación.	80
<b>FIGURA 50.</b> Diferencia del volumen de metano producido en base al reactor control a los 20 días de evaluación.	81
<b>FIGURA 51.</b> Diferencia del volumen de metano producido en base al reactor control a los 25 días de evaluación.	81
<b>FIGURA 52.</b> Diferencia del volumen de metano producido en base al reactor control a los 30 días de evaluación.	82
<b>FIGURA 53.</b> Diferencia del volumen de metano producido en base al reactor control a los 35 días de evaluación.	82
<b>FIGURA 54.</b> Diferencia del volumen de metano producido en base al reactor control a los 40 días de evaluación.	83
<b>FIGURA 55.</b> Diseño esquemático de la instrumentalización del bioreactor UASB.	85

## GLOSARIO DE TECNISMOS

**Biomasa (Capítulo I / Pag 3):** Cantidad de materia acumulada en un individuo, un nivel trófico, una población o un ecosistema.

**Biogás (Capítulo I / Pag 14):** Gas combustible que se genera en medios naturales o en dispositivos específicos, por las reacciones de biodegradación de la materia orgánica, mediante la acción de microorganismos y otros factores, en ausencia de oxígeno. Llamado también gas de los pantanos.

***Lemna gibba* (Capítulo I / Pag 38):** Es una planta acuática pequeña, de la familia de las aráceas, característico por tener frondas ampliamente ovadas o casi redondeadas, gruesas, de 2-5 mm de largo, generalmente con envés visiblemente protuberante.

**Eutrofización (Capítulo I / Pag 40):** Término utilizado en la ecología que se usa para designar el enriquecimiento en nutrientes de un ecosistema. El uso más extendido se refiere específicamente al aporte más o menos masivo de nutrientes inorgánicos en un ecosistema acuático.

**Especies Fotosintetizadoras (Capítulo I / Pag 3):** Referente a especies que realizan la acción de fotosíntesis, es decir especies que realizan la conversión de materia inorgánica en materia orgánica gracias a la energía que aporta la luz

**Lignina (Capítulo I / Pag 6):** La lignina es un polímero presente en las paredes celulares de organismos del reino Plantae. La palabra lignina proviene del término latino *lignum*, que significa “madera”; así, a las plantas que contienen gran cantidad de lignina se las denomina leñosas. La lignina se encarga de engrosar el tallo.

**Agentes Metanogénicos (Capítulo I / Pag 6):** Son microorganismos anaerobios responsables de la formación de metano.

**Concentración de sólidos totales (Capítulo I / Pag 7):** Es una medida del contenido combinado de todas las sustancias inorgánicas y orgánicas contenidas en un líquido en forma molecular, ionizada o en forma de suspensión micro-granular.

**Porcentaje de humedad (Capítulo I / Pag 7):** Concentración de agua impregnada en un cuerpo o el vapor presente en la atmósfera.

**Grado de acidez (Capítulo I / Pag 7):** Medida que representa la cualidad de acidez que presenta un cuerpo.

***Lemnaceae* (Capítulo II / Pag 8):** Es una familia de plantas monocotiledóneas herbáceas que comprende unos 104 géneros y más de 3.000 especies, fáciles de distinguir por su inflorescencia característica, actualmente llamada también familia Araceae.

**Gemación (Capítulo II / Pag 8):** Es un tipo de reproducción asexual, consistente en la formación de prominencias sobre el individuo progenitor, y que al crecer y desarrollarse, origina nuevos seres que pueden separarse del organismo parental o quedar unidos a él, iniciando así una colonia.

**Riccias (Capítulo II / Pag 9):** Planta acuática caracterizada por el cuerpo de la planta que es un talo que no se diferencia en raíz, tallo y hoja. El talo es dorsiventralmente diferenciada, y se

forma dicotómica ramificada para formar una roseta. El (dorsal) superficie superior del talo es verde con un dorsal media del surco (surco o ranura) y diminutos poros de aire.

**Salvinia (Capítulo II / Pag 9):** Planta acuática, que es considerada un helecho flotante en los géneros botánicos.

**Anabántidos (Capítulo II / Pag 9):** Son peces de pequeño a mediano tamaño que habitan principalmente en ambientes lenticos, son peces de tipo perciforme de agua dulce.

**Fronda (Capítulo II / Pag 8):** Es la única hoja grande que presentan los helechos o esporofitos

**Macronutrientes (Capítulo II / Pag 12):** Son aquellos nutrientes que suministran la mayor parte de la energía metabólica del organismo. Los principales son glúcidos, proteínas, y lípidos.

**Compostaje (Capítulo II / Pag 12):** Es el producto que se obtiene de compuestos que forman o formaron parte de seres vivos en un conjunto de productos de origen animal y vegetal, en un grado medio se considera abono y en un grado superior se denomina "humus".

**Metanogénesis (Capítulo II / Pag 16):** Es una forma de metabolismo microbiano muy importante y extendido consistente en la formación de metano por microbios.

**Hidrólisis (Capítulo II / Pag 15):** Es una reacción química entre una molécula de agua y otra molécula, en la cual la molécula de agua se divide y sus átomos pasan a formar parte de otra especie química.

**Fase de acidificación (Capítulo II / Pag 15):** Etapa de fermentación anaeróbica que consiste en la degradación de los ácidos orgánicos llevándolos al grupo acético.

**Fase metanogénica (Capítulo II / Pag 15):** Etapa de la fermentación anaeróbica que consiste en convertir los ácidos orgánicos en metano.

**Flóculos (Capítulo II / Pag 26):** Aglutinación de sustancias coloidales presentes en el agua.

**Sistema batch (Capítulo II / Pag 27):** Sistema cuyo consiste en trabajar por lotes en bioreactores paralelos para mantener una producción constante

**Botella de Mariotte (Capítulo III / Pag 36):** Es un dispositivo destinado a conseguir una velocidad de efusión constante simultáneamente para un líquido y un gas. Consta de un frasco o botella de vidrio con un orificio lateral cerca de la base en el que eventualmente puede insertarse un tubo recto horizontal, y un tubo, también de vidrio, que por medio de un tapón ajusta perfectamente a su garganta, quedando en posición vertical.

**Coloración Gram (Capítulo IV / Pag 72):** Es un tipo de tinción diferencial empleado en bacteriología para la visualización de bacterias, sobre todo en muestras clínicas

**Fisher (Capítulo IV / Pag 62):** se utiliza principalmente para probar la igualdad entre dos varianzas poblacionales que provienen de poblaciones que tiene una distribución normal.

**Tukey (Capítulo IV / Pag 63):** Análisis estadístico que sirve para probar todas las diferencias entre medidas de tratamientos de una experiencia.

## ABREVIATURAS EMPLEADAS

**ERN (Capítulo I / Pag 3):** Energías Renovables No Convencionales

**Msnm (Capítulo I / Pag 3):** Metros sobre el nivel del mar.

**pH (Capítulo I / Pag 5):** Potencial de Hidrogeno, es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones hidronio  $[H_3O]^+$  presentes en determinadas disoluciones.

**UASB (Capítulo I / Pag 6):** De las siglas en inglés *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*, bioreactor también conocido como RAFA (Reactor anaerobio de flujo ascendente). Es un tipo de bioreactor tubular que opera en régimen continuo y en flujo ascendente, es decir, el afluente entra por la parte inferior del reactor, atraviesa todo el perfil longitudinal, y sale por la parte superior. Son reactores anaerobios en los que los microorganismos se agrupan formando biogránulos.

**Ms/cm (Capítulo II / Pag 10):** Medida de conductividad electrolítica, usada para comprobar la capacidad de conducir electricidad de un electrolito.

**FAO (Capítulo II / Pag 17):** Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (food and agriculture organization).

**TRH (Capítulo II / Pag 19):** Tiempo de retención Hidráulica, es un tiempo promedio que se demoraría el fluido en cruzar un cierto volumen fijo.

**TR (Capítulo II / Pag 20):** Tiempo de retención. El tiempo de retención describe el tiempo en el que un volumen de agua residual se encuentra almacenado en la instalación de bombeo, bomba de desagüe, tuberías, colector de detención, etc. El tiempo de retención se puede estimar dividiendo el volumen almacenado entre el caudal de descarga desde la estructura de contención.

**ABS (Capítulo II / Pag 25):** Alquibencen sulfato, detergente sintético cuya principal característica son los alquibencen sulfatos de cadena ramificada.

**MB (Capítulo III / Pag 36):** Medio selectivo Barker-Taha, medio selectivo que sirve para el aislamiento e identificación de bacterias metanogénicas

**MC (Capítulo III / Pag 36):** Medio selectivo Stadtman-Barker, medio selectivo que sirve para el aislamiento e identificación de bacterias metanogénicas

**APHA (Capítulo III / Pag 40):** Siglas de la asociación publica de salud americana (American Public Health Association)

**AWWA (Capítulo III / Pag 40):** Siglas de la asociación de trabajadores del agua americana (American Water Works Association)

**WPFC (Capítulo III / Pag 40):** Siglas del centro de familia del sur de Pensilvania (*Western Pennsylvania Family Center*)

**DQO (Capítulo III / Pag 43):** Demanda química de oxígeno

**SSV (Capítulo III / Pag 43):** Sólidos suspendidos volátiles

## RESUMEN

Diferentes estudios han reportado alta eficiencia en la producción de biogás a partir de plantas acuáticas debido a su bajo contenido de lignina. Estos, sugieren que la naturaleza del biogás a partir de estas plantas es superior en su composición al biogás producido a partir de estiércol de animales. El uso de biogás como fuente energética limpia y renovable representa un gran avance en el pool tecnológico de una sociedad como la nuestra, y a su vez, presenta una solución al problema de eutrofización, el cual, hoy por hoy, amenaza con destruir el nicho ecológico del lago Titicaca, ciudad de Puno.

Se utilizó la lenteja de agua (*Lemna gibba*), recolectada del mismo lago Titicaca, para la producción de biogás haciendo uso de un bioreactor UASB. Se realizó la comparación estadística de los resultados de producción de biogás y de concentración de metano usando lenteja de agua y de estiércol vacuno (sustrato tradicional). Se determinó cuál de los dos reporta mayor eficiencia cuali y cuantitativa. Para el análisis de concentración de metano presente en el biogás se hizo uso de un método químico no convencional y cuyos resultados fueron luego corroborados y validados por un método instrumental de medición: Medidor de Metano (Multitec 500).

Finalmente, se conformó un protocolo de aislamiento de las bacterias metanogénicas presentes en la fermentación anaeróbica. Se pudo concluir que la eficiencia de la lenteja como sustrato para producción de biogás es tanta o mayor a la reportada por el estiércol vacuno. De aplicarse la recolección y fermentación de lenteja de agua para la producción de biogás y este como fuente energética para sustentar las demandas de una ciudad, estaríamos abriendo paso al nuevo boom económico y ambiental de escala mundial y pionera en América Latina.

***Palabras Clave: Lenteja de agua. Biogás. Estiércol vacuno. Bioreactor UASB (RAFA). Método no convencional de medición de metano.***



## ABSTRACT

Different studies have reported highly efficient biogas production from aquatic plants due to their low lignin content. These suggest that the nature of biogas produced from these plants is superior in composition to biogas produced from animal manure. The use of biogas as a clean and renewable energy source represents a breakthrough in the technology pool of a society like ours, and also, presents a solution to the problem of eutrophication, which is threatening the existence of the ecological niche of Titicaca Lake, city of Puno.

Alternative substrate duckweed (*Lemna gibba*) was collected from the Titicaca Lake for biogas production using a UASB. Statistical comparison of the results of biogas production and methane concentration from duckweed and from cow dung (Traditional substrate) was performed. It was determined which of the two reports greater qualitative and quantitative efficiency. The recollection of concentration data of methane in the biogas was performed using a non- conventional chemical method. The results were then corroborated and validated by an instrumental method of measurement: Methane Methers (Multitec 500).

In addition to establishing new physicochemical parameters for biogas production in laboratory conditions, a protocol for isolation of predominant methanogenic bacteria during anaerobic fermentation was conceived. Using the custom UASB bioreactor for the task, biodigestión, It was possible to obtain high quality biogas from Duckweed. We concluded that the efficiency is as much or superior than reported by the traditional substrate (cow manure). If production of biogas from duckweed was to be implemented as an new energy source to satisfy a city's energetic demands, the opening of a new economic and environmental boom, would be waiting just ahead; leading Latin America to the future.

**Keywords: Duckweed. Biogas. Manure. UASB bioreactor. Unconventional Method to methane measurement.**



## CAPITULO I

### INTRODUCCIÓN

El uso del metano como fuente energética es una técnica cada vez más difundida en el mundo y además responde a la problemática medio ambiental que atraviesa la tierra debido a la contaminación. El metano ha sido ya utilizado como alternativa en diferentes países y circunstancias para satisfacer las necesidades de las poblaciones. Su producción y manejo no requiere de demasiada inversión, sin embargo su valor comercial, va en aumento cada vez. Es por ello que existe una “carrera” para determinar metodologías de producción cada vez más eficientes.

En el presente estudio se utilizó la lenteja de agua (*Lemna gibba*) como sustrato alternativo para producir biogás. La lenteja fue recolectada del lago Titicaca ubicado en la ciudad de Puno, el cual, presenta graves problemas de eutrofización. Se realizó la fermentación para la producción de biogás y se desarrollaron métodos para la medición de la eficiencia y también de los parámetros fisicoquímicos involucrados en el proceso. Los resultados obtenidos fueron validados estadísticamente para corroborar su veracidad.

Las energías renovables se caracterizan porque en sus procesos de transformación y aprovechamiento en energía útil no se consumen ni se agotan en una escala humana. Para generación eléctrica, estas energías en Perú suelen clasificarse en convencionales y no convencionales, según sea el grado de desarrollo de las tecnologías para su aprovechamiento y su grado de participación en el mercado eléctrico. Como Energías Renovables No Convencionales (ERNC) se consideran la pequeña hidráulica, la energía eólica, la solar, la geotérmica, la de los océanos y la derivada de la biomasa, ya sea a partir de su incineración directa o a través de la producción de biogás.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> RITTMAN. “Biotecnología del Medio Ambiente: principios y aplicaciones”. 2000.

Con estas definiciones en mente se resolvió solucionar un problema ambiental (la eutrofización del lago Titicaca en la ciudad de Puno) haciendo uso de la lenteja de agua que crece desmesuradamente en las orillas del mencionado lago. Para considerar el uso de la lenteja de agua como sustrato viable para la producción de biogás como fuente alternativa de energía, se preparó la presente tesis donde se compararon las producciones entre este sustrato alternativo y el sustrato convencional, o sea, el estiércol de animales.

### **1.1 FORMULACION DEL PROBLEMA.**

Como ya se mencionó, la problemática del estudio se encuentra en el desconocimiento del verdadero potencial de la lenteja de agua como sustrato para producción de biogás y, eventualmente, el uso de este como fuente energética. Existen reportes sobre la viabilidad de algas acuáticas y también de ciertas plantas como fuentes de producción a nivel laboratorio y planta piloto, sin embargo el uso exclusivo de *Lemna gibba* sigue siendo desconocido al igual que su viabilidad.

Aunque la producción de biogás es un proceso anaeróbico común en la naturaleza, en realidad, los consorcios bacterianos, así como las condiciones para esta fermentación, son bastante delicados y requieren especial atención para poder realizarse una transformación eficiente, Los antecedentes estudiados establecieron las bases de la metalogénesis y el sistema de control adecuado que debe utilizarse para producir biogás, sin embargo, toda esta información no se relaciona directamente con el uso de la lenteja de agua.

Debido a esto, se conformó una metodología donde cada aspecto de a experimentación y de análisis corresponden a técnicas aisladas. Es decir, la metodología se presenta segmentada y específica, en lugar de una secuencia única dirigida a la fermentación de lenteja de agua.

- **Problemática Ambiental y Geografía.**

El lago Titicaca se encuentra entre las cordilleras andinas en una cuenca de alrededor de 58.000 km<sup>2</sup>. Es el lago navegable más alto del mundo y ocupa el lugar 19º del mundo por superficie.<sup>2</sup>



**FIGURA 1. Fotografía del lago Titicaca vista del satélite.** Se puede apreciar la ubicación geográfica exacta del Lago Titicaca gracias al uso de software informático.<sup>3</sup>

A pesar de la gran importancia que tiene el Lago para la ciudad de Puno, al ser la fuente de sostenimiento de la población, fuente de recursos alimenticios, etc., sufre un proceso de eutrofización acelerada, debido a un mal manejo de las aguas residuales de la ciudad. Producto de ello, la lenteja de agua (*Lemna gibba*) se ha ido expandiendo exponencialmente formando una inmensa alfombra verde en la bahía interior del Lago. La abundancia de este organismo es causante de que las especies fotosintetizadoras no se desarrollen adecuadamente, puesto que actúa como un paraguas al impedir que los rayos solares penetren a las zonas más profundas. Las especies fotosintetizadoras quedan representadas por las algas y fitoplancton principalmente, siendo estas la base de las cadenas tróficas que en el lago existen. Por lo anterior, se ha calificado a la lenteja de agua como

<sup>2</sup> <http://es.wikipedia.org/wiki/Titicaca>

<sup>3</sup> [https://www.google.es/intl/es\\_es/earth/](https://www.google.es/intl/es_es/earth/)

un ente negativo, que debe ser eliminado y es por eso que muchas de las estrategias planteadas no han dado resultados alentadores. En lugar de ello, las estrategias deberían estar direccionadas a un manejo sostenible de la biomasa de la lenteja de agua, de forma que se pueda utilizar en beneficio del mismo Lago, y porque no, de la población en general.



**FIGURA 2. Fotografía de la bahía del lago Titicaca.** Se aprecia, en la foto, el crecimiento de la lenteja de agua (*Lemna gibba*) en la superficie del agua.

El promedio de la biomasa de la lenteja de agua en la bahía interior es de  $6.94 \text{ kg/m}^2$ , mientras que el promedio  $\text{pH} = 6.3$  y la el promedio de la temperatura del agua fue de  $13,8^\circ\text{C}$ .<sup>4</sup>

## 1.2 HIPÓTESIS

“Debido a que la lenteja de agua (*Lemna gibba*) es un elemento biológico abundante, renovable, reproducible y con baja concentración en lignina, es posible que el rendimiento de esta biomasa, para la producción de biogás, sea mayor al rendimiento de sustratos convencionales.”

<sup>4</sup> UNAM, Departamento Académico de Biología

### 1.3 OBJETIVOS

- **GENERAL**

Comparar la producción de biogás a partir de Lenteja de Agua (*Lemna gibba*) como sustrato alternativo frente a la biomasa tradicional

- **ESPECÍFICOS**

- ❖ Determinar las producciones diarias de biogás utilizando como sustratos: 1. Lenteja de agua. 2. Estiércol vacuno. 3. Mezclas proporcionales de ambos.
- ❖ Mejorar el diseño y optimizar el biorreactor de tipo UASB de biodigestión estacionaria (disponible en el laboratorio) para la producción de biogás a partir de la Lenteja de Agua.
- ❖ Establecer los parámetros fisicoquímicos óptimos para la producción del biogás en el reactor UASB personalizado (T, P, V, etc.).
- ❖ Establecer un protocolo de aislamiento de los agentes metanogénicos más eficientes presentes en la producción del biogás de Lenteja de agua.
- ❖ Validar estadísticamente los resultados cuali - y cuantitativos de la producción del biogás a base de Lenteja de agua en contraposición del biogás producido por la biomasa comúnmente utilizada (estiércol vacuno).

#### 1.4 VARIABLES E INDICADORES

<b>Variables independientes</b>	<b>Indicadores</b>
- <i>Lemna gibba</i>	Concentración de sólidos totales, porcentaje de humedad, grado de acidez
- Estiércol vacuno	Concentración de sólidos totales, porcentaje de humedad, grado de acidez
<b>Variables dependientes</b>	<b>Indicadores</b>
- Biogás de lenteja de agua	Rendimiento, concentración de metano, concentración de sulfuros, concentración de otros componentes menores y contaminantes.
- Biogás de estiércol vacuno	Rendimiento, concentración de metano, concentración de sulfuros, concentración de otros componentes menores y contaminantes.

**FIGURA 3. Determinación de variables e indicadores.** Variables dependientes e independientes presentes en el estudio. Se detallan los indicadores para cada variable.

## CAPITULO II

# MARCO TEÓRICO

### 2.1 Lenteja de agua (*Lemna gibba*)

Pertenece a la familia Lemnaceae, genero Lemna, es una planta acuática muy resistente a diversas condiciones ambientales, presentan una tasa de reproducción de 0.1-0.5/ día. Bajo condiciones apropiadas llegan a duplicarse en 2 días. Los nutrientes son absorbidos por la raíces y por el lado inferior de la hoja mayor (fronda). Estos nutrientes representan un 86% a 97% agua. La lenteja de agua es buena fuente de proteínas (45%) ya que no necesitan de estructuras de soporte y están compuestas de material metabólicamente activo. También son una buena fuente de enzimas, vitaminas y aminoácidos convirtiéndola en un alimento nutritivo para vacas y peces.<sup>5</sup> La composición química de la lenteja de agua (*Lemna gibba*) es:

Variables	Composición química (%)
Materia seca (%)	6.87
Proteína bruta (%)	26.16
Fibra bruta (%)	12.05
Ceniza (%)	14.70
Calcio (%)	5.24
Fosforo (%)	0.52

**FIGURA 4. Composición de la lenteja de agua<sup>6</sup>.** Es de vital importancia conocer la composición de la lenteja de agua para poder conocer las características cuali y cuantitativas de agentes y sustratos metanogénicos.

<sup>5</sup> CASTILLO: "Análisis de la Lemna sp. del lago de Maracaibo para su eventual utilización en la alimentación de rumiantes", 2005.

<sup>6</sup> SALAS Y CRUZ: "Alternativas ecotecnológicas en la depuración de aguas residuales derivadas de la acuicultura y la producción animal", (2000).

- **Temperatura:** Con excepción de climas muy fríos, se adaptan a cualquier temperatura (hasta los 40C). Ésta influye en la absorción de nutrientes, el transporte y su asimilación por parte de la planta. Además determina la tasa de fotosíntesis y respiración. Los rangos de supervivencia y crecimiento varían entre 0°C y 20°C. Para la iluminación adecuada no se han establecidos muy bien los límites máximos y mínimos aun.<sup>7</sup>
- **Reproducción:** La forma habitual de reproducción en la lenteja de agua es la reproducción vegetativa por gemación, aunque pueden poseer órganos florales muy simples y de tamaño reducidísimo. En resumen, la perpetuación puede explicarse como la formación de brotes pequeñísimos semejantes a la planta madre. Estos brotes se separan entre sí, originando copias perfectas del vegetal madre. Finalmente, llegan a formar espesas alfombras verdes.<sup>8</sup>
- **Propagación:** por división. Cada plántula, generada por gemación, desarrolla hojas y raíces; luego ésta se separa de la planta madre. Para mantener un cultivo se recomienda separar las plántulas en recipientes aparte, a los cuales se las transfiere cada vez de acuerdo a las necesidades. Suelen desarrollarse con suma rapidez en los estanques al aire libre, cerrando la superficie por lo que deben ser periódicamente eliminadas.<sup>9</sup>
- **Utilización:**
  - Planta muy buena para crear zonas de sombra en el acuario o estanques y para que los alevines se escondan entre sus raíces.
  - Se trata de una planta de crecimiento muy rápido, muy adecuada para reducir el nivel de nitratos. Del mismo modo es un buen

---

<sup>7</sup> ARROYAVE: "Lenteja de agua: una planta acuática promisoría". 2004.

<sup>8</sup> PINTO: "Producción de las plantas acuáticas Lemna minor y Azolla filiculoides y su uso conjuntamente con harina de pescado en raciones para cerdos". 2000.

<sup>9</sup> ESPEJO-DÍAZ: "Producción de la lenteja de agua (Lemna minor), fertilizada con estiércol de ovinos".2003.



indicador del nivel de nitratos en nuestro acuario, cuanto más grandes sean sus raíces más nivel de nitratos.

- Como alimento para los *Goldfish* (pez ornamental)
  - En muchos lugares está considerada como una plaga.
  - Se muestran útiles con riccias y salvinias como auxiliares para la reproducción de anabántidos, sirviendo de soportes para los nidos de espuma
  - Se utiliza para el tratamiento de las aguas residuales ya que es una planta que asimila los nutrientes que se liberan en la descomposición de la materia orgánica presente en las aguas residuales de consumo humano, tiene una gran capacidad de crecimiento y un contenido de proteína vegetal es mayor que el de la soya.<sup>10</sup>
- **Cultivo:** Al extenderse sobre toda la superficie del agua, hay que protegerlas del viento; en el caso de grandes áreas lo más recomendable es dividir las para hacer cosecha, trabajar a bajas profundidades, la alta densidad de población inhibe la fotosíntesis; en la baja densidad la tasa de reproducción se disminuye. Se recomienda 400-800 gr/m<sup>2</sup> en peso húmedo, la cosecha se realiza por medio de redes y puede variar de 1 a 30 días según el grosor de la capa de lentejas.<sup>11</sup>

Las lentejas de agua se adaptan a aguas dulces o salinas, con alta concentración de nutrientes, su crecimiento se inhibe en agua limpias. Resiste altos niveles de salinidad 40000 ms/cm los niveles de nitrógeno mínimos son de 0.001mg/l, óptimos 0.6-70 mg/l; máximos 200-2800 mg/l; la lenteja de agua toma el nitrógeno de nitratos e

---

<sup>10</sup> ESPEJO-DÍAZ: "Producción de la lenteja de agua (*Lemna minor*), fertilizada con estiércol de ovinos". 2003.

<sup>11</sup> DÍAZ: "Digestión Anaerobia. Una Aproximación a la Tecnología". 2010.

iones de amonio siendo este último su mejor fuente. Para las condiciones en que la lenteja de agua se desarrolla, esta es muy efectiva en el tratamiento de aguas residuales, algunos componentes de las aguas residuales pueden inhibir el crecimiento y por tanto su capacidad para remover nutrientes. Ejemplo:  $\text{NH}_3$ , metales pesados.<sup>12</sup>

## 2.2 Estiércol.

Estiércol es el nombre con el que se denomina a los excrementos de animales que se utilizan para fertilizar los cultivos. En ocasiones el estiércol está constituido por más de un desecho orgánico, como por ejemplo excrementos de animales y restos de las camas de criadero de animales de granja, como sucede con la paja. El lugar donde se vierte o deposita el estiércol es el estercolero.

El estiércol de ganado vacuno es el más importante y el que se produce en mayor cantidad en las explotaciones rurales. Conviene a todas las plantas y a todos los suelos, da consistencia a la tierra arenosa y móvil, ligereza al terreno gredoso y refresca los suelos cálidos, calizos y margosos. De todos los estiércoles es el que obra más largo tiempo y con más uniformidad. La duración de su fuerza depende principalmente del género de alimento dado al ganado que lo produce. El mejor estiércol es el que es suministrado por las bestias del cebadero que reciben en general un buen alimento. Los animales flacos, por el contrario, no producen sino un estiércol pobre y de poco valor.<sup>13</sup>

Uso de estiércol animal como abono orgánico con la finalidad de acondicionar el suelo mejorando su contenido de humus y estructura, estimulando la vida micro y meso biológica del suelo. Al mismo tiempo se fertiliza el suelo con micro y macro nutrientes. Contiene 1.1-3% de

---

<sup>12</sup> CASTILLO: "Análisis de la Lemna sp. del lago de Maracaibo para su eventual utilización en la alimentación de rumiantes". 2005.

<sup>13</sup> INIA: "Producción de Energía Renovable (biogás) a partir del estiércol del ganado bovino en la Estación Experimental Agraria El Porvenir". 2011.

N, 0.3- 1% de P y 0.8-2% de K. Estos nutrientes se liberan paulatinamente (al contraste con el fertilizante químico).<sup>14</sup>

El uso de estiércoles en principal medida es a manera de fertilizantes, en el siguiente cuadro se muestra la composición media de estiércoles frescos de diferentes animales domésticos (como porcentaje de la materia seca).

Nutriente	Vacunos	Porcinos	Caprinos	Conejos	Gallinas
Materia orgánica (%)	48,9	45,3	52,8	63,9	54,1
Nitrógeno total (%)	1,27	1,36	1,55	1,94	2,38
Fósforo asimilable (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %)	0,81	1,98	2,92	1,82	3,86
Potasio (K <sub>2</sub> O %)	0,84	0,66	0,74	0,95	1,39
Calcio (CaO %)	2,03	2,72	3,2	2,36	3,63
Magnesio (MgO %)	0,51	0,65	0,57	0,45	0,77

**FIGURA 5. Composición porcentual del estiércol de origen animal.**<sup>15</sup> De la misma manera que con la lenteja, es importante conocer las composiciones del estiércol para determinar la existencia y la cantidad de agentes y sustratos metanogénicos. En la tabla se muestra una comparación de algunas características composicionales entre diferentes fuentes de estiércol.

- **Aplicaciones del estiércol**

El estiércol ha sido durante mucho tiempo el abono orgánico de origen animal más utilizado para reponer la fertilidad natural de los suelos. Décadas atrás se utilizaban enormes cantidades en nuestros campos, debido a la enorme cabaña ganadera y a lo razonable de su precio. Se puede utilizar en todo tipo de suelos y cultivos tras un proceso de compostaje. De esta forma se puede utilizar en superficie o ligeramente enterrado.

<sup>14</sup> INIA: "Producción de Energía Renovable (biogás) a partir del estiércol del ganado bovino en la Estación Experimental Agraria El Porvenir". 2011.

<sup>15</sup> ASO Y BUSTOS: Composición media de estiércoles frescos de diferentes animales domésticos, 1991.

Generalmente los subproductos arriba mencionados se utilizan mezclados con el estiércol u otros restos para la elaboración de compost, con el fin de enriquecerlos (sobre todo en nitrógeno).<sup>16</sup> Quizás la excepción sería el humus de lombriz, cada vez más utilizado y que se incorpora directamente al suelo.

- **Desventajas del estiércol**

- Con la modernización del campo el uso del estiércol pierde interés porque no se adapta bien a la excesiva mecanización. Cada vez es más caro y escaso y su incorporación al campo requiere de una adecuada mecanización para que no se eleven los costos de mano de obra.
- Si se practica agricultura ecológica no estarían permitidos aquellos estiércoles de ganaderías intensivas. Estos probablemente estarían contaminados con antibióticos, restos de pesticidas, metales pesados, etc. Cada vez hay menos ganados de forma extensiva, con pastoreo y en lugares accesibles para conseguir el estiércol. Esto hace que el estiércol sea un bien cada vez más escaso.
- Algunos estiércoles muy ricos en macronutrientes como el nitrógeno si no se mezclan con otros más pobres o con restos vegetales, a pesar del compostaje, tienen tendencia hacia el desequilibrio.
- Para realizar el proceso de compostaje del estiércol se necesita maquinaria para el volteo de los montones, y conocimientos para realizar el proceso.<sup>17</sup>
- 

---

<sup>16</sup> HERNÁNDEZ: "Segundo Fórum Nacional de Energía: Biogás. La Habana". 1990.

<sup>17</sup> Biodigestores en el Perú, Ministerio de Agricultura", 2011

- **Ventajas del estiércol**

- En las fincas donde se compaginen la agricultura y ganadería, el estiércol puede reingresar de nuevo en la explotación, cerrando así el ciclo.
- Por otro lado es necesario compostar adecuadamente el estiércol, es decir someterlo a un proceso de fermentación y transformación con lo que se consigue un material final de innumerables ventajas al de partida. Requiere al menos 6 meses para conseguir un resultado aceptable.
- Es verdad que algunos cultivos hortícolas soportan bien el estiércol sin compostar, pero en general el proceso de compostaje es muy beneficioso eliminando semillas de malas hierbas, transformando muchos de sus nutrientes por la acción de los microorganismos, elimina virus, hongos y bacterias indeseables y finalmente mejora su estructura físico-química.
- Con el proceso se consiguen mayores cantidades de humus que con la misma cantidad de materia aplicada directamente al suelo. La utilización del estiércol y demás subproductos de origen animal suponen un ahorro en la fabricación de abonos químicos, por tanto el uso de éstos contribuyen a aliviar el impacto de una industria pesada altamente contaminante.
- El estiércol, tras su compostaje, se convierte en una materia muy rica en flora microbiana beneficiosa.

A modo ilustrativo se expone a continuación un cuadro indicativo sobre cantidades de estiércol producido por distintos tipos de animales y el rendimiento en gas de los mismos tomando como referencia el kilogramo de sólidos volátiles.<sup>18</sup>

---

<sup>18</sup> HERNÁNDEZ: "Segundo Fórum Nacional de Energía: Biogás. La Habana". 1990.

ESPECIE	PESO VIVO	Kg ESTIERCOL/día	1/kg S.V	%CH <sub>4</sub>
CERDOS	50	4.5-6	340-550	60-65
VACUNOS	400	25-40	90-310	35-50
EQUINOS	450	12-16	200-300	45-60
OVINOS	45	2.5	90-310	40-50
AVES	1.5	0.06	310-620	60
CAPRINOS	40	1.5	110-290	---

**FIGURA 6. Producción aproximada de estiércol de origen animal.**<sup>19</sup> Existe una relación conocida entre el origen del sustrato (estiércol), la producción diaria del mismo y la cantidad de metano que puede sintetizarse.

### 2.3 Biogás.

El biogás es una mezcla gaseosa formada por metano (CH<sub>4</sub>) en una proporción que oscila entre un 50% a un 70% y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), junto a pequeñas proporciones de otros gases como sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), hidrógeno (H) y amoníaco (NH<sub>3</sub>). El H<sub>2</sub>S proporciona al biogás un olor a desagüe. El biogás es un combustible ecológico, ya que se obtiene en biodigestores por fermentación anaeróbica del estiércol de herbívoros; luego, cuando se quema el biogás, se produce CO<sub>2</sub> y agua; el CO<sub>2</sub> sale a la atmósfera, de donde es captado por las plantas para producir carbohidratos mediante la fotosíntesis, que los utilizarán para su crecimiento; estas plantas servirán de alimento a los herbívoros, cuyo estiércol se alimentará al biodigestor, de esta manera se completa el ciclo del CO<sub>2</sub>, el biogás es producido por bacterias metanogénicas, Las bacterias metanogénicas constituyen el último eslabón de la cadena de microorganismos encargados de digerir la materia orgánica y devolver al medio los elementos básicos para reiniciar el ciclo.<sup>20</sup>

<sup>19</sup> Rolando ch., Vivanco E. "Potencial del biogás", 2007

<sup>20</sup> Ministerio de Energía de Chile: "Manual del Biogás". 2011

- **Metanogénesis**

Una idea general sobre el proceso microbiológico involucrado en la formación de metano es necesaria para poder comprender mejor el diseño y funcionamiento de los denominados reactores o digestores productores de biogás.<sup>21</sup>

- **Prerrequisitos necesarios para iniciar el proceso:**

La fermentación anaeróbica involucra a un complejo número de microorganismos de distinto tipo los cuales pueden ser divididos en tres grandes grupos principales. La real producción de metano es la última parte del proceso y no ocurre si no han actuado los primeros dos grupos de microorganismos.<sup>22</sup>

Las bacterias productoras del biogás son estrictamente anaeróbicas y por lo tanto sólo podrán sobrevivir en ausencia total de oxígeno atmosférico.

Otra característica que las identifica es la sensibilidad a los cambios ambientales debido a lo cual será necesario un mantenimiento casi constante de los parámetros básicos como la temperatura.

Las dificultades en el manejo de estas delicadas bacterias explican que la investigación sistemática tanto de su morfología como de la bioquímica fisiológica sólo se halla iniciado hace cincuenta años hoy en día gracias a estudios muy recientes podemos conocer mejor el mecanismo y funcionamiento de este complejo sistema microbiológico involucrado en la descomposición de la materia orgánica que la reduce a sus componentes básicos  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ .<sup>23</sup>

---

<sup>21</sup> Ing. A. M. Sc. Jorge A. Hilbert. "MANUAL PARA LA PRODUCCION DE BIOGAS"

<sup>22</sup> Montenegro. : "Producción de biogás usando mezclas de desechos de animales y algas marinas". 1986.

<sup>23</sup> CHAMY, Rolando y PIZARRO, Carolina. "Biogás: Energía limpia a partir de la basura", 2004

- **Etapas intervinientes:**

Veamos ahora las diferentes etapas intervinientes y sus principales características.

- **Fase de hidrólisis:** Las bacterias de esta primera etapa toman la materia orgánica virgen con sus largas cadenas de estructuras carbonadas y las van rompiendo y transformando en cadenas más cortas y simples (ácidos orgánicos) liberando hidrógeno y dióxido de carbono.<sup>24</sup>

Este trabajo es llevado a cabo por un complejo de microorganismos de distinto tipo que son en su gran mayoría anaerobios facultativos.

- **Fase de acidificación:** Esta etapa la llevan a cabo las bacterias acetogénicas y realizan la degradación de los ácidos orgánicos llevándolos al grupo acético  $\text{CH}_3\text{-COOH}$  y liberando como productos Hidrógeno y Dióxido de carbono.<sup>25</sup>

Esta reacción es endoenergética demanda energía para ser realizada y es posible gracias a la estrecha relación simbiótica con las bacterias metanogénicas que substraen los productos finales del medio minimizando la concentración de los mismos en la cercanía de las bacterias acetogénicas. Esta baja concentración de productos finales es la que activa la reacción y actividad de estas bacterias, haciendo posible la degradación manteniendo el equilibrio energético.

- **Fase metanogénica:** Las bacterias intervinientes en esta etapa pertenecen al grupo de las achibacterias y poseen características únicas que las diferencian de todo el resto de las bacterias por lo que las diferencian de todo el resto de las bacterias, por lo cual, se

---

<sup>24</sup> Chamy Rolando y Pizarro Carolina. 2004. "Biogás: energía limpia a partir de la basura"

<sup>25</sup> Fuente: Rolando ch., Vivanco E.: "Potencial del Biogás", 2007



crea que pertenecen a uno de los géneros más primitivos de vida colonizadoras de la superficie terrestre.

La transformación final cumplida en esta etapa tiene como principal substrato el acético junto a otros ácidos orgánicos de cadena corta y los productos finales liberados están constituidos por el metano y el dióxido de carbono.<sup>26</sup>

Los microorganismos intervinientes en cada fase tienen propiedades distintas que son muy importantes y se las debe conocer para lograr comprender el equilibrio y funcionamiento óptimo de un digestor.

Estas características han sido resumidas en el siguiente cuadro:

FASE ACIDOGENICA	FASE METANOGENICA
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bacterias facultativas (pueden vivir en presencia de bajos contenidos de oxígeno).</li> <li>• Reproducción muy rápida (alta tasa reproductiva).</li> <li>• Poco sensibles a los cambios de acidez y temperatura.</li> <li>• Principales metabolitos, ácidos orgánicos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bacterias anaeróbicas estrictas (No pueden vivir en presencia de oxígeno).</li> <li>• Reproducción lenta (baja tasa reproductiva).</li> <li>• Muy sensibles a los cambios de acidez y temperatura.</li> <li>• Principales productos finales, metano y dióxido de carbono</li> </ul>

**FIGURA 7. Comparación de las fases de la digestión anaeróbica.**<sup>27</sup> La tabla proporciona información vital para poder comprender el proceso metanogénico al igual que el diseño de un sistema eficiente de producción.

Como vemos el proceso ha sido simplificado aún más reduciendo el mismo a dos fases principales la ácida generadora de productos intermedios y la metanogénica.

<sup>26</sup> Ministerio de Energía de Chile: "Manual del Biogás". 2011

<sup>27</sup> Fuente: Rolando ch., Vivanco E.: "Potencial del Biogás", 2007

La estabilidad de un biodigestor sin el control de los parámetros que gobiernan el proceso de metalogénesis se ve muy reducida. Esto causa una baja recuperación de bacterias metanogénicas. Factores como el pH, la temperatura y el tiempo de retención son algunas de las variables que deben tenerse en consideración.<sup>28</sup>

- **Principales factores que afectan la producción de gas:**

Existen diversos factores que se ven involucrados en la actividad metabólica de la metalogénesis. Es difícil poder dar valores cuantitativos a estos parámetros, ya que, durante el proceso de metalogénesis existen diferentes consorcios bacterianos y cada uno reacciona de manera diferente a las condiciones establecidas. El grado en que se ve afectada la producción de biogás a causa de estos factores solo puede señalarse de manera muy poco precisa. Es por ello que nos limitamos a dar una valoración cualitativa y, en algunos casos se darán cifras y cuadros que deben tomarse como orientativos ya que los valores pueden sufrir importantes variaciones. Entre los factores más importantes a tenerse en cuenta explicaremos los siguientes: la presencia de compuestos inhibidores del proceso, el tipo de sustrato (nutrientes disponibles), el nivel de acidez (pH), la concentración del sustrato, la carga volumétrica, el tiempo de retención hidráulico, el agregado de inoculantes y el grado de mezclado más eficiente.<sup>29</sup>

- **Tipo de materia prima:**

Las materias primas fermentables incluyen dentro de un amplio espectro a los excrementos animales y humanos, aguas residuales orgánicas de las industrias (producción de alcohol, procesado de frutas, verduras, lácteos, carnes, alimenticias en general), restos de cosechas y basuras de diferentes tipos, como los efluentes de determinadas industrias químicas.

---

<sup>28</sup> Rolando ch., Vivanco E.: "Potencial del Biogás". 2007.

<sup>29</sup> DIAZ. "Obtención de gas combustible mediante la bioconversión del alga marina *Ulva Lactuca*". 2002.

El proceso microbiológico requiere, además de fuentes de carbono y nitrógeno, un equilibrio entre las sales minerales (azufre, potasio, calcio, tungsteno, selenio, cobalto, zinc, molibdeno, manganeso, hierro, magnesio, calcio, fósforo, níquel y otros menores).<sup>30</sup>

Por lo general las sustancias orgánicas como los estiércoles y lodos cloacales presentan estos elementos en proporciones adecuadas. Sin embargo, en la digestión de ciertos desechos industriales, puede ser necesaria la adición de los compuestos enumerados o bien un post tratamiento aeróbico.<sup>31</sup>

La lignina es un compuesto usual en plantas y algas acuáticas, y esta no es directamente aprovechable. Debido a esto es necesario someter los sustratos con alta concentración de lignina a tratamientos previos (cortado, macerado, compostado) a fin de liberar las sustancias factibles de ser transformadas de las incrustaciones de lignina.

- **Temperatura del sustrato:**

La temperatura mínima necesaria para iniciar el procesos de metalogénesis varía entre 4° a 5° C y no se debe sobrepasar una máxima de alrededor de 70°C. Se establecen 3 rangos de temperaturas atendiendo las necesidades del consorcio bacteriano que está actuando en las diferentes fases de la metalogénesis. Es necesario recordar que existen etapas paramétricamente diferentes para la producción de biogás.

---

<sup>30</sup> FAO: "Recycling or organic wastes in agriculture. Report of the FAO study tour to the People's Republic of China". 2001.

<sup>31</sup> HOHLFELD. "Production and utilization of biogas in rural areas of industrialized and developing countries". 1986.

BACTERIAS	RANGO DE TEMPERATURAS	SENSIBILIDAD
Psicrofílicas	Menos de 20°C	+ - 2°C/hora
Mesofílicas	Entre 20°C y 40°C	+ - 1°C/hora
Termofílicas	Más de 40°C	+ - 0,5°C/hora

**FIGURA 8. Temperaturas de crecimiento de bacterias metanogénicas.**<sup>32</sup> Debido a que el proceso de metalogénesis lo realiza un consorcio de bacterias y en etapas diferentes, sus requerimientos para el crecimiento también deben variar. En este caso se presenta la temperatura como variable independiente del crecimiento.

La actividad biológica y por lo tanto la producción de gas aumenta con la temperatura. Al mismo tiempo se deberá tener en cuenta que al no generar calor el proceso la temperatura deberá ser lograda y mantenida mediante energía exterior. El cuidado en el mantenimiento también debe extremarse a medida que aumentamos la temperatura, dada la mayor sensibilidad que presentan las bacterias termofílicas a las pequeñas variaciones térmicas.

Todas estas consideraciones deben ser evaluadas antes de escoger un determinado rango de temperaturas para el funcionamiento de un digestor ya que a pesar de incrementarse la eficiencia y producción de gas paralelamente aumentará los costos de instalación y la complejidad de la misma.<sup>33</sup>

Los digestores que trabajan a temperaturas meso y termofílicas poseen generalmente sistemas de calefacción, aislación y control los cuales son obviados en digestores rurales económicos que trabajan a bajas temperaturas.

La temperatura está íntimamente relacionada con los tiempos que debe permanecer la biomasa dentro del digestor para completar su degradación (Tiempo de retención Hidráulica, TRH). A medida que se aumenta la temperatura disminuyen los tiempos de retención y en

<sup>32</sup> Fuente: <http://www.senasa.gov.ar/>

<sup>33</sup> NOYOLA. "Tratamiento anaerobio de aguas residuales" 1997.

consecuencia se necesitará un menor volumen de reactor para digerir una misma cantidad de biomasa.<sup>34</sup>

La velocidad de carga volumétrica designa al volumen de sustrato orgánico cargado diariamente al digestor. El valor de esta velocidad se relaciona de manera inversa con el tiempo de retención; es decir que, mientras se incrementa la carga volumétrica dentro del reactor, el tiempo de retención disminuye.<sup>35</sup>

A pesar de las diferentes maneras de expresar este parámetro, se suele utilizar las siguientes unidades: kg de material/día; kg de materia seca/día; kg de sólidos volátiles/día todos expresados por metro cúbico de digestor.<sup>36</sup>

Las cantidades de sólidos y sólidos volátiles se extraen afectando a las cantidades en kg de material cargado con los porcentajes de sólidos o sólidos volátiles que se obtiene por análisis. (Porcentaje de sólidos sometiendo al sustrato a desecación, 105°C hasta peso constante y extrayendo el siguiente coeficiente:  $(\text{peso húmedo} - \text{peso seco})/\text{peso húmedo}$ . El porcentaje de sólidos volátiles se obtiene sometiendo la muestra seca a la mufla, 560°C durante tres horas y extrayendo el siguiente coeficiente:  $1 - ((\text{peso seco} - \text{peso ceniza})/\text{peso seco})$ ).<sup>37</sup>

- **Tiempos de retención.**

Este parámetro sólo puede ser claramente definido en los “sistemas discontinuos o batch” donde el T.R. coincide con el tiempo de permanencia del sustrato dentro del digestor.<sup>38</sup>

---

<sup>34</sup> OCAÑA J. “Biodigestor anaeróbico de laboratorio” 2011

<sup>35</sup> OCAÑA J. Ob. Cit.

<sup>36</sup> OCAÑA J. “Biodigestor anaeróbico de laboratorio” 2011

<sup>37</sup> OCAÑA J. Ob. Cit.

<sup>38</sup> OCAÑA J. Ob. Cit.

En los digestores continuos y semicontinuos el tiempo de retención se define como el valor en días del cociente entre el volumen del digestor y el volumen de carga diaria.<sup>39</sup>

De acuerdo al diseño del reactor, el mezclado y la forma de extracción de los efluentes pueden existir variables diferencias entre los tiempos de retención de líquidos y sólidos debido a lo cual suelen determinarse ambos valores.<sup>40</sup>

El T.R. está íntimamente ligado con dos factores: el tipo de sustrato y la temperatura del mismo.

La selección de una mayor temperatura implicará una disminución en los tiempos de retención requeridos y consecuentemente serán menores los volúmenes de reactor necesarios para digerir un determinado volumen de material.

La relación costo beneficio es el factor que finalmente determinará la optimización entre la temperatura y el T.R., ya varían los volúmenes, los sistemas paralelos de control, la calefacción y la eficiencia.

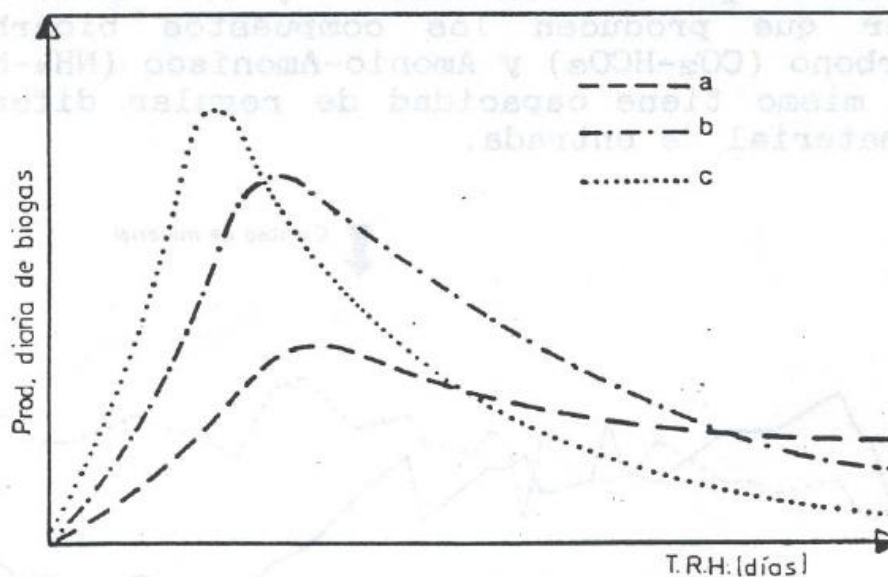
Con relación al tipo de sustrato, generalmente los materiales con mayor proporción de carbono retenido en moléculas resistentes como la celulosa demandarán mayores tiempos de retención para ser totalmente digeridos. En la figura 8 podemos observar cómo se distribuye en función al tiempo de retención la producción diaria de gas para materiales con distintas proporciones de celulosa.<sup>41</sup>

---

<sup>39</sup> OCAÑA J. Ob. Cit.

<sup>40</sup> OCAÑA J. "Biodigestor anaeróbico de laboratorio" 2011

<sup>41</sup> HERNÁNDEZ. "Diseño de un Reactor Anaeróbico para el Tratamiento de Residuos Municipales". 1988



**FIGURA 9. Materiales con distintas concentraciones de celulosa<sup>42</sup>.** Es importante conocer la concentración de ciertos compuestos (en este caso la celulosa) para determinar el tiempo de retención adecuado, ya que, la celulosa por su composición química demanda más tiempo para ser digerida. a) Pasto verde b) estiércol vacuno c) paja

El límite mínimo de los T.R. está dado por la tasa de reproducción de las bacterias metanogénicas debido a que la continua salida de efluente del digestor extrae una determinada cantidad de bacterias que se encuentran en el líquido. Esta extracción debe ser compensada por la multiplicación de las bacterias que pertenecen dentro del reactor.<sup>43</sup>

MATERIA PRIMA	T.R.H.
Estiércol vacuno líquido	20 - 30 días
Estiércol porcino líquido	15 - 25 días
Estiércol aviar líquido	20 - 40 días

**FIGURA 10. Tiempo de retención de cada materia prima.<sup>44</sup>** Las diferentes composiciones del sustrato estiércol, requieren diferentes tiempos para ser digeridos y para producir biogás. Esto se debe a que si existen componentes de estructura química más compleja, requerirá más esfuerzo y tiempo para que las bacterias metanogénicas hagan su trabajo.

<sup>42</sup> HERNÁNDEZ. "Diseño de un Reactor Anaeróbico para el Tratamiento de Residuos Municipales". 1988

<sup>43</sup> HERNÁNDEZ. "Diseño de un Reactor Anaeróbico para el Tratamiento de Residuos Municipales". 1988

<sup>44</sup> HERNÁNDEZ. "Diseño de un Reactor Anaeróbico para el Tratamiento de Residuos Municipales". 1988

Es por esta razón que se han estado buscando diferentes diseños de cámaras de digestión que tratan de lograr mayores superficies internas sobre las cuales se depositan las bacterias formando una película u otros sistemas similares que logran retener a las bacterias metanogénicas y así reducir el T.R. (como el reactor U.A.S.B.)

- **Valor de acidez (pH):**

Una vez estabilizado el proceso fermentativo el pH se mantiene en valores que oscilan entre 7 y 8,5. Debido a los efectos buffer que producen los compuestos bicarbonato-dióxido de carbono ( $\text{CO}_2\text{-HCO}_3$ ) y Amonio -Amoníaco ( $\text{NH}_4\text{-NH}_3$ ) el proceso en sí mismo tiene capacidad de regular diferencias en el pH del material de entrada.<sup>45</sup>

Las desviaciones de los valores normales es indicativo de un fuerte deterioro del equilibrio entre las bacterias de la faz ácida y la metanogénica provocado por severas fluctuaciones en alguno de los parámetros que gobiernan el proceso.

- **Contenido de sólidos:**

La movilidad de las bacterias metanogénicas dentro del sustrato se ve crecientemente limitada a medida que se aumenta el contenido de sólidos y por lo tanto puede verse afectada la eficiencia y producción de gas. Por otro lado podemos encontrar en la literatura datos de producciones de gas importantes logradas en rellenos sanitarios con un alto contenido de sólidos .En este punto tampoco existen reglas fijas; mediciones realizadas utilizando mezclas de estiércoles animales en agua han determinado que para digestores continuos el porcentaje de sólidos óptimo oscila entre el 8% y el 12%.<sup>46</sup>

---

<sup>45</sup> HERNÁNDEZ. "Diseño de un Reactor Anaeróbico para el Tratamiento de Residuos Municipales". 1988

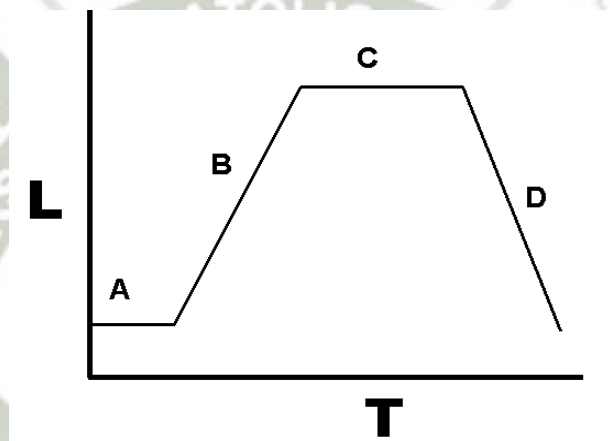
<sup>46</sup> BOGOTÁ J., DÍAZ S., RAMOS P. "Montaje y puesta en marcha de dos biodigestores anaerobios con residuos orgánicos generados en la central de mercado "plaza Kennedy" en Bogotá". 2008.



- **Inclusión de inoculantes:**

Puede observarse en la FIGURA 11 la clásica grafica de crecimiento bacteriano. Pueden distinguirse claramente las tres etapas conocidas: La de arranque (A), la de estabilización (C) y la de declinación (D).

Para reducir la resistencia de las bacterias durante la fase inicial o de arranque, se utiliza un determinado porcentaje de material biológico de otro digestor rico en bacterias que se encuentran en plena actividad. Esto es particularmente importante en los digestores discontinuos que deben ser arrancados frecuentemente.



**FIGURA 11. Crecimiento bacteriano.** En la figura se muestra el grafico tradicional para representar el crecimiento bacteriano. La metalogénesis como cualquier proceso fermentativo, presenta la misma curva de crecimiento

Al llegarse en forma más rápida a la estabilización puede incrementarse la producción de gas por kg de estiércol.

Los dos factores a tener en cuenta en la inoculación de un digestor es la proporción en que se agrega y la edad del mismo. Cuanto mayor sea la proporción y menor la edad mayor será la eficacia.

- **Agitación - mezclado:**

Los objetivos buscados con la agitación son: remoción de los metabolitos producidos por las bacterias metanógenas, mezclado del sustrato fresco con la población bacteriana, evitar la formación de costra que se forma dentro del digestor, uniformar la densidad bacteriana y evitar la formación de espacios “muertos” sin actividad biológica.<sup>47</sup>

En la selección del sistema, frecuencia e intensidad de la agitación se deberán realizar las siguientes consideraciones: El proceso fermentativo involucra un equilibrio simbiótico entre varios tipos de bacterias. La ruptura de ese equilibrio en el cuál el metabolito de un grupo específico servirá de alimento para el siguiente implicará una mema en la actividad biológica y por ende una reducción en la producción de gas.<sup>48</sup>

Como conclusión en la elección de un determinado sistema se tendrá siempre presente tanto los objetivos buscados como el prejuicio que puede causar una agitación excesiva debiéndose buscar un punto medio óptimo

Existen varios mecanismos de agitación utilizados desde los más simples que consisten en un batido manual o el provocado por la entrada y salida de los líquidos hasta sofisticados equipos que involucran agitadores a hélice, recirculadores de sustrato e inyectores de gas.<sup>49</sup>

---

<sup>47</sup> BOGOTÁ J., DÍAZ S., RAMOS P. “Montaje y puesta en marcha de dos biodigestores anaerobios con residuos orgánicos generados en la central de mercado “plaza Kennedy” en Bogotá”. 2008.

<sup>48</sup> BOGOTÁ J., DÍAZ S., RAMOS P. “Montaje y puesta en marcha de dos biodigestores anaerobios con residuos orgánicos generados en la central de mercado “plaza Kennedy” en Bogotá”. 2008.

<sup>49</sup> BOGOTÁ J., DÍAZ S., RAMOS P. Ob. Cit.

• **Inhibidores:**

Existen algunos elementos que pueden inhibir o interrumpir la fermentación. La presencia de metales pesados, antibióticos y detergentes en determinadas concentraciones son algunos de estos elementos. Cuando es demasiado alta la concentración de ácidos volátiles (más de 2.000 ppm para la fermentación mesofílica y de 3.600 ppm para la termofílica se inhibirá la digestión. También una elevada concentración de Nitrógeno y Amoníaco destruyen las bacterias metanogénicas.<sup>50</sup>

<b>INHIBIDORES</b>	<b>CONCENTRACION INHIBIDORA</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• SO<sub>4</sub></li> <li>• NaCl</li> <li>• Nitrato (según contenido de Nitrógeno)</li> <li>• Cu</li> <li>• Cr</li> <li>• Ni</li> <li>• CN (Después que se han domesticado las bacterias metanogénicas a 2-10 mg/ml).</li> <li>• ABS (Detergente sintético)</li> <li>• Na</li> <li>• K</li> <li>• Ca</li> <li>• Mg</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5.000 ppm</li> <li>• 40.000 ppm</li> <li>• 0,05 mg/ml</li> <li>• 100 mg/l</li> <li>• 200 mg/l</li> <li>• 200-500 mg/l</li> <li>• 25 mg/l</li> <li>• 20-40 mg/l</li> <li>• 3.500-5.500 mg/l</li> <li>• 2.500-4.500 mg/l</li> <li>• 2.500-4.500 mg/l</li> <li>• 1.000-1.500 mg/l</li> </ul>

**FIGURA 12. Compuestos inhibidores de la producción de biogás.** <sup>51</sup>Es necesario tener en cuenta la presencia de compuestos que puedan ralentizar o detener la fermentación. Algunos sustratos contienen inhibidores en concentraciones suficientes como para que el proceso sea ineficiente.

<sup>50</sup> OROZCO, A. "Manual sobre Digestión Anaerobia", 1989

<sup>51</sup> Fuente: OROZCO, A. "Manual sobre Digestión Anaerobia", 1989

En la figura 11 se dan valores de concentraciones de ciertos inhibidores comunes. Valores que se deben tomar como orientativos, puesto que las bacterias intervinientes pueden con el tiempo adaptarse a condiciones que en un principio las afectaba marcadamente.

## 2.4 Tecnologías empleadas en la digestión anaeróbica.

- **Bioreactor UASB**

Los reactores UASB (del inglés Upflow Anaerobic Sludge Blanket), también conocidos como RAFA (Reactor anaerobio de flujo ascendente) son un tipo de bioreactor tubular que operan en régimen continuo y en flujo ascendente, es decir, el afluente entra por la parte inferior del reactor, atraviesa todo el perfil longitudinal, y sale por la parte superior. Son reactores anaerobios en los que los microorganismos se agrupan formando biogránulos.<sup>52</sup>

En los sistemas anaerobios de flujo ascendente, y bajo ciertas condiciones, se puede llegar a observar que las bacterias pueden llegar a agregarse de forma natural formando flóculos y gránulos. Estos densos agregados poseen unas buenas cualidades de sedimentación y no son susceptibles al lavado del sistema bajo condiciones prácticas del reactor. La retención de fango activo, ya sea en forma granular o floculenta, hace posible la realización de un buen tratamiento incluso a altas tasas de cargas orgánicas. La turbulencia natural causada por el propio caudal del influente y de la producción de biogás provoca el buen contacto entre agua residual y fango biológico en el sistema UASB. En los sistemas UASB pueden aplicarse mayores cargas orgánicas que en los procesos aerobios. Además, se requiere un menor volumen de reacción y de espacio, y al mismo tiempo, se produce una gran cantidad de biogás, y por tanto de energía.<sup>53</sup>

---

<sup>52</sup> OROZCO, A.: "Manual sobre Digestión Anaerobia", 1989

<sup>53</sup> LARA G., HIDALGO M.: "Diseño de un bioreactor y conducción del biogás generado por las excretas de ganado vacuno, estación TUNSHI-ESPOCH", 2011

El proceso UASB se inventó a mediados de los 70 en la Universidad de Wageningen (Holanda) por un equipo dirigido por el Doctor Gazte Lettinga y se aplicó por primera vez a escala industrial en una industria azucarera alemana. Durante varios años, fue continuamente mejorado para el tratamiento de grandes caudales de aguas residuales, y cargas con importantes fluctuaciones diarias.<sup>54</sup>

Consiste esencialmente en una columna abierta, a través de la cual el líquido residual se pasa a una baja velocidad ascensional. El manto de fangos se compone de gránulos o partículas además del agua residual. El fenómeno de granulación que rige la formación de los gránulos constituye la parte fundamental del proceso. El tratamiento del agua se da cuando se pone en contacto el agua con los gránulos. Los gases producidos bajo condiciones anaerobias provoca la recirculación interna, lo que ayuda en la formación y mantenimiento de las partículas biológicas, sobre las cuales algunas partículas de gas se adhieren. El gas libre y el gas adherido a gránulos se retienen en el colector de gas en la parte alta del reactor. El líquido que ha pasado a través del manto contiene algunos sólidos residuales y gránulos biológicos que pasan a través del sedimentador donde los sólidos se separan del futuro efluente. Los sólidos retornan por tanto al caer a través del sistema de baffle en la parte alta del manto de fangos. Para lograr una operación correcta del sistema se requiere la formación de biomasa floculenta, y la puesta en marcha suele requerir la inoculación previa del reactor con grandes cantidades de fangos de algún otro sistema de operación. La tecnología de alta carga se basa en el crecimiento del fango granular y en el separador de tres fases (biogás-líquido-sólido), ha tenido un gran éxito comercial con un gran número de instalaciones en el mundo.<sup>55</sup>

---

<sup>54</sup> OROZCO, A.: "Manual sobre Digestión Anaerobia", 1989

<sup>55</sup> LARA G., HIDALGO M.: "Diseño de un bioreactor y conducción del biogás generado por las excretas de ganado vacuno, estación TUNSHI-ESPOCH", 2011

Atendiendo las necesidades específicas para la producción de biogás en un bioreactor, se consideraron las siguientes variables (figura 13) para el diseño y la optimización de un bioreactores tipo UASB que proporcione la mayor eficiencia dentro de nuestro método de producción.

<b>1. CARGA</b>	a) Sistema Batch b) Sistema continuo o semicontinuo
<b>2. INTENSIDAD DE MEZCLA</b>	a) Mezcla completa b) Mezcla parcial o nula
<b>3. MANEJO DEL SUSTRATO</b>	a) Contacto anaeróbico b) UASB.: (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) c) Lecho fluidizado d) Filtro anaeróbico
<b>4. MANEJO BIOQUIMICO</b>	a) Una etapa b) Dos etapas

FIGURA 13. Características de cada variable durante la digestión.<sup>56</sup>

- **Sistema Batch:**

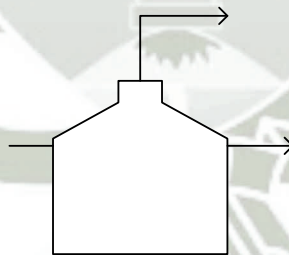


FIGURA 14. Digestor regular con 1 entrada y una salida. El sistema Batch se trabaja por lotes en bioreactores paralelos para mantener producción constante.

Se caracterizan por una carga y vaciado total de la cámara de digestión. De uso en laboratorios y en el tratamiento de materias

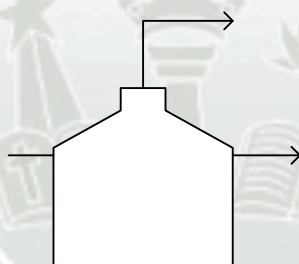
<sup>56</sup> OROZCO, A. "Manual sobre Digestión Anaerobia", 1989

vegetales. Con o sin agitación. Requieren para acelerar su arranque de una proporción de inoculo 20%. Su curva de producción de gas sigue la característica (arranque-estabilización-agotamiento).<sup>57</sup>

Esto obliga a fin de mantener una producción de gas estable a lo largo del tiempo a poseer por lo menos tres o cuatro digestores de este tipo cada uno de los cuales se hallará operando en las distintas etapas. Lo que permite mantener la producción de biogás en un cierto nivel uniforme.

Este tipo de digestores son eficaces para la digestión de materiales celulósicos que no pueden ser tratados en los digestores de tipo continuo debido al posible taponamiento de los conductos de alimentación y salida. Su utilización no está muy difundida.<sup>58</sup>

- **Sistema continuo o semicontinuo.**



**FIGURA 15. Biodigestión continua.** Utiliza un bioreactor convencional de entradas y salidas apropiadas para el biogás donde la producción se realiza continuamente sin detenerse hasta que se deja de suministrar sustrato.

En este tipo de digestores el volumen que ingresa desplaza una cantidad equivalente de efluente que se evacua por la salida. De este modo el volumen del sustrato en la cámara de digestión se mantiene constante. Los continuos se cargan generalmente en forma diaria, a

<sup>57</sup> HERNÁNDEZ. "Diseño de un Reactor Anaeróbico para el Tratamiento de Residuos Municipales". 1988

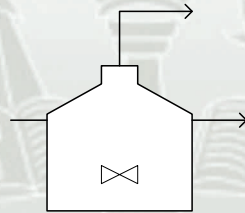
<sup>58</sup> HILBERT J. "Manual para la Producción de Biogás"

diferencia de los semicontinuos se descargan totalmente una o dos veces por año que generalmente coincide con el período de siembra para aprovechar el poder fertilizante de los residuos de la digestión y de los lodos fermentados, parte de estos últimos es utilizada en el nuevo arranque. (Sistema muy difundido en China).<sup>59</sup>

El tiempo de permanencia de la biomasa dentro del digestor estará dado por el cociente entre el volumen de la cámara de digestión y el de la carga diaria. Dicho valor no es exacto debido a que la parte del material introducido puede salir en un período más corto, lo que se trata de minimizar mediante un adecuado diseño de la cámara.

La mayor parte de los digestores difundidos a lo largo de todo el mundo pertenecen a esta categoría y existen dentro de ella enormes variaciones sobre el mismo principio.<sup>60</sup>

- **Mezclado completo.**



**FIGURA 16. Bioreactor con sistema de mezclado.** Existen en este tipo de reactores paletas que revuelven el contenido para lograr mezclas homogéneas, oxigenación durante la primera etapa de la fermentación y desplazamiento del sustrato por las entradas y salidas.

En estos digestores se busca que el sustrato en fermentación dentro de la cámara se mezcle en forma total, en general diariamente. En el caso de los reactores calefaccionados, esta acción asegura una distribución uniforme de la temperatura en todo el volumen. Existen diversos medios para lograr este fin, entre los que podemos

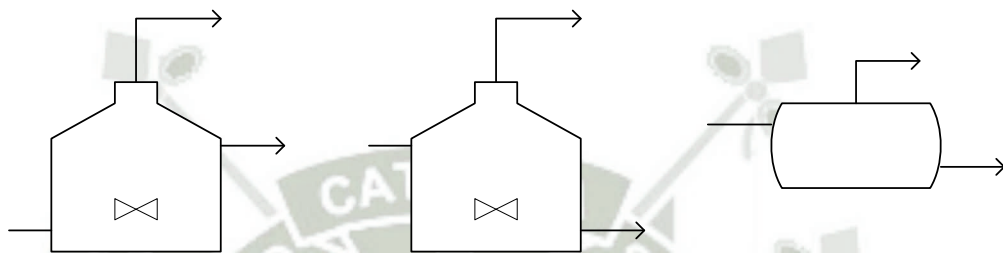
<sup>59</sup> HILBERT J. "Manual para la Producción de Biogás"

<sup>60</sup> HILBERT J. "Manual para la Producción de Biogás"



mencionar: la agitación de líquidos mediante bombas internas o externas al digestor y la reinyección de biogás dentro de la cámara produciendo un intenso burbujeo. Se debe tener mucho cuidado en la intensidad y periodicidad de la agitación, para no afectar el delicado equilibrio bacteriano.<sup>61</sup>

- **Mezclado parcial.**



**FIGURA 17. Reactores de agitación continuos.** Generalmente pequeños y no muy utilizados, estos reactores se construyen para evitar la formación de costras en la fermentación.

Podemos encontrar agrupados aquí los pequeños digestores rurales en los cuales no se utilizan métodos de agitación muy avanzados, más bien, son muy rudimentarios (agitadores manuales o rotación de la campana gasométrica). El objetivo principal en este tipo de reactores es el de evitar la formación de la perjudicial costra.

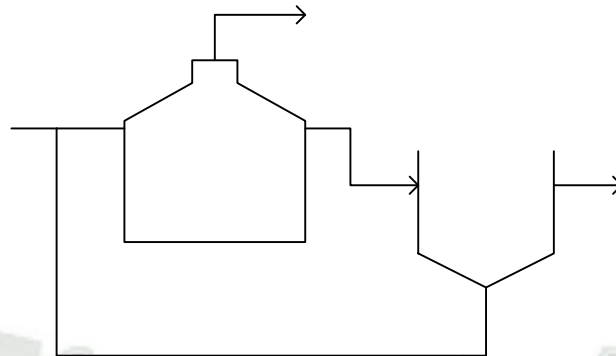
Puede lograrse la agitación haciendo circular el sustrato a través del bioreactor utilizando los digestores del tipo horizontal. Haciendo uso de una serie de tabiques que disminuyen la velocidad con que se desplaza el sustrato, asegura una agitación homogénea y constante.

Es posible utilizar bioreactores de flujo ascendente o descendente sin alterar la producción de biogás. Ésto que dependerá de la ubicación de las cañerías de entrada y salida del sustrato.<sup>62</sup>

<sup>61</sup> HILBERT J. "Manual para la Producción de Biogás"

<sup>62</sup> HILBERT J. "Manual para la Producción de Biogás"

- **Contacto anaeróbico**



**FIGURA 18. Reactor de recolección de biomasa.** A la salida del reactor se recolecta la carga bacteriana para reintroducirla en otro proceso como inóculo.

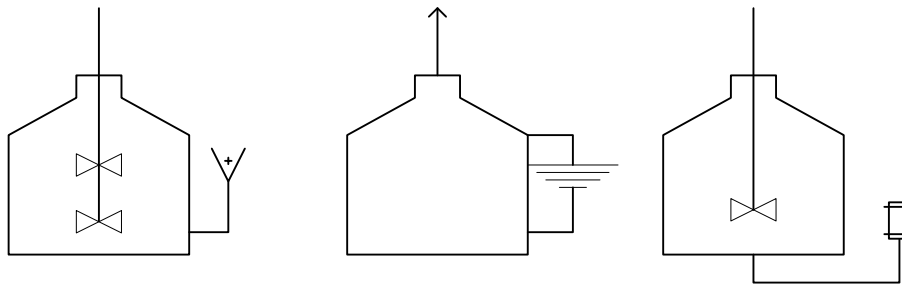
En estos digestores la pileta de sedimentación a la salida de los mismos le da la posibilidad a las bacterias que han salido con el efluente a asentarse y decantar para luego ser reintroducidas en forma de lodo, mezclado con material de carga como inóculo.

Existen también otros dos métodos para retener la masa bacteriana a la salida del reactor, como puede ser un sedimentador externo (figura 18) en el cual las partículas más pesadas son recirculadas.

Otro puede ser un separador de membranas, que no hace otra cosa que filtrar las bacterias, proceso que se realiza mediante un bombeo externo del lodo de la parte inferior hacia la superior.

El tercero es una variación del primero, ya que el sedimentador es con placas.<sup>63</sup>

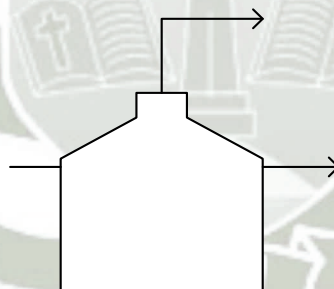
<sup>63</sup> HILBERT J. "Manual para la Producción de Biogás"



**FIGURA 19. Bioreactores de retención.** Se observan los 3 diseños descritos en el método para retener la carga biológica para su reutilización en lodos como inóculo de la fermentación.

- **U.A.S.B.**

En su interior posee separadores y mamparas estratégicamente ubicadas las que generan zonas de tranquilidad en las cuales las bacterias han conformado glomérulos (floculación) que sedimentan y así se evita que salgan con el efluente que es sacado por la parte superior de la cámara de carga.<sup>64</sup>

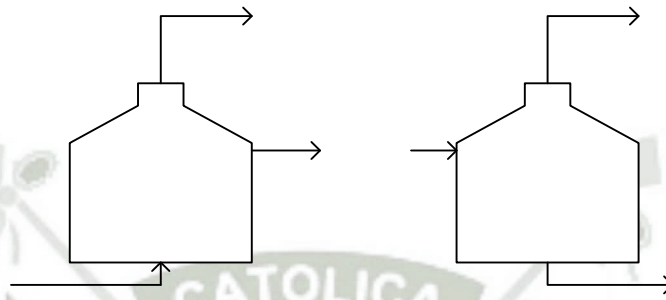


**FIGURA 20 Diagrama de un reactor UASB.** Se detallan las entradas y salidas del bioreactor. Ya que es un sistema de flujo ascendente, la carga biológica se mantiene en recamaras especiales que permiten la formación de flóculos.

<sup>64</sup> HILBERT J. "Manual para la Producción de Biogás"

Este tipo de digestor es especialmente apto para el tratamiento de desechos agroindustriales como la vinaza, no admite partículas insolubles.<sup>65</sup>

- **Lecho fluidizado**



**FIGURA 21. Diseño de un bioreactor de lecho fluidizado.** La matriz sobre la que fluye el flujo de entrada reposa sobre gránulos que capturan la biomasa, los cuales se separan por filtración y se reutilizan en la siguiente operación.

En este tipo de reactor unas pequeñas partículas se mantienen en suspensión dentro de la cámara de digestión. Las bacterias se adhieren a estas partículas, que no son atacadas y salen con ellas. Mediante el filtrado del efluente se pueden recuperar estas partículas juntamente a las bacterias y se reintroducen en el digestor. Este tipo de reactor está poco difundido y las mayores referencias son de plantas a nivel laboratorio o piloto. Los hay de flujo ascendente y descendente.<sup>66</sup>

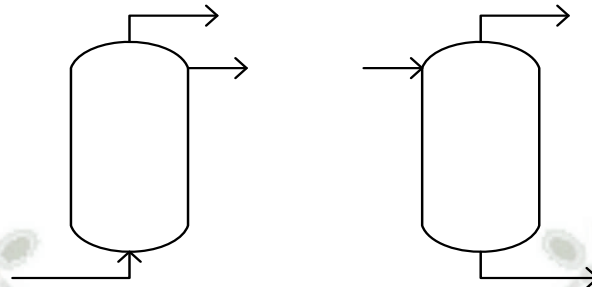
- **Filtro anaeróbico:**

Estos reactores tienen la particularidad de ser alargados (relación alto/diámetro mayor a 1), últimamente se está experimentando con filtros horizontales, pero los verticales siguen siendo más eficientes. En su interior poseen un medio fijo que puede estar constituido por cañerías reticuladas, piedra caliza, formas plásticas de gran relación superficie/volumen, etc. Sobre estos materiales no atacables se

<sup>65</sup> HILBERT J. "Manual para la Producción de Biogás"

<sup>66</sup> OCAÑA. "biodigestor anaeróbico de laboratorio" 2011

adhieren las bacterias y así se evita su pérdida, que disminuye notablemente los tiempos de retención. Existen dos variantes: de flujo ascendente y de flujo descendente.



**FIGURA 22. Diseño de los bioreactores de filtro.** Flujo Ascendente (izquierda) y flujo descendente (derecha). Los materiales no atacables que componen el interior de estos reactores fijan la carga biológica y no permiten la pérdida de la misma, pudiendo reutilizarse varias veces para diferentes fermentaciones.

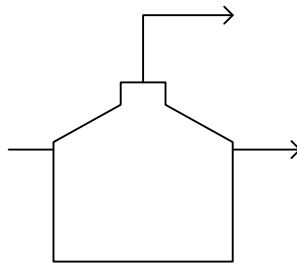
Debido a estos elementos filtrantes ubicados dentro de la cámara de digestión, no admiten líquidos con material insoluble en suspensión ya que dichos sólidos bloquearían el pasaje del substrato. Este tipo de digestores está difundiendo últimamente para determinados usos.

Tanto este digestor, como los dos anteriores admiten tiempos de retención muy bajos (0,5 a 3 días) con muy altos niveles de eficiencia (se han llegado a valores de producción de biogás de 7 veces el volumen del reactor por día). Existen de flujo ascendente y descendente.<sup>67</sup>

- **Una etapa:**

Todos los tipos de digestores vistos hasta este momento se agrupan en esta categoría debido a que todas las etapas de la digestión anaeróbica se cumplen en una única cámara, en la cual todas las bacterias están sometidas a las mismas condiciones.

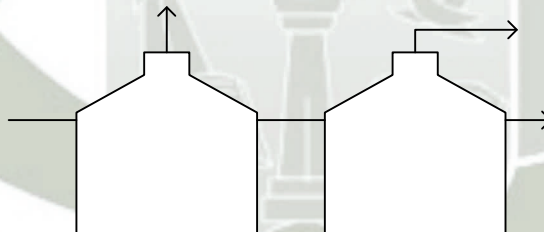
<sup>67</sup> BOTERO. "Biodigestor de bajo costo para la producción de combustible y fertilizante a partir de excretas" 1987



**FIGURA 23 Bioreactores de una etapa.** Solo una recamara para las digestiones.

- **Dos etapas.**

En estos reactores se ha dividido en dos cámaras de digestión separadas, donde en la primera se desarrolla la etapa acidogénica y en la segunda la acética y la metanogénica. Esto permite optimizar las condiciones de desarrollo de cada tipo de bacterias y extraer los sólidos indigeribles antes que pasen a la etapa metanogénica.<sup>68</sup>



**FIGURA 24. Bioreactores de 2 recamaras.** El proceso se ve mejorado realizando las diferentes etapas de la metalogénesis en cámaras específicas para cada estación.

Estos digestores no han sobrepasado la etapa experimental y de plantas piloto y aún resta solucionar una serie de problemas de funcionamiento a gran escala para llegar a una amplia difusión.

<sup>68</sup> HILBERT J. "Manual para la Producción de Biogás"

## CAPITULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS.

#### 3.1 Lugar de investigación

La presente tesis se llevó a cabo en los laboratorios de la UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA (pabellón H, aula-101) para la primera fase, y en la segunda fase se utilizó los laboratorios y el análisis del laboratorio de control de calidad de la UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA

#### 3.2 Lista de materiales utilizados.

##### ✓ **Material Biológico**

- Estiércol vacuno
- Lenteja de agua (*lemmna gibba*)

##### ✓ **Reactivos e Insumos**

- $H_2SO_4$  al 2.5%
- NaOH al 5%
- Medio selectivos Barker-Taha (MB)
- Medio selectivo Stadtman–Barker (MC)
- Carbonato de sodio 0.50 g
- Sulfuro de sodio 9 ( $H_2O$ ) 0.1g
- Agua destilada

##### ✓ **Material de vidrio**

- Vasos de precipitados

- Varillas de agitación
- 4 Crisoles
- Placas Petri
- Mangueras de látex de 0.5 pulgadas
- Botella de mariotte
- 8 Tubos de ensayo
- Espátulas
- Guantes quirúrgicos
- Guantes, mandil
- Bolsas de recolección de gas
- ✓ **Equipos e instrumentos**
  - pH-metro
  - Horno de mufla para operar a  $550 \pm 50^{\circ}\text{C}$
  - Equipo de baño maría
  - Balanza analítica
  - Desecador
  - Medidor de metano Multitec 540
  - Termómetro industrial
  - Estufa anaerobia
  - Autoclave.
  - Bioreactor UASB.



✓ **Características del bioreactor UASB.**

- 4 cámaras de 25.5 cm de longitud cada una. Interior
- La longitud total del reactor será de aproximadamente 1.25m por el exterior.
- El radio interior de las cámaras es de 8 cm.

**3.3 Obtención de la muestra para los tratamientos físico-químicos pre y post tratamiento.**

**3.3.1 Obtención de muestra de lenteja de agua (*Lemna gibba*)**

El área del muestreo fue en el Sector del Malecón Ecoturístico ubicado en la parte baja de la ciudad de Puno, se tomaron 3 muestras: la primera toma se hizo frente a la universidad del altiplano (latitud  $15^{\circ}49'47.08''S$ , longitud  $70^{\circ} 0'58.31''O$ ) la segunda muestra fue tomada de la parte media de la costanera del malecón (latitud  $15^{\circ}49'58.10''S$ , longitud  $70^{\circ} 1'5.42''O$ ) y la tercera muestra es recolectada de la parte baja del malecón llamada popularmente como la plaza del faro (latitud  $15^{\circ}50'8.40''S$ , longitud  $70^{\circ} 1'1.01''O$ ).



**FIGURA 25. Foto satelital del lago Titicaca (ciudad de Puno).** Se observan, marcados en el mapa, los sitios de toma de muestra realizados. Se realizaron la toma tratando de que las muestras sean representativas y homogéneas, cubriendo la extensión costera del lago.

Las muestras son recolectadas de manera manual y de la superficie del lago, máximo a una profundidad de 1.5 m, se utiliza un tamiz y se elimina el exceso de agua, son almacenadas en bolsas porosas de plástico y el peso aproximado de cada muestra es de 5kg.<sup>69</sup> Después son trasladadas al laboratorio de la UCSM para su caracterización.

Las muestras del post tratamiento son recolectadas del reactor una vez terminado el proceso de producción de biogás.

<sup>69</sup> CANALES. 2010. "Evaluación de la biomasa y manejo de *Lemna gibba* (lenteja de agua) en la bahía interior del lago Titicaca, puno"

### 3.3.2 Obtención de la muestra de estiércol vacuno

Las muestras son recolectadas de la granja “San Juan” ubicada en la zona de acequia alta (latitud 16°21'45.35"S, longitud 71°32'21.01"O) se seleccionaron 5 vacas elegidas aleatoriamente de la granja, en su mayoría pertenecen a la raza Holstein, con una edad media de 5.8 años y un peso medio de 452 kg. La recolección se hace de manera manual y su almacenamiento es en baldes, la cantidad aproximada de la muestra es de 5kg, tal como se muestra en el cuadro. Una vez recolectado se procede a llevar al laboratorio donde se realiza el experimento.<sup>70</sup>

Las muestras del post tratamiento, es recolectada del reactor una vez terminado el proceso de producción de biogás.

# Arete	Nombre	Edad (años)	Raza	Peso (kg)
395	Priscila	8	Mestiza	512
408	Brunita	7	Mestiza	471
422	Maira	6	Holstein	465
442	Maribel	5	Holstein	428
467	Frida	3	Holstein	385

**TABLA 1. Lista de Ovinos donadores de estiércol.** Después de acudir a la granja San Juan en Acequia Alta, se registraron los nombres y detalles de cada animal donador de estiércol.

<sup>70</sup> BARRENA. 2010 “Producción de biogás en laboratorio a partir de residuos domésticos y ganaderos y su escalamiento”.



FIGURA 26. Foto Satelital de la granja de Acequia Alta.<sup>71</sup>

### 3.4 Recolección de agua residual utilizada en el bioreactor

El agua utilizada como afluente en el reactor es el agua del propio lago. Esta se puede considerar como agua residual debido al proceso de eutrofización que ha sufrido por la lenteja de agua.

La muestra fue tomada en un envase de plástico mediante la toma directa, la toma se realizó en el segundo punto de toma de muestra de la lenteja de agua, en la parte media de la costanera del malecón ecoturístico de la ciudad de Puno (latitud 15°49'58.10"S, longitud 70°1'5.42"O).

La cantidad aproximada de agua recolectada fue de 5 litros (Valderrama, 2010).

<sup>71</sup> <https://www.google.com.pe/maps/@-16.34790771,537156,162m/data=!3m1!1e3?hl=es>

### 3.5 Instrumentación del bioreactor UASB.

El proceso anaeróbico de flujo ascendente consiste, básicamente, en un tanque Imhoff de flujo “al revés”, presentando las cámaras de decantación y digestión anaerobia superpuestas.

El reactor cuenta con 4 cámaras cada una con una longitud o altura (h) de 25.5 cm cada una (interior). La longitud total del reactor es de aproximadamente 1.25m (exterior) y el radio interior de las cámaras es de 8 cm.

En la parte superior se adjuntó un manómetro de mercurio y una válvula de escape, en la cámara inferior del reactor se colocara un termómetro para medir la temperatura, así como un medidor de pH.

### 3.6 Técnicas analíticas empleadas. Análisis fisicoquímicos.

Las pruebas fisicoquímicas se realizaron para todas las diferentes mezclas de sustratos que se llevaron a la fermentación en el bioreactor UASB. En la presente tesis, se reportan los resultados de los análisis de la mezcla con mayor producción de biogás.

Fue la Mezcla en el Bioreactor 2, la cual se eligió para ser sometida a estos análisis con el fin de facilitar la comprensión del funcionamiento de estos parámetros en una reacción eficiente. Sería inútil reportar datos de otras mezclas cuyas producciones no fueron óptimas o fueron deficientes.

#### 3.6.1 Determinación de potencial de hidrogeno:

La medición se realizó de forma directa de acuerdo al método normalizado 4500b de la APHA-AWWA-WPFC, por inmersión del electrodo de pH en la muestra convenientemente homogenizada mediante agitación.

- **Método potenciométrico:**

El pH indica la actividad de iones H<sup>+</sup> en moles por litro; es muy importante por su influencia sobre la velocidad de reacción enzimática, utilizando el método colorimétrico con un indicador universal líquido, varillas indicadoras de pH, y si es posible con el pH-metro portátil.

Para la medición del estiércol se procedió de manera directa. Utilizando 10 ml de agua destilada y aproximadamente 5g de estiércol se introdujo el electrodo en la mezcla. Para la medición en la lenteja de agua fue necesario un pre-tratamiento físico: molienda. Luego se le agregó 10 ml de agua destilada y se insertó el electrodo del pH-metro.

### 3.6.2 Determinación de sólidos totales:

Los sólidos totales (ST) se determinaron sobre las muestras brutas del sustrato de cada reactor. La determinación se realizó de acuerdo con el método normalizado 2540B de la APHA-AWWA-WPFC, por gravimetría.

- **Procedimiento:**

Se preparó la placa de evaporación donde se a midió los sólidos volátiles: Se incineró una placa de evaporación limpia de 550+50 °C durante una hora en un horno de mufla. Se calentó la placa limpia a 103-105 °C durante una hora. Se Conservó la placa en el desecador hasta que era necesario su uso. Antes de almacenar se hizo la toma de su peso.

Para el análisis de la muestra se eligió un volumen de muestra que proporcionó un residuo entre 2.5 y 200 mg (100mg en el caso del experimento). Se transfirió un volumen medido de muestra bien mezclado a la placa y se evaporo hasta que quedo completamente seca dentro del horno de secado.

### 3.6.3 Determinación de humedad

- **Método gravimétrico**

Las muestras se desecaron a 105°C de temperatura. La humedad higroscópica químicamente esta enlazada con sustancias de la muestra y depende de la composición e higroscopia del mismo. Se determinó la humedad higroscópica de las muestras en la estufa aplicando un tiempo de 12 horas.

Se tararon 4 placas limpias; luego se colocaron las placas estufa hasta obtener un peso constante. Fueron puestas en el desecador por 30 minutos y se realizó el primer peso de las capsulas, en cada capsula se pesó de antemano 1 gr de muestra (lenteja y estiércol). A continuación se colocaron estas capsulas con la muestra (lenteja y estiércol) dentro de la estufa a 105 °C durante 12 horas. Transcurrido este tiempo se llevaron las capsulas al desecador para enfriarlo por 30 minutos para después ser pesadas.

### Determinación de producción de biogás

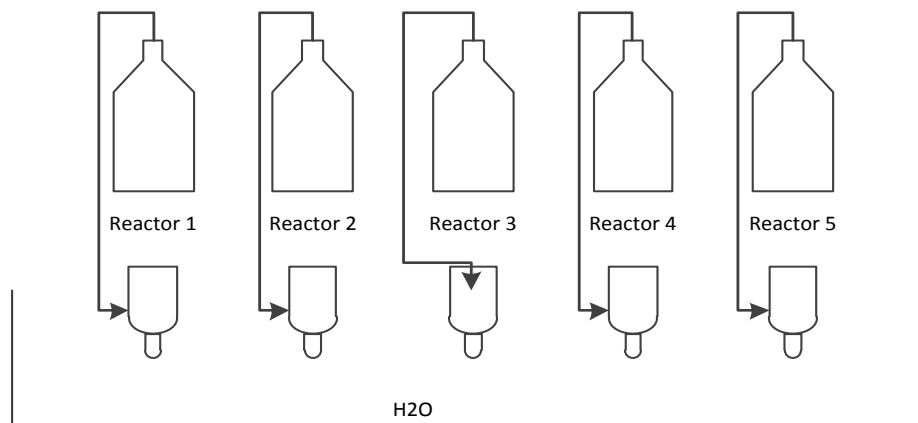
#### 3.6.4 Determinación diaria de biogás

- **Método de Armado del sistema**

Se utilizaron 5 botellas de plástico descartables de 2 L que se emplearon como biodigestores. Las botellas se cargaron con las siguientes muestras y concentraciones:

<b>DIGESTOR</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
• Lenteja de agua(kg)	0.5	0.35	0.2	0.15	0
• Estiércol vacuno(kg)	0	0.15	0.2	0.35	0.5

**TABLA 2. Concentraciones utilizadas para cada bioreactor.** Se utilizaron mezclas de lenteja y estiércol en diferentes proporciones para evaluar la combinación más eficiente para la producción de biogás.



**FIGURA 27. Diseño del sistema de bioreactores.** Cada bioreactor (botella de plástico) fue llenada con una combinación diferente de estiércol y lenteja de agua. Se observa la conexión a las botellas invertidas para determinar el volumen generado por desplazamiento de agua.

El volumen faltante se completó con agua potable (hasta 1 L); luego se sellaron las botellas con tapones de jebe atravesados por una manguera de jebe de 1/8". Las mangueras provenientes de los 5 reactores se introdujeron en otras 5 botellas descartables (una manguera en cada botella) de 260 mL, las cuales fueron previamente calibradas y marcadas cada 50 mL y llenadas con agua libre de burbujas y de aire. A continuación, fueron colocadas de manera invertida en una tina con agua. Se sujetó todo el sistema con ligas y sogas a un soporte de hierro.

El biogás que se generó desplazó el agua del interior de las botellas descartables, con lo cual se consiguió medir el volumen de biogás producido en cada biodigestor en un tiempo máximo de 45 días.<sup>72</sup>

<sup>72</sup> MAGAÑA. 2006 "Producción de Biogás a Nivel Laboratorio Utilizando Estiércol de Cabras"



### 3.7 Medición cuantitativa de biogás

Se realizó la extracción y medición del biogás utilizando una botella de mariotte (o un cilindro de succión) el cual emplea una sustancia ácida (generalmente ácido sulfúrico al 2.5%) para evitar que se disuelva el biogás en la sustancia matriz. Adicionalmente, el ácido actúa como bactericida, impidiendo la proliferación de bacterias en el equipo de medición. El sistema funciona ante la presencia de una presión negativa que permite succionar el biogás generado en el reactor biológico para medirlo.

A continuación se empleó una manguera que se conectó al reactor biológico (no mostrado en la figura), la presión negativa o de succión se logró ubicando el recipiente que contiene la sustancia ácida en un nivel inferior al del reactor (aproximadamente unos 15 cm.). El volumen de biogás generado se lee directamente en la botella de mariotte: es el volumen de solución desplazado (h).<sup>73</sup>

### 3.8 Medición cualitativa de biogás

Es una medida experimental de la capacidad de la materia orgánica y del sustrato para generar metano (CH<sub>4</sub>). Este procedimiento es similar al desarrollado por la compañía McMillan en Nueva York en 1929. En él, se indica la cantidad de CH<sub>4</sub> como DQO (Demanda Química de Oxígeno) que se produce por unidad de biomasa por día, y se expresa en g DQO CH<sub>4</sub> / g SSV – d, donde SSV representa la cantidad de gramos de Sólidos Suspendidos Volátiles de la muestra a estudiar. El CH<sub>4</sub> producido se calcula por el desplazamiento del líquido, en este caso, NaOH (soda cáustica)<sup>74</sup>

---

<sup>73</sup> LOPEZ. 2000. "Metodo no convencional de medición de gases en la digestión anaerobia estimación del porcentaje de metano presente en biogás"

<sup>74</sup> ZEEUW. 1987 "*Handbook of Water and Wastewater Microbiology*"

La DQO se define como la medida del contenido de materia orgánica del agua en términos de cantidad de oxígeno requerido para oxidarla totalmente a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ .

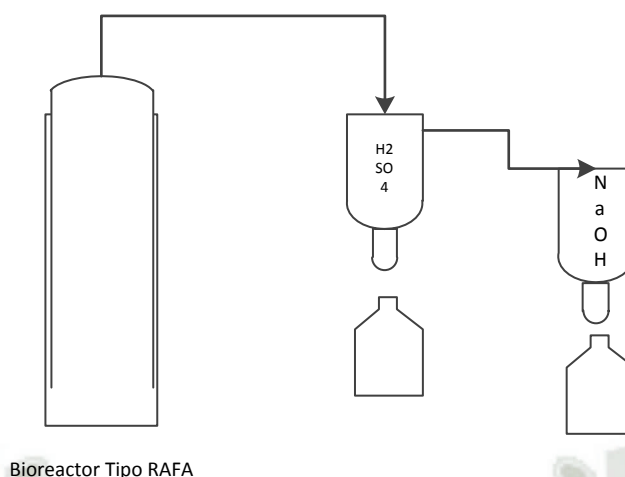
Desde el reactor biológico se conecta a una botella invertida que contiene una sustancia alcalina a base de NaOH al 5%, por medio de una manguera, la cual funciona como botella de Mariotte; esta botella está tapada con un tapón de caucho; tiene dos agujas hipodérmicas, a una de las cuales se le conecta la manguera que transporta el biogás proveniente del reactor; Debido al alto valor de pH en el contenido de la botella, el  $\text{CO}_2$  queda retenido en la sustancia alcalina, mientras que el metano, que no se disuelve, genera un desplazamiento del líquido, el cual representa el volumen de  $\text{CH}_4$  contenido en el biogás.<sup>75</sup>

### 3.8.1 Descripción del método empleado

Se diseñó y construyó un sistema hidráulico que permitiera la integración de un método no convencional de medición: Uno del gas total producido y el otro del cálculo de la actividad Metanogénica. En este último caso se emplearon, para estimar el porcentaje de metano presente en el biogás, el sistema que se muestra en la FIGURA 27. Consta de 2 botellas graduadas en ml (una botella simple de 750 ml y una botella de Mariotte de 750 ml) las botellas se caracterizan por la habilidad de variar su altura (en este caso se utilizan 3 posiciones diferentes) el primer recipiente contiene una solución ácida de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 2.5% y el otro recipiente contiene una solución alcalina de NaOH al 5% un tapón de caucho, dos agujas hipodérmicas y mangueras flexibles.

---

<sup>75</sup> STERLING, 1989. "Handbook of Waste Management and Co-Product Recovery in Food Processing"



**FIGURA 28. Sistema hidráulico usado para la medición del biogás.** En el diseño se observa el sistema de 2 botellas interconectadas. Cada botella varía su altura para crear vacío poder medir el volumen de biogás generado.

### 3.8.2 Medición del volumen de gas generado:

Para realizar la medición de volumen de biogás generado, se llena completamente la botella de Mariotte con la solución acida, y se coloca el recipiente a una altura (posición 1), se conecta la manguera de goma a la salida del gas en el bioreactor y se cambia de altura el recipiente (posición 3) generando una presión de vacío, aproximadamente 15cm por debajo de la salida del reactor, y con esta diferencia de niveles se logra la succión del biogás generado en el bioreactor, se procede a medir el volumen del biogás succionado mediante la lectura de la variación de niveles de líquido dentro del cilindro.

En caso que la cantidad de biogás a succionar supere la capacidad de la botella de mariotte, es necesario volver a llenar la botella con la solución acida sin dejar que el gas expulse por completo el líquido aproximadamente 50 ml de solución.<sup>76</sup>

<sup>76</sup> ROSSUM. 1935

### 3.8.3 Estimación del porcentaje de metano presente:

La segunda fase del proceso, es la determinación del porcentaje de metano presente en el biogás, esto se realiza cuando se transvasa el biogás retenido en la botella de mariotte a la botella normal; este procedimiento, debe parecerse, en la mejor forma posible, a la velocidad de producción de biogás dentro del reactor.

El procedimiento de transvase del biogás a la botella invertida se inicia con la conexión de una manguera de goma del orificio superior de la botella de mariotte a la botella invertida, la ubicación de la botella de mariotte en la posición 2 y se coloca la botella invertida en la posición 3, garantizando una pequeña presión positiva para permitir el transvase.<sup>77</sup>.

Una vez se ha transvasado una cantidad determinada de biogás hacia la botella invertida, se procede a medir la cantidad de líquido desplazado, el cual se recoge en un recipiente.

El porcentaje de metano presente en el biogás se calcula al restar el volumen de líquido desplazado con el volumen de biogás transvasado.

Después de cada proceso de producción de gas y de haber medido el gas por el método de las botellas se extrajo una muestra de gas en las bolsas de recolección del laboratorio de control de calidad de la UCSM para su análisis posterior con el medidor de metano Multitec, con la finalidad de comparar los resultados y darle validez al método no convencional empleado.

---

<sup>77</sup> LOPEZ. 2000

### 3.9 Methanococcus y Methanobacterium

#### 3.9.1 Recolección y obtención de muestras

Se realizó un muestreo por duplicado con jeringas estériles de 60 mL, introduciéndolas dentro de la torta del bioreactor, todas las muestras se mantuvieron en condiciones anaerobias inmediatas utilizando un tapón de caucho en cada jeringa para evitar la entrada de oxígeno.

#### 3.9.2 Aislamiento y obtención de microorganismos

Los medios selectivos utilizados para el aislamiento fueron Barker-Taha (MB) para Methanobacterium y Stadtman-Barker (MC) para Methanococcus. Estos medios incluyen diversos sustratos que son utilizados por estos microorganismos como fuente de energía para su crecimiento y metabolismo

La preparación del medio (MB) requiere que una vez se esterilice, se le añaden las siguientes soluciones: carbonato de sodio 0.50 g en 10 mL de agua destilada y sulfuro de sodio 9 (H<sub>2</sub>O) 0.1g en agua destilada 10 mL. Pre-reducción de los medios: para los medios líquidos, la pre-reducción se hizo mediante choque térmico, durante 10 minutos a 100°C en baño maría y luego se enfriaron en chorro de agua fría con el fin de desplazar el O<sub>2</sub> que pudiera encontrarse en el tubo. La pre-reducción de los agares se realizó dejando los medios por 2 horas en la estufa de anaerobiosis. la prueba de esterilidad se le hizo un seguimiento de 72 horas para descartar contaminación con microorganismos aerobios y prueba de selectividad para verificar el desarrollo de bacterias anaerobias, con la inoculación de Clostridium spp. como control. (Madigan, 2000)

Se inocularon 100µL de cada muestra en los medios líquidos para Methanococcus y Methanobacterium; se realizó coloración de Gram para verificar la presencia de bacterias; los cultivos se incubaron

durante 15 días a 37°C. A los 15 días se verificó el crecimiento bacteriano por turbidez en el medio y se realizó la siembra en los medios sólidos MC y MB pre-reducidos; se incubaron durante 15 días a 37°C en condiciones de anaerobiosis y se verificó la presencia de bacilos y cocos en el crecimiento obtenido en los medios líquidos y en los medios sólidos mediante coloración de Gram.<sup>78</sup>

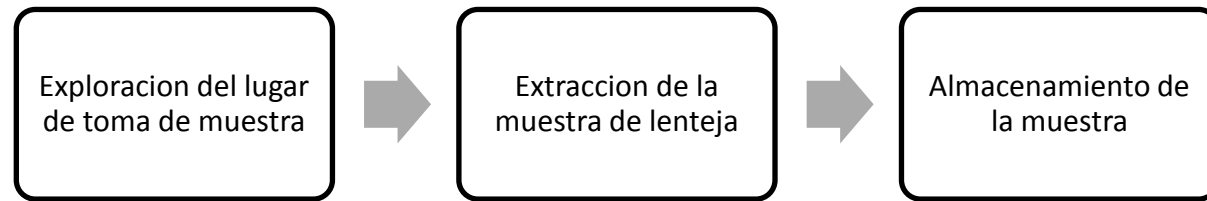


---

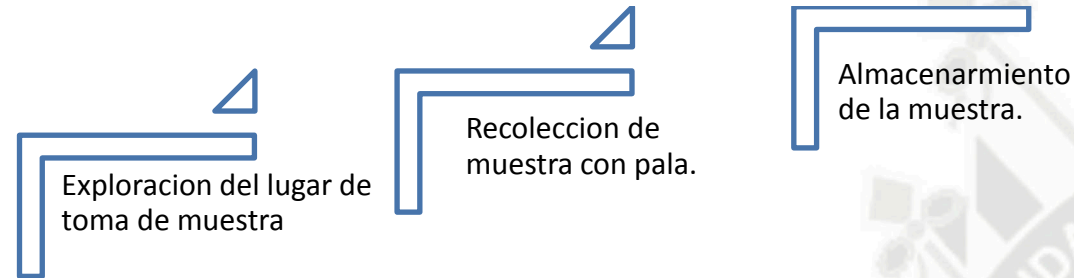
<sup>78</sup> ACUÑA. 2008

### 3.10 FLUJOGRAMA DE ACTIVIDADES

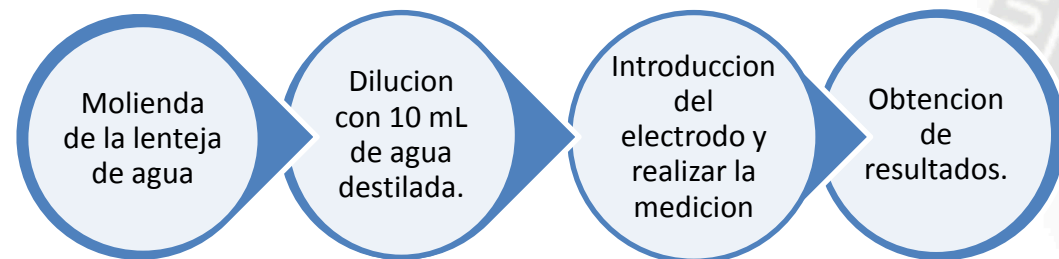
#### ❖ Obtención de la muestra de lenteja (*Lemna gibba*).



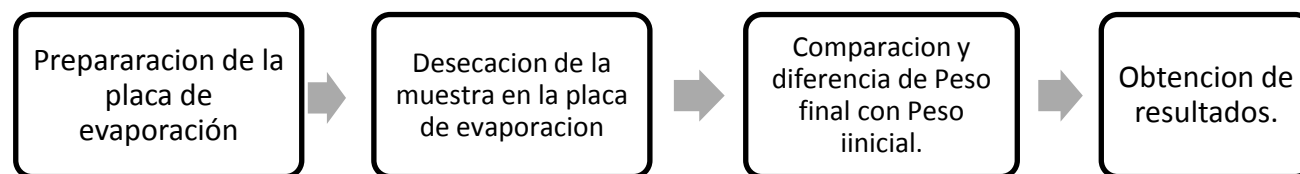
#### ❖ Obtención de la muestra de estiércol.



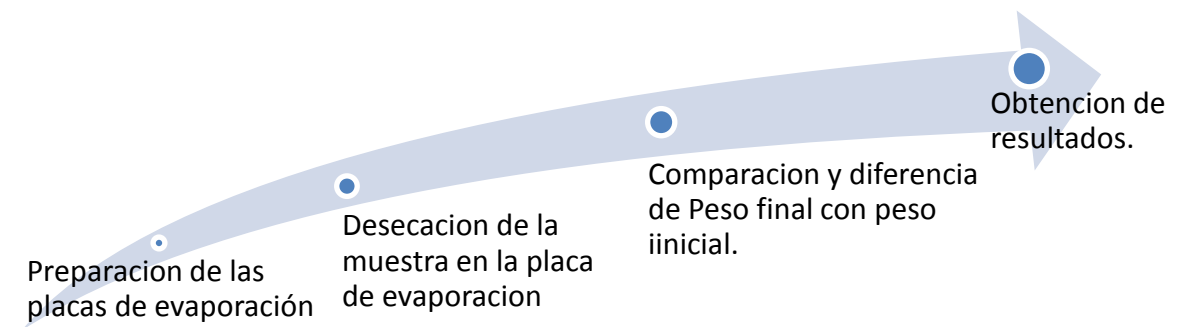
#### ❖ Determinación del potencial de hidrogeno



#### ❖ Determinación de Sólidos Totales.



#### ❖ Determinación de Humedad



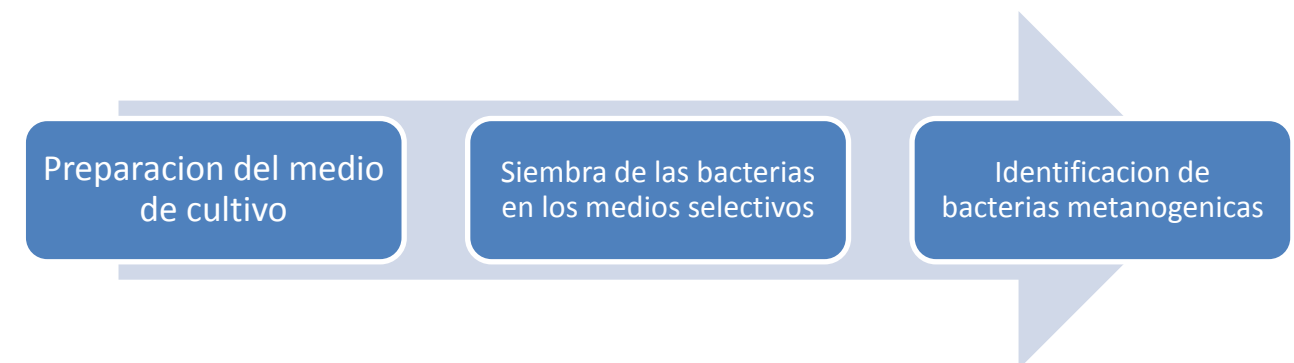
#### ❖ Determinación de la producción de biogás

- 1 • Selección de la muestra y preparación de la biomasa
- 2 • Carga de los reactores
- 3 • Medición de la producción de gas
- 4 • Toma de datos.
- 5 • Análisis estadístico comparativo

#### ❖ Método no convencional. Procedimiento



#### ❖ Aislamiento e identificación de microorganismos



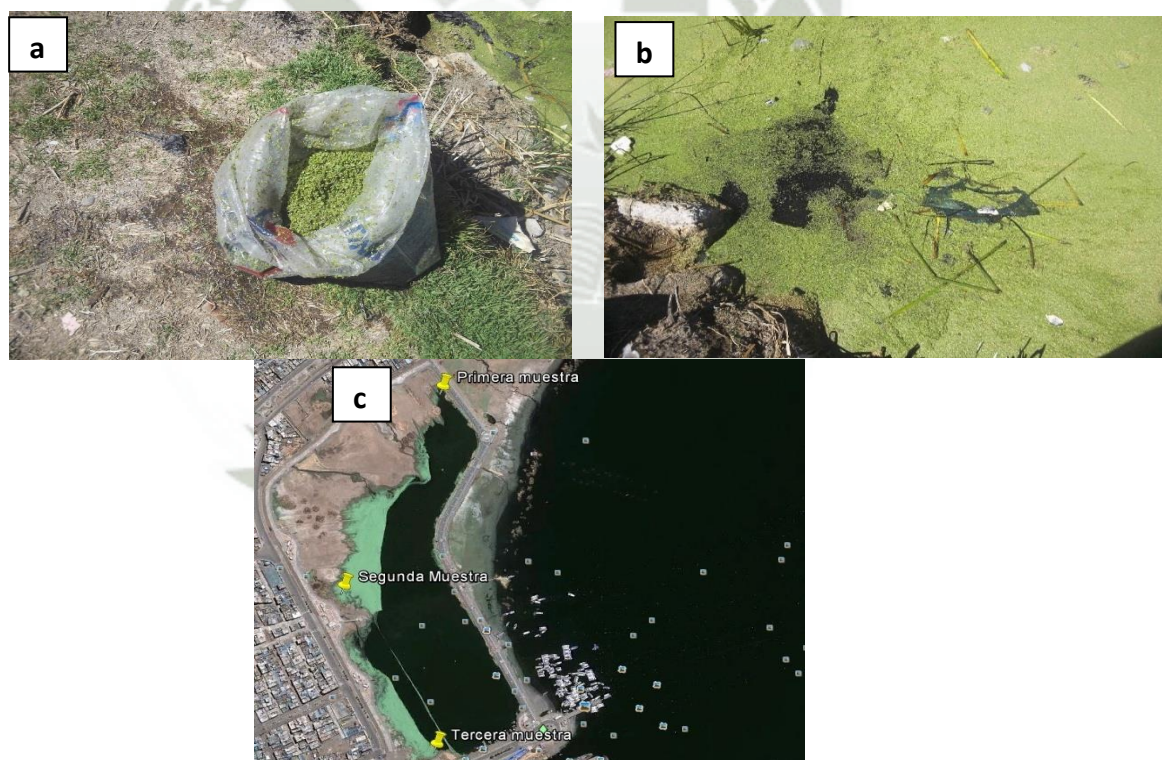
## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSION

#### 4.1 Obtención de la muestra de lenteja para los análisis físico-químicos pre y post tratamiento.

##### 4.1.1 Obtención de muestra de lenteja de agua (*Lemna gibba*)

Las muestras de lenteja de agua se tomaron el día 10 de febrero de 2014 en los 3 puntos establecidos observándose un color verde brillante en la superficie de la lenteja y color marrón en la parte de la raíz. Se percibió un olor pútrido de la lenteja debido a la eutrofización del agua del lago y al efecto espejo que la propia lenteja produce. La muestra fue almacenada en un costalillo y trasladada al laboratorio de la universidad.

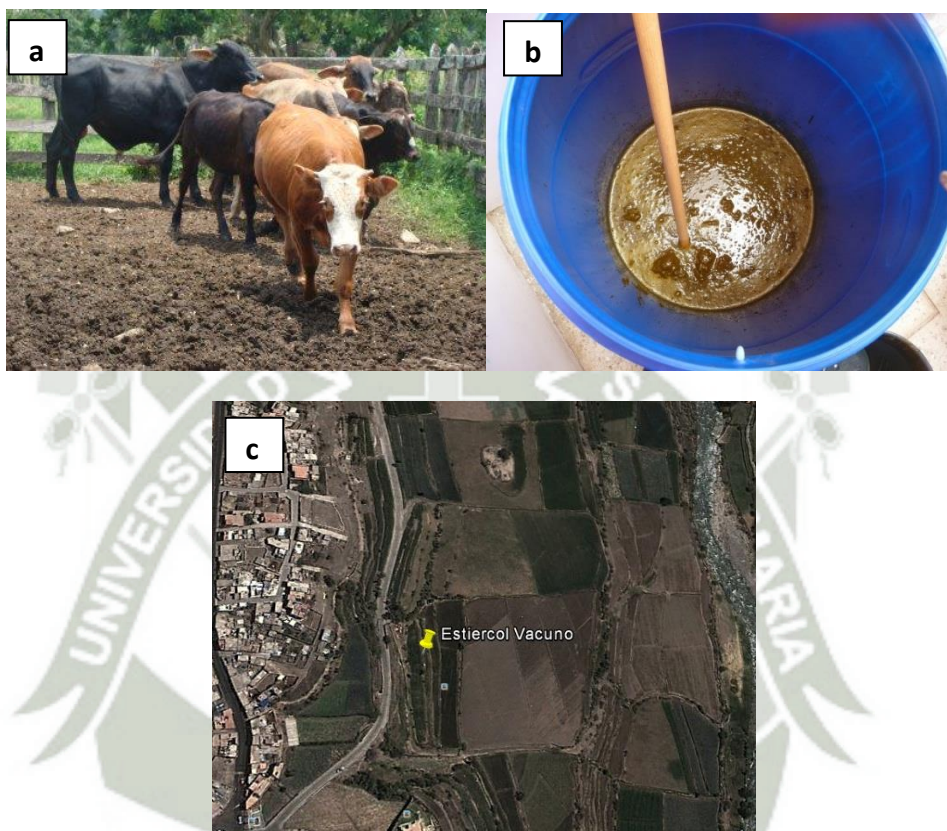


**FIGURA 29. Muestreo de Lenteja.** Se observa en las fotografías la recolección de la Lenteja de Agua en la riera del Lago Titicaca (a, b). (Abajo, c) se observa la foto satelital donde se marcan los puntos de recolección.



#### 4.1.2 Obtención de la muestra de estiércol vacuno

Para las muestras de estiércol vacuno se seleccionaron 5 vacas elegidas aleatoriamente de la granja. En su mayoría pertenecen a la raza Holstein, con una edad media de 5.8 años y un peso medio de 452 kg.



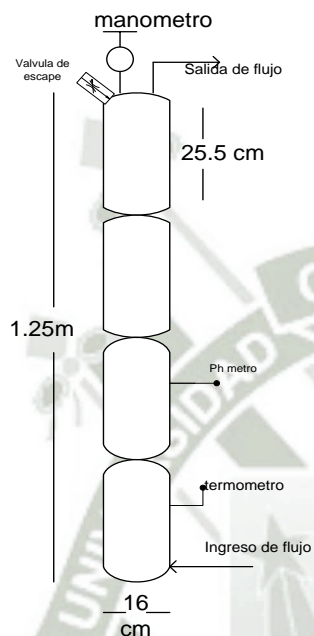
**FIGURA 30. Ovinos seleccionados y recolección del estiércol.** Se Observa el proceso de recolección y una foto de los ovinos donadores (a, b). (Abajo, c) Foto satelital de la ubicación de la granja donde se realizó la recolección.

La recolección se hizo de manera manual y su almacenamiento es en baldes, la cantidad aproximada de la muestra es de 5kg, el color del estiércol es de color marrón verdoso, característico, así como su olor, una vez recolectadas las muestras se llevaron al laboratorio de la universidad para los análisis respectivos.

Para la recolección del agua, se sumergió un bidón de agua de 1 galón a una profundidad aproximada de 1 metro llenando por

completo el bidón. El color del agua es transparente y el olor es neutral, con ligero olor fétido pero muy sutil que podría tomarse como irrelevante. La temperatura registró de 21 °C. La muestra se trasladó a los laboratorios de la Universidad para la experimentación.

#### 4.2 Instrumentación de bioreactor utilizado.



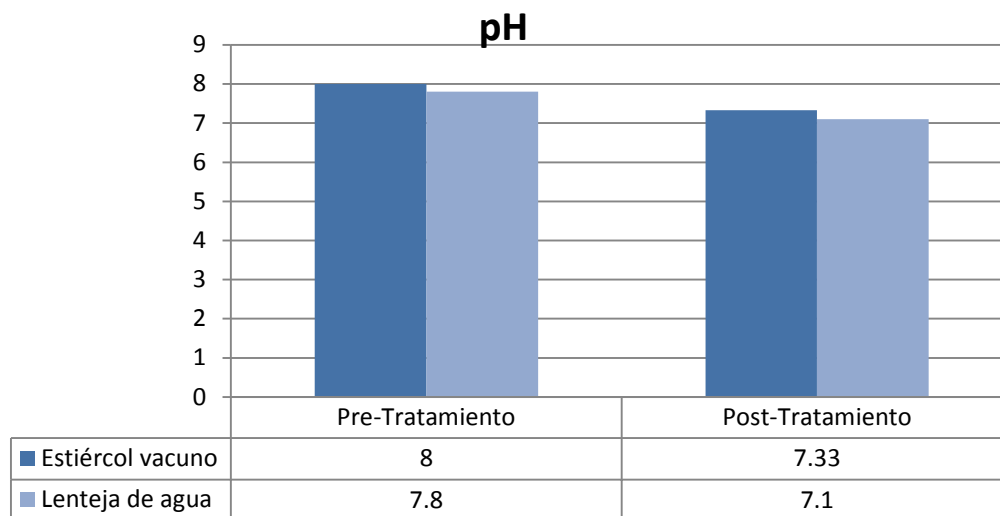
**FIGURA 31. Diseño esquemático de la instrumentación del bioreactor UASB.** Se pueden observar los diferentes instrumentos y accesorios que se instalaron en el reactor UASB para la fermentación de biogás.

#### 4.3 Potencial de hidrógeno (pH). Bioreactor 2

Como se indicó en la sección de **MATERIALES Y METODOS**, las pruebas fisicoquímicas realizadas en esta tesis, se hicieron a la mezcla en el bioreactor 2. Esto debido a que la mezcla presenta la producción más eficiente de biogás. Por ello resulta de mayor interés conocer el funcionamiento de estos parámetros en las mejores condiciones de producción.

Experimentación	Estiércol de vaca	Lenteja de agua
Pre-tratamiento	8	7.8
Post-tratamiento	7.33	7.1

**TABLA 3: Datos de la medición de pH en el reactor.** Terminada la fermentación, el pH se acerca más a la neutralidad.



**FIGURA 32. Comparación del PH pre y post tratamiento.** Luego realizar el análisis instrumental de pH se construyó una gráfica para comparar los valores del pre y post tratamiento del potencial de hidrogeno. Los valores están directamente relacionados con las fases metanogénicas.

De acuerdo a la bibliografía, los microorganismos anaeróbicos necesitan un pH cercano a la neutralidad, para su adecuado desarrollo y además un tratamiento anaeróbico puede proceder bastante bien en un rango de pH entre 6.6 - 7.6. no obstante, si el pH cae por debajo de 6.2 el proceso suele ser menos eficiente.

Los resultados obtenidos demuestran que los rangos de pH obtenidos del proceso de fermentación anaeróbica en el laboratorio se encuentra en los valores óptimos para que el proceso se haya llevado a cabo exitosamente.

#### 4.4 Determinación de humedad. Bioreactor 2

El análisis de humedad se realizó solo en la lenteja y el estiércol pre-tratamiento debido a que este parámetro es importante solo antes del ingreso de los sustratos al bioreactor. Si el estiércol o la lenteja se encuentran demasiado secos, la producción de biogás será menor ya que durante la desecación de los sustratos, ya se llevaron a cabo reacciones que consumen los recursos necesarios para la producción

de biogás. Una vez en el bioreactor, la humedad, carece de importancia dentro del proceso anaeróbico.

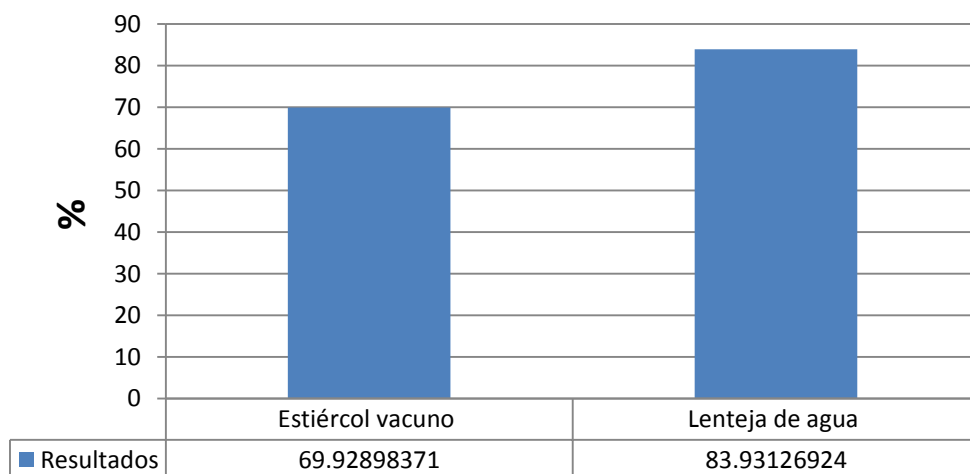
La medición se realizó en las muestras que ingresaron al bioreactor 2.

El porcentaje de humedad para el bioreactor fue de 69.92 y 83.93 para el estiércol vacuno y la lenteja de agua respectivamente

Experimentación	Estiércol vacuno (%)	Lenteja de agua (%)
Pre-tratamiento	69.92	83.93

**TABLA 4: Resultados de la determinación de humedad.** Se observan los valores que arrojo el análisis de humedad realizado antes y después de la fermentación (tratamiento)

### MEDICION DE HUMEDAD



**FIGURA 33. Determinación de humedad.** Se cuantifico la humedad en ambos sistemas para cerciorarse de que no superaran el límite mínimo óptimo para la producción de biogás. Este parámetro fisicoquímico es de poca relevancia para el proceso ya que su manejo es demasiado sencillo.

#### 4.5 Sólidos totales pre y post tratamiento. Bioreactor 2

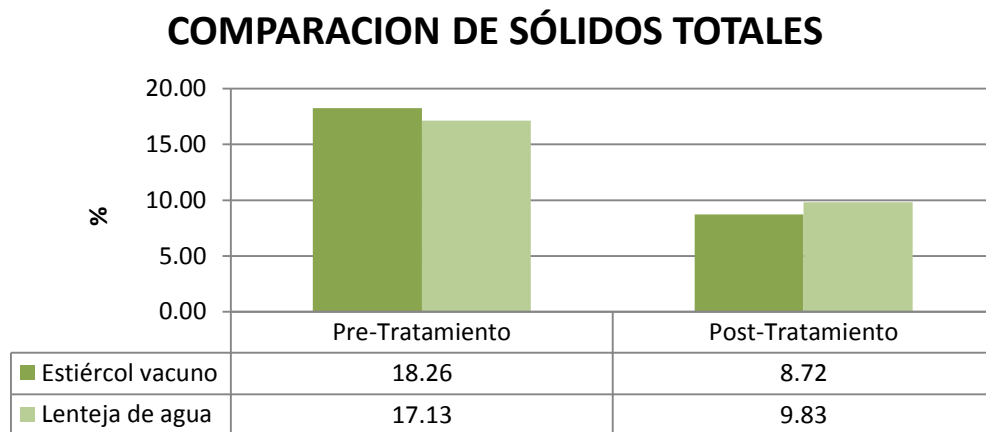
El estiércol y la lenteja de agua presentan un estado semisólido debido a su alto contenido de agua (muestras frescas). Es importante conocer la cantidad neta de solidos que contienen cada sustrato.

Se tomaron 100g de estiércol vacuno y 100g de lenteja de agua y se sometieron al análisis.

Después de la remoción del componente líquido en la estufa, se obtuvieron los siguientes resultados. Como se observa en la TABLA 5.

Experimentación	Estiércol vacuno (%)	Lenteja de agua (%)
Pre-tratamiento	18.2	17.1
Post-tratamiento	8.71	9.82

**TABLA 5. Comparación porcentual del contenido de sólidos totales presentes en los sustratos.**



**FIGURA 34. Comparación de sólidos totales pre y post tratamiento.** Los sólidos presentes en las biomásas se consideran un parámetro importante para la metalogénesis. Si los valores son demasiado altos, las bacterias metanogénicas no tendrán acceso directo a sus sustratos y tampoco serán capaces de metabolizar los nutrientes requeridos. La disminución de los valores de ST después del tratamiento bacteriológico es prueba de que la metalogénesis tuvo lugar. Además, la gran diferencia entre los valores pre y post tratamiento dan cuenta de la eficiencia de los sistemas y de lo adecuados que son ambos sustratos para la producción de biogás.

Estos valores se pueden considerar aceptables, si se compara con un sustrato de similares características (estiércol bovino), para el cual Karim et al (2005), reporta un rango de remoción entre 37-40 %

Los datos obtenidos en laboratorio dan como resultado que los sólidos totales fueron removidos mejor de lo esperado, pero aún existe material no del todo digerido por los microorganismos

anaeróbicos. Los análisis de sólidos totales son importantes como indicadores de la efectividad de procesos de tratamiento biológico y físico.

Si la evaporación se lleva a cabo en un horno de secado, reducir la temperatura hasta 2°C aproximadamente por debajo del punto de ebullición, a fin de evitar salpicaduras. Secar la muestra evaporada al menos durante una hora en horno a 103-105 °C, enfriar la placa en desecador para equilibrar la temperatura y pesar. Repítase el ciclo de secado, enfriado, desecación y pesado hasta obtener un peso constante, o hasta que la pérdida de peso sea menor del 4 % del peso previo o menor de 0.5 mg.

#### **4.6 Obtención de biogás mediante el método de las botellas.**

El volumen de cada botella utilizada como bioreactor fue de 2L cada una. El volumen total de las mezclas de sustrato y agua fue de 1L en cada botella. Esto significa que existió un volumen de gas (1L) que nunca fue removido del sistema. Con el presente método se creó una presión negativa (succión) utilizando la gravedad. La fuerza de esta succión nunca fue lo suficientemente grande como para extraer el gas más allá de la forma de la botella; es decir, para deformarla. Teniendo en cuenta este volumen de biogás que nunca fue extraído, se hicieron las tomas respectivas.

Se realizaron 3 tomas por cada muestreo, en la tabla se presenta el promedio de las tomas en cada estadio de la fermentación.

Los valores máximos diarios que reporto este método son: 92 y 136 ml que corresponden del 21 al 26avo día del tiempo de retención dentro del proceso de fermentación anaeróbica. La tabla 15 muestra valores de producción de biogás en periodos de 5 días. Con una producción total de biogás en un tiempo de cuarenta días.

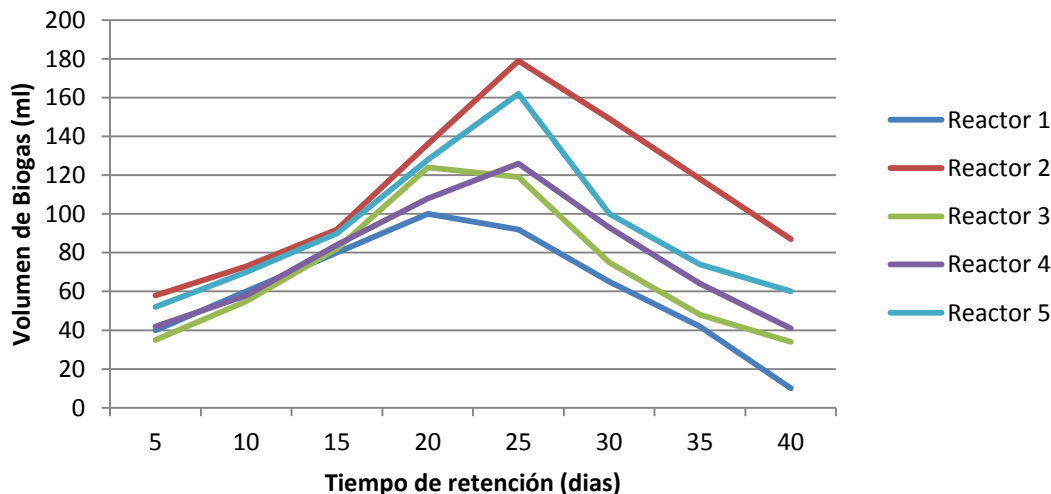
<b>Tiempo de retención (días)</b>	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>30</b>	<b>35</b>	<b>40</b>
Volumen reactor 1 (ml)	40	60	80	100	92	65	42	10
Volumen reactor 2 (ml)	58	73	92	136	179	149	118	87
Volumen reactor 3 (ml)	35	55	82	124	119	75	48	34
Volumen reactor 4 (ml)	42	58	84	108	126	93	64	41
Volumen reactor 5 (ml)	52	70	90	128	162	100	74	60

**TABLA 6. Datos de producción de biogás.** Se tomaron las medidas de producción de cada bioreactor en periodos de 5 días hasta el día 40. Los datos se encuentran listos para su análisis estadístico.

<b>Digestor</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Lenteja de agua (kg)</b>	0.5	0.35	0.25	0.15	0
<b>Estiércol vacuno (kg)</b>	0	0.15	0.25	0.35	0.5

**TABLA 7. Concentraciones de lenteja de agua y estiércol vacuno en cada reactor.**

### Comparación producciones de biogás utilizando



**FIGURA 35: Comparación de producción de biogás por el método de las botellas.**

Considerando las diferentes concentraciones de estiércol y lenteja utilizadas, se construyó una gráfica para determinar el reactor y la mezcla con la mayor producción (punto más alto) de biogás. Recordaremos que en el caso de las concentraciones más bajas de estiércol, se le considero como inoculo (starter)

#### 4.7 Obtención de bigas utilizando el bioreactor UASB.

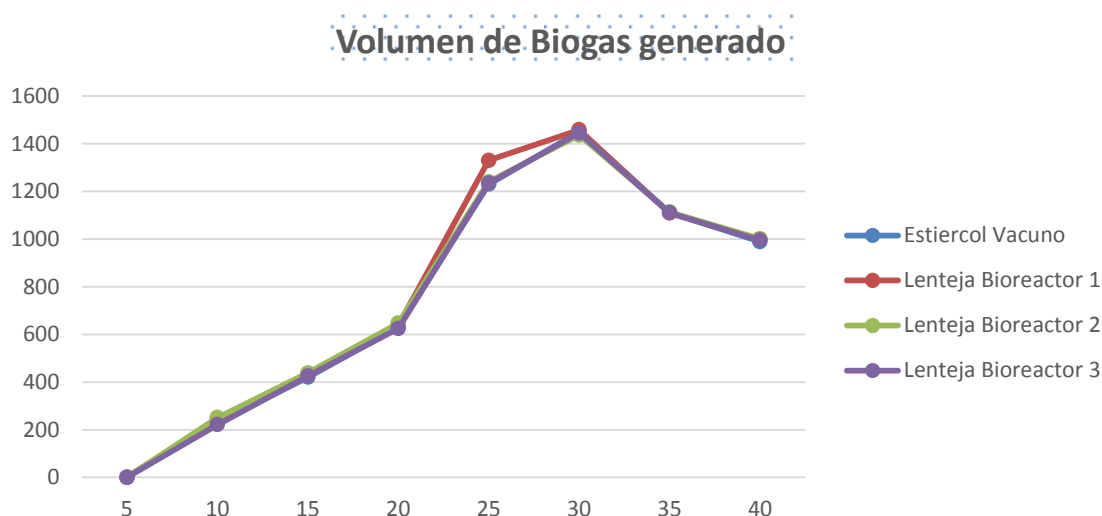
Los valores obtenidos de biogás en el reactor se muestran en la tabla N°8, produciendo la lenteja de agua igual o mayor cantidad de biogás que el estiércol vacuno (reactor N°2).

Nuevamente se realizaron 3 tomas por muestreo, y se presentan en la tabla los promedios

Tiempo de retención (días)	5	10	15	20	25	30	35	40
Volumen reactor 1 (ml) control	0	230	420	630	1230	1450	1111	989
Volumen reactor 2 (ml)	0	245	431	638	1330	1458	1109	999
Volumen reactor 3 (ml)	0	251	438	647	1240	1436	1113	1001
Volumen reactor 4 (ml)	0	221	425	625	1234	1445	1110	995

**TABLA 8. Datos de producción de biogás.** Luego de seleccionar la combinación más eficiente para la producción del biogás se reprodujo la digestión anaerobia utilizando el bioreactor USAB. También se incluyó una fermentación control para valorar los datos de producción. El control está compuesto únicamente de estiércol vacuno como sustrato.

La biomasa utilizada en el reactor control fue estiércol de ganado vacuno, en los demás procesos del reactor tipo UASB se utilizó de biomasa la lenteja de agua.





**FIGURA 36. Volúmenes de biogás de estiércol vacuno por el tiempo de retención obtenida en el reactor RAFA.** La FIGURA muestra la relación en las producciones de biogás entre los diferentes bioreactores. A simple vista, el reactor 2 tuvo una producción superior.

#### 4.8 Medición del biogás utilizando el método no convencional.

El bioreactor en su totalidad posee 4 cámaras apiladas en columnas con un volumen total de 20.4L. Para la fermentación metanogénica se utilizaron únicamente las 2 últimas cámaras (las de arriba). Se asilaron las cámaras con una base metálica (plancha fina) recubierta de una plancha de triplay. Se realizó el cálculo del volumen de la cámara utilizada como bioreactor:

$$V = \pi r^2 \cdot h$$

$$V = 3.15 (8\text{cm})^2 \cdot 25.5$$

$$V = 5140.08\text{cm}^3$$

*Conversion:*

$$V = 5140.08\text{cm}^3 = 0.0051408\text{m}^3 = \mathbf{5.1L}$$

Se utilizó la proporción de lenteja y estiércol más eficiente encontrada en la fermentación de las botellas. 1.4kg de lenteja y 0.6kg de estiércol. Haciendo un total de 2kg de sustrato. Se completó la mezcla con 1L de agua potable (de grifo).

Dado que la capacidad de la cámara es de 5.1L y que se ocupó un total de 3L con sustrato y agua, existió un total de 2.1L de volumen en el que se acumuló una cantidad de gas que no pudo ser extraída, al igual que en el caso de las botellas. Teniendo en cuenta este hecho se realizaron las medidas presentadas en la TABLA 8.

Las muestras se tomaron con un intervalo de 5 días entre cada una (los días viernes) durante un periodo de 40 días cuando se dio por concluido el proyecto, el día de la muestra se armaba el sistema

hidráulico completo y la medición se realizó con papel milimetrado para obtener el mínimo de error ya que se trata de un método no convencional y puede producir una mala medición del gas.

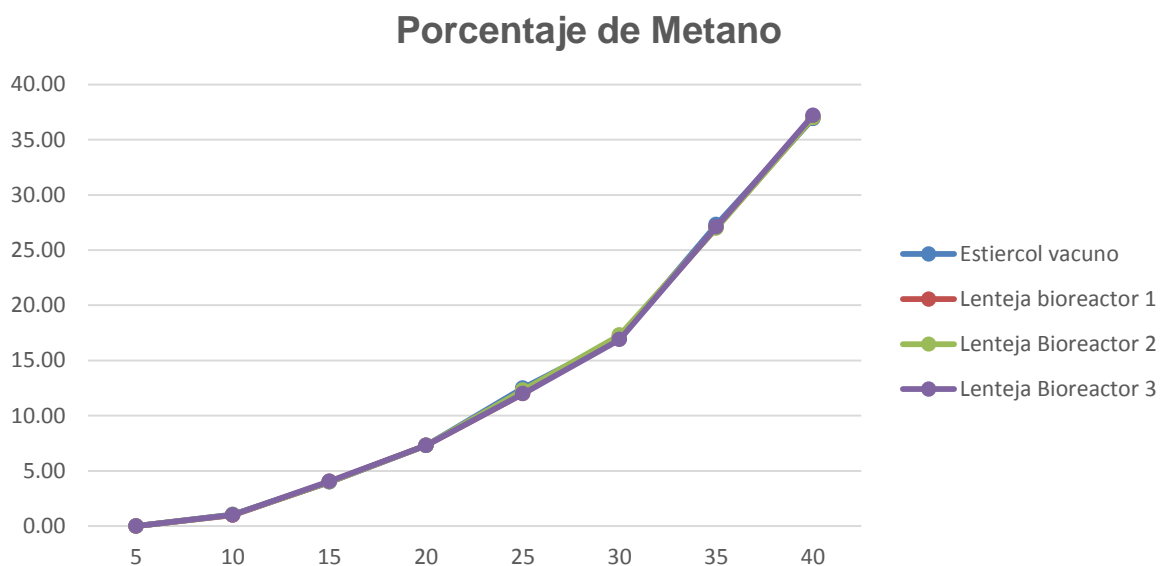


**FIGURA 37. Construcción del sistema de medición de metano (%).** Se observa en la figura la construcción del sistema utilizado para medir el porcentaje de metano en el biogás. Este método no convencional luego fue validado mediante una medición instrumental.

La concentración de metano dentro del gas producido en cada reactor se muestra en la TABLA 9. Los valores de concentración de metano ( $\text{CH}_4$ ) son muy similares entre si y el sistema armado se observa en el figura 37.

Tiempo de retención (días)	5	10	15	20	25	30	35	40
Reactor 1 (%) control	0	1.04	3.98	7.30	12.5	16.99	27.3	36.9
Reactor 2 (%)	0	0.98	4.0	7.3	11.98	17.1	27.1	37
Reactor 3 (%)	0	1.02	4.01	7.30	12.3	17.3	26.98	36.98
Reactor 4 (%)	0	1.0	4.05	7.30	11.99	16.89	27.10	37.2

**TABLA 9. Porcentaje de metano del biogás.** Después de utilizar el método no convencional para tomar las medidas del porcentaje de metano en el biogás producido por cada bioreactor, ordenamos los resultados en una tabla para su respectivo análisis estadístico.



**FIGURA 38. Porcentajes de concentración de metano en el biogás de estiércol vacuno.** Se pueden observar valores muy cercanos entre cada fermentación. Ya que las condiciones en cada reactor son similares (exceptuando las concentraciones de lenteja) podemos afirmar, preliminarmente, que el proceso de producción de biogás de la lenteja es tanto eficiente como el proceso del estiércol vacuno.

#### 4.9 Determinación instrumental del porcentaje de biogás generado.

Para la medición instrumental solo se tomó una muestra de gas de cada bioreactor utilizado y se comparó con la medida tomada por el método no convencional en un día determinado. (Día 35)

Método usado	INSTRUMENTAL (ANALIZADOR DE GASES MULTITECH 450 SEWERIN)	NO CONVENCIONAL
REACTOR 2 (%)	26.7	27.1
REACTOR 3 (%)	26.9	26.98
REACTOR 4 (%)	26.4	27.1

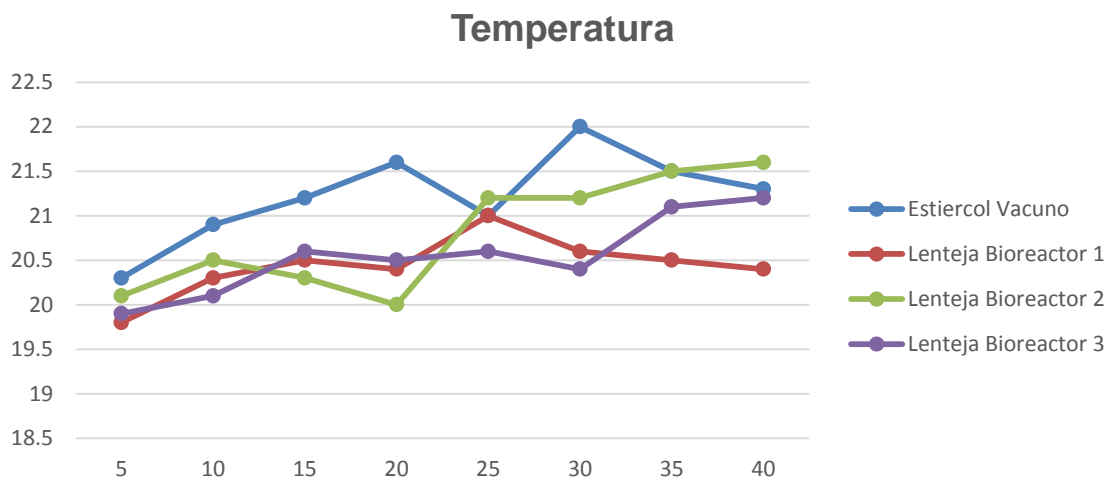
**TABLA 10. Comparación del porcentaje de metano en el biogás.** Se midieron los porcentajes de metano utilizando el analizador de gases y el método no convencional y se compararon en la siguiente tabla.

#### 4.10 Monitoreo de la Temperatura durante la fermentación.

En la tabla 11 se indican los valores de temperatura registradas en el exterior del bioreactor a escala tipo RAFA cada 5 días. El proceso inicio con una temperatura promedio hasta el décimo día de 20.3 °C, los resultados son los siguientes:

Días	Control	Bioreactor 1	Bioreactor 2	Bioreactor 3
5	20.3	19.8	20.1	19.9
10	20.9	20.3	20.5	20.1
15	21.2	20.5	20.3	20.6
20	21.3	20.4	20	20.5
25	21	21	21.2	20.6
30	22	20.6	21.2	20.4
35	21.5	20.5	21.5	21.1
40	21.3	20.4	21.6	21.2

**TABLA 11. Datos de temperatura del biogás.** El registro de temperatura también puede ser considerado como un indicador de la eficiencia del proceso, pero en este caso no se hizo uso de estos datos para presentar algún resultado o conclusión debido a que las tomas se hicieron por fuera del bioreactor y la gráfica resultante no presenta alguna deducción relevante sobre el proceso de fermentación.



**FIGURA 39. Comparación de temperaturas.** Marcada separación en las temperaturas durante los procesos de fermentación; probablemente debido a las tomas realizadas desde la parte externa del bioreactor. Los datos no pueden considerarse como indicadores de la eficiencia del proceso.

#### 4.11 Análisis microbiológico de las bacterias metanogénicas presentes en el proceso (Methanococcus y Methanobacterium)

Los datos obtenidos del aislamiento bacteriano en los medios líquidos y sólidos MC y MB indicaron crecimiento de bacterias con características compatibles con Methanococcus y Methanobacterium. La verificación morfológica mediante coloración de Gram se presentan en la TABLA 12 y TABLA 13.

MUESTRA	MC	MB
BIOREACTOR 1	No se observaron	Bacilos Gram (+)
BIOREACTOR 2	Cocos Gram (+)	Bacilos Gram (-)
BIOREACTOR 3	Cocos Gram (+)	No se observaron
BIOREACTOR 4	No se observaron	Bacilos Gram (-)

**TABLA 12. Resultados Gram del caldo MC y MB.** Luego de las fermentaciones se hizo un análisis microbiológico para determinar la presencia de bacterias metanogénicas. Los resultados se observan en las tablas.

MUESTRA	MC	MB
BIOREACTOR 1	Cocos Gram (+)	Bacilos Gram (+)
BIOREACTOR 2	Cocos Gram (+)	Bacilos Gram (-)
BIOREACTOR 3	No se observaron	Bacilos Gram (-)
BIOREACTOR 4	Cocos Gram (+)	Bacilos Gram (-)

**TABLA 13. Resultados Gram de los agares MC y MB. Luego de las fermentaciones se hizo un análisis microbiológico para determinar la presencia de bacterias metanogénicas. Los resultados se observan en las tablas.** El crecimiento bacteriano obtenido en los reactores de lenteja de agua poseen el mismo comportamiento sin embargo se puede apreciar que en algunas tomas no se encontraron bacterias, esto posiblemente se deba a la calidad de toma de muestra ya que estos microorganismos son sensibles a la presencia de oxígeno, así sea en muy bajas proporciones (0.5–2%) o por tiempos cortos, factor que induce procesos de intoxicación y muerte bacteriana

En la muestra del bioreactor 1 de lenteja de agua se observó el crecimiento de bacilos Gram positivos en el caldo MB pero no hubo crecimiento en el caldo MC. Sin embargo, al hacer el aislamiento en medio sólido MC hubo crecimiento escaso de cocos Gram positivos. En el medio sólido MB crecieron bacilos Gram positivos que se habían evidenciado en el caldo. Estos resultados se explican en la dificultad para la adaptación y el desarrollo de estos microorganismos in vitro.

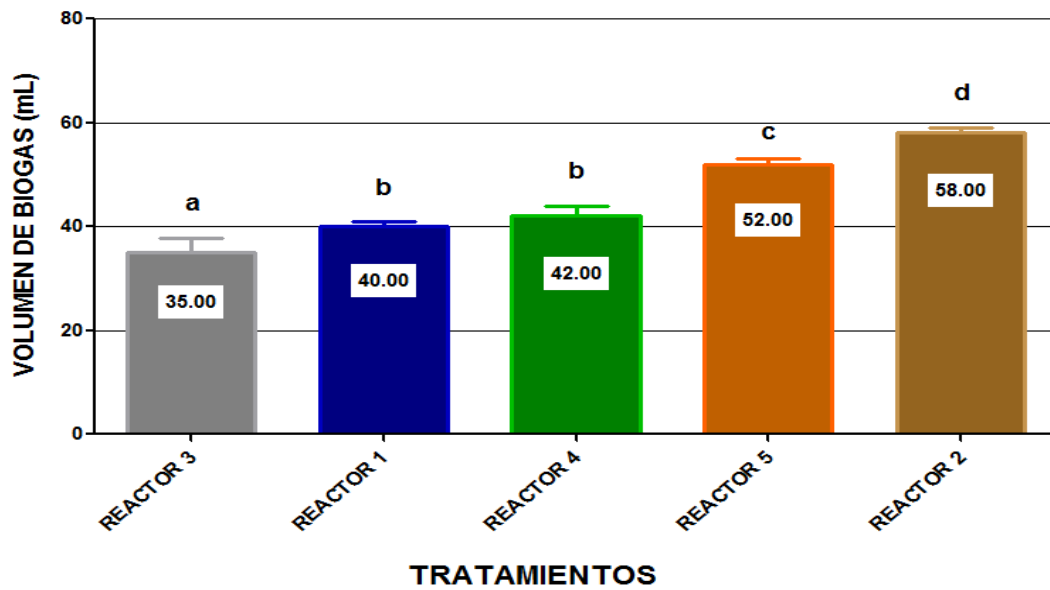
La morfología obtenida en los Gram de ambos caldos, MC y MB presenta concordancia con la selectividad según el fundamento del medio, además, las estructuras observadas son características de las Archaeas Metanogénicas. Aunque en los protocolos establecidos por Acuña Gonzales para el cultivo de los géneros *Methanobacterium* y *Methanococcus*, refiere que el crecimiento se puede obtener después de 7 días a partir de la inoculación en los medios de cultivo, en este trabajo se evidenció que los microorganismos pertenecientes a estos géneros son de crecimiento lento, estableciéndose como tiempo óptimo de desarrollo 15 días.

#### 4.12 EVALUACION ESTADISTICA PARA VALIDAR LA PRODUCCION DE BIOGAS

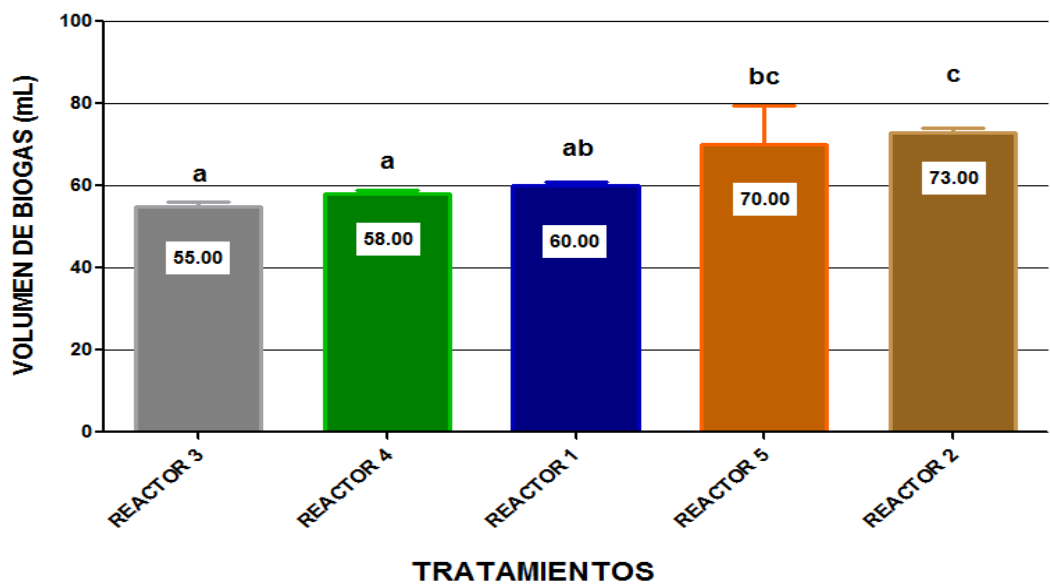
TABLA 14. EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN DEL VOLUMEN DE BIOGAS PRODUCIDO EN CINCO REACTORES.

TRATAMIENTOS	VOLUMEN DE BIOGAS (mL)							
	5 DIAS	10 DIAS	15 DIAS	20 DIAS	25 DIAS	30 DIAS	35 DIAS	40 DIAS
	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$
REACTOR 1	40.00±1.00	60.00±1.00	80.00±3.61	100.00±1.00	92.00±2.00	65.00±4.36	42.00±1.00	10.00±1.73
REACTOR 2	58.00±1.00	73.00±1.00	92.00±2.00	136.00±2.65	179.00±1.00	149.00±1.00	118.00±1.00	87.00±2.00
REACTOR 3	35.00±2.65	55.00±1.00	82.00±1.73	124.00±5.29	119.00±1.00	75.00±0.00	48.00±1.73	34.00±1.00
REACTOR 4	42.00±2.00	58.00±1.00	84.00±1.00	108.00±3.61	126.00±1.00	93.00±2.65	64.00±1.00	41.00±1.00
REACTOR 5	52.00±1.00	70.00±9.54	90.00±1.00	128.00±1.73	162.00±1.00	100.00±0.00	74.00±2.27	60.00±3.61
ANOVA (F)	94.07	9.74	18.27	63.23	2273.06	588.22	22.82	569.52
SIGNIFICANCIA	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)

Se observa, en la Tabla 23, los valores promedio del volumen de biogás producido en cinco reactores y sus respectivas desviaciones estándar. Las evaluaciones se realizaron desde los 5 hasta los 40 días. Se detallan también los valores del estadístico de Fisher (F) del “Análisis de Varianza” el cual indica la existencia de diferencias altamente significativas (A.S.) en las todas las evaluaciones realizadas desde los 5 días hasta los 40 días (P<0.01), en el volumen de biogás producido considerando las condiciones de cada bioreactor.

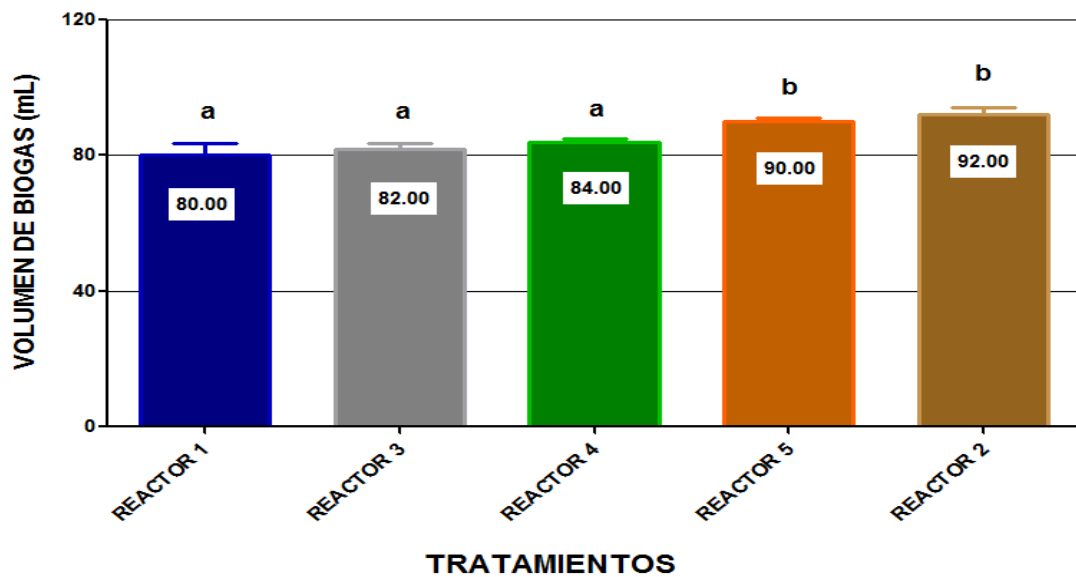


**FIGURA 40. DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE BIOGAS PRODUCIDO EN 5 REACTORES A LOS 5 DIAS DE EVALUACION.** Se muestra la prueba de especificidad de TUKEY la misma que indica que el mayor volumen de biogás producido se presentó en el reactor 2 con un promedio 58 mL.

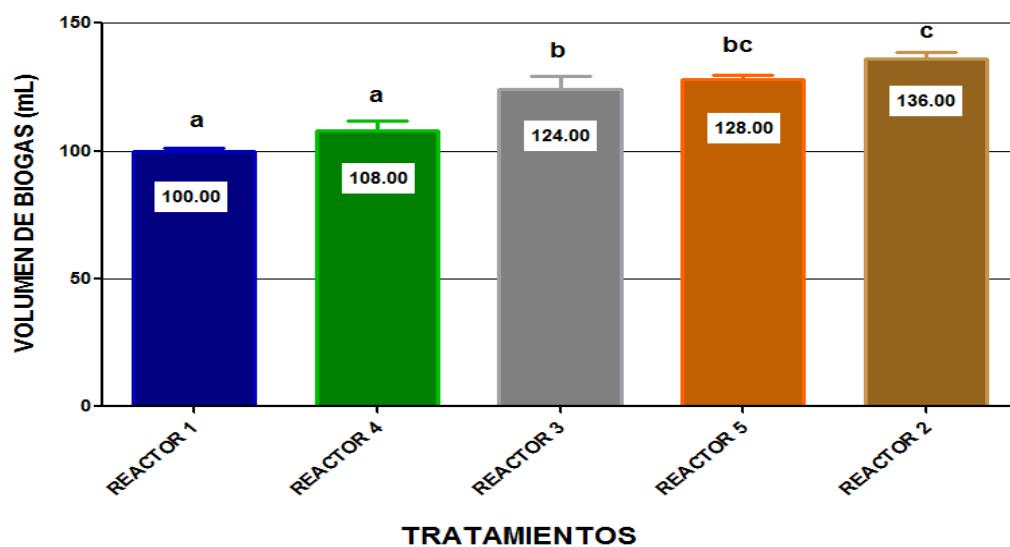


**FIGURA 41. DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE BIOGAS PRODUCIDO EN 5 REACTORES A LOS 10 DIAS DE EVALUACION.** Aquí se representa prueba de especificidad de TUKEY, la cual indica que el mayor volumen de biogás producido se presentó en el reactor 2 con un promedio 73 mL.

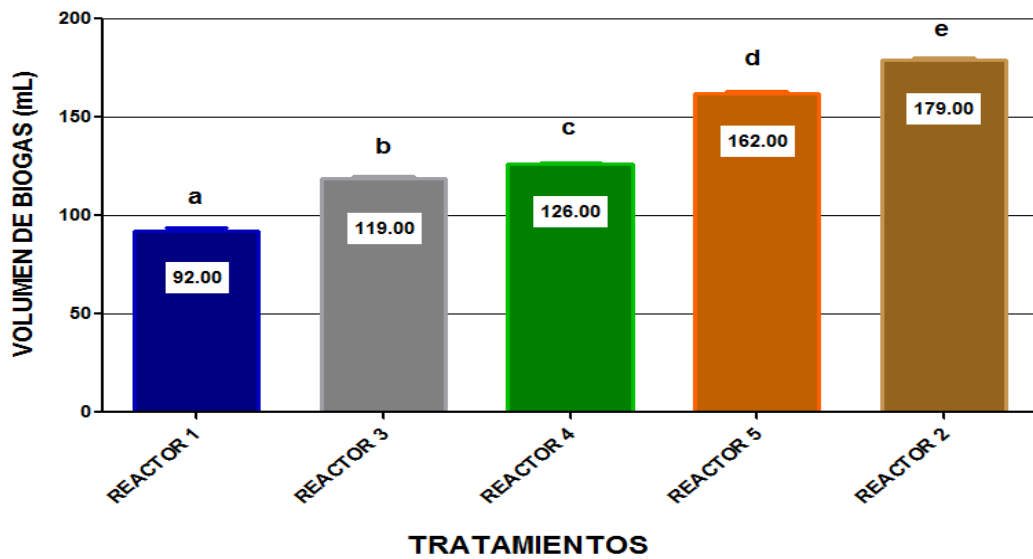




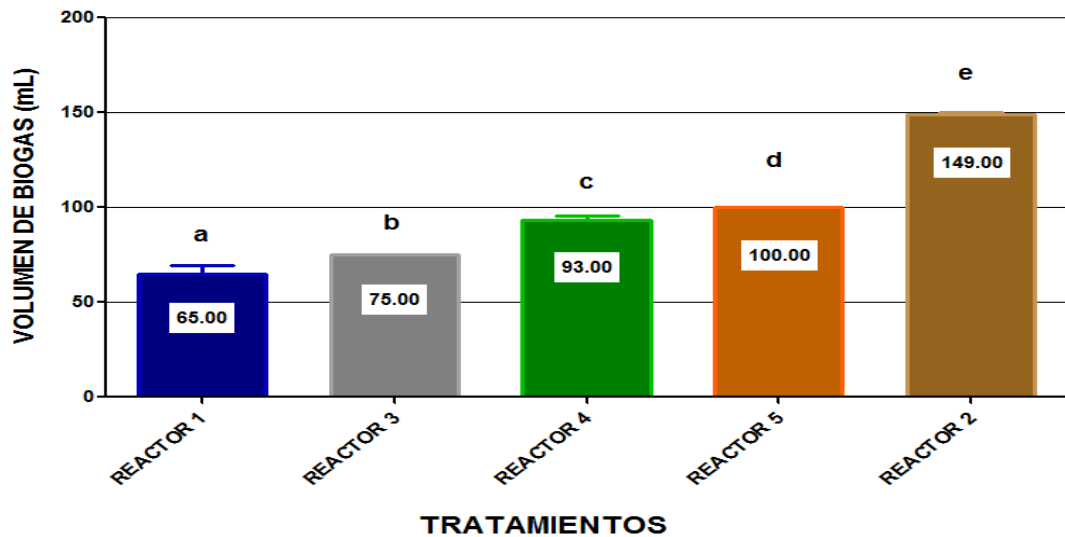
**FIGURA 42. DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE BIOGAS PRODUCIDO EN 5 REACTORES A LOS 15 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 3 muestra la prueba de especificidad de TUKEY la misma que indica que el mayor volumen de biogas producido se presentó en los reactores 2 y 5 con un promedio 90 mL y 92 mL respectivamente.



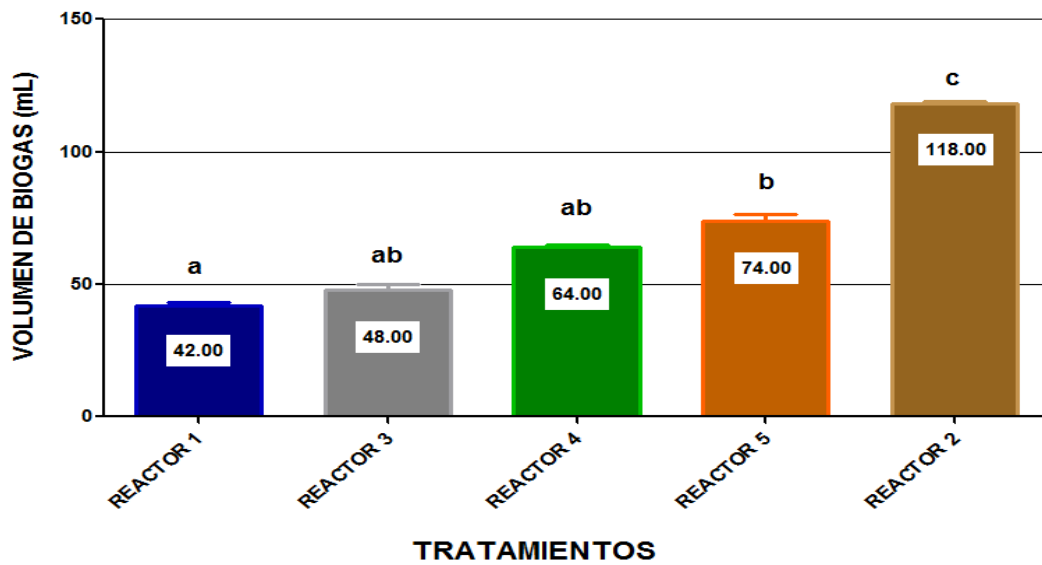
**FIGURA 43. DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE BIOGAS PRODUCIDO EN 5 REACTORES A LOS 20 DIAS DE EVALUACION.** La prueba de especificidad de TUKEY la misma que indica que el mayor volumen de biogás producido se presentó en el reactor 2 con un promedio 136 mL seguido del bioreactor 5 con un promedio 128 mL.



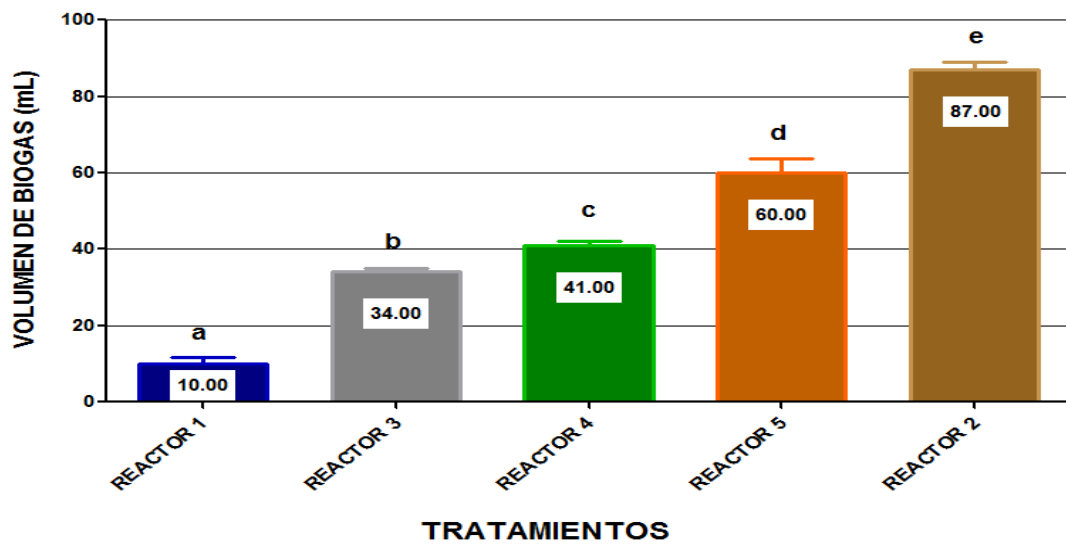
**FIGURA 44. DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE BIOGAS PRODUCIDO EN 5 REACTORES A LOS 25 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 5 muestra la prueba de especificidad de TUKEY la misma que indica que el mayor volumen de biogás producido se presentó en el reactor 2 con un promedio 179 mL seguido del bioreactor 5 con un promedio 162 mL.



**FIGURA 45. DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE BIOGAS PRODUCIDO EN 5 REACTORES A LOS 30 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 6 muestra la prueba de especificidad de TUKEY la misma que indica que el mayor volumen de biogás producido se presentó en el reactor 2 con un promedio 149 mL seguido del bioreactor 5 con un promedio 100 mL.



**FIGURA 46. DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE BIOGAS PRODUCIDO EN 5 REACTORES A LOS 35 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 7 muestra la prueba de especificidad de TUKEY la misma que indica que el mayor volumen de biogás producido se presentó en el reactor 2 con un promedio 118 mL seguido del bioreactor 5 con un promedio 74 mL.

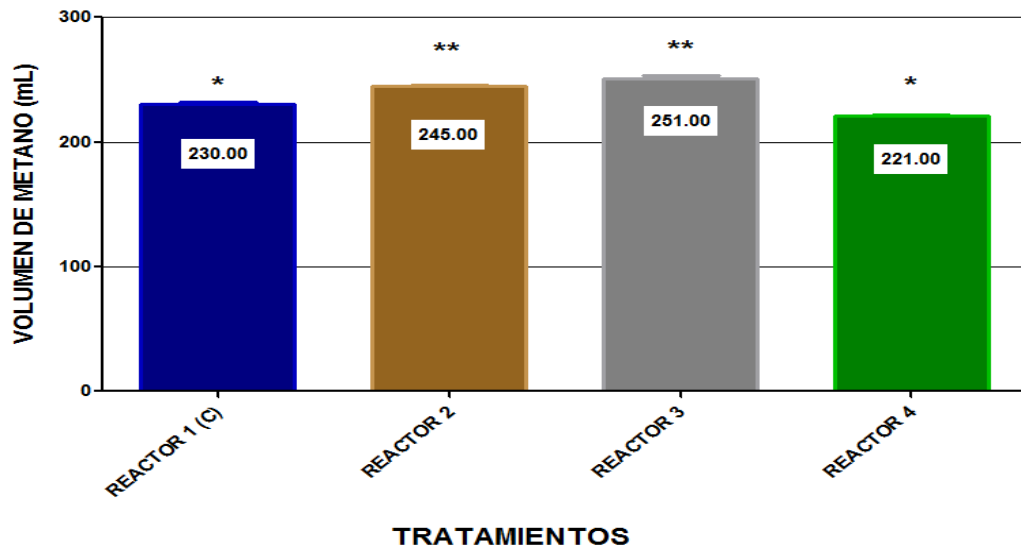


**FIGURA 47. DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE BIOGAS PRODUCIDO EN 5 REACTORES A LOS 40 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 8 muestra la prueba de especificidad de TUKEY la misma que indica que el mayor volumen de biogás producido se presentó en el reactor 2 con un promedio 87 mL seguido del bioreactor 5 con un promedio 60 mL.

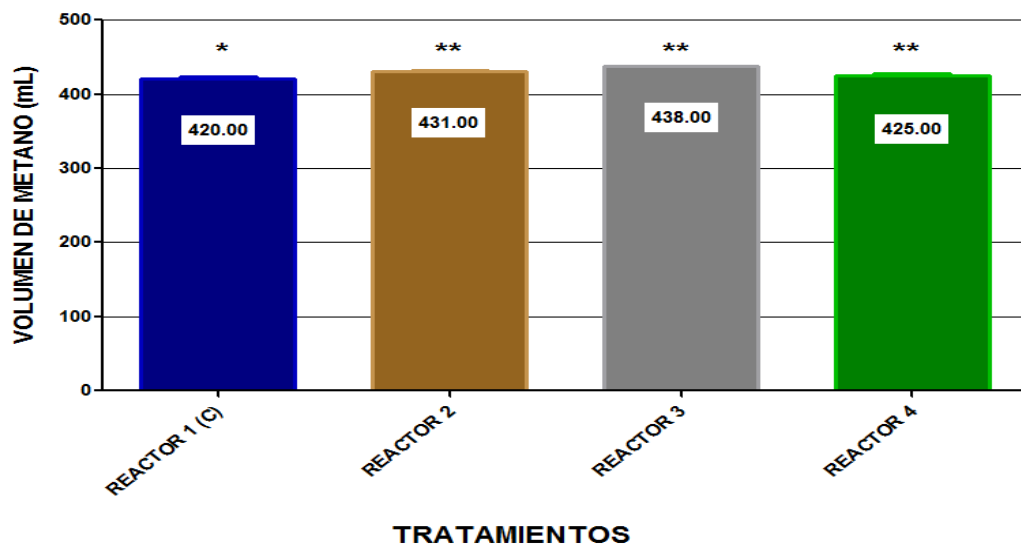
**TABLA 15. EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN DEL VOLÚMEN DE METANO PRODUCIDO EN CINCO REACTORES.**

TRATAMIENTOS	VOLUMEN DE METANO (mL)						
	10 DIAS	15 DIAS	20 DIAS	25 DIAS	30 DIAS	35 DIAS	40 DIAS
	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$	$\bar{x} \pm S$
REACTOR 1 (C)	230.00±1.73	420.00±3.61	630.00±2.65	1230.00±1.00	1450.00±1.00	1111.00±1.00	989.00±2.00
REACTOR 2	245.00±1.00	431.00±1.00	638.00±1.00	1330.00±2.00	1458.00±1.73	1109.00±1.00	999.00±1.00
REACTOR 3	251.00±2.00	438.00±0.00	647.00±0.00	1240.00±1.00	1436.00±1.00	1113.00±1.00	1001.00±1.73
REACTOR 4	221.00±1.00	425.00±2.65	625.00±1.00	1234.00±2.65	1445.00±1.00	1110.00±9.54	995.00±4.36
ANOVA (F)	251.00	34.48	123.56	2112.92	169.83	0.37	12.44
SIGNIFICANCIA	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)	A.S. (P<0.01)	N.S. (P>0.05)	A.S. (P<0.01)

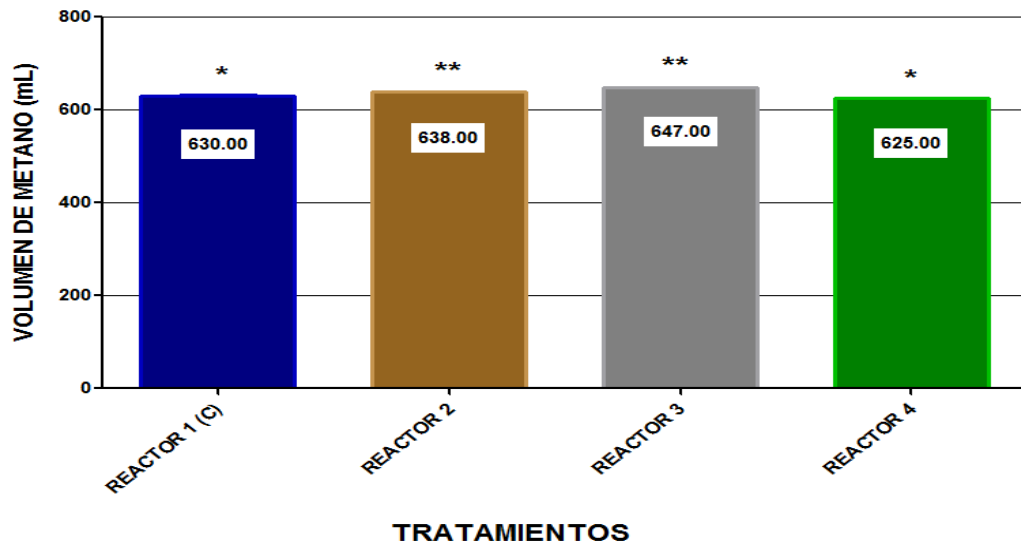
Se observa en la Tabla 14, los valores promedio del volumen de metano producido en cinco reactores y sus respectivas desviaciones estándar, las evaluaciones se realizaron hasta los 40 días, se detallan también los valores del estadístico de Fisher (F) del "Análisis de Varianza", que indican que existen diferencias altamente significativas (A.S.) en las todas las evaluaciones realizadas desde los 10 días hasta los 40 días de evaluación (P<0.01) a excepción de los 35 días de evaluación donde no se presentaron diferencias significativas (P>0.05), en el volumen de metano producido con la aplicación de los tratamientos.



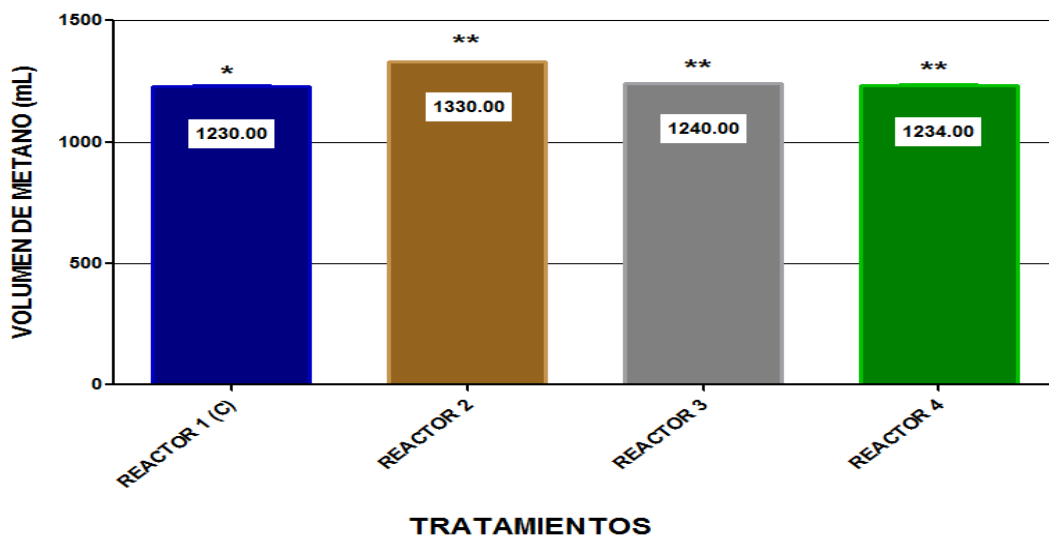
**FIGURA 48: DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE METANO PRODUCIDO EN BASE AL REACTOR CONTROL A LOS 10 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 9 muestra la prueba de especificidad de DUNNET la misma que indica que mayor volumen de metano se obtuvo en los reactores 2 y 3 (\*\*) en comparación al reactor control (\*).



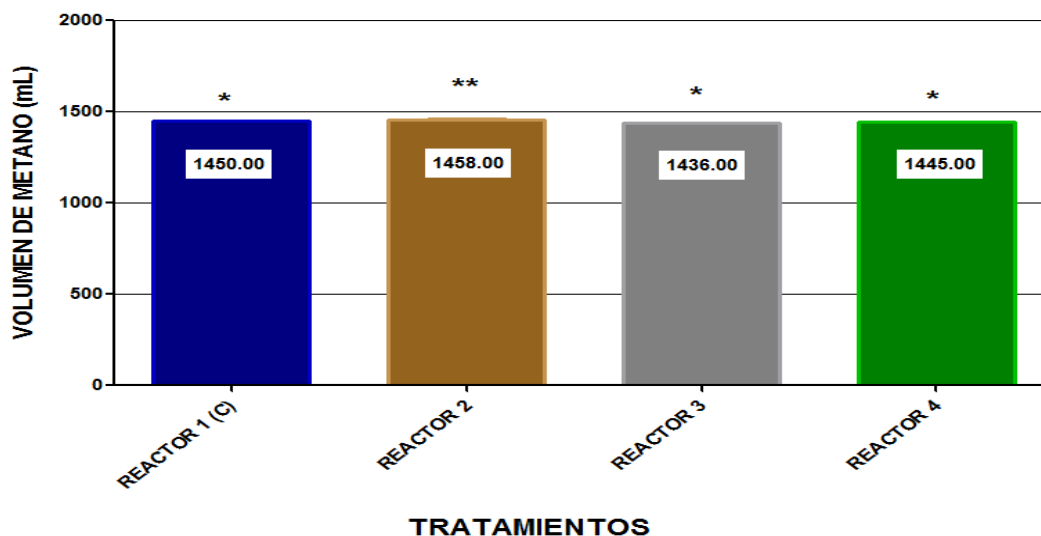
**FIGURA 49: DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE METANO PRODUCIDO EN BASE AL REACTOR CONTROL A LOS 15 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 10 muestra la prueba de especificidad de DUNNET la misma que indica que mayor volumen metano se obtuvo en los reactores 2,3 y 4 (\*\*) en comparación al reactor control (\*).



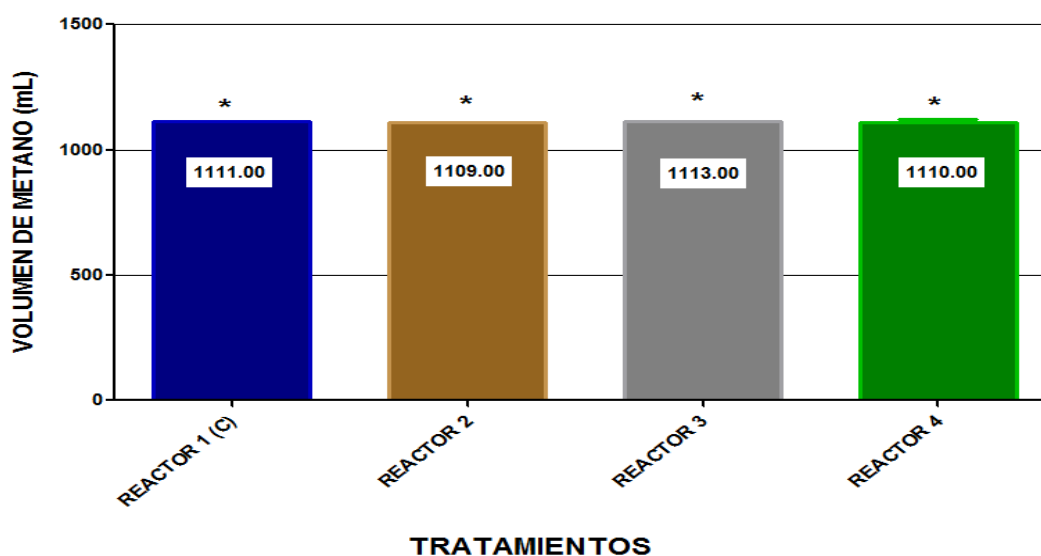
**FIGURA 50: DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE METANO PRODUCIDO EN BASE AL REACTOR CONTROL A LOS 20 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 11 muestra la prueba de especificidad de DUNNET la misma que indica que mayor volumen metano se obtuvo en los reactores 2 y 3 (\*\*) en comparación al reactor control (\*).



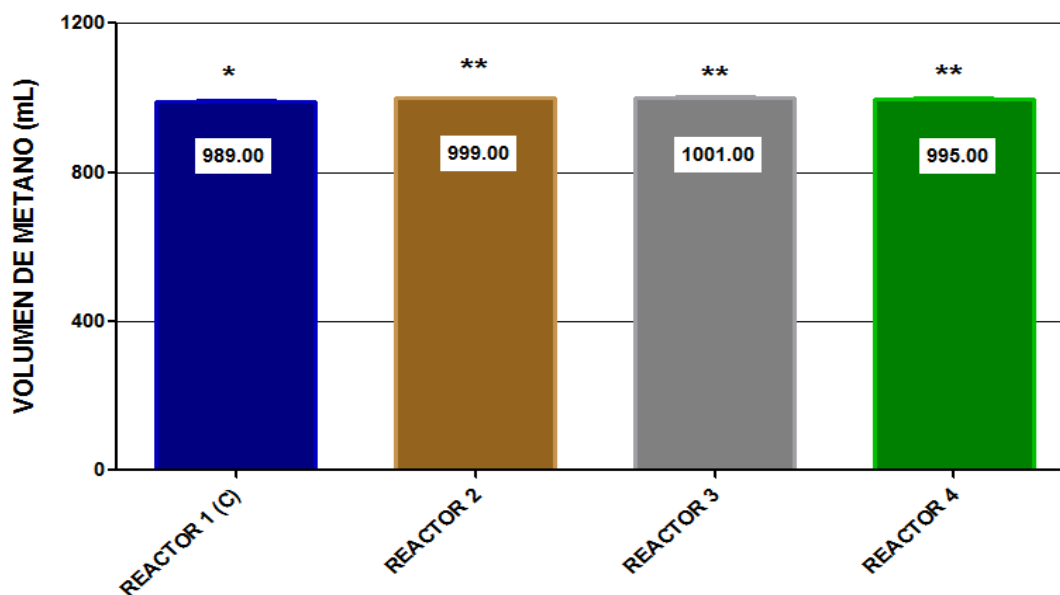
**FIGURA 51: DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE METANO PRODUCIDO EN BASE AL REACTOR CONTROL A LOS 25 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 12 muestra la prueba de especificidad de DUNNET la misma que indica que mayor volumen metano se obtuvo en los reactores 2, 3 y 4 (\*\*) en comparación al reactor control (\*).



**FIGURA 52: DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE METANO PRODUCIDO EN BASE AL REACTOR CONTROL A LOS 30 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 13 muestra la prueba de especificidad de DUNNET la misma que indica que mayor volumen metano se obtuvo en el reactores 2, (\*\*) en comparación al reactor control (\*) y los demás reactores.



**FIGURA 53: DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE METANO PRODUCIDO EN BASE AL REACTOR CONTROL A LOS 35 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 14 muestra la prueba de especificidad de DUNNET la misma que indica una producción similar de metano entre los diferentes reactores y en comparación al reactor control (\*).



### TRATAMIENTOS

**FIGURA 54: DIFERENCIA DEL VOLUMEN DE METANO PRODUCIDO EN BASE AL REACTOR CONTROL A LOS 40 DIAS DE EVALUACION.** El gráfico 15 muestra la prueba de especificidad de DUNNET la misma que indica que mayor volumen metano se obtuvo en el reactores 2, 3 y 4 (\*\*) en comparación al reactor control (\*).



## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

- PRIMERA:** La comparación estadística cualitativa y cuantitativa de la producción de biogás a partir de lenteja de agua y de estiércol vacuno confirmo la hipótesis planteada: el uso de la lenteja de agua como sustrato alternativo es una posibilidad viable, ya que presenta la misma eficiencia que el estiércol.
- SEGUNDA:** Se determinaron las producciones de biogás en las botellas conteniendo lenteja de agua y estiércol; se agruparon los datos en tablas que permitieron realizar la comparación estadística. La lenteja de agua presento un volumen superior al presentado por el estiércol vacuno en el lapso de 40 días.
- TERCERA:** El bioreactor UASB modificado, se utilizó de manera estacionaria (batch) para la fermentación de los sustratos lenteja de agua y estiércol. Se le incorporo un manómetro de mercurio y también un termómetro de baja escala para monitorear estos parámetros durante la transformación. Funcionó eficientemente.

**CUARTA:** Durante las fermentaciones, se monitorearon los parámetros físico-químicos que por marco teórico determinan la eficiencia de la producción. Todos los parámetros de la experimentación (ST, SV, pH, T, P, TRH) estuvieron acordes con los valores del marco teórico. Se puede inferir de esto, que nuestra producción, para el tiempo de retención, el tipo y concentración de sustrato, fue eficiente.

El pH se midió en ambos sustratos antes y después del tratamiento. Para la lenteja de agua se observó un valor pre tratamiento de 7.8, el cual disminuyó hasta 7.1 después de la fermentación. En el caso de la lenteja de agua se obtuvo el valor de 7.33 antes de la fermentación y 7.1 después de la misma.

Se determinó la humedad total de ambos sustratos. El valor inicial adecuado, para ambos sustratos, se midió en 69.92% para el estiércol y 83.93% para la lenteja de agua.

El para metro de solidos totales se detalló antes y después de la fermentación para cada sustrato. La lenteja de agua presento el valor de 17.1% de solidos totales, el cual disminuyó hasta el 9.82% con un grado de remoción del 48%. Para el estiércol, los datos arrojaron una remoción superior al 50%, reduciendo el contenido de solidos totales de 18.2% antes de la fermentación hasta 8.71% después de la fermentación.

El parámetro temperatura fue descartado de este estudio, ya que las mediciones realizadas fueron todas erróneas y muy sensibles a error. Aunque podemos rescatar el hecho de que la bibliografía, nos provee de un rango óptimo de temperatura para la fermentación.

**QUINTA:** Los antecedentes recolectados sobre el aislamiento de bacterias metanogénicas permitieron desarrollar medios de cultivo específicos para determinar la presencia de estas bacterias en los procesos de fermentación en el bioreactor y en las botellas. La presencia de este consorcio bacteriano es prueba de que las reacciones estacionales del proceso metanogénico se realizaron apropiadamente.

**SEXTA:** Después de la recolección y sistematización de datos en tablas comparativas de la producción de biogás, estas fueron sometidas a un análisis estadístico de ANOVA (TUKEY y DUNNET) para determinar si la lenteja, efectivamente (como se sugirió en la hipótesis), presenta una producción superior al método tradicional. Los resultados del análisis estadístico comprueban que la lenteja de agua tiene una producción mayor, tanto en volumen como en concentración de CH<sub>4</sub>, que el estiércol.

## CAPITULO VI

### RECOMENDACIONES

**PRIMERA:** Deben utilizarse reactores pensando en la capacidad de producción de la biomasa. Si la capacidad del bioreactor es muy baja, o si, el bioreactor está muy lleno con el sustrato y la biomasa, entonces la producción de biogás superara esta capacidad, creando niveles altos de presión. La presencia de exceso de biogás puede inhibir la misma producción. Puede resultar efectivo retirar un porcentaje de biogás cada cierto tiempo para mantener una presión ideal y estable utilizando una bomba. Por otro lado, el biogás puede ser almacenado en tanques utilizando un sistema de compresión de gas para su almacenamiento.

Si el bioreactor tiene un volumen demasiado grande para el sustrato utilizado, tomara mucho más tiempo llegar a la fase metano génica debido a la gran cantidad de  $O_2$  presente. Además el tiempo para poder extraer el biogás del bioreactor se incrementara ya que primero sería necesario llenar el volumen del bioreactor, lo cual no es muy recomendable a nivel laboratorio.

**SEGUNDA:** Aunque el estiércol vacuno y la lenteja de agua comparten una similar capacidad de generación de biogás, este primero presenta mayores complicaciones para su manipulación. El estiércol vacuno pierde humedad fácilmente y en muy poco tiempo. Esto hace difícil la recolección del estiércol adecuado para la producción y también su almacenamiento. Incluso si se pretende humedecer el estiércol recolectado, el agua puede catalizar reacciones bacterianas que fragmentan la integridad de este sustrato para la producción. Se requiere

tener presente esta característica si se decide utilizar este desecho.

**TERCERA:** El reactor utilizado en el experimento debe de contar con la instrumentación adecuada para la producción de gas de manera anaeróbica, el reactor UASB del laboratorio no contaba con todos los implementos necesarios para el experimento por lo que se tuvo que optimizar los métodos de control del mismo y la implementación de instrumentos faltantes para poder obtener resultado válidos y fiables.

**CUARTA:** Es probable que utilizando un reactor diferente y más especializado (a diferencia del reactor UASB utilizado en esta tesis) se podría optimizar aún más la producción del biogas. El tener datos de generación de biogás para los diferentes tipos de reactores utilizando lenteja de agua con diferentes mezclas de estiércol sería una fuente de información muy valiosa para el sector agro industrial nacional.

## CAPITULO VII

### REFERENCIAS

1. Acuña González Paola Andrea, Lisvet Sofía Angel García, Elizabeth Borray Montoya, Lucia Constanza Corrales y Ligia Consuelo Sánchez. 2008. "Aislamiento e identificación de microorganismos del genero methanococcus y methanobacterium de cuatro fuentes de bogota" Universidad colegio mayor de Cundimarca.
2. Angelidaki Irini, Lars Ellegaard. 2003. "Applications of the anaerobic digestion process". Biomethanation II. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology. Springer Berlin/Heidelberg
3. Arroyave Maria del Pilar 2004. "Lenteja de agua: una planta acuática promisoría", Revista EIA, ISSN 1794-1237 Número 1 p. 33-38. Escuela de Ingeniería de Antioquia, Medellín (Colombia)
4. Aso y Bustos. 1991. "Composición media de estiércoles frescos de diferentes animales domésticos"
5. Barrena Miguel G., Gamarra Oscar T y Maicelo Jorge Q. 2010."Producción de biogás en laboratorio a partir de residuos domésticos y ganaderos y su escalamiento". Aporte santiaguino.
6. Bogotá Torres Juliana., Díaz Ricardo Sandra Jackeline y Ramos Ocampo Pricila 2008. "Montaje y puesta en marcha de dos biodigestores anaerobios con residuos orgánicos generados en la central de mercado "plaza Kennedy" en Bogotá". Universidad Manuela Beltran.
7. Botero Botero Raul y Tomas R. Preston 1987. "biodigestor de bajo costo para la producción de combustible y fertilizante a partir de excretas"

8. Brakel Van, 1980. "Small-Scale Anaerobic Digesters (Biogas Plants): A Critical Review of the Pre-1970 Literature Softback, Ex-Library". Delft University Press.
9. Canales Guitierrez Angel. 2010. "Evaluación de la biomasa y manejo de *Lemna gibba* (lenteja de agua) en la bahía interior del lago Titicaca, puno". Ed. Ecología aplicada
10. Castillo Mayela, Padilla Adriana, Suniaga Jose, Betancourt Arquimides y Marcano Enid,. 2005 "análisis de la Lemna sp. del lago de Maracaibo para su eventual utilización en la alimentación de rumiantes" Ed. Agricultura andina volumen 10
11. Chamy Rolando y Pizarro Carolina,. 2004. "Biogás: energía limpia a partir de la basura" Valparaíso. Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.
12. Cortada Ferrera Jorge Luis,. 2006. "Problemas de la tecnología del biogás. Energía y tu" del Ingeniero Agrónomo, UCV, Maracay, Venezuela.
13. Departamento Académico de Biología, UNAM
14. Diaz M, Espitia S y Molina F. 2002. "Digestión Anaerobia. Una Aproximación a la Tecnología"
15. Diaz Rebolledo. 2010. "obtención de gas combustible mediante la bioconversión del alga marina *Ulva Lactuca*"
16. Escuela de Agricultura de la Región, "Combustible y Fertilizante a Partir de Excretas".
17. Espejo Diaz A., Sánchez G., Silva A., Vargas A., Merchan P. 2003. "producción de la lenteja de agua (*Lemna minor*), fertilizada con estiércol de ovinos

18. FAO. 2001. "Recycling of organic wastes in agriculture. Report of the FAO study tour to the People's Republic of China. FAO. Soils Bulletin Roma.
19. Gonzales Salas Raul, Romero Cruz Oscar, Vidal del rio Mildre y Ponce-Palafox Jesus Trinidad, 2010. "Alternativas econotecnológicas en la depuración de aguas residuales derivadas de la acuicultura y la producción animal". Universidad autónoma del estado de Morelos.
20. Hernández L. 1988. "Diseño de un Reactor Anaeróbico para el Tratamiento de Residuos Municipales".
21. Hernández Muñoz Aurelio. 1998. "Depuración de Aguas Residuales 3ª edición". Colegio de Ingenieros de Caminos,
22. Hernández, Carlos. 1990. "Segundo Fórum Nacional de Energía: Biogás. La Habana". Universidad de la Habana.
23. Hilbert, Jorge Antonio 2001. "Manual para la producción de biogás"
24. Hohlfeld J, Sasse L. 1986. "Production and utilization of biogas in rural areas of industrialized and developing countries". GTZ. Eschborn, Alemania. Húmeda - Universidad EARTH
25. Ing. A. M. Sc. Jorge A. Hilbert. "Manual para la producción de biogas"
26. INIA. 2011. "Producción de Energía Renovable (biogás) a partir del estiércol del ganado bovino en la Estación Experimental Agraria El Porvenir"
27. J. Morales Antonio, 2011. "El estiércol, ventajas y desventajas" Serie Oceanológica. No. 7
28. Lara Guilcapi Edwin Sebastian y Hidalgo Chimborazo Maria Belen, 2011. "Diseño de un bioreactor y conducción del biogás generado por



- las excretas de ganado vacuno, estación TUNSHI-ESPOCH”. Escuela superior politécnica de Chimborazo.
29. Lopez Martinez German, 2000.”Metodo no convencional de medición de gases en la digestión anaerobia estimación del porcentaje de metano presente en biogás”
30. Madigan T. Michael, Martinko M. John, Parker Jack, Brock Thomas D., Rodriguez Fernandez Carmina y Sanchez Perez Miguel, 2000. “Biología de los Microorganismos” Madrid. Ed. Prentice Hall
31. Magaña R. Jorge Luis, Torres R. Ernestina, Martinez G. Martin, Sandoval Juarez Carmen y Hernandez Cantero Rosalia 2006. “producción de biogás a nivel de laboratorio utilizando estiércol de cabras” Universidad de Guanajuato.
32. Martin Gonzalez S., 1997. “Producción y recuperación del biogás en vertederos controlados de residuos sólidos urbanos: análisis de variables y modelización”. Departamento de ingeniería química y tecnológica del medio ambiente de la universidad de Oviedo.
33. Ministerio de agricultura del peru, 2011. “Biodigestores en el Peru”
34. Ministerio de energía de chile. 2011. “manual del biogás”
35. Montenegro Irribarren. 1986. “Producción de biogás usando mezclas de desechos de animales y algas marinas”
36. Noyola Robles Adalberto .1997. “Tratamiento anaerobio de aguas residuales”. Foro Internacional. Comparación de dos tecnologías en Aguas residuales domésticas para municipalidades. Universidad Nacional de Medellín, Colombia.
37. Ocaña Perez-Cerda Francisco Javier 2011. “biodigestor anaeróbico de laboratorio” departamento de ciencia e ingeniería de materiales e ingeniería química, Universidad Carlos III de Madrid.

38. Organismos y plantas acuáticas. Informe Final: Proyecto Eco fondo. CIPAV.
39. Orozco Alvaro. 1989. "Manual sobre Digestión Anaerobia" .Universidad de los Andes. Bogotá, Colombia.
40. Pinto, V. 2000. Producción de las plantas acuáticas Lemna minor y Azolla filiculoides y su uso conjuntamente con harina de pescado en raciones para cerdos. Tesis Maestría. UCV, Maracay. 81 pp.
41. Ragaldo Yépez. 2009. "Estudio de la generación de biogás y fertilizante orgánico utilizando desechos orgánicos". Tesis de grado Universidad de San Francisco de Quito.
42. Rittmann Bruce E., 2000. "Biotecnología del Medio Ambiente: principios y aplicaciones". Ed. Mc GrawHill
43. Rolando Chamy y Vivanco Elva. 2007. "potencial del biogás " Proyecto Energías Renovables No Convencionales en Chile.
44. Ronald M. Atlas, Richard Bartha. 2002."Ecología microbiana y microbiología ambiental"
45. Rossum, J.R, Villaruz, P.A., Wade, J.A. 1935. "A new method for determining methane in water" American Water Works Association.
46. Salas Gonzales Raul, Cruz Romero Oscar, Vidal del Rio Mildre y Ponce-palafox Jesus Trinidad, 2010. "Alternativas ecotecnológicas en la depuración de aguas residuales derivadas de la acuicultura y la producción animal" Centro de Estudio de Acuicultura, Universidad de Granma
47. Sterling, 1989. "Handbook of Waste Management and Co-Product Recovery in Food Processing"

48. Valderrama L., Campos C., Velandia S., Zapata N. 2010 “Evaluación del efecto del tratamiento con plantas acuáticas (*E. crassipes*, *Lemna* sp y *L. Laevigatum*) en la remoción de indicadores de contaminación fecal en aguas residuales domesticas” Universidad Javeriana.

49. Zeew. 1987 “Handbook of Water and Wastewater Microbiology”



## ANEXOS

### FOTOS TOMADAS DURANTE LA REALIZACION DEL ESTUDIO



**FIGURA N°1.** Estado actual de la bahía del lago Titicaca.



**FIGURA N°2.** Lugar de la toma de muestra N°1.



**FIGURA N°3.** Almacenamiento de la lenteja de agua.



**FIGURA N°4.** Almacenamiento de la lenteja de agua



**FIGURA N°5.** Carga del bioreactor con la lenteja de agua.



**FIGURA N°6.** Estimación de la producción diaria de biogás por el método de las botellas.



**FIGURA N°7.** En las botellas se pueden apreciar las medidas tomadas diariamente correspondientes al espacio creado por el desplazamiento del líquido.



**FIGURA N°8.** Método de las botellas para la determinación de la producción del biogás. Tiempo de retención: día 10.



**FIGURA N°9.** Armado del método no convencional para la medición del porcentaje de metano.





**FIGURA N°10.** Se observa todo el sistema no convencional armado y en proceso de medición.



**FIGURA N°11.** Primera botella de Mariotte conectada al bioreactor para recolección de biogás y su medición. Se observa el papel milimetrado unido a la botella para escalar su volumen.



**FIGURA N°12.** Primera botella de Mariotte. Se observa el desplazamiento del líquido producido por el ingreso del biogás proveniente del bioreactor. Papel milimetrado para escalar el volumen de la botella.



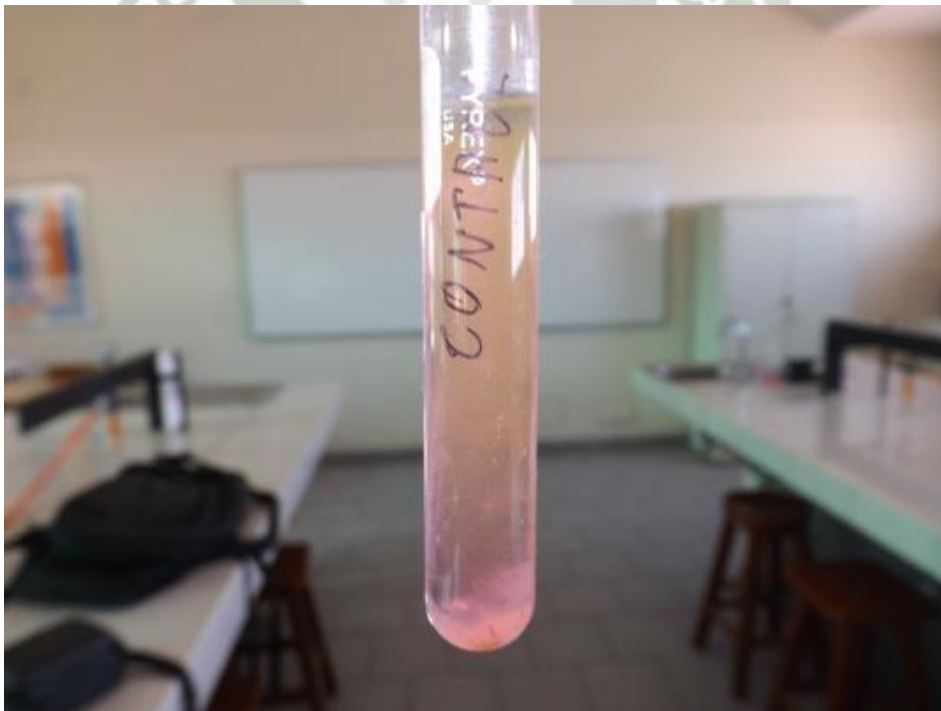
**FIGURA N°13.** Matraz conteniendo el medio líquido MB para el aislamiento bacteriano



**FIGURA N°14.** Agares en placa Petri, con el micelio vegetativo notable



**FIGURA N°15.** Placa Petri conteniendo las siembras de las tortas I y II así como el control de clostridium.



**FIGURA N°16.** Tubo de ensayo conteniendo el medio liquido MC con el control de clostridium.



**FIGURA N°17.** Vista microscopia de las bacterias aisladas en el agar MC.





UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEÚTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS  
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD



Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ +51 54 251210 ANEXO 1166  
laboratorioensayoucsm@gmail.com http://www.ucsm.edu.pe Aptdo. 1350  
AREQUIPA - PERU



INFORME DE ENSAYO  
N° DE INFORME: ANA26E14.001235

**Nombre del Cliente** : HERBERT RAMIREZ RODRIGUEZ  
**Dirección del Cliente** : CALLE SAN JOSE 105 CERRO COLORADO  
**RUC** : NO DECLARA  
**Condición del Muestreado** : Por el cliente  
**Descripción** : BIOGAS A BASE DE LENTEJA DE AGUA  
**Tamaño de muestra** : 500 cm<sup>3</sup>  
**Fecha de Recepción** : 16/06/2014  
**Fecha de Inicio del Ensayo** : 16/06/2014  
**Fecha de Emisión de Informe** : 18/06/2014  
**Página** : 1 de 1

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

ANALISIS	RESULTADO
Determinación instrumental con sensores infrarrojos y electroquímico Analizador de gases Multitech 450 Sewerin	
Metano ( CH <sub>4</sub> ) (%)	26.4
CO <sub>2</sub> (%)	19.8
O <sub>2</sub> (%)	6.1
H <sub>2</sub> S (ppm)	NO DETECTABLE

OBSERVACIONES:

Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INDECOPI-CRT

Ricardo A. Abril Ramirez  
CQFDA 00624  
JEFE DE LABORATORIO LECC



Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

**FIGURA N°18.** Certificado escaneado de los resultados de la concentración de metano en el biogás.



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS  
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD



Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ +51 54 251210 ANEXO 1166  
✉ laboratorioensayoucsm@gmail.com 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📍 Aptdo. 1350  
AREQUIPA - PERU

INFORME DE ENSAYO  
N° DE INFORME: ANA10F14.001254



<b>Nombre del Cliente</b>	: HERBERT RAMIREZ RODRIGUEZ
<b>Dirección del Cliente</b>	: CALLE SAN JOSE 105 CERRO COLORADO
<b>RUC</b>	: NO DECLARA
<b>Condición del Muestreado</b>	: Por el cliente
<b>Descripción</b>	: BIOGAS A BASE DE LENTEJA DE AGUA
<b>Tamaño de muestra</b>	: 500 cm <sup>3</sup>
<b>Fecha de Recepción</b>	: 10/06/2014
<b>Fecha de Inicio del Ensayo</b>	: 10/06/2014
<b>Fecha de Emisión de Informe</b>	: 12/06/2014
<b>Página</b>	: 1 de 1

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

ANALISIS	RESULTADO
Determinación instrumental con sensores infrarrojos y electroquímico	
Analizador de gases Multitech 450 Sewerin	
Metano ( CH <sub>4</sub> ) (%)	26.9
CO <sub>2</sub> (%)	17.5
O <sub>2</sub> (%)	4.0
H <sub>2</sub> S (ppm)	NO DETECTABLE


**OBSERVACIONES:**  
Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INDECOPI-CRT

  
Q.F. Juan Ramirez Orellana  
O.C.F.A. 052  
DIRECTOR TÉCNICO LECC





Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

**FIGURA N°19.** Certificado escaneado de los resultados de la concentración de metano en el biogás.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEÚTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ +51 54 251210 ANEXO 1166  
laboratorioensayoucsm@gmail.com http://www.ucsm.edu.pe Apto. 1350  
AREQUIPA - PERU

**INFORME DE ENSAYO**  
**Nº DE INFORME: ANA26E14.001235**

---


<b>Nombre del Cliente</b>	: HERBERT RAMIREZ RODRIGUEZ
<b>Dirección del Cliente</b>	: CALLE SAN JOSE 105 CERRO COLORADO
<b>RUC</b>	: NO DECLARA
<b>Condición del Muestreado</b>	: Por el cliente
<b>Descripción</b>	: BIOGAS A BASE DE LENTEJA DE AGUA
<b>Tamaño de muestra</b>	: 500 cm <sup>3</sup>
<b>Fecha de Recepción</b>	: 26/05/2014
<b>Fecha de Inicio del Ensayo</b>	: 26/05/2014
<b>Fecha de Emisión de Informe</b>	: 29/05/2014
<b>Página</b>	: 1 de 1

---


**I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:**

ANALISIS	RESULTADO
Determinación instrumental con sensores infrarrojos y electroquímico	
Analizador de gases Multitech 450 Sewerin	
Metano ( CH <sub>4</sub> ) (%)	26,7
CO <sub>2</sub> (%)	20,0
O <sub>2</sub> (%)	5,5
H <sub>2</sub> S (ppm)	NO DETECTABLE

**OBSERVACIONES:**  
Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INDECOPI-CRT



Ricardo A. Abril Ramirez  
COFDA 00624  
JEFE DE LABORATORIO LECC



Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

**FIGURA N°20.** Certificado escaneado de los resultados de la concentración de metano en el biogás.