

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1 Objetivo General	5
2.2 Objetivos Específicos.....	5
3. HIPÓTESIS	6
4. JUSTIFICACIÓN	7
5. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	8
5.1 Etapas de la Digestión Anaerobia	8
5.2 Factores Influyentes en la Digestión Anaerobia	12
• Temperatura.....	12
• Relación Carbono- Nitrógeno.....	13
• Control de pH.....	14
• Bacterias Adecuadas.....	15
• Inhibición del sistema.....	15
5.3 Sistema de Bioconversión en dos etapas.....	16
5.4 Características del biogás.....	16
5.4.1 Utilización del biogás.....	19
5.5 Uso del Bioabono.....	20
5.6 Macroalgas como Materia Prima	22

6. METODOLOGIA	24
6.1 Materiales.....	24
6.1.1 Algas Marinas	24
6.1.2 Medio de cultivo	24
6.1.3 Nutrientes	24
6.1.4 Equipos.....	25
6.2 Operación normal del sistema.....	27
6.3 Generación y acondicionamiento flora microbiana	29
6.4 Condiciones de operación del sistema	30
6.5 Métodos analíticos para el control del sistema	31
6.5.1 Cuantificación de Biomasa	33
6.5.2 Determinación de la velocidad específica de crecimiento	34
6.5.3 Determinación de la concentración de metano	35
6.5.4 Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO).....	36
6.5.5 Determinación de la concentración de CO ₂ , H ₂ S y NH ₃	39
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
7.1 Etapa de aclimatación con algas	40
7.2 Curva de crecimiento.....	44
7.3 Mediciones al sistema de Bioconversión Anaerobio	46
7.3.1 Sistemas individuales (ASBR Y UAF).....	46
7.3.2 Mediciones en el sistema completo.....	50
• Acumulación de biogás.....	50
• Producción diaria de biogás y variación de DQO.....	51
• Producción diaria específica de biogás.....	53
• Porcentaje de metano y producción de biogás.....	56
• Variación de pH y temperatura.....	59
• Variación de sólidos totales y volátiles.....	63
7.4 Análisis Elemental	67
7.5 Balances de masa.	68
7.5.1 Balance global al carbono	69
8. CONCLUSIONES	73
9. SUGERENCIAS	76



10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
11. ANEXOS	81

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Formación de Biogás en el proceso Anaerobio.	11
Figura 2. <i>Macrosystis Pyrifera</i>	23
Figura 3. Sistema de Bioconversion en dos etapas	27
Figura 4. Montaje real del sistema de Bioconversión Anaerobia en dos etapas.	28
Figura 5. Acondicionamiento de la flora microbiana.	29
Figura 6. Cromatógrafo de gases.	35
Figura 7. Acondicionamiento con algas (37 días).	40
Figura 8. Acumulación de gas en el sistema completo.	41
Figura 9. Variación de pH y Temperatura en la etapa de aclimatación.	43
Figura 10. Concentración de Biomasa en el biodigestor y biofiltro.	45
Figura 11. Volumen de biogás acumulado por el Biodigestor.	47
Figura 12. Volumen de Biogás acumulado por el Biofiltro.	47
Figura 13. Producción diaria de biogás y variación de DQO en ambos reactores, etapa individual.	49
Figura 14. Biogás acumulado en el sistema completo para cada etapa.	50
Figura 15. Producción de biogás y variación de DQO en ambos reactores etapa I	52
Figura 16. Producción de biogás y variación de DQO en ambos reactores etapa II.	52
Figura 17. Producción de biogás y variación de DQO en ambos reactores etapa III	53
Figura 18. Producción diaria específica de biogás para la etapa I.	54
Figura 19. Producción diaria específica de biogás para la etapa II.	55
Figura 20. Producción específica de biogás para la etapa III.	55
Figura 21. Porcentaje de metano y producción diaria de biogás para la etapa I	57

Figura 22. Porcentaje de metano y producción de diaria de biogás para la etapa II.....	58
Figura 23. Porcentaje de metano y producción diaria de biogás para la etapa III.	58
Figura 24. Variación de pH y temperatura en ambos biorreactores para la etapa I	60
Figura 25. Variación de pH y temperatura en ambos biorreactores para la etapa II.....	61
Figura 26. Variación de pH y temperatura en ambos biorreactores para la etapa III.....	62
Figura 27. Variación de sólidos totales y volátiles en ambos biorreactores etapa I.....	64
Figura 28. Variación de sólidos totales y volátiles en ambos biorreactores etapa II.....	65
Figura 29. Variación de sólidos totales y volátiles en ambos biorreactores etapa III.....	66
Figura 30. Flujos másicos en el sistema global.....	68
Figura 31. Porcentaje de carbono transformado a biogás, AGV y lodo.....	72
Figura 32. Curva de calibrado para el biodigestor anaerobio.....	83
Figura 33. Curva de calibrado para el biofiltro anaerobio.....	83
Figura 34. Curva de calibrado para determinación de metano.....	84

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Relación entre el periodo de fermentación y la temperatura .	12
Tabla 2.	Rangos de temperatura para la fermentación anaeróbica.	13
Tabla 3.	pH óptimo en la producción de biogás.	14
Tabla 4.	Composición típica del biogás producido en la Digestión Anaerobia.	17
Tabla 5.	Porcentajes típicos de metano para diferentes materias primas.	18
Tabla 6.	Combustibles típicos y su poder calorífico.	19
Tabla 7.	Duración mínima de 1m ³ de biogás para diferentes artefactos.	20
Tabla 8.	Tiempos experimentales para el ASBR.	28
Tabla 9.	Mezclas añadidas al sistema en la etapa de acondicionamiento.	30
Tabla 10.	Condiciones de Operación del Sistema.	31
Tabla 11.	Parámetros medidos durante la operación del sistema.	32
Tabla 12.	Condiciones de Trabajo para el Cromatógrafo de gases.	36
Tabla 13.	Reactivos y soluciones utilizadas en la determinación de DQO.	37
Tabla 14.	Rangos de concentración para columnas de detección de gases.	39
Tabla 15.	Análisis elemental.	67
Tabla 16.	Flujo másico de carbono diario para cada etapa experimental.	70
Tabla 17.	Detalle de los flujos y concentraciones.	85



INDICE DE ANEXOS

A. Cálculo del carbono total.....	81
B. Curva de calibrado.....	83
C. Curva de calibrado para el metano	84
D. Flujos y concentraciones	85

RESUMEN

La búsqueda de energías alternativas, es un tema presente en países desarrollados, la contribución a la contaminación ambiental por el uso de combustibles convencionales derivados de materiales fósiles, sumado al costo que involucra su obtención y su carácter finito, genera la necesidad de destinar mayores recursos y tiempo a las investigaciones relacionadas con este tema. Bajo estos términos la *digestión anaerobia* se presenta como una alternativa efectiva, al convertir biomasa en energía. Su desarrollo consiste en transformar los compuestos complejos de la materia orgánica en compuestos mucho más simples, a través de, tres etapas: hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis, es en esta última etapa donde se genera un gas combustible compuesto aproximadamente por un 60% de metano y un 40 % de dióxido de carbono llamado Biogás, y como producto secundario, un sólido con características fertilizantes. La materia prima que se utilizó en este proyecto son las algas marinas, en primer lugar por su abundancia a lo largo de todo nuestro país, además, su estructura contiene polisacáridos que son transformados a metano de manera eficaz. El objetivo del estudio es maximizar la generación de biogás, a través de, mezclas de algas marinas, en un sistema de digestión anaerobio en dos fases, donde las etapas degradativas de la digestión anaerobia son divididas físicamente. Para este fin fue necesario conocer las variables de mayor influencia en el proceso, realizar un montaje y puesta en marcha a escala laboratorio, realizar las mediciones de cantidad y calidad de biogás, variación de DQO y sólidos volátiles en ambos reactores, obteniéndose como resultados 16 L de biogás promedio con 65% de metano, además se pudo observar que no existía mayor diferencia entre las algas utilizadas y la mezcla entre ellas, respecto de la cantidad de biogás y el porcentaje de metano.

ABSTRACT

The search for alternative energy is a current issue in developed countries. The conventional fuels contribution to the environmental contamination, the cost associated to its obtaining and its limited character generates the concern in dedicating bigger resources and more time to the research related with it. According to these terms, the anaerobic digestion seems to appear as an effective alternative to converting biomass into energy. Their process consists on transforming the complex organic matter compounds into simplest compound through three stages: hydrolysis, acidogenesis and methanogenesis. In this last stage is where it is generated a combustible gas, called biogas, constituted approximately by 60% of methane and 40% of carbon dioxide. In addition it is also obtained a solid that has characteristics of fertilizer. In this project, a marine algae is proposed as raw material for production of biogas due to its abundance along all our country and also due to its structure that contains polysaccharides that are transformed to methane effectively by the anaerobic digestion process. The objective of this project is to maximize the biogas generation through different marine algae mixes in a two-stage anaerobic digestion system, which has of two reactors. In order to fulfill this objective it is necessary to know the variables that cause major influence to the process, assembly and start-up of the process at lab scale, quantify the amount and quality of the biogas, monitoring the chemical oxygen demand (COD) and volatile solids (VS) in both reactors of the system. As a result it is obtained the type of pure algae or a mix of it that generates the best results in getting biogas.



1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la sociedad humana esta basado en el consumo de grandes cantidades de energía. La energía que circula por los ecosistemas y permite vivir a los seres vivos procede en última instancia del sol. Sin embargo, la mayor parte de la energía se utiliza procede de los recursos naturales existentes en nuestro planeta, principalmente del carbón y del petróleo (Finck, 1992). Los principales recursos energéticos que utilizamos (carbón, petróleo y gas natural) son limitados y, por lo tanto, pueden agotarse, además, su utilización provoca un gran impacto ambiental en la biósfera al contaminar el aire, el agua y el suelo (Chinoweth, 2002). Estos hechos han generado un interés creciente por el desarrollo de nuevas tecnologías para la utilización de fuentes de energía renovables alternativas (Flotats *et al.*, 2000).

En la era contemporánea la necesidad de disponer de estas fuentes de energía aprovechables se ha convertido en algo imprescindible para el ser humano. Se calcula que las reservas de fuentes de energía convencionales existentes en la Tierra pueden durar todavía varios cientos de años, esto implica que una crisis energética real por la ausencia de estos productos, no se va a producir durante, al menos, en el presente siglo; no obstante, la extracción de esta energía es cada vez mas costosa (Jeason *et al.*, 2000). A la vista de estos inconvenientes se han puesto en marcha, diversos proyectos de investigación sobre otras fuentes de energía que puedan resultar rentables, es decir, menor dependencia del mercado convencional, desarrollo de la economía local, creación de puestos de trabajo, etc. Adicionalmente, estas tecnologías pueden disminuir la contaminación del medio ambiente, causada por las emisiones de gases de los sistemas

convencionales, los cuales contribuyen al efecto invernadero y al calentamiento global de nuestro planeta (Veeken *et al.*, 2002). Existen diversos procesos para convertir la biomasa en energía, estos procesos utilizan las características bioquímicas de la biomasa y la acción metabólica de los microorganismos para producir combustibles, siendo el más importante la digestión anaerobia, proceso en que la biomasa a través de las bacterias generan un gas combustibles llamado biogás, que es una mezcla de metano y dióxido de carbono, además la materia sólida remanente del proceso es un buen fertilizante orgánico (Jeason *et al.*, 2002). La utilización de distintos desechos y mezclas de estos, para producir biogás, se considera una tecnología multipropósito, ya que compite en tres áreas muy diferentes, que son los mercados de fuentes energéticas, en el de los abonos, y en el de tratamiento de residuos (Finck, 1992).

En el mercado de los energéticos, el biogás compite con la leña, el gas propano y la electricidad; fuentes energéticas utilizadas usualmente en la cocción; con el kerosene, las velas y la electricidad en la iluminación, sobre todo en lugares donde el servicio es deficiente o no existe; con el gas propano y la electricidad en la refrigeración y con la gasolina o el diesel, como combustible para motores (Flotats *et al.*, 2000).

Por otro lado en el mercado de los abonos, el sólido generado en el proceso compite con el estiércol fresco y con los fertilizantes químicos; ya que permite un ahorro de la cantidad de otros abonos convencionales sin disminuir la productividad. En el mercado de tratamiento de residuos; la producción de biogás puede imponerse sobre sistemas de tratamiento tradicionales, que son de mayor costo.

Lo anterior permite confirmar que esta tecnología, genera productos importantes que pueden sustituir a productos que tienen amplia demanda actualmente.

El proceso anaerobio consta de tres etapas fundamentales que ocurren simultáneamente; Hidrólisis, etapa en la cual las bacterias Hidrolíticas actúan sobre los compuestos orgánicos de gran tamaño del sustrato, tales como celulosa, almidones, proteínas y grasas entre otras, transformándolos por hidrólisis en compuestos orgánicos solubles (Angelidaki, 1997). La segunda etapa es la acetogénesis, donde los productos finales de la etapa anterior son transformados en acetato, hidrógeno y CO₂ por un grupo de bacterias que aportan aproximadamente el 54% del hidrógeno que se utilizará en la formación de metano. La función de estos microorganismos en el proceso de digestión anaerobia es generar los sustratos (hidrógeno, CO₂ y acetato) para las bacterias metanogénicas (Veecken *et al.*, 2002).

Finalmente en la etapa metanogénica actúan las bacterias especializadas, degradando estos ácidos y alcoholes, obteniéndose como productos finales del proceso metabólico gas metano, principal componente del biogás y por otro lado bioabono utilizado como fertilizante, por su riqueza en determinados nutrientes (Soria, 2000). Dentro de los sustratos utilizados existen algunos muy estudiados como las aguas residuales urbanas, purines de cerdo, estiércol de vaca y residuos orgánicos industriales, sin embargo hay sustratos o mezclas de estos que despiertan gran interés por conocer la productividad que pueden alcanzar al tratarlos con sistemas de bioconversión anaerobio, es el caso de los recursos marinos como las macroalgas o también llamados algasos (Chinoweth, 2002).

Las algas marinas son un recurso atractivo para el proceso de digestión anaerobia y genera rendimientos de gas que son comparables o mejor que otros sustrato, según las estructuras de los polisacáridos de las algas marinas, éstas debieran ser convertidas eficazmente a metano, junto con ello las algas presentan altas concentraciones de agua (70% - 90%) y un contenido bajo de lignina lo que favorece la producción, constituyendo un sustrato conveniente (Chinoweth, 2002).

Chile con más de 4000 Km de costa, posee gran variedad de algas, existen sobre 350 especies de algas bentónicas, de las cuales no más de 15 tienen clara importancia económica, por lo tanto, existe gran cantidad que no se utilizan, que forman parte de los desechos que se pueden observar en el litoral durante todo el año (Santelices, 1996). Dentro de las especies más conocidas encontramos el **Cochayuyo** (*Durvillea Antarctica*), **Luche** (*Porphyra columbina*), **Pelillo** (*garciolaria sp*), **Huiro** (*Macrocystis Pyrifera*), **Chascon** (*Lesonia Nigrescens*), entre otras. De las algas recién mencionadas el Huiro, el Luche y el Cochayuyo, son más abundantes, es común encontrarlas a lo largo de todo el litoral Chileno (Avila, 2002).

Específicamente en la IX región, se encuentran distribuidas en los sectores de Puerto Saavedra, Toltén, Nigue, Queule, Cheuque, entre otras, casi no existe comercialización de estas, ya que la recolección es de tipo artesanal, por lo mismo son susceptibles de ser utilizadas para este tipo de investigaciones. Debido a lo antes mencionado, el estudio de las algas y sus mezclas, como sustrato para la producción de biogás y fertilizante suena atractiva, por su abundancia y fácil recolección.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- ❖ Maximizar la obtención de biogás y fertilizante a partir de la mezcla de algas marinas, degradadas en un sistema de bioconversión anaerobio en dos etapas.

2.2 Objetivos Específicos

- ❖ Determinar las variables de operación involucradas en el sistema anaerobio en dos etapas para la producción de biogás y fertilizantes.
- ❖ Evaluar y seleccionar distintas algas y sus mezclas para el proceso de bioconversión.
- ❖ Realizar el montaje y puesta en marcha del sistema de bioconversión.
- ❖ Analizar la evolución de la generación y composición del biogás a través del tiempo, utilizando algas puras y sus mezclas.

3. HIPÓTESIS

Las mezclas de algas marinas constituyen un sustrato adecuado para la obtención de biogás y fertilizantes, debido a que presentan un efecto sinérgico en la cinética de biodegradación y maximiza la producción de gas en condiciones de operación óptimas.

4. JUSTIFICACIÓN

Este tipo de investigaciones generan lineamientos en la búsqueda de nuevas alternativas energéticas a nivel regional y nacional, hoy en día posee especial importancia por la difícil situación energética que vive Chile, producto de la fuerte dependencia de combustibles proveniente de otros países. Este tipo de estudios ofrece una alternativa real para el futuro, ya que pueden ser el comienzo del diseño de plantas pilotos para la producción de biogás, que posteriormente se puede utilizar como combustible en calderas, requerimientos domésticos e incluso en motores de combustión interna adaptados. También se podría abastecer de electricidad a pequeñas comunidades, donde este bien es escaso o no existe, tal como ocurre en países donde esta tecnología se usa desde hace décadas. De la misma forma la implementación de este tipo de tecnologías, en lugares de extrema pobreza, mejoraría la calidad de vida de las personas del lugar, ya que además del beneficio que genera el biogás y el fertilizante en si, pueden generarse puestos de trabajo en las diferentes etapas del proceso tal como recolección de algas, transporte de algas y funcionamiento de la planta aportando de esta manera al desarrollo de la comuna y de la región en general. El biogás es un combustible limpio, no aporta al efecto invernadero y al calentamiento global como los combustibles convencionales, siendo entonces una opción para reducir la contaminación atmosférica global. Por otra parte esta investigación puede servir de base para futuros estudios en la dirección de optimizar el proceso de biodigestión y llevarlo a una escala mayor en la producción de biogás, mediante grupos de investigación y tesis de la carrera de Ingeniería Civil Ambiental. Algunos de los futuros estudios tenderían a la búsqueda de alternativas para la limpieza del biogás, o utilización de nuevos sustratos y/o mezclas de éstos.

5. FUNDAMENTO TEÓRICO

5.1 Etapas de la Digestión Anaerobia

La materia orgánica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos a menos que se hidrolicen en compuestos solubles que puedan atravesar la membrana celular, la hidrólisis es, por tanto, el primer paso necesario para la degradación anaerobia, como muestra la figura 1, (Angelidaki, 1997). Las bacterias que participan en esta etapa son las Hidrolíticas, que producen ácido acético, compuestos monocarbonados, ácidos grasos orgánicos y otros compuestos policarbonados, ejemplos de las bacterias hidrolíticas son las *enterobacterias*, bacterias *aerotolerantes* como las bacterias del ácido láctico, y bacterias anaerobias estrictas como *Clostridium*, *Bacteroides*, *Propionibacterium* y *Selenomonas* (Sanders, 2001). Las *Enterobacterias* como la *E. Coli* tienen una enzima formiato liasa responsable de la generación de hidrógeno a partir de formiato. Las bacterias del ácido láctico producen a partir del azúcar ácido láctico y etanol dependiendo si son homo o heterofermentativas.

En esta etapa las bacterias, actúan sobre los componentes orgánicos del sustrato, tales como celulosa, almidones, proteínas y grasas entre otras, transformándolos por hidrólisis en compuestos orgánicos solubles, de esta forma los carbohidratos se convierten en azúcares simples; las grasas, en ácidos grasos y glicerol y las proteínas se desdoblan en polipéptidos y aminoácidos, liberando también CO_2 e H_2 . Posteriormente, esos productos son convertidos a ácidos orgánicos, fundamentalmente butírico, propiónico y acético (Angelidaki, 1997).

La hidrólisis depende de variables como pH, temperatura, concentración de biomasa hidrolítica, tipo de materia orgánica y tamaño de partícula. En general la tasa de hidrólisis aumenta con la temperatura independiente del sustrato utilizado, y disminuye cuando existe en la composición del sustrato una alta cantidad de lignina, este compuesto es altamente refractario a la degradación anaerobia, afectando la biodegradabilidad del sustrato (Veeken *et al.*, 2002).

En la etapa **Acidogénica o Fermentativa**, las moléculas orgánicas solubles son fermentadas, formando compuestos que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas. Los productos finales de la etapa anterior son transformados en acetato, hidrógeno y CO₂ por un grupo de bacterias que aportan aproximadamente el 54% del hidrógeno que se utilizará en la formación de metano. La función de estos microorganismos en el proceso de la digestión anaerobia es ser donantes de hidrógeno, CO₂ y acetato para las bacterias metanogénicas (Bonmanti *et al.*, 2001).

Existen dos tipos de microorganismos que producen acetato, las bacterias Homoacetogénicas las cuales fermentan el acetato como único metabolito y las bacterias Acetogénicas las que metabolizan los productos terminales de la etapa acetogénica y necesitan asociarse estrechamente a microorganismos consumidores de hidrógeno (Flotats, 1997). Por otra parte existen las bacterias sulfato reductoras, este tipo de microorganismos se da por oxidación de compuestos orgánicos, y reducción de sulfato a sulfuro. Se subdividen en dos grupos: oxidadores completos que producen CO₂, H₂O y sulfuro, y oxidadores incompletos cuyos productos son acetato, CO₂ y sulfuro.

La **metanogénesis** es el punto final del proceso, donde actúan las bacterias metanogénicas, degradando estos ácidos y alcoholes, obteniéndose como productos finales del proceso metabólico, gas metano (CH_4), CO_2 , y trazas de H_2O , NH_3 y biomasa. Según Chinoweth (2002), esta etapa constituye el paso limitante del proceso de degradación anaerobia. Las bacterias metanogénicas, pertenecen al Reino de las Arqueobacterias, y de acuerdo a los sustratos que pueden degradar, se dividen en:

- Hidrogenotróficos: Estas bacterias son capaces de producir metano a partir de hidrógeno como dador de electrones y anhídrido carbónico como fuente de materia orgánica.
- Metilótrofos: Metabolizan compuestos como metilaminas y metilsulfuros.
- Acetoclásticos: Producen metano y anhídrido carbónico a partir de acetato.

El mayor número de especies de bacterias metanogénicas pertenecen al primer grupo. Los géneros de metanobacterias hidrogenofílicas mesófilas mas frecuentes en reactores anaerobios son: *Methanobacterium*, *Methanospirilum*, *Methanobrevibacter*.

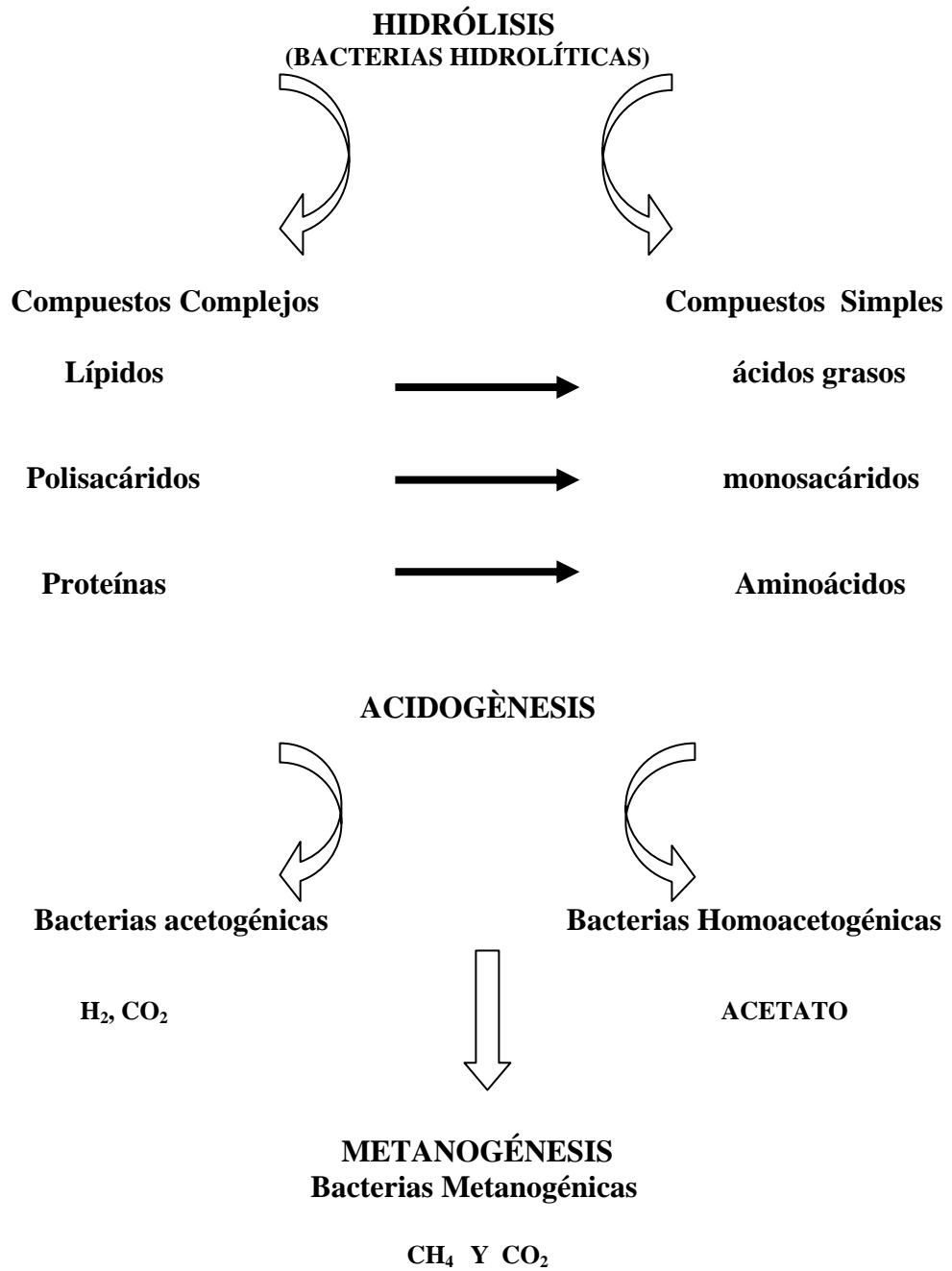


Figura 1. Formación de Biogás en el proceso Anaerobio.

5.2 Factores Influyentes en la Digestión Anaerobia

Como todo proceso biológico, la digestión anaerobia debe ser controlada, pues existen diversos factores que influyen considerablemente en el éxito o no de la misma (Finck, 1992). Un desbalance en alguno de estos factores puede provocar la ruptura del equilibrio entre las comunidades microbianas y por consiguiente el no funcionamiento del sistema, la no producción de biogás y fertilizante (Flotats, 1997). A continuación se relacionan los factores de mayor importancia que influyen en este proceso fermentativo.

- **La temperatura**

Es una variable muy importante ya que a medida que aumenta la temperatura también aumenta la actividad metabólica de las bacterias (Veeken *et al.*, 2000), requiriéndose menor tiempo de retención para que se complete el proceso de fermentación, tal como muestra la Tabla 1.

Tabla 1. Relación entre el periodo de fermentación y la temperatura.

Temperatura °C	8	10	15	20	27	37
Tiempo (días)	120	90	60	45	38	30

A mayor temperatura se obtiene mayor agilidad en el desarrollo del proceso, permitiéndose la posibilidad de emplear dimensiones menores en el reactor, no obstante lo anterior, cuando se trabaja a temperaturas muy elevadas el proceso puede dejar de ser rentable, por lo cual es común que los digestores operen en un rango mesofílico. La Tabla 2, muestra los valores maximos, minimos y óptimos a los cuales puede operar una fermentación anaerobia.

Tabla 2. Rangos de temperatura para la fermentación anaeróbica.

	Rangos, °C		
Fermentación	Mínimo	Optimo	Máximo
Sicrofilica	4 - 10	15 - 18	25 - 30
Mesofilica	15 - 20	28 - 33	35 - 45
Termofilico	25 - 45	50 - 60	75 - 80

Fuente: FAO, 1996

- **Relación carbono/ nitrógeno**

Los materiales de fermentación están compuestos en su mayor parte por carbono (C) y nitrógeno (N). Si el contenido de este último es muy alto, la reproducción de las bacterias se inhibe debido a la alta alcalinidad. Lo ideal es una relación C/N de 20:1 a 30:1; relaciones C/N menores; por ejemplo 8:1, inhiben la actividad bacteriana por excesivo contenido de amonio. La concentración de amoníaco en el material de fermentación debe ser menor de 2000 mg/L (Flotats *et al.*, 2000).

- **Control del pH**

Es de vital importancia para el sistema, ya que una disminución del pH puede traer como resultado la inhibición del crecimiento de las bacterias metanogénicas, ello hace que disminuya la producción de metano y aumente el contenido de dióxido de carbono y se produzcan olores desagradables por el aumento del contenido de sulfuro de hidrógeno (Lay *et al.*, 1998).

De manera general, el pH se mantiene bastante estable a pesar de la producción de ácidos por las bacterias, ya que en el medio fermentativo se generan sustancias tampones que garantizan un rango de pH adecuado. Además, la velocidad de formación de ácido depende de la velocidad de la conversión a biogás. Se acepta generalmente que los valores óptimos del pH oscilen entre 5.5 y 8.0, sin embargo en el sistema de dos etapas el pH recomendado depende de la fase anaerobia, tal como muestra la Tabla 3.

Tabla 3. pH óptimo en la producción de biogás.

Valor de pH	Etapla hidrolítica	Etapla metanogénica
Valor típico	5.0 - 6.0	6.5 - 7.5
Valor óptimo	5.5 - 5.7	6.8 - 7.2

Fuente: FAO, 1996

- **Bacterias adecuadas**

Debe existir una proporción óptima de ambas poblaciones bacterianas, metanogénicas y no metanogénicas, lo cual se garantiza con un previo inóculo, el cual desarrolla suficientes sustancias amortiguadoras para mantener los valores deseados de pH y que cubren casi totalmente las altas demandas de condiciones anaeróbicas por las bacterias metanogénicas (Angelidaki, 1997).

- **Inhibición del sistema**

Los porcentajes más favorables de sólidos totales en el medio de fermentación, deben estar entre 5 y 10%, ya que valores de 15% en adelante tienden a inhibir el proceso (Sanz, 1996). Los metales pesados, los antibióticos, concentraciones elevadas de amoníaco, sales minerales y algunas sustancias como detergentes y pesticidas, son productos que inhiben el proceso de producción de biogás (Flotats, 1997), no deben existir en el sistema condiciones que faciliten la entrada de oxígeno ni presencia de compuestos que se oxiden y liberen oxígeno, como por ejemplo, los nitratos; pues las bacterias metanogénicas demandan condiciones de estricta anaerobiosis.

5.3 Sistema de Bioconversión en dos etapas

El proceso de digestión anaerobia en dos etapas tiene los mismos pasos degradativos y cinéticos que la digestión convencional, pero están físicamente separadas, desarrollándose en la primera etapa las reacciones de hidrólisis de las macromoléculas y fermentación de los monómeros, y en la segunda etapa las reacciones de acetogénesis y metanogénesis (Solera *et al.*, 2002).

El proceso de digestión anaerobio en dos etapas es más ventajoso que el sistema convencional ya que permite la selección y enriquecimiento de diferentes tipos de bacterias en cada reactor. Además el sistema en dos etapas permite un mayor control sobre las variables más sensibles como la temperatura y pH, ya que en los sistemas de una etapa, es muy difícil mantener un pH que favorezca tanto la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) como de metano, por lo general se produce una acumulación de AGV que genera una descenso en el pH, lo cual afecta directamente la formación de metano, lo que se traduce en un sistema más inestable, a diferencia de los sistemas de dos etapas, donde la bioconversión a biogás es mucho más eficiente, obteniéndose cantidades mayores de metano (Solera *et al.*, 2002)

5.4 Características del biogás

El producto principal de la digestión anaerobia es el biogás, mezcla gaseosa de metano (50 a 70%) y dióxido de carbono (30 a 50%), con pequeñas proporciones de otros componentes (nitrógeno, oxígeno, hidrógeno, sulfuro de hidrógeno) como se muestra en

la Tabla 4, y cuya composición, depende tanto de la materia prima como del proceso en sí. Aunque la composición del biogás depende de muchas variables, es posible determinar un rango típico de sus componentes (Flotats *et al.*, 2000)

Tabla 4. Composición típica del biogás producido en la Digestión Anaerobia.

Gas	Formula	Porcentaje %	Densidad (kg/m ³)
Metano	CH ₄	50-70	0.717
CO ₂	CO ₂	30-40	1.917
Nitrógeno	N ₂	1-2	1.250
Hidrógeno	H ₂	5-10	0.090
Sulfuro de hidrógeno	H ₂ S	trazas	1.539

Fuente: Estudio de la Producción de Biogás en una Unidad Experimental de un Relleno Sanitario. De la Fuente, 1995.

La materia orgánica, constituye el sustrato fundamental para la producción de biogás. El material de fermentación puede ser de origen animal, tales como estiércol del ganado vacuno, cerdos, ovejas, caballos, aves, otras de origen vegetal, tales como pulpa de café, hojas de papa, desechos de banana, remolachas, cascarilla de arroz y otras; desechos de cultivos acuáticos como algas marinas, maleza acuática y de origen doméstico, aguas residuales de letrina y cocina, sin contenido de jabón (Finck,1992; Flotats *et al.*, 2000),variando su porcentaje de metano según se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Porcentajes típicos de metano para diferentes materias primas.

Materia Prima	% Metano	% CO₂
Estiércol de gallina	60	40
Estiércol de cerdo	67	33
Pastos y vegetales	70	30
Desperdicio domiciliarios	50	50
Cascarilla de arroz	55	45

Fuente: Instituto de Investigaciones Tecnológicas, 2003

El biogás es un poco más liviano que el aire y posee una temperatura de inflamación de alrededor de los 700 ° C (Diesel 350 ° C, gasolina y propano alrededor de los 500 ° C), la temperatura de la llama alcanza 870 ° C (Chinoweth, 2002). Entre más largo es el tiempo de retención, más alto es el contenido de metano, y con esto el poder calorífico. Con tiempos de retención cortos el contenido de metano puede disminuir hasta en un 50%. Con un contenido de metano mucho menor del 50%, el biogás deja de ser inflamable.

El poder calorífico del biogás es de 5500 kcal/m³, es decir, 1 m³ de biogás puede reemplazar 0.46 kg de gas propano, 0.71kg de gasolina, ó 3 kg de leña como se puede observar en la Tabla 6. Además 1 m³ de biogás equivale a 3 kw- h/m³, todo esto dependiendo del porcentaje de metano existente en el gas (Cofré, 2001)

Tabla 6. Combustibles típicos y su poder calorífico.

Combustible	Poder calorífico	Poder calorífico
	inferior	superior
Petróleo	10000 kcal/kg	10500 kcal/kg
	8850 kcal/lts	9293 kcal/lts
Gas natural	8300 kcal/ m ³	9300kcal/m ³
Gas licuado	10950 kcal/kg	11951 kcal/kg
Leña seca	4600 kcal/kg	5200kcal /kg
Biogás	5500 kcal/m ³	6000 kcal/m ³

Fuente: superintendencia de energía y combustible, 2003

5.4.1 Utilización del biogás

A pequeña y mediana escala, el biogás ha sido utilizado en la mayor parte de los casos para cocinar en combustión directa, sin embargo también puede ser utilizado para iluminación, calefacción, como reemplazo de la gasolina o el diesel en motores de combustión interna, operar maquinaria agrícola o bombear agua (Veeken *et al.*, 2002).

El poder calorífico aprovechable depende del rendimiento de los quemadores o de los aparatos. Se debe tener especial cuidado con el ácido sulfhídrico del biogás, ya que ocasiona corrosión prematura en los equipos, por esta razón es necesario colocar una trampa de limadura de hierro en la línea de transporte del biogás (Cofré, 2001).

La cámara de combustión y los quemadores deben estar hechos de acero especial o de esmalte. Para la utilización del gas en motores no es necesario filtrar el biogás, la presión del gas puede ser baja, pues los motores lo succionan, tampoco es rentable licuar el biogás. Las tuberías de gas pueden estar hechas de acero, cobre, caucho o plástico (Cofré, 2001), la Tabla 7 muestra la duración de 1 m³ de biogás para diferentes artefactos.

Tabla 7. Duración mínima de 1m³ de biogás para diferentes artefactos.

Alimentación	Consumo Kcal/h	1 m ³ biogás (duración mínima)
Cocina de 1 hornilla	660 - 742.5	7.4 h
Heladera de 13 pies	550 - 600	8.3 h
Lámpara	478 - 528	10.4 h
Termo tanque 110 L	1375 - 1650	3.3 h
Estufa de 600 cal	3355 - 4400	1.25 h
Motor (hp/h)	2750 - 4400	1.25 h
Generación de Electricidad	6.4 Kw/h	2h

Fuente: FAO, 1996

5.5 Uso del Bioabono

El residuo orgánico que se obtiene en los procesos de digestión anaerobia, es un lodo fluido, de excelentes propiedades fertilizantes, el cual está constituido por la fracción orgánica que no alcanza la fermentación y por el material agotado. Su contenido de materia orgánica, composición química y otras propiedades dependen de las características de la materia prima utilizada y factores ambientales (Finck 1992).

En el mercado de los abonos, el fertilizante obtenido en la planta de biogás compite con el estiércol fresco y con los fertilizantes químicos; ya que permite un ahorro de la cantidad de otros abonos convencionales sin disminuir la productividad, no deja residuos tóxicos en el suelo y además presenta un aumento de la productividad al compararla con la de suelos no abonados (Soria, 2000).

La composición del bioabono en promedio tiene 8.5% de materia orgánica, 2.6% de nitrógeno, 1.5% de fósforo, 1.0% de potasio y un pH de 7.5 (Soria, 2000). El bioabono sólido o líquido no posee mal olor a diferencia del estiércol fresco, tampoco atrae moscas y puede aplicarse directamente al campo en forma líquida, en las cantidades recomendadas (McCaskey, 1990); o bien, el bioabono sólido puede deshidratarse y almacenarse para usarlo posteriormente, sin embargo en el proceso de deshidratación puede haber pérdidas por volatilización de hasta del 60% de nitrógeno.

El uso de fertilizantes producidos a partir de algas marinas, ha presentado gran interés en estos últimos años, debido a que poseen propiedades potenciadoras de los sistemas inmunes propios, además de su aporte en macro y micronutrientes, la aplicación del sólido al suelo le trae beneficios similares a los que se alcanzan con cualquier materia orgánica, es decir, actúa como mejorador de las características físicas, facilitando la aireación, aumentando la capacidad de retención de humedad, la capacidad de infiltración del agua y la capacidad de intercambio catiónico, además actúa como fuente de energía y nutrientes para el desarrollo de núcleos microbianos que mejoran la solubilidad de los compuestos minerales del suelo, en este sentido presenta ventajas sobre el uso directo de la materia orgánica.

Otra ventaja que se debe destacar es su carácter orgánico, de gran importancia ya que valoriza los productos agrícolas que los utilicen, al ser la agricultura (frutales u hortalizas) y la industria forestal actividades desarrolladas ampliamente en el país, se proyecta un positivo uso de este fertilizante a nivel nacional y extranjero (Westermeier,2004).

5.6 Macroalgas como Materia Prima

Las algas marinas bentónicas o macroalgas, son vegetales que viven debajo del agua y cuyos procesos vitales están regidos por el equilibrio entre los procesos de fotosíntesis y respiración, en todas las costas del país es posible encontrar gran variedad de vegetación marina bentónicas, compuesta por macroalgas verdes, pardas y rojas (Santelices, 1996).

Las macroalgas representan un elevado interés científico y económico, dado que son materia de la producción de diferentes ficocoloides como el agar y carragenano en las algas rojas, y los alginatos en las pardas. Estos ficocoloides son utilizados en las industrias de alimentos, como aditivo gelificante y espesante, tiene usos agropecuarios como fuente de abono, usos farmacológicos y cosmetológicos, uso en el área de biotecnología y restauración medio ambiental en la depuración de afluentes (Avila, 2002). Específicamente para el proceso de digestión anaerobia, es un recurso muy atractivo, ya que los polisacáridos existentes en su estructura algal como el agar, alginatos y carragenanos son convertidos eficazmente a metano a través de las bacterias,

además las algas presentan alta concentración de agua (70-90%) y bajo contenido de lignina, lo que facilita la producción de metano (Chinoweth, 2002). *Macrocystis pyrifera* o huiro (ver Figura 2) pertenece a las algas pardas y en nuestro país se distribuye desde Tocopilla hasta Tierra del Fuego. Esta macroalga se encuentra formando bosques submarinos extensos, sobre sustrato rocoso hasta 30 metros de profundidad y se utiliza para la elaboración de alginatos y utilizada para la alimentación de abalones. Hasta hace pocos años, esta macroalga se obtenía de poblaciones naturales, sin embargo su cultivo se ha transformado en una eficiente forma de disponer de una mayor biomasa de la mencionada alga durante el invierno.

La ventaja del cultivo es el crecimiento más rápido de las plantas, además permite un mejor aprovechamiento de los nutrientes que hay en los sustratos, haciéndose más robustas al ataque de agentes patógenos (Santibáñez, 2004)



Figura 2. *Macrosystis Pyrifera.*

6. METODOLOGIA

6.1 Algas Marinas

Las algas utilizadas corresponden a *Macrocystis Pyrifera* (Huiro) y *Durvillea Antarctica* (Cochayuyo) ambas recolectadas en la playa de Nigue, próxima al sur de Caleta Queule (IX Región)- Chile.

6.1.1 Medio de cultivo

Se utilizó como medio de cultivo estiércol de vaca, siendo este uno de los más utilizados para generar la flora anaerobia (Flotats,2000) en los sistemas de generación de Biogás.

6.1.2 Nutrientes

Los nutrientes y fuentes de carbono fácilmente asimilables utilizados para generar la flora microbiana anaerobia a partir del estiércol de vaca, fueron glucosa a una concentración de 60 g/L, marca Scharlau con 98% de pureza y extracto de levadura a una concentración de 20 g/L, estos fueron adicionados en el periodo de puesta en marcha del sistema, con el fin de acelerar el crecimiento microbiano y aumentar la masa celular. La concentración de glucosa y extracto de levadura se fue cambiando en el tiempo, siendo éstas reemplazadas por las algas marinas utilizadas, hasta alcanzar la total aclimatación del consorcio microbiano.

6.1.3 Equipos

La totalidad de los equipos y accesorios utilizados para el montaje del sistema fueron diseñados de tal manera de permitir las condiciones anaerobias, mantener los parámetros en sus rangos óptimos y evitar fugas y filtraciones. El sistema de bioconversión anaerobia esta compuesto por dos biorreactores anaerobios, un gasómetro y equipos anexos (Figura 3).

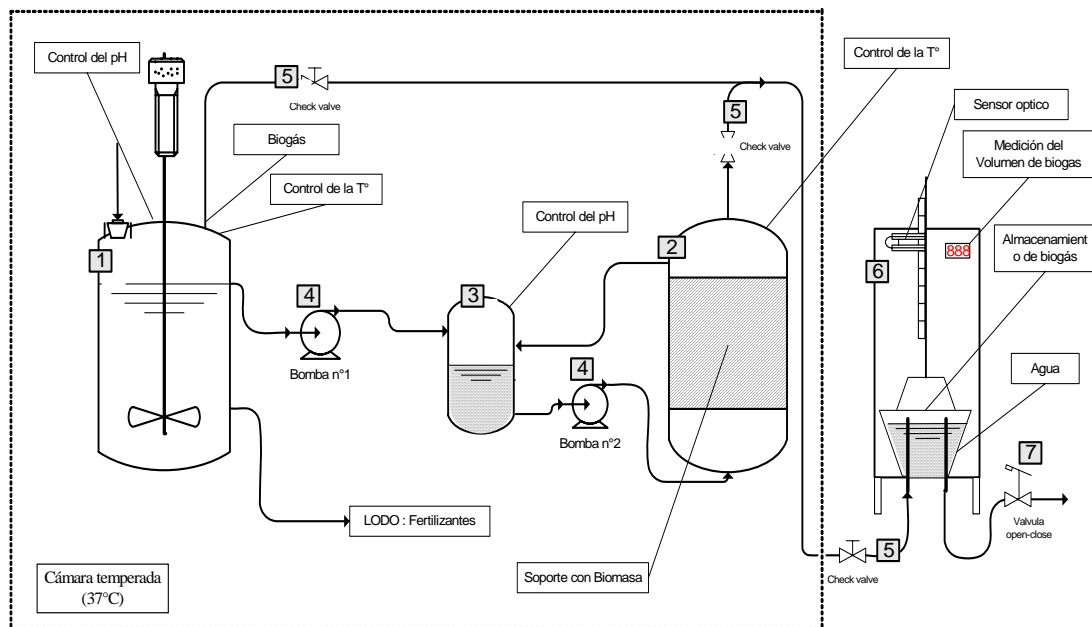


Figura 3. Sistema de bioconversión anaerobio en dos etapas.

[1] Digestor Anaerobio Batch Secuencial ASBR, [2] Biofiltro Anaerobio de Flujo Ascendente UAF, [3] Ecualizador, [4] Bombas Peristáltica, [5] Válvulas Antirretorno de Teflón, [6] Gasómetro, [7] válvula de paso.

El primer biorreactor [1] es un Reactor Anaerobio Batch Secuencial (con sigla en inglés ASBR) de vidrio con capacidad de 2.5 L (New Brunswick scientific, Bioflo 2000 Fermentor), consta de un sistema de agitación mecánica de doble hélice y placas

deflectoras para permitir una mezcla homogénea en el interior de éste; en la parte superior montado en un soporte universal está un agitador mecánico (Heidolph RZR 1) de una potencia de entrada y salida de 77 W y 18 W respectivamente, rango de velocidad de 280 a 2200 rpm, además cuenta con una salida para biogás, una válvula antirretorno de teflón[5], y dos puertos de entrada para alimentación y extracción de purgas.

En este biorreactor se favorece el cultivo de bacterias hidrolíticas, responsables de dar inicio a la primera etapa de la digestión anaerobia, para lo cual la temperatura de trabajo fue de 37 °C, y pH óptimo entre 5.5 y 5.7. Diariamente se extraen 300 mL de lixiviado desde el biodigestor a través de una bomba peristáltica Heidolh Pump Drive 5001[4], hacia el equalizador de PVC de 1 L de capacidad [3] donde se regula el pH entre 6.8 y 7.2, utilizando NaOH (4N) o HCl (1N), y es enviado a través de una segunda bomba peristáltica Coler- parmer 7553- 85 hacia un biorreactor UAF [2]Filtro Anaerobio de Flujo Ascendente, que trabaja a 37 °C y pH óptimo de 7.2, para favorecer el crecimiento de bacterias metanogénicas responsables de la producción de biogás.

El biofiltro tiene 4 L de capacidad, el cual utiliza como soporte anillos de PVC corrugado, y posee una salida para capturar el biogás y una salida para recircular el lixiviado hacia el equalizador. En su parte inferior tiene un espacio libre, por encima del cual contiene un disco horadado de metacrilato para resistir el soporte y además para permitir una buena distribución del líquido por toda la sección transversal. En la parte superior central del biorreactor está el conducto donde se capta el biogás hacia el gasómetro, el cual posee una válvula de paso de tres salidas para poder muestrear el

biogás o para mantención y movilización del biorreactor y una válvula antirretorno de teflón que impide el retorno del gas hacia el biorreactor. También en la parte superior, está fijado una termocupla tipo k Cole-parmer 085116-55 conectada a un lector de temperatura Hanna Instruments minitherm HI 8753 para poder medir la temperatura en el interior del biorreactor.

La medición del flujo y almacenamiento de biogás producido en el sistema, se lleva a cabo en el Gasómetro EIB/GS04 [6], el cual posee 2.5 L por ciclo de llenado, sensor óptico, marcador de volumen y sistema de vaciado automático. El control de temperatura de los biorreactores se realizó en una cámara termoregulada con un termoventilador Starlight TMV – 220 a 37 °C, registrando la temperatura con un termómetro de mercurio Boeco, rango 0-100°C.

6.2 Operación normal del sistema

La operación del sistema comienza con la extracción desde la purga del biofiltro de 300 mL del recirculante, al cual se mide pH y se conserva para posterior análisis, (Figura 4) como paso siguiente, el biodigestor se deja sin agitación para que decante y una vez transcurrido 15 minutos, se extraen 300 mL de lixiviado en un matraz erlenmeyer y se mide y controla temperatura y pH, este último se ajusta con NaOH 4N hasta pH óptimo del biofiltro y se vacía hacia al ecualizador, desde donde es traspasado al biofiltro para la formación de metano. El lixiviado es recirculado constantemente desde el ecualizador hacia el biofiltro a través de una bomba peristáltica.



Figura 4. Montaje real del sistema de bioconversión anaerobia en dos etapas.

A través de la bomba peristáltica, es posible extraer el sólido sedimentado desde el biodigestor, el cual se conserva para posterior secado y análisis, finalmente se pesan 3 g. de alga seca a 70°C por 24 horas en una estufa W.T.B Binder IP 20, se muele y se disuelven en 300 mL de agua destilada para alimentar nuevamente el biodigestor, para la formación principalmente de ácidos grasos e hidrógeno, el proceso de hidrólisis culmina luego de un periodo de 23.3 h, los tiempos requeridos en cada paso se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8. Tiempos experimentales para el ASBR..

Pasos	Tiempo(min)
Tiempo de Sedimentación	15
Tiempo de descarga lixiviad	5
Tiempo de descarga lodo	10
Tiempo de llenado	10
Tiempo de Reacción	1400
Tiempo total del ciclo	1440 = 24 hrs

6.3 Generación y acondicionamiento flora microbiana

El estiércol de vaca se mezcló con agua destilada en una proporción de 2:1, luego es filtrada con el objeto de eliminar restos de pasto, hojas y piedrecillas presentes en el estiércol, posteriormente se trasvasijó a matraces erlenmeyer de 1 L y se sellaron herméticamente dejando solo un acceso para agregar nutrientes y controlar el pH. Los matraces son cultivados en un agitador Orbital Shaker 420 a 37°C y 100 rpm, durante 5 días adicionando glucosa diariamente (Figura 5), posteriormente se traspasan a los biorreactores y se ajusta a los pH respectivos. Luego por un periodo de 5 días se alimenta diariamente al digestor 50 mL de estiércol, glucosa a una concentración de 60 g/L y ocasionalmente levadura de cerveza a concentración de 30 g/L, de igual forma se alimenta diariamente al biofiltro junto con el lixiviado del digestor, hasta observar generación de biogás en ambos biorreactores.



Figura 5. Acondicionamiento de la flora microbiana.

Una vez obtenida la flora anaerobia, en base a glucosa, se comenzó a agregar alga seca en pequeñas cantidades y a eliminar la glucosa paulatinamente, el tiempo de acondicionamiento duro 37 días, según el procedimiento mostrado en la Tabla 9

Tabla 9. Mezclas añadidas al sistema en la etapa de acondicionamiento.

Mezcla	Tiempo (días)
3 g. glucosa	7
2.5 g. glucosa + 0.5 g. alga seca	8
2.0 g. glucosa + 1.0 g. alga seca	8
1.5 g. glucosa + 1.5 g. alga seca	6
3. 0 g. alga seca	8

6.4 Condiciones de operación del sistema

El sistema en estudio, tuvo un régimen de operación de 170 días, divididos en 4 etapas, más un periodo de marcha blanca de 20 días. El sistema fue operado usando 2 tipos de algas en forma pura y mezclada. En una primera etapa se cuantificó la cantidad de biogás generado por el biodigestor por un periodo de 15 días, posteriormente se cuantifica el biogás generado por el biofiltro por igual periodo de tiempo, para ambos casos la alimentación fue de 3 g/día de alga (A) (*Macrocystis Pyrifera*) seca y molida.

En una segunda etapa, se cuantificó el biogás generado por el sistema completo alimentado con 3 g. de alga (A) por un periodo de 31 días. En la tercera etapa, se determina el biogás del sistema completo, cambiando la alimentación por una mezcla de *Macrocystis Pyrifera* (alga A) y *Durvillea Antarctica* (alga B) en una proporción 1:1,

por un periodo de 31 días. Finalmente la cuarta y última etapa, consistió en la medición del biogás generado por el sistema completo por un periodo de 31 días, alimentado con 3 g. de alga (B) *Durvillea Antarctica*. En la Tabla 10, se resume la operación del sistema.

Tabla 10. Condiciones de operación del sistema.

Etapas	Sistema	Alimentación/día	Periodo (días)
0	Unitario (ASBR) Unitario (UAF)	3 g. alga A 3 g. alga A	15 15
I	Completo (ambos reactores)	3 g. alga A	31
II	Completo (ambos reactores)	Alga A + B (1:1)	31
III	Completo (ambos reactores)	3g. alga B	31

En la etapa 0, se determinó la cantidad de metano, sólidos totales y volátiles y Demanda Química de Oxígeno (DQO), para las demás etapas se determinó también la concentración de metano, concentración de dióxido de carbono, ácido sulfhídrico, análisis elemental de biomasa, algas y lodo.

Entre cada etapa hubo un periodo de 5 días de espera, antes de comenzar las mediciones con el fin de cerciorarse que los resultados correspondieran a la alimentación determinada para cada etapa y de esta manera no registrar datos correspondientes a resultados de la alimentación anterior.

6.5 Métodos analíticos para el control del sistema

Durante la operación del sistema, se realizó un seguimiento de la evolución de los parámetros de éste, en la fase líquida y en la fase gaseosa. La Tabla 11, muestra cada uno de los parámetros analizados durante el estudio.

Tabla 11. Parámetros medidos durante la operación del sistema.

Parámetro	Frecuencia	Método
pH	Diario	Medición Directa
Temperatura	Diario	Medición Directa
DQO	Diario	volumétrica
Sólidos totales	Diario	Peso seco
Sólidos volátiles	Diario	Peso seco
Cantidad de biogás	Diario	Cuantificación directa
Concentración de metano	Diario	Cromatografía de gases
Concentración de CO ₂	semanal	Colorimetría
Concentración de H ₂ S	semanal	Colorimetría
Composición elemental de lodo, algas y biomasa	En cada etapa	Análisis elemental

- **Temperatura:** Se controló la temperatura de la cámara, que alberga ambos reactores, de forma manual, mediante el uso de un termoventilador, cuya potencia es regulada considerando un set point de 37 °C, y comparando con la temperatura medida por un sensor en base a mercurio. La potencia hacia el termoventilador se establece fija, cuando la temperatura indicada por el sensor de mercurio es igual al set point.
- **pH:** El pH se midió y controló 2 veces al día mediante un electrodo de vidrio Cole-Parmer, conectado a un medidor OAKTON, y agregando NaOH o HCL, de forma de mantenerlo entre 5.5 - 5.7 para el digestor y 6.8 - 7.2 para el biofiltro, y de esta forma el pH se mantiene en los rangos mencionados, evitando variaciones que pudiesen afectar el crecimiento de la biomasa y por el contrario favorecer el óptimo funcionamiento de cada una de las etapas en el sistema.

6.5.1 Cuantificación de Biomasa

Los sólidos totales y volátiles son determinados por peso seco según Stándar Methodo, tomándose una muestra de 10 mL a cada biorreactor con una pipeta parcial. La muestra es puesta en un contenedor de aluminio previamente secado y pesado (A), el cual es secado en una estufa WTC Binder 78532 durante 24 h a 105°C. Luego los contenedores son llevados a un desecador por un periodo de 1 h y pesados en una balanza digital Bell Engineering (B). Por diferencia de peso respecto al contenedor seco, se determinan los sólidos totales de acuerdo a la ecuación (1):

$$ST = \frac{(A - B) \times 1000}{V} \quad (1)$$

Donde:

A : Masa contenedor seco (mg)

B : Masa contenedor mas muestra seca a 105°C (mg)

V : Volumen de muestra (mL)

ST : Sólidos totales (mg/L)

Luego la muestra seca es puesta en una mufla Thermolyne 62700, durante 1 h a 550°C, posteriormente se lleva a un desecador por 1 h y es pesada (C). Los sólidos volátiles se obtienen a partir de la ecuación (2):

$$SV = \frac{(A - B) \times 1000}{(A - C)} \quad (2)$$

Donde:

C : Masa del contenedor con muestra calcinada a 550°

SV : Sólidos volátiles (mg/L)

6.5.2 Determinación de la velocidad específica de crecimiento

Se realizó la curva de crecimiento para el biodigestor y para el biofiltro en forma paralela. Se tomó una muestra de 200 mL del biofiltro y se filtró, adicionando 50 mL de lixiviado proveniente del biodigestor. Se alimentaron al digestor 3 g de algas, se agitó por 2 minutos y se tomó una muestra de 200 mL desde éste. Ambas muestras son llevadas a matraces, los cuales fueron sellados herméticamente dejando solo una pequeña manguera en contacto con el exterior, para toma de muestras. Los medios fueron incubados en un Shaker a 37 °C a 70 rpm durante 5 minutos, luego se tomaron 100 mL de cada matraz, haciendo 10 diluciones para cada muestra por separado con agua destilada, desde un 1:10 hasta 1:1. Luego se leen la absorbancia de cada dilución en un espectrofotómetro Espectronic Genesys 2PC.

Posteriormente se tomó una muestra de 30 mL de cada matraz y se llevó a la estufa a 105°C para determinar la concentración de biomasa mediante peso seco. Posteriormente se determinan las concentraciones para cada lectura de absorbancia de las diluciones, los datos se representan mediante un gráfico absorbancia v/s concentración (anexo B), obteniendo de esta manera la curva de calibrado. Se tomó posteriormente una muestra de 1 mL de cada matraz, se diluye en 10 mL de agua destilada, y se lee su absorbancia en tiempo cero, se repite este procedimiento cada 8 h por un periodo de 10 días.

Las absorbancias registradas, se interpolan de la curva de calibrado y se obtienen las concentraciones obteniendo una gráfica concentración v/s tiempo, determinando la curva de crecimiento, donde la pendiente del segmento que representa el crecimiento

exponencial del gráfico corresponde a la velocidad específica de crecimiento μ , en las condiciones de trabajo.

6.5.3 Determinación de la concentración de metano

La concentración de metano se determinó por cromatografía gaseosa, en un cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer Instruments modelo Clarus 500 (Figura 6), las condiciones de trabajo se muestran en la Tabla 12. La muestra se introduce al equipo mediante inyección, utilizando una jeringa para cromatografía gaseosa de 1 mL, marca SGE, modelo 1MR-VLL-GT, el volumen inyectado corresponde a 0.5 mL.



Figura 6. Cromatógrafo de gases.

Una vez ingresada la muestra en el inyector del equipo, ésta eleva su temperatura hasta la del inyector y es arrastrada por una corriente de gas transportador hasta la columna cromatográfica que permite la separación de la muestra, de los demás componentes de ésta. El proceso cromatográfico concluye con la detección de los componentes de la

mezcla y la generación de una señal medible, proporcional a la cantidad de materia de cada componente separado, para este fin se utiliza un detector de ionización de llama (FID) el cual da la señal al registrador que despliega un gráfico de intensidad en función del tiempo y que finalmente es integrado calculado el área del pico correspondiente al metano.

Tabla 12. Condiciones de Trabajo para el Cromatógrafo de gases.

Parámetro	Condición
Gas portador	Nitrógeno
Flujo del gas portador	6 mL/ min
Temperatura inyector	150 °C
Temperatura columna	215 °C
Temperatura detector	260 °C
Tipo detector	FID
Columna	Columna capilar, marca GC modelo SPB-1
Diámetro de columna	320 µm
Largo de columna	15 m
Tiempo de retención del metano	0.4 min

6.5.4 Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno, representa la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra, bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura y tiempo. La cuantificación se realizó por volumetría según el procedimiento descrito en Standard Methodo, donde la materia orgánica se oxida con dicromato en un medio ácido, con lo cual el carbono es convertido en CO₂ y el hidrógeno en agua. El análisis se realizó diariamente, al lixiviado del ASBR y la purga del UAF, para ambas muestras se realizó diluciones preliminares, para reducir el error inherente en la medida de pequeños volúmenes de muestra, la muestra proveniente del UAF se filtro con papel Glass Fiber Advantec GC 50 de 55 mm antes de comenzar el procedimiento.

Procedimiento: Se prepararon 2 tubos de reacción con 5 mL de solución B, 3 mL de solución digestora y 5 mL de solución catalizadora para el control. En el caso de la muestra, se prepararon 4 tubos de reacción con 5 mL de muestra homogenizada, 3 mL de solución digestora y 5 mL de solución catalizadora. Posteriormente se selló herméticamente y homogenizaron los tubos de reacción y se colocaron dentro del termoreactor, se contabilizaron 2 h desde que la temperatura alcanzó los 150°C. Transcurrido ese tiempo, se transfirió cuantitativamente la mezcla de reacción a un matraz erlenmeyer de 50 mL, se adicionó 0.5 mL (aprox. 3 gotas) de indicador de ferroina y se tituló en caliente con solución FAS, hasta viraje a pardo-ladrillo; justo antes de llegar al punto, la mezcla titulante pasa por una coloración azul característica que facilita la ubicación del punto final de la titulación. En la Tabla 13, se mencionan los reactivos y soluciones utilizadas.

Tabla 13. Reactivos y soluciones utilizadas en la determinación de DQO

Reactivos	Soluciones
1) Dicromato de potasio, $K_2Cr_2O_7$	1) Solución Patrón de dicromato de potasio, 0,1 N
2) Sulfato mercúrico, $HgSO_4$, ya sea en polvo o cristales	2) Solución Control de Ftalato de potasio e hidrógeno estándar (biftalato de potasio, KHP)
3) Ácido sulfúrico concentrado, H_2SO_4	3) Solución indicadora de ferroina
4) Sulfato de plata, Ag_2SO_4	4) Solución titulante (FAS) 0,05 N
5) Ftalato de potasio, $(HOOC_6H_4COOK)$	5) Ácido Sulfámico
6) 1,10-fenantrolina monohidratada	6) Solución Catalizadora de ácido sulfúrico
7) Sulfato de fierro heptahidratado, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	
8) Sulfato ferroso de amonio (FAS)	

La determinación de la normalidad del FAS se realizó mediante la ecuación (3).

$$\text{normalidad del FAS} = \frac{3 \text{ ml de muestra} \times 0.1 \text{ N}}{A} \quad (3)$$

Donde:

A : FAS usados para el blanco (mL)

El cálculo de la DQO de la solución control se realizó con la ecuación (4).

$$\text{DQO (mg O}_2 \text{ / L)} = (A - B) \times N \times 1600 \quad (4)$$

Donde:

A : FAS usados para el blanco (mL)

B : FAS usados para el control (mL)

N : Normalidad del FAS

El cálculo de la DQO de las muestras se realizó con la ecuación (5)

$$\text{DQO (mg O}_2 \text{ / L)} = (A - C) \times N \times 1600 \quad (5)$$

Donde:

A : FAS usados para el blanco (mL)

C : FAS usados para la muestra (mL)

N : Normalidad del FAS

6.5.5 Determinación de la concentración de CO₂, H₂S y NH₃

La concentración de CO₂, H₂S y NH₃, se obtuvo mediante una Bomba Manual de detección de gases, marca RAE System, con volumen de 50 y 100 mL, se utilizaron columnas graduadas para gases con los rangos mostrados en la Tabla 14:

Tabla 14. Rangos de concentración para columnas de detección de gases.

Gas	Viraje	Rango de concentración
Tubos detección de CO ₂	Blanco a Púrpura	1 – 20 % v/v
Tubos detección de H ₂ S	Blanco a Café oscuro	0.1 – 2 % v/v
Tubos detección de NH ₃	Púrpura a Beige	1 - 15 % v/v

Las mediciones se realizaron directamente en la corriente de biogás deseada, se tomó una muestra de 100 mL de biogás, el viraje y la posterior lectura son inmediatas.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Etapa de aclimatación de la flora microbiana con algas

Durante un periodo de 37 días consecutivos de medición, se generó un promedio de 551 mL diarios, con un máximo de generación de 900 mL y un mínimo de 200 mL de biogás, en la Figura 7 se observa, que a medida que disminuye la adición de glucosa y aumenta la de alga, disminuye la generación de biogás hasta llegar a un estado estacionario luego del día 25, generándose cantidades de biogás diaria que oscilan entre 300 y 600 mL, en este estado se logra aclimatar a los microorganismos para que degraden las algas, al finalizar el periodo de aclimatación, la acumulación de biogás fue de 20400 mL como lo muestra la Figura 8.

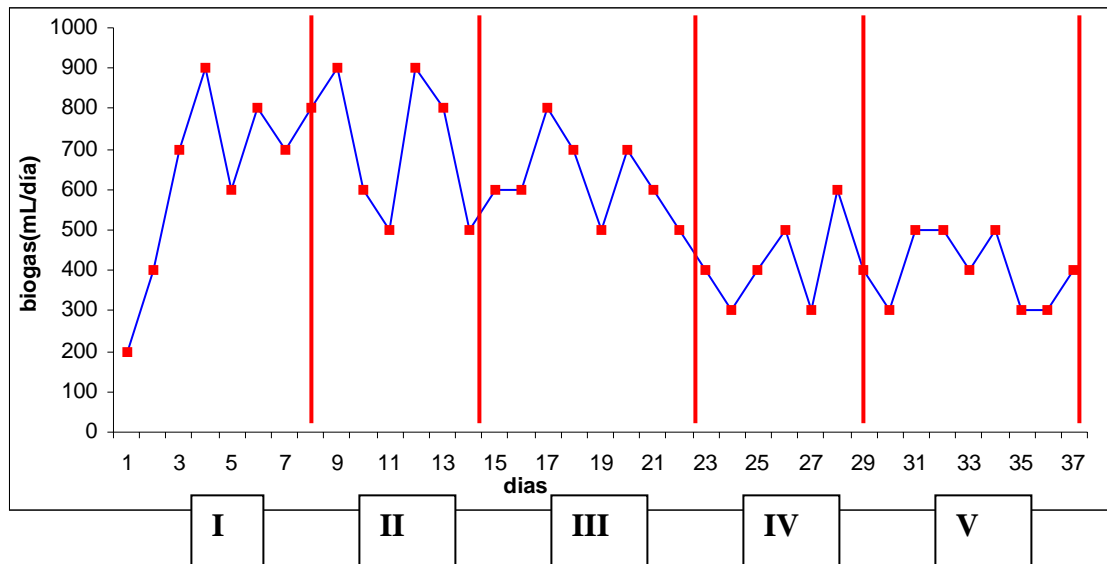


Figura 7. Acondicionamiento de la flora microbiana con algas (37 días).

Alimentación: **I** 3 grs de glucosa, **II** 2.5 grs de glucosa + 0.5 grs de alga seca, **III** 2 grs de glucosa + 1 grs de alga seca, **IV** 1.5 grs glucosa + 1.5 grs alga seca, **V** 3 grs de alga seca.

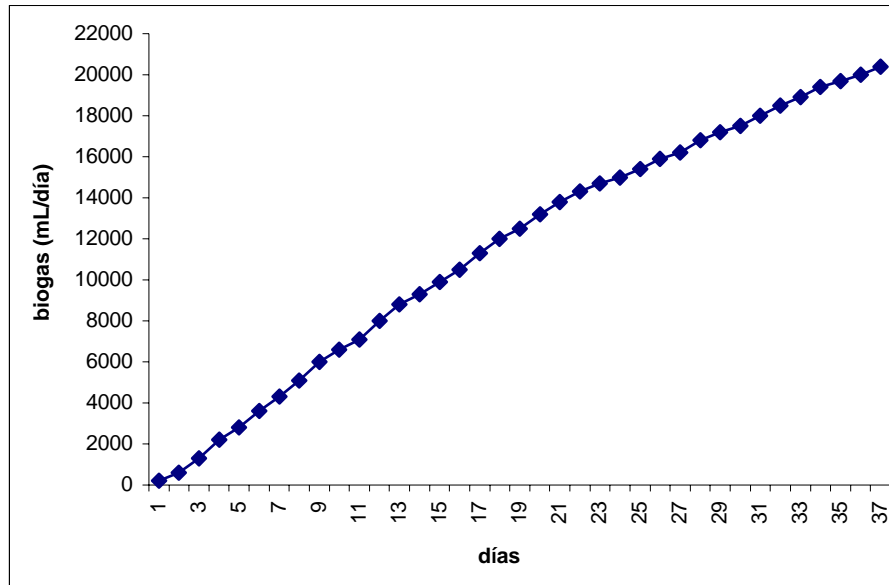


Figura 8. Acumulación de biogás en el sistema completo (37 días).

El proceso de acondicionamiento es puesto en marcha adicionando un denominado material inicial, y para propiciar el desarrollo del proceso se utilizó estiércol de vaca, una materia prima bastante favorable y fundamental para dar inicio al proceso de aclimatación, como alternativa al estiércol se recomienda el uso de efluente proveniente de reactores anaerobios, donde la familia microbiana esta completamente constituida. El éxito o fracaso del proceso depende de la rigurosidad con que se realicen los procedimientos, vale decir, el cultivo debe ser a temperatura adecuada y en condiciones anaerobias estrictas, procurando en todo momento el no ingreso de oxígeno a los matraces y siendo constante en la adición de glucosa y posteriormente alga de forma paulatina, hasta obtener la flora idónea, para este fin fue fundamental el escalamiento de los biorreactores hasta los reactores de escala laboratorio finales.

La figura 9, muestra la variación de pH durante la etapa en que la flora anaerobia fue traspasada a los biorreactores previo ajuste de pH, en el biodigestor se inicio con pH 6.9 y fue descendiendo hasta 5.1, el promedio fue de 5.6, en cambio en el biofiltro el promedio fue de 7.0, con un máximo de 7.4. Se observa que el proceso de regulación de pH es mucho mas inestable en el biodigestor, la actividad de las bacterias hidrolíticas, va disminuyendo el pH, incluso por debajo del rango óptimo, debiendo ser regulado con NaOH, hasta tener controlado la acumulación de AGV en el digestor, a pesar de estas fluctuaciones no hubo disminuciones en la generación de biogás, debido a que las bacterias formadoras de ácidos tienen un campo más amplio para su desarrollo.

Por otra parte, las bacterias metanogénicas presentes en el biofiltro, tuvo un proceso de regulación de pH mucho más estable, sin mayores alzas, manteniéndose siempre dentro de la zona de tolerancia, lo cual fue beneficioso para el proceso de generación de biogás, ya que estos microorganismos constituyen los organismos son claves en la digestión anaerobia, y son muy sensibles a las variaciones del medio.

La temperatura fue de 36° en promedio para ambos biorreactores, el menor registro se produjo en el biofiltro y fue de 32°, mientras que la máxima fue de 38°, manteniéndose dentro del rango mesófilo, al cual trabaja el sistema.

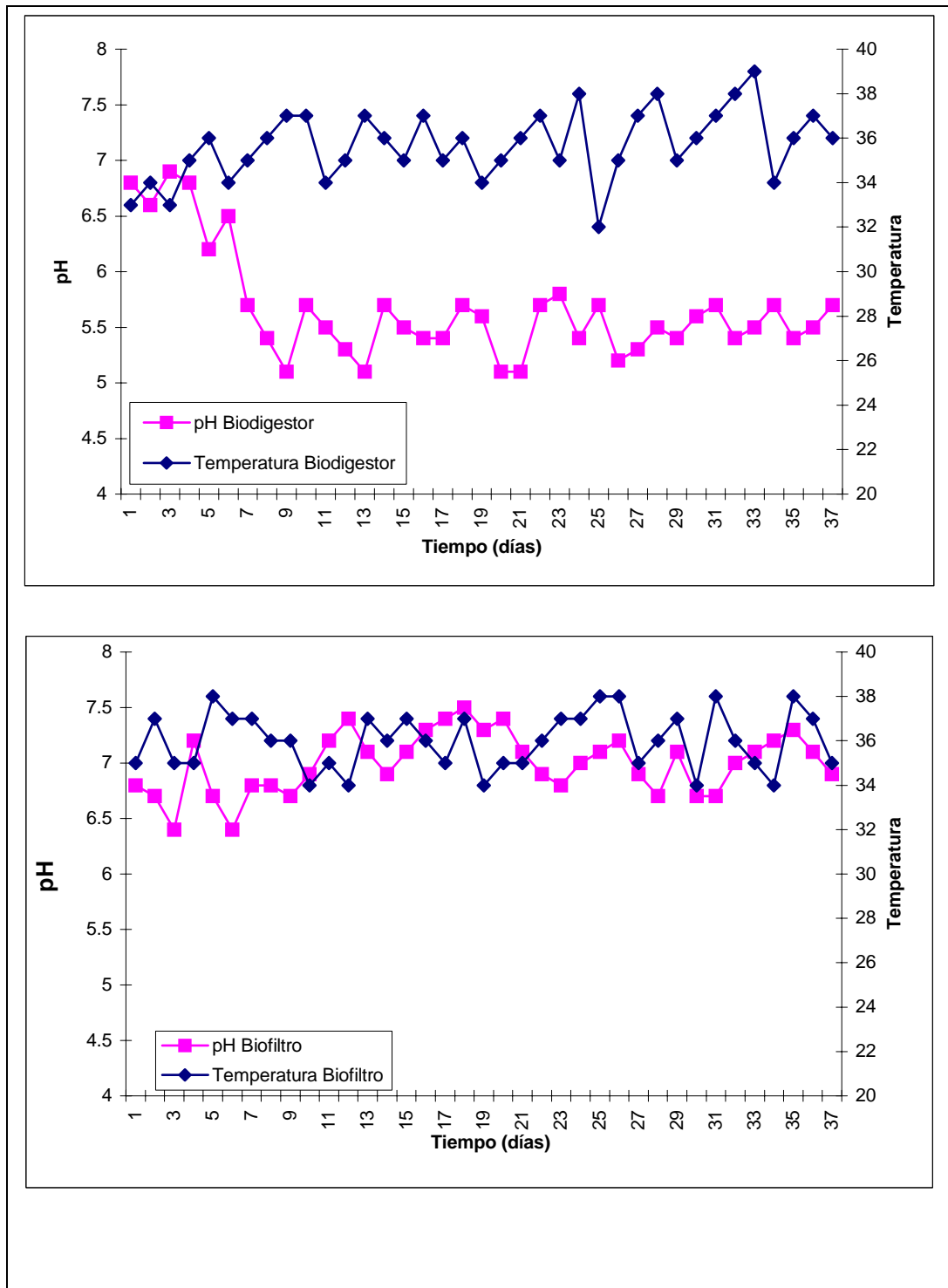


Figura 9. Variación de pH y temperatura en la etapa de aclimatación (37 días).

7.2 Curva de crecimiento

La figura 10, muestra la variación de concentración celular en el tiempo, tanto para el reactor UAF como para el ASBR, Para el primero se observa un periodo de latencia de 16 h, y un periodo de crecimiento exponencial que se prolongó por 56 h, hasta alcanzar la fase estacionaria, obteniéndose una velocidad específica de crecimiento de 0.036h^{-1} con una concentración celular final de 3.7 g/L. Por su parte, el reactor ASBR, presentó un periodo de latencia de 16 h y una fase exponencial de 60 h, registrando una velocidad específica de crecimiento de 0.031 h^{-1} y 2.3g/L como concentración final de biomasa. En el estudio se realizaron solo determinaciones de velocidades específicas y no máximas, es decir, se trabajó solo con una concentración inicial específica y no con varias concentraciones, las que permiten construir la curva de crecimiento máximo y determinar el μ_{max} . Sin embargo, los resultados obtenidos se pueden considerar como aproximado, ya que se encuentran dentro de las velocidades máximas reportadas por Paulostathis (1997), el cual señala que para la etapa hidrolítica, las velocidades de crecimiento máxima fluctúan entre $0.0054 - 0.05\text{ h}^{-1}$ y $0.0033 - 0.04\text{ h}^{-1}$. Se podría decir que la similitud entre las velocidades obtenidas en este trabajo para ambas fases, se debería a que la diferencia entre ellas estaría dentro del margen de error experimental o que podría deberse a que en sistemas de dos etapas es mucho mas eficiente el crecimiento celular que en sistemas de una fase, lo cual se demuestra en este caso, donde la velocidad específica de producción para la fase metanogénica es muy cercana a la etapa hidrolítica. Dado el lento crecimiento de los microorganismos que participan en la generación de biogás, se requiere de un período de tiempo mayor al de los sistemas aerobios para determinar su crecimiento, sin embargo es importante destacar, que la

determinación de las velocidades fue realizada luego del acondicionamiento con algas, y antes de comenzar las mediciones para los reactores individuales, momento en el cual los microorganismos se encontraban aclimatados y las condiciones de operación eran óptimas, lo cual permitió obtener satisfactoriamente las curvas tanto de calibrado (Anexo, figuras 32 y 33) como de crecimiento en un periodo de tiempo relativamente corto. El mayor inconveniente se produjo con la muestra proveniente del biofiltro, ya que al tener concentraciones de sólidos mayores al biodigestor, dificultaba las lecturas en el espectrofotómetro de manera apropiada, teniendo que ser filtradas antes de comenzar el procedimiento y de esta manera poder observar nítidamente el aumento en la concentración de biomasa.

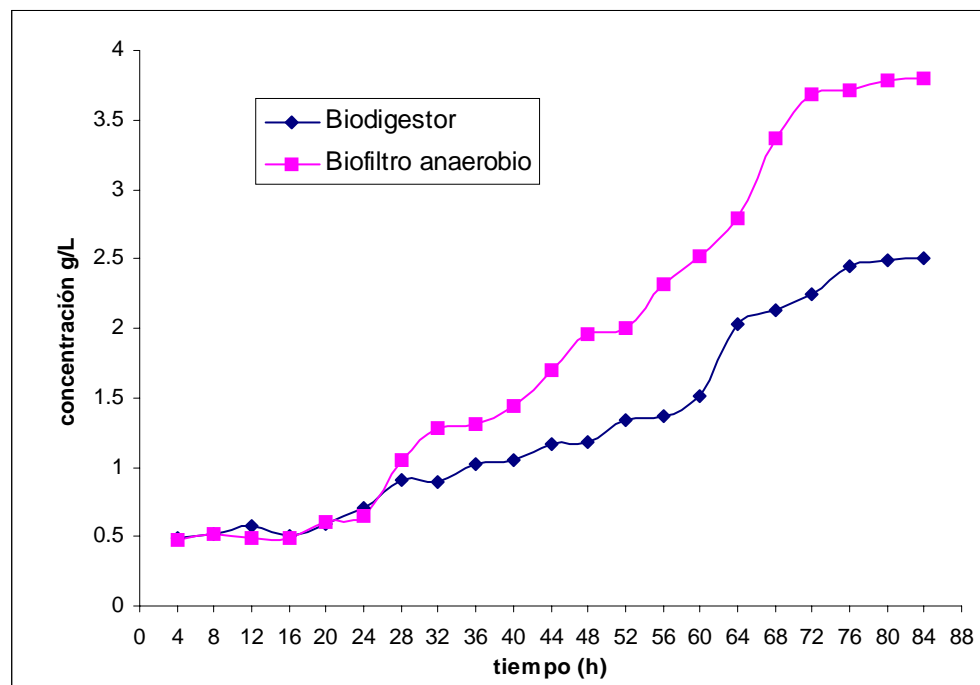


Figura 10. Concentración de Biomasa en el Biodigestor y Biofiltro (84 h).

7.3 Mediciones al sistema de bioconversión anaerobia

7.3.1 Sistemas individuales (ASBR y UAF)

Las mediciones se realizaron en el biodigestor por un periodo de 15 días consecutivos, en los cuales se obtuvo un total de 6100 mL de biogás acumulados en el gasómetro como indica la figura 11, posteriormente se realizaron mediciones al biofiltro por igual periodo de tiempo, donde se obtuvo un total de 11200 mL de biogás, como muestra la figura 12.

La mayor producción de biogás se registró en el UAF, debido a que los microorganismos metanogénicos responsables de la producción de metano, están mayoritariamente presentes en el biofiltro, a diferencia del biodigestor donde la producción de biogás fue mucho menor debido a que a las condiciones de pH a las que se acondicionó, dificulta la presencia de bacterias metanogénicas, favoreciendo la producción de ácidos grasos, además la medición en el UAF se realizó cuando existía una mejor aclimatación de la flora microbiana respecto del experimento anterior. Sin duda, el contar solo con un gasómetro, no permitió realizar el experimento en forma simultánea, y de esta forma obtener datos más fidedignos sobre la producción de biogás en cada biorreactor, sin embargo el experimento fue de mucha utilidad, ya que al finalizar ambos periodos de medición, se pudo observar que el ASBR aportó con el 30% del biogás total acumulado por ambos biorreactores, datos utilizados en los balances de masa.

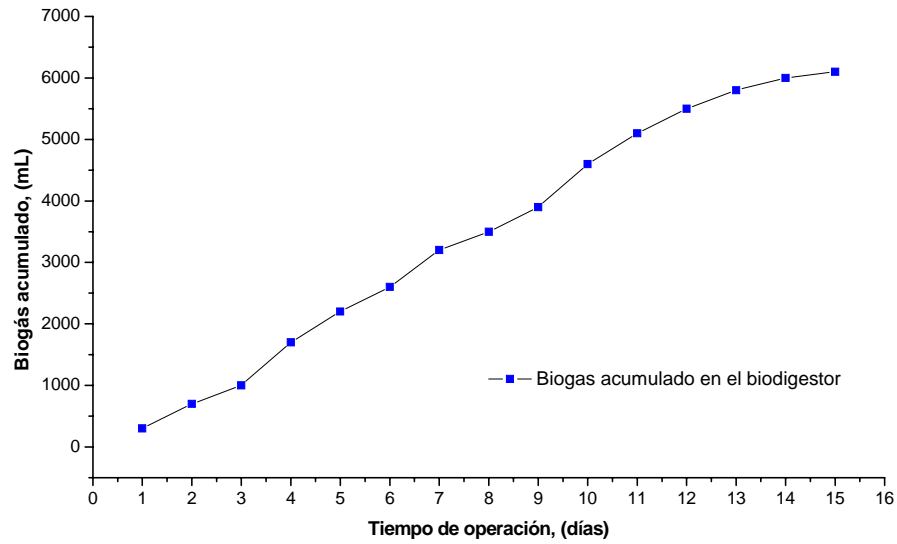


Figura 11. Volumen de biogás acumulado por el biodigestor (15 días).

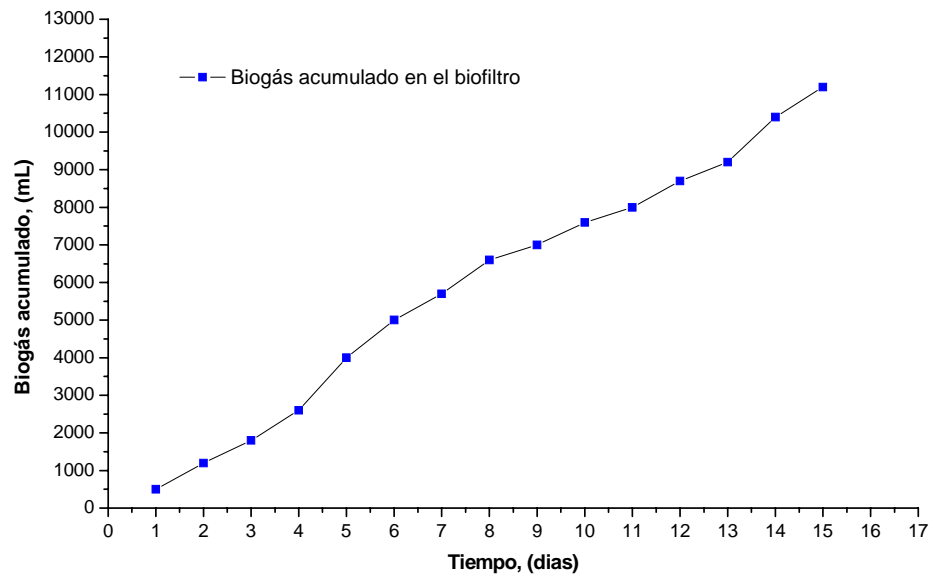


Figura 12. Volumen de biogás acumulado por el biofiltro (15 días).

La variación de DQO se encuentra íntimamente relacionada a la producción diaria de biogás, lo cual es posible observar para ambos reactores en la figura 13, donde los días en que se registró mayor producción de biogás coincide con la disminución en la DQO, debido al agotamiento de carbono al ser transformado a metano, la mayor producción diaria de biogás se obtuvo en el UAF, siendo 747 mL en promedio, con un mínimo de 400 mL y un máximo de 1400 mL, el promedio de biogás producido diariamente en el ASBR fue de 413 mL con un máximo de 700 mL y un mínimo de 100 mL, evidenciando actividad metanogénica, lo cual indica que es posible que ocurran todas las etapas de la digestión anaerobia a pH medianamente ácido, tal como lo señala Jain y Mattiasson, (1998) al trabajar a pH menor a 5.7. Sin embargo, la cantidad de biogás y concentración de metano en estas condiciones de pH son menos en comparación a un sistema que trabaje a pH cercano a 6.5, de ahí la idea de separar en 2 reactores con pH diferenciado, que permite un mayor control sobre los parámetros de operación y de esta forma maximizar la producción de biogás y al mismo tiempo disminuir los costos que implica un sistema de una sola etapa o que trabaje a condiciones alejadas del punto óptimo.

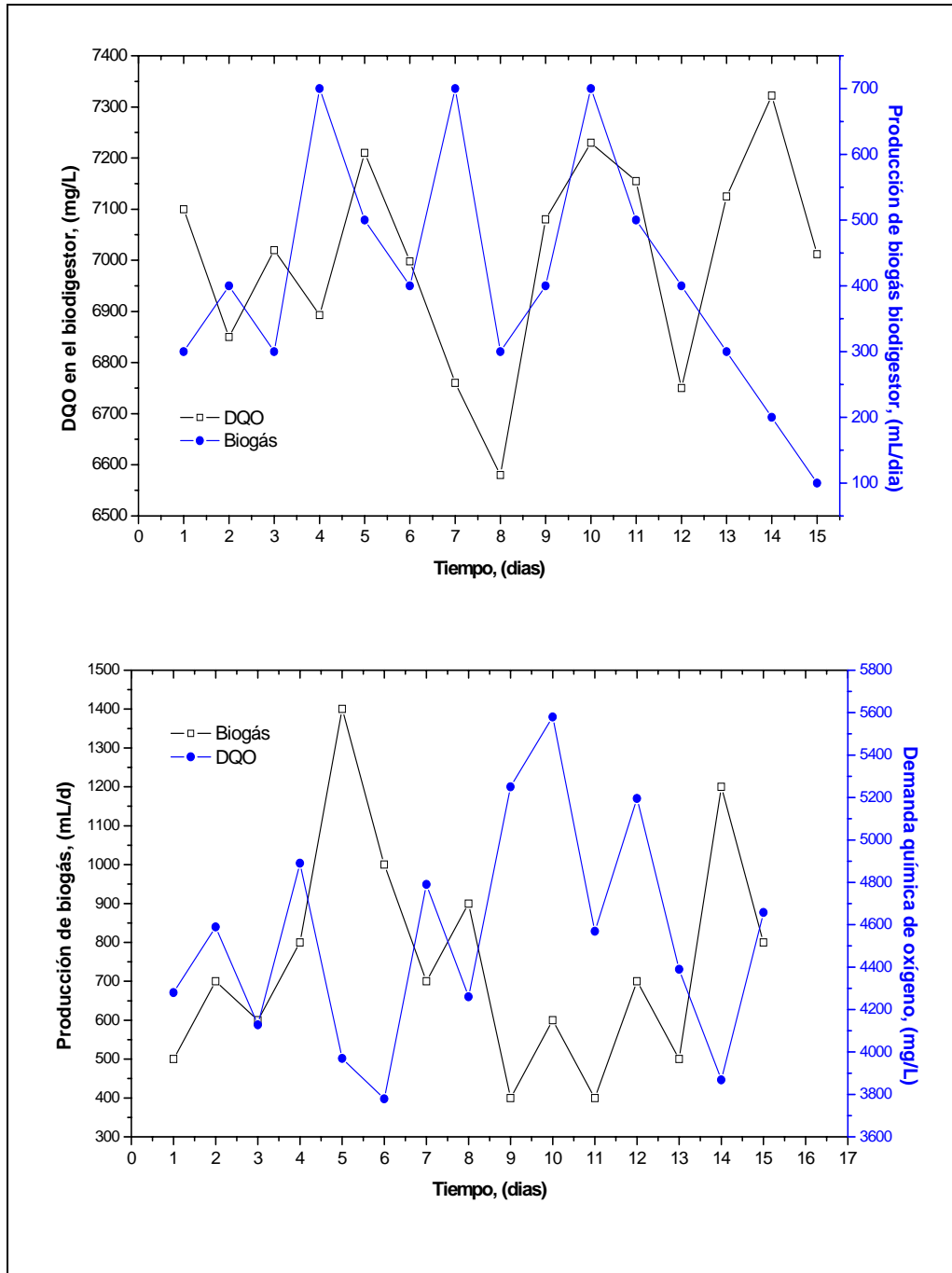


Figura 13. Producción diaria de biogás y variación de DQO en el biodigestor y biofiltro etapa individual.

7.3.2 Mediciones en el sistema completo

- **Acumulación de biogás**

La figura 14, muestra la acumulación de biogás para el sistema completo, en un periodo de 31 días consecutivos, tiempo en el cual se generó un total de 16.9 L, 15.8 L y 16.8 L para la primera, segunda y tercera etapa respectivamente, cuando se ensayó la mezcla de algas (etapa II) el sistema completo generó una cantidad de biogás levemente menor a las demás etapas, lo que podría estar dentro del rango de error experimental, por lo que se podría decir que no se observan mayores diferencias entre los experimentos, respecto a la cantidad de biogás acumulado. Lo anterior no corrobora la hipótesis planteada, ya que para el ensayo con la mezcla, en razón 1:1, de ambas algas, no se observa sinergia en la producción de biogás. Sin embargo, no se pueden descartar otras mezclas a diferentes concentraciones en peso, lo que no permite rechazar la hipótesis, ya que es necesario realizar dichos experimentos.

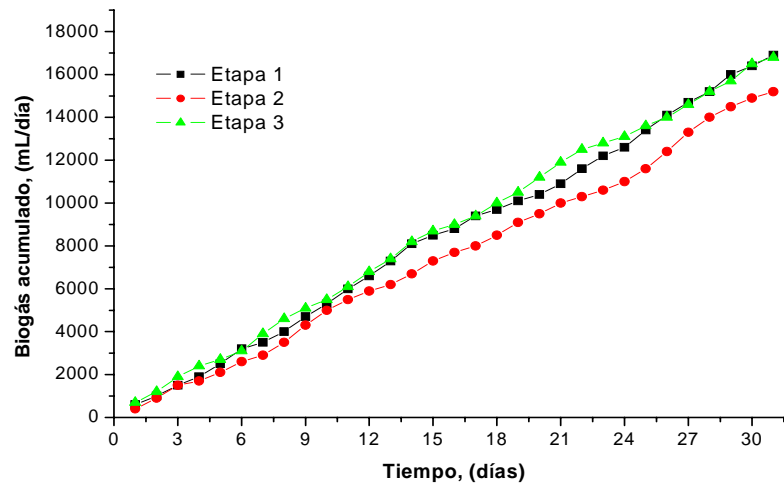


Figura 14, Biogás acumulado en el sistema completo para cada etapa (31 días).

- **Producción diaria de biogás y variación de DQO**

En la figura 15, se muestra la producción de biogás total diaria en el sistema de bioconversión anaerobia y la variación en la demanda química de oxígeno (DQO) para cada biorreactor, en la etapa I, se registró una producción de biogás máxima de 800 mL/día y un mínimo de 300 mL/día, con una velocidad de producción promedio de 545 mL/día, mientras que la DQO en el biodigestor en promedio alcanzó los 6803 mg/L alcanzando un valor máximo de 7452 mg/L y 5498 mg/L como mínimo, para el biofiltro el valor promedio fue de 5397 mg/L con un mínimo de 4100 mg/L y 6320 mg/L como máximo. Para la etapa II (figura 16), se registró una producción de 513 mL/día de biogás, con un máximo de 900 mL/día, la DQO fue de 6211 mg/L en el biodigestor y 5571 mg/L en el biofiltro, y en la etapa III (figura 17) la producción promedio fue de 542 mL/día con un máximo de 800 mL/día, por otra parte la DQO registrada en esta etapa fue de 6735 mg/L en el biodigestor y 5446 mg/L para el biofiltro.

Es posible observar que en los días en que se registró mayor producción de biogás, la DQO en el biofiltro presentó una disminución, debido a la utilización de carbono por parte de las bacterias metanogénicas en la producción de metano y dióxido de carbono, lo cual se refleja claramente en todas las etapas, además la velocidad de producción de biogás para los tres experimentos en promedio fue de 533 mL/día, mayor a 425 mL/día observado por Derimel, (2002) quien utilizó estiércol de vaca y agua residual en un periodo de 30 días respectivamente.

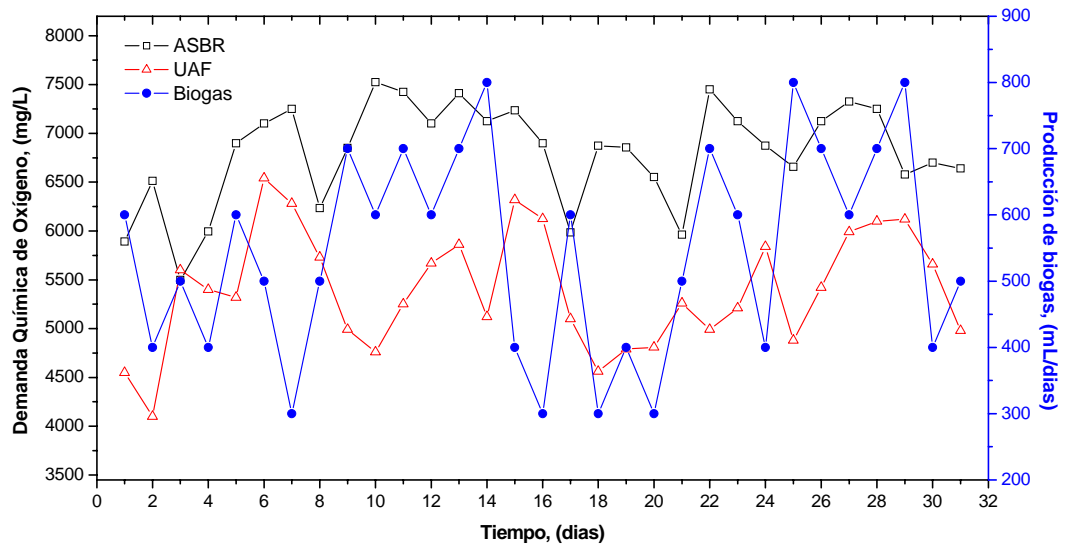


Figura 15. Producción de biogás y variación de DQO en ambos reactores para la etapa I, (31 días).

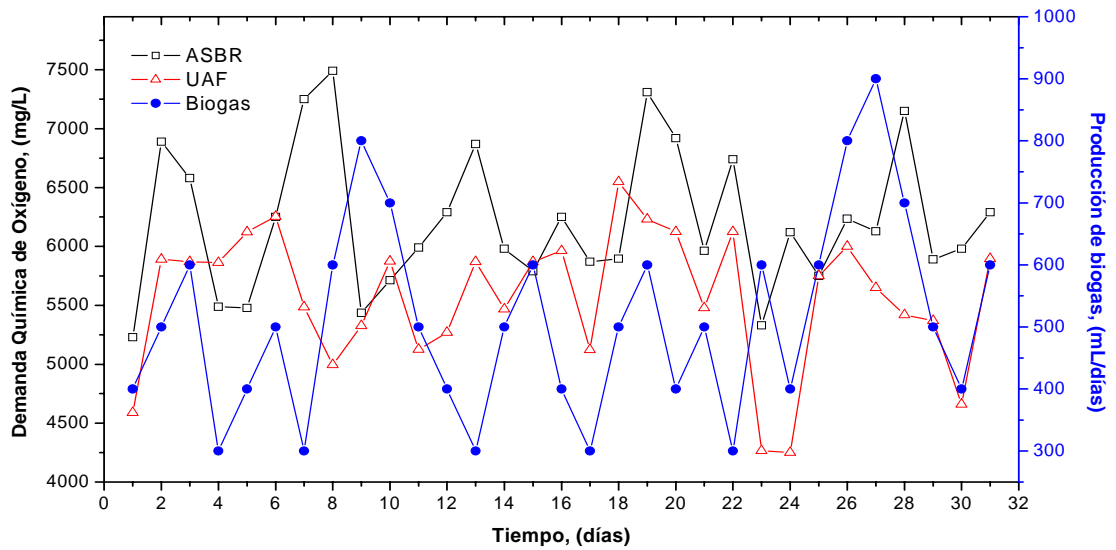


Figura 16. Producción de biogás y variación de DQO en ambos reactores para etapa II (31 días).

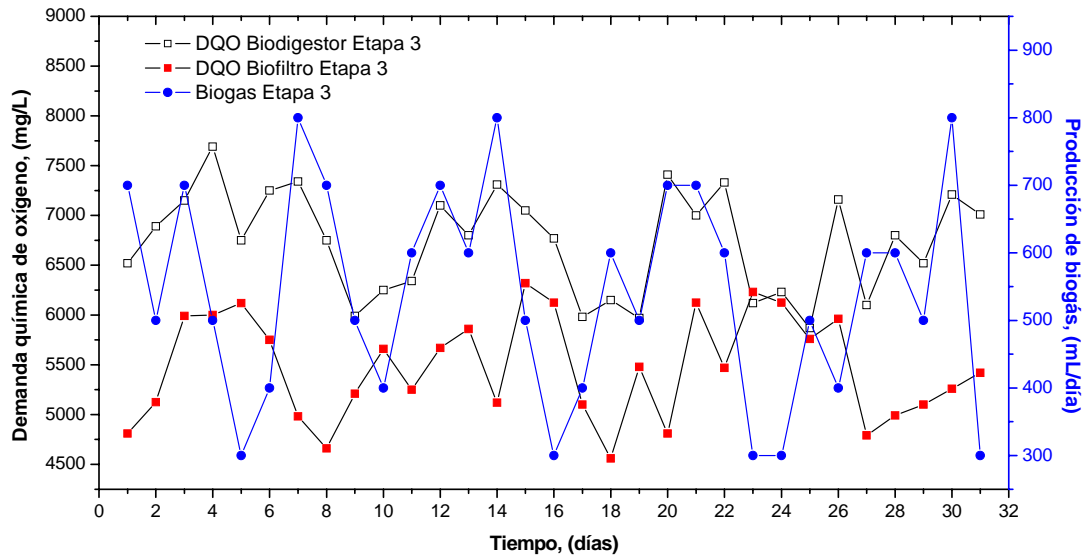


Figura 17. Producción de biogás y variación de DQO en ambos reactores para etapa III, (31 días).

- **Producción diaria específica de biogás**

Las figuras 18,19 y 20, muestran el volumen de biogás diario generado por gramo de alga seca ingresada al biodigestor en cada etapa, registrándose en promedio 181 mL/g_{alga seca}/día, para la etapa I, 164 mL/g_{alga seca}/día, para la etapa II y 180 mL/g_{alga seca}/día, para la etapa III, no se observan grandes diferencias entre los experimentos, teniendo solo una pequeña disminución en la producción promedio de la etapa II, correspondiente a la mezcla de algas, durante el periodo total de medición se registró 266 mL/g_{alga seca}/día como valor máximo, menor a 340 y 300 mL/g_{sólido}/día observado por Omer y Fadalla, 2003 al utilizar estiércol de vaca y agua residual respectivamente en sistemas de una etapa, podría deberse a que el alga, a pesar de ser añadida al biodigestor en medio acuoso, es menos soluble que los sustratos antes mencionados, lo que dificulta el

aprovechamiento del carbono presente en cada gramo de alga, sin embargo es similar a 290 mL/g_{alga seca}/día, registrados por Honorato (2003), utilizando *Macrosystis pyrifera*, en un sistema de dos etapas, en condiciones de operación idénticas a las utilizadas en el presente estudio, y a los 203 y 250 mL/g_{alga seca}/día reportado por Chinoweth, (1997) al utilizar *Macrosystis pyrifera* y *Laminaria* como sustrato en un sistema de dos fases que utiliza un reactor continuo (CSTR) como hidrolizador y un reactor de flujo vertical sin mezcla (NMVFR) como metanizador ambos a temperatura mesófila. Es importante destacar que la producción específica, corresponde al biogás generado por gramo de alga alimentado al biodigestor y no por gramo de alga degradado en la etapa hidrolítica, ya que no todo el sustrato añadido al biorreactor es hidrolizado por las bacterias, es decir, solo una fracción del alga añadida participa en la generación de metano y CO₂, lo que disminuye la producción específica de biogás, esto se observa claramente al realizar los balances de masa al sistema, ya sea individual o global.

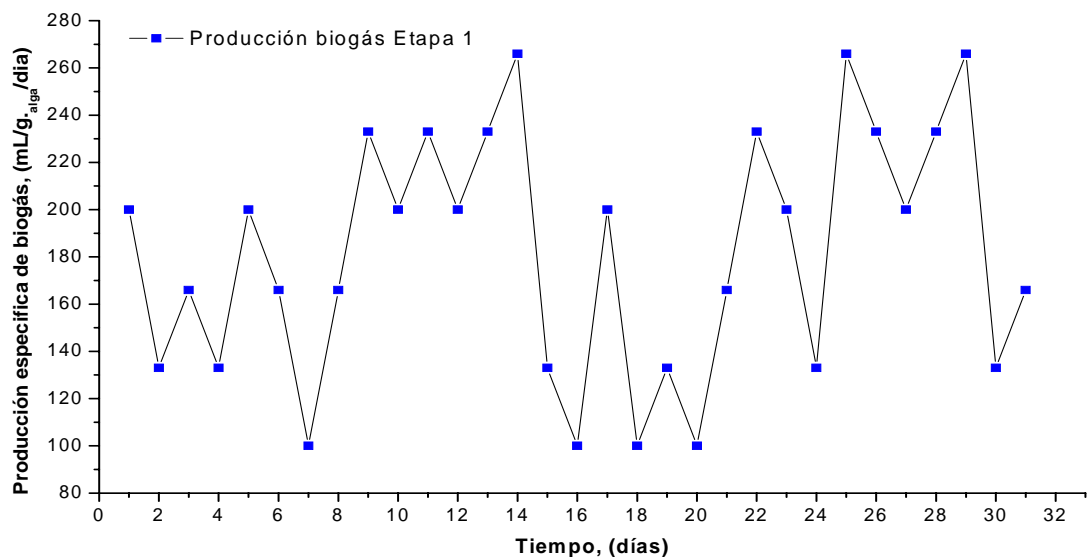


Figura 18. Producción diaria específica de biogás para la etapa I, (31 días).

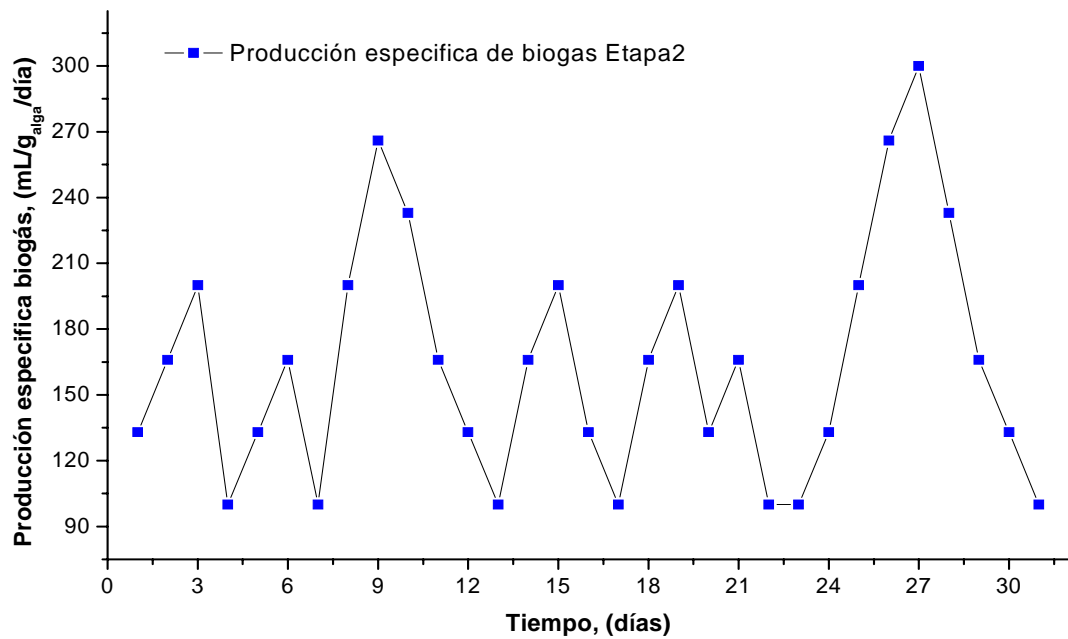


Figura 19. Producción diaria específica de biogás para la etapa II, (31 días).

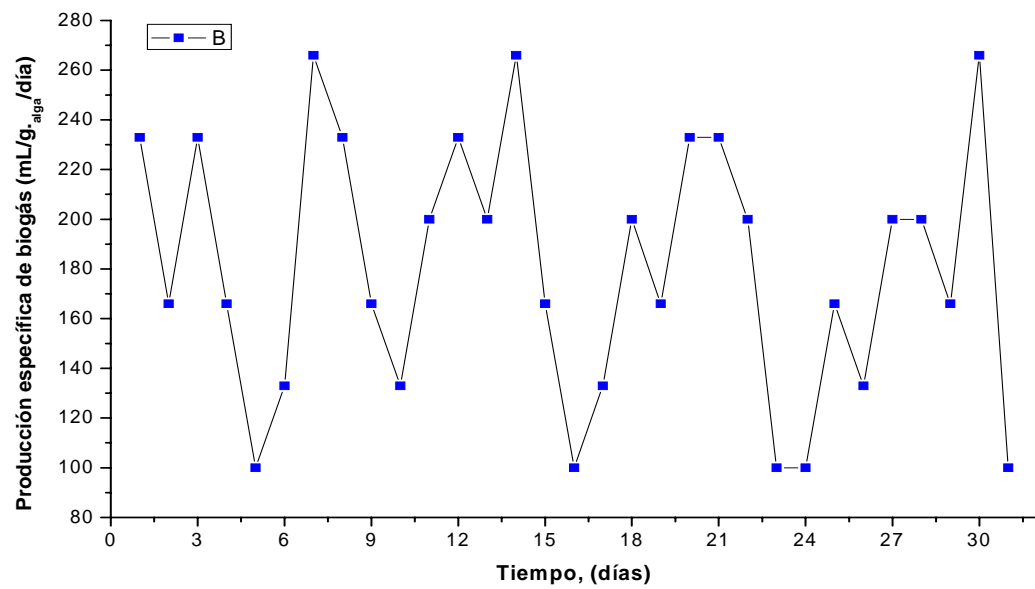


Figura 20. Producción diaria específica de biogás para la etapa III, (31 días).

- **Porcentaje de metano y producción de biogás**

La figura 21, muestra el porcentaje de metano y la producción diaria de biogás en el sistema para la etapa I, donde el porcentaje de metano máximo registrado fue de 70% con un promedio de 65%. Para la etapa II (figura 22), se alcanzó un porcentaje máximo de metano de 69%, con un promedio de 66%, y para la etapa III (figura 23), se obtuvo 67% como porcentaje máximo de metano producido, con 64% de promedio. El menor porcentaje de metano obtenido fue de 60%, el cual se produjo en la etapa I. No se observa mayor diferencia entre los porcentajes registrados, siendo similares a los 69%, 71% y 73% reportados por Raynal et al. (1997), Bouallagui et al. (2004), Yu et al.(2002) y Goel et al.(2001), al utilizar residuos vegetales en sistemas de dos fases, utilizando reactores ASBR y UASB, todos operados a temperatura mesófila. De las figuras 21, 22 y 23, también es posible observar que la variación máxima del porcentaje de metano, oscila entre 60-70%. En cambio la variación de la producción de biogás oscila casi continuamente entre 300 ml/día y 800 ml/día. De lo anterior se puede inferir que aun para grandes cambios en la producción de biogás en el sistema completo y en las tres etapas, el porcentaje de metano en el gas producido en cualquier día, de cada etapa, se mantiene aproximadamente en un promedio de 65% en volumen, reflejando esto que la calidad del biogás producido se mantiene alta a pesar de las variaciones en la producción, además estos porcentajes superan el 50% de metano que se indica como mínimo, para conferir un poder calorífico suficiente para ser utilizado como gas combustible según Cofré (2001). Por otra parte los análisis de CO₂ arrojaron concentraciones que en promedio no superaron el 18%, es decir una razón CH₄/CO₂ de 3.61, y para H₂S menores a 0.1% e inferior a 1% para NH₃ respectivamente. El bajo

porcentaje de H_2S presentes en el biogás es muy ventajoso al momento de utilizar el biogás, ya que el daño esperado por la corrosión de las líneas que transportan el gas en el proceso, es muy bajo. No se observa relación entre la producción de biogás diaria y el porcentaje de metano determinado para el mismo día, ni tampoco con las mediciones de elementos trazas realizadas a la corriente de biogás, esto debido a que el biogás no solo esta compuesto de metano y dióxido de carbono, por lo tanto una alta producción de biogás no necesariamente corresponde a un alto contenido de metano, pudiendo ser cuantificado, hidrógeno o ácidos volátiles en la corriente de biogás, además la concentración de dióxido de carbono, fue medida puntualmente solo en algunas ocasiones, pudiendo alcanzar concentraciones mayores al 18% v/v en los días en que la producción de biogás fue mayor, no así la concentración de metano.

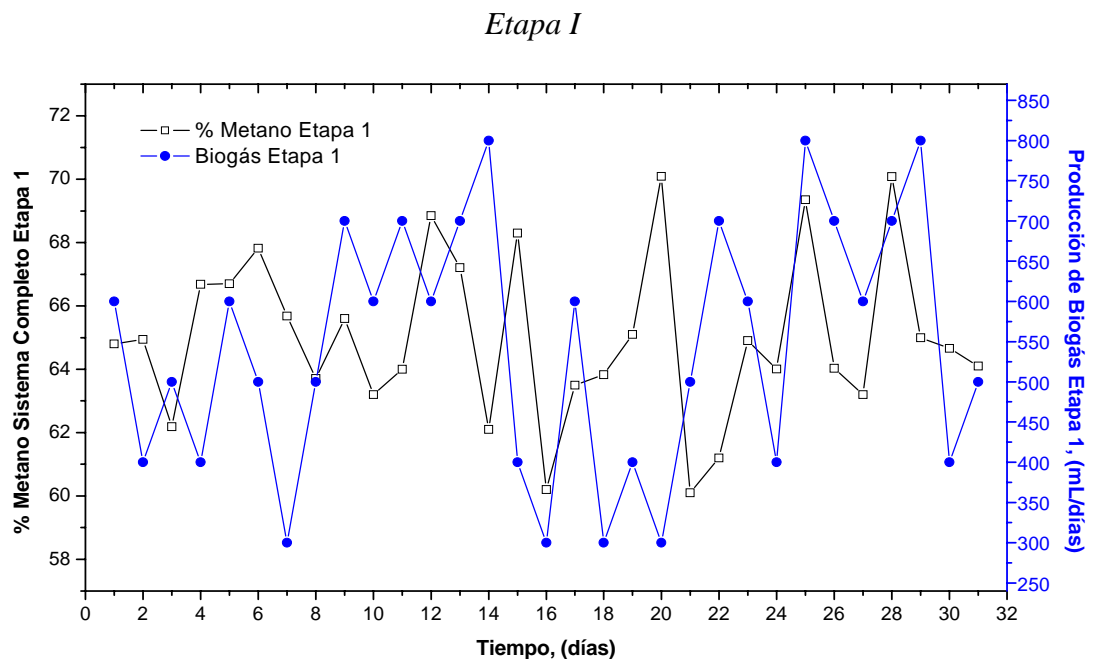


Figura 21. Porcentaje de metano y producción diaria de biogás para la etapa I, (31 días).

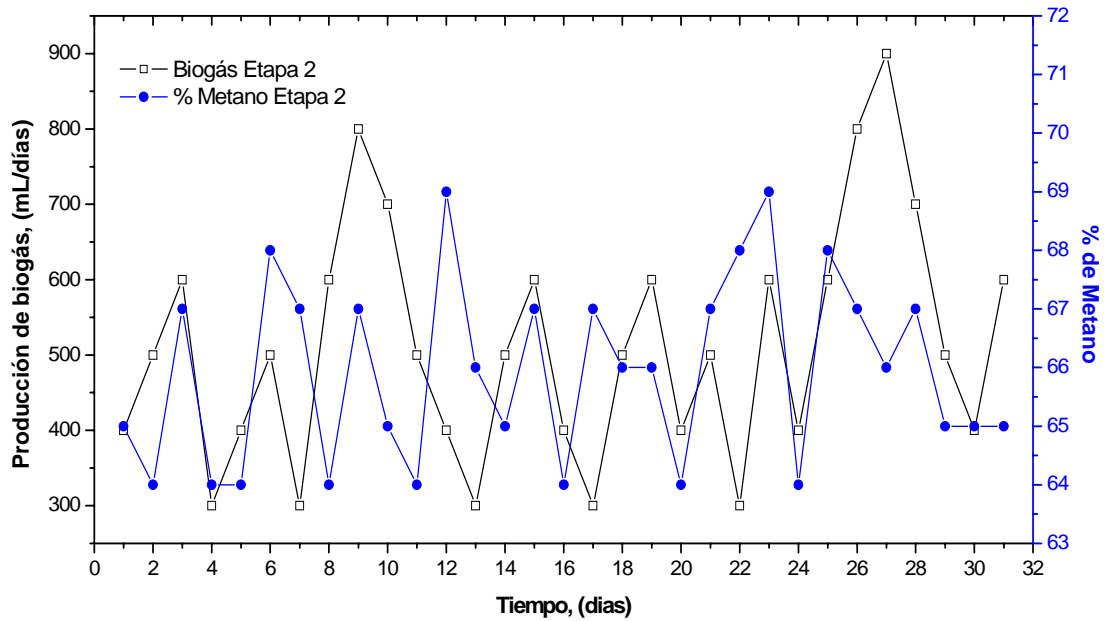


Figura 22. Porcentaje de metano y producción diaria de biogás para la etapa II, (31 días).

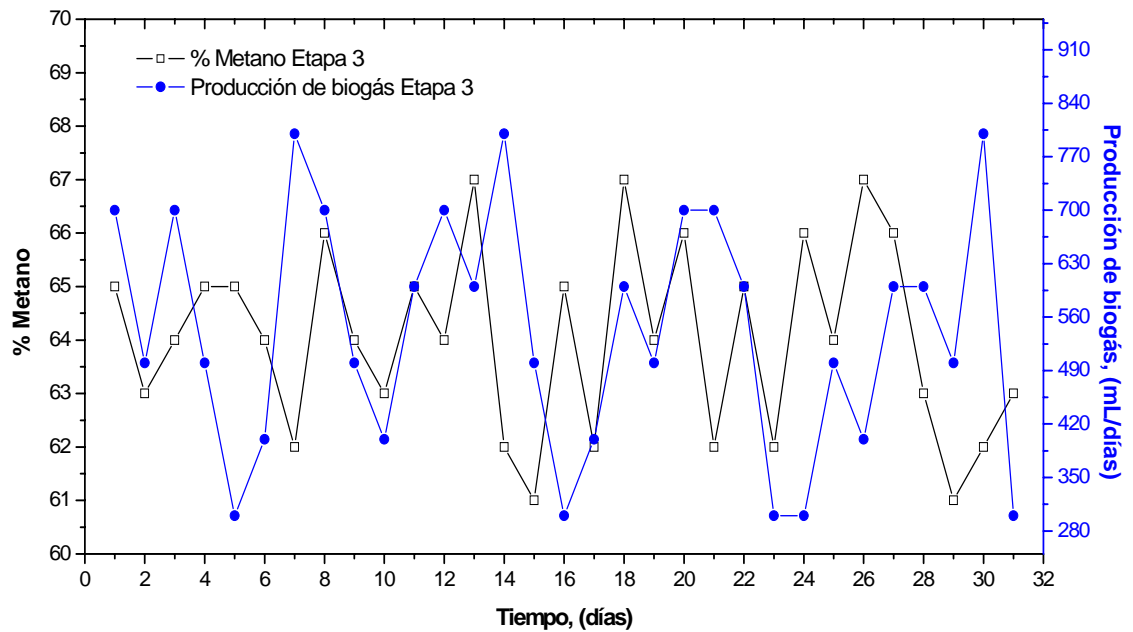


Figura 23. Porcentaje de metano y producción diaria de biogás etapa III, (31 días).

- **Variación de pH y temperatura**

En general el pH se mantuvo dentro de los rangos óptimos recomendados por Omer y Fadalla. (2003), tanto para el biodigestor como para el biofiltro durante el transcurso de las mediciones (figura 24, 25 y 26). El promedio de las tres etapas fue de 5.5 en el hidrolizador y 7.1 para el metanizador, la mayor alza de pH fue de 5.78, y 7.41 respectivamente y ambos se registraron en la etapa II, como muestra la figura 25. Por otra parte, la temperatura osciló entre 34 y 37°C, con un promedio de 36°C para ambos biorreactores manteniéndose dentro de los valores ideales, no se registraron alzas ni descensos bruscos de temperatura en ninguna de las etapas, pero se debe destacar que las mediciones se realizaron cuando la aclimatación de los microorganismos ya era óptima, y se encontraban bajo control todas las condiciones de operación.

La estabilidad en cuanto a pH y temperatura mostrada por el sistema se debe al óptimo funcionamiento en el periodo de mediciones, ya que anteriormente a esto, el biodigestor presentó disminuciones de pH hasta 4.8, lo cual produjo una inhibición de las bacterias hidrolíticas y por ende una producción de biogás menor, esta baja se debió a la acumulación de ácidos grasos en el biodigestor, a causa de problemas operacionales, que impedían el normal traspaso del lixiviado hacia el biofiltro. En cuanto a la temperatura, esta se mantuvo gran parte del periodo de marcha blanca dentro de los rangos correspondientes, registrando leves oscilaciones que no afectaron notoriamente la producción de biogás.

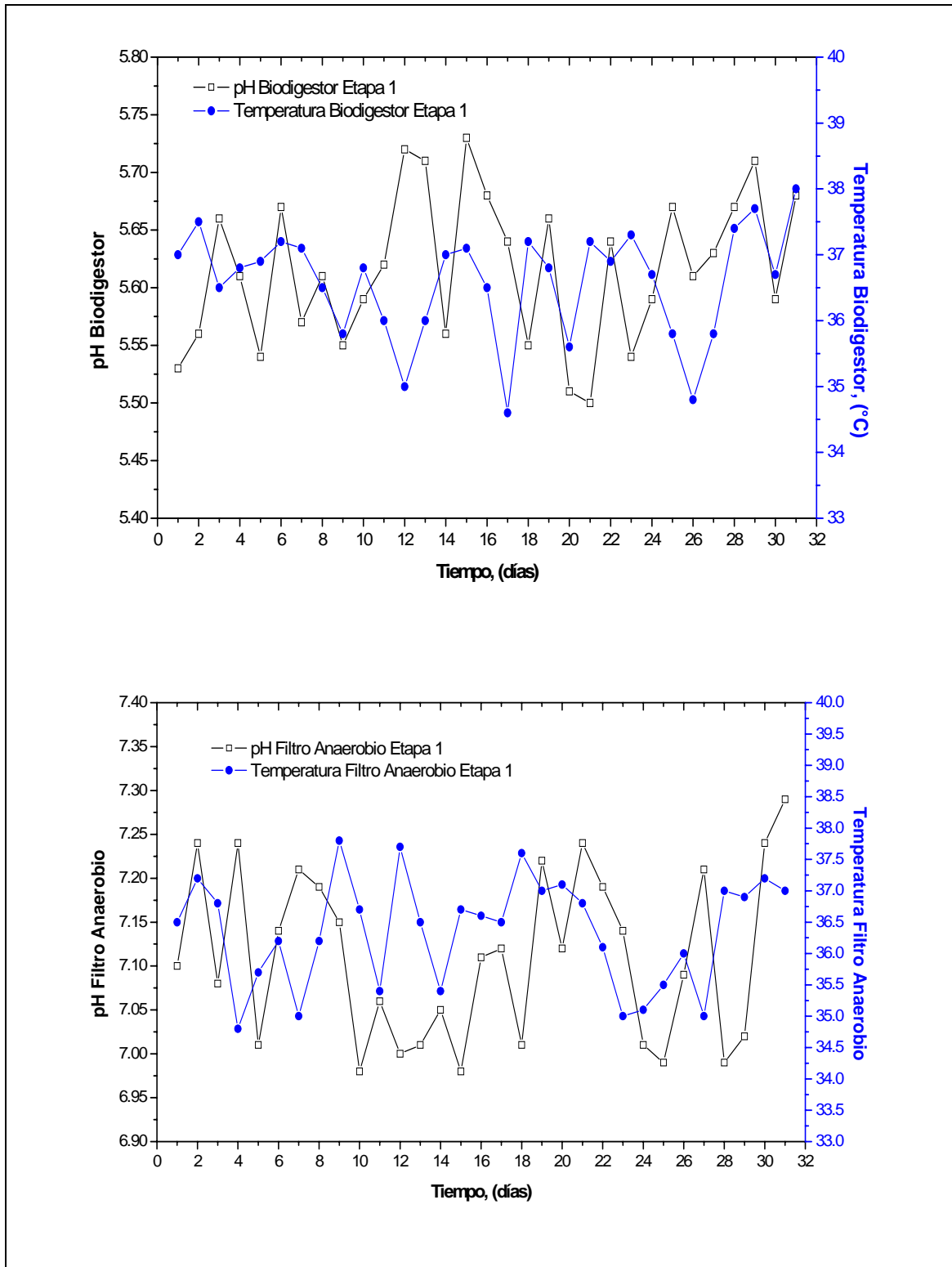


Figura 24, Variación de pH y temperatura en ambos biorreactores para la etapa I.

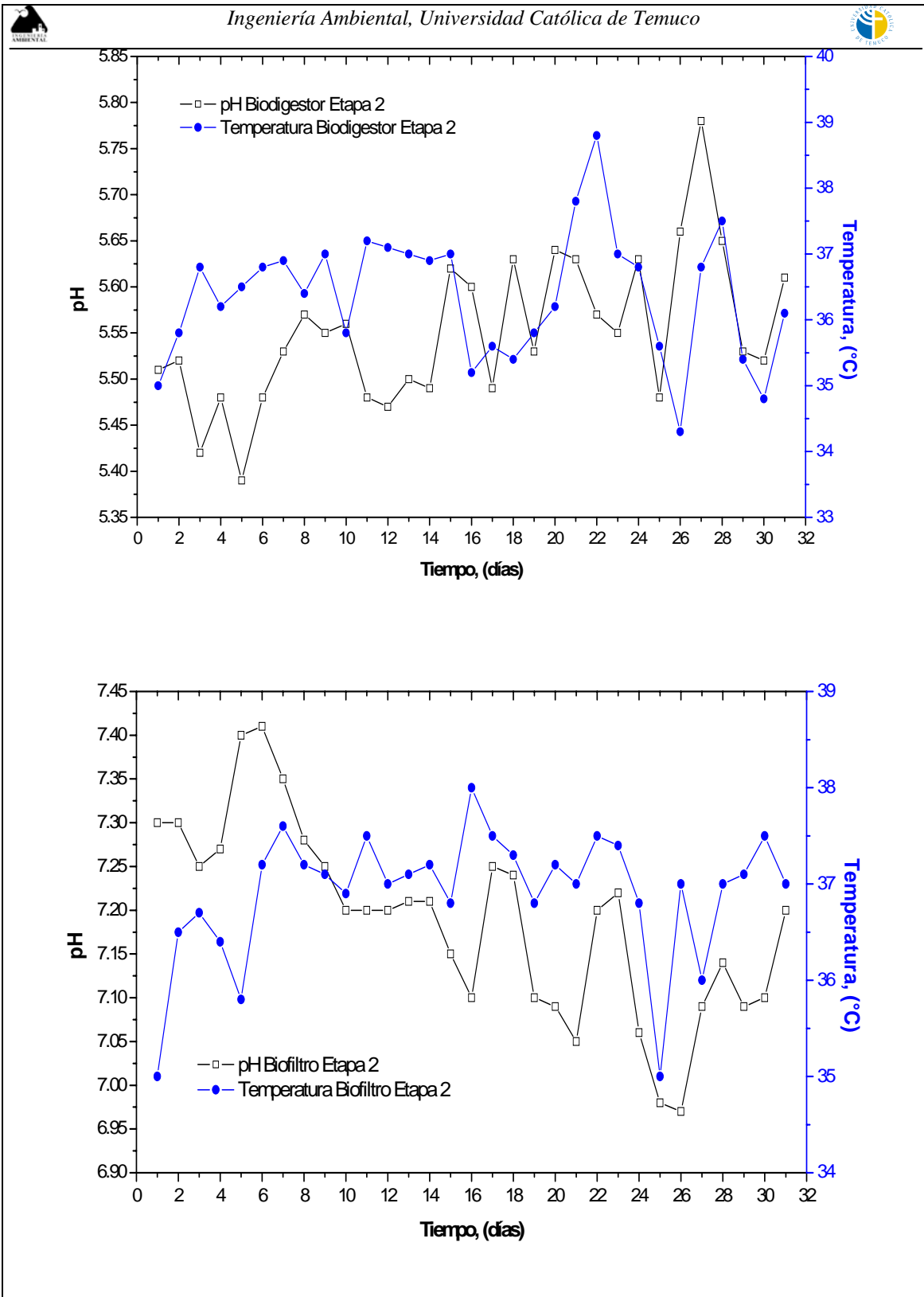


Figura 25, Variación de pH y temperatura en ambos biorreactores para la etapa II.

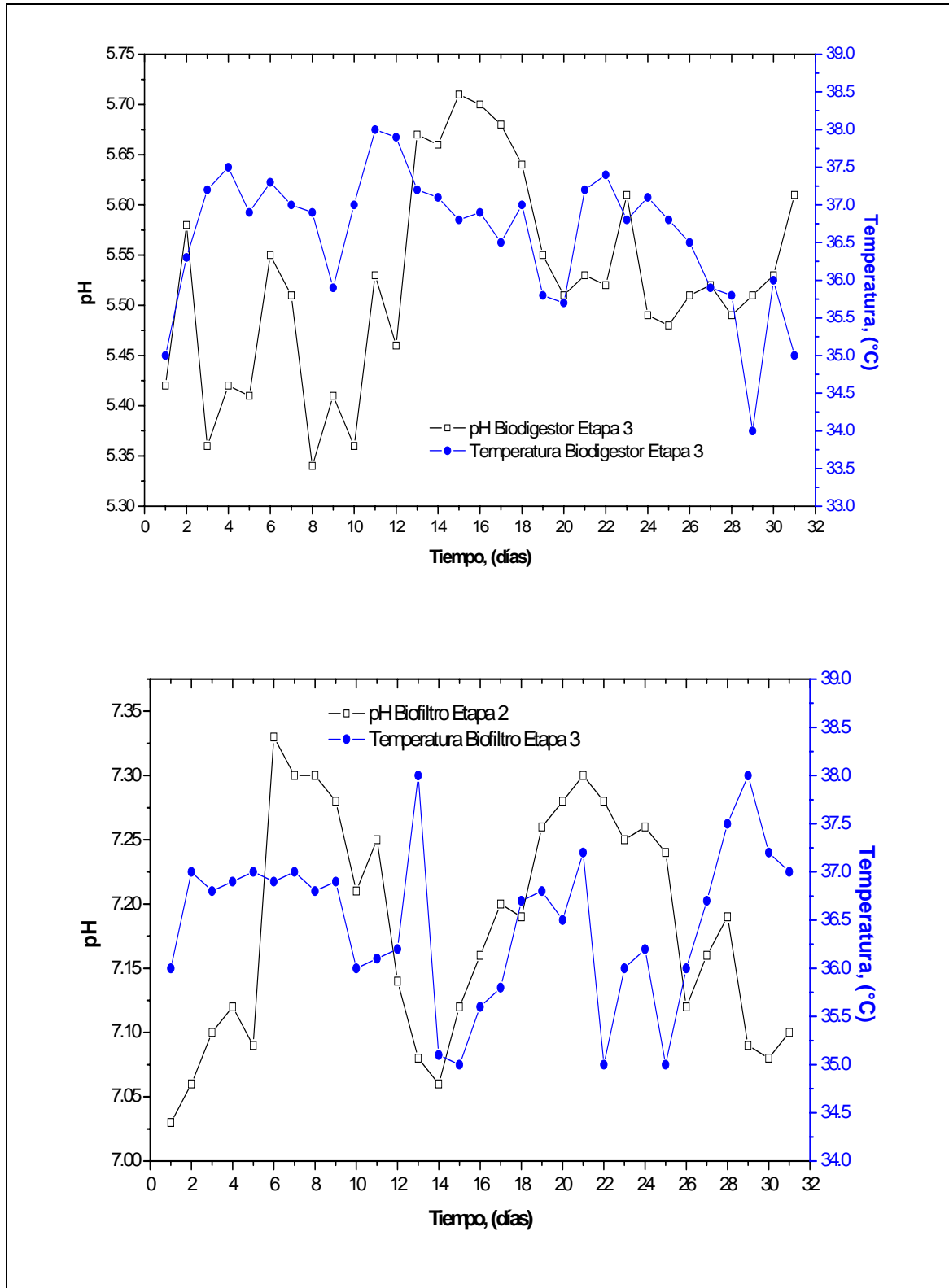


Figura 26, Variación de pH y temperatura en ambos biorreactores para la etapa III.

- **Sólidos totales y volátiles**

Los valores de sólidos totales para la etapa I, fluctuaron entre los 4-11 g/L en el biofiltro y entre 4-8g/L en el biodigestor y los sólidos volátiles oscilaron entre 2-8 g/L y 3-7 g/L para el biofiltro y biodigestor respectivamente (figura 27). En la etapa II, se registraron en el biofiltro concentraciones de 5-10 g/L para los sólidos totales y 3-9 g/L para los volátiles, y en el biodigestor oscilaron entre 5-9 g/L y 3-8 g/L para sólidos totales y volátiles respectivamente (figura 28). Para la etapa III el biodigestor registró concentraciones de 5-11 g/L para los sólidos totales y 3-9 g/L para los volátiles, en cambio para el biofiltro fluctuaron entre 4-9 g/L y 3-8 g/L para totales y volátiles (figura 29).

Los valores obtenidos no superan los 15 g/L que Sanz, (1996) indica como óptimos para este tipo de experiencias, y son similares a 11g/L para los totales y 7 g/L para volátiles, reportado por Chinowth (1997), además, las concentraciones de sólidos estuvieron en constante oscilación durante todo el periodo de medición, observándose la lógica que existe entre sólidos totales y volátiles, siendo estos últimos de menor concentración en todas las etapas y para ambos reactores, debido a que los sólidos totales incluyen microorganismos, algas y sólidos inorgánicos a diferencia de los volátiles que incluye solo material biológico. También se observa que la cantidad de sólidos totales y volátiles es mayor para el biofiltro debido al tipo de reactor, que al ser de lecho fijo retiene mayor cantidad de biomasa, lo cual se refleja en un aumento en la concentración de sólidos.

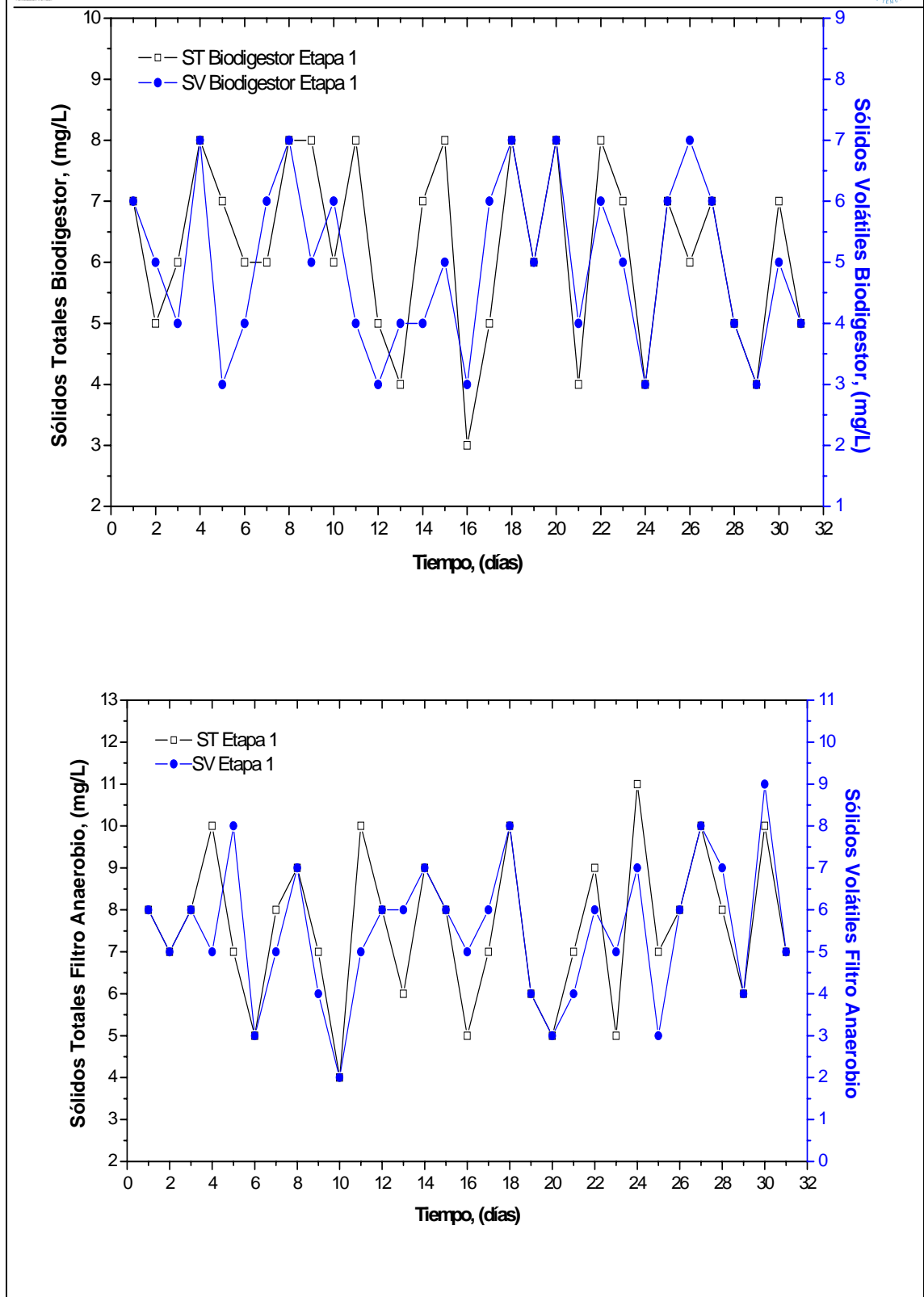


Figura 27. Variación de sólidos totales y volátiles en cada biorreactor, etapa I.

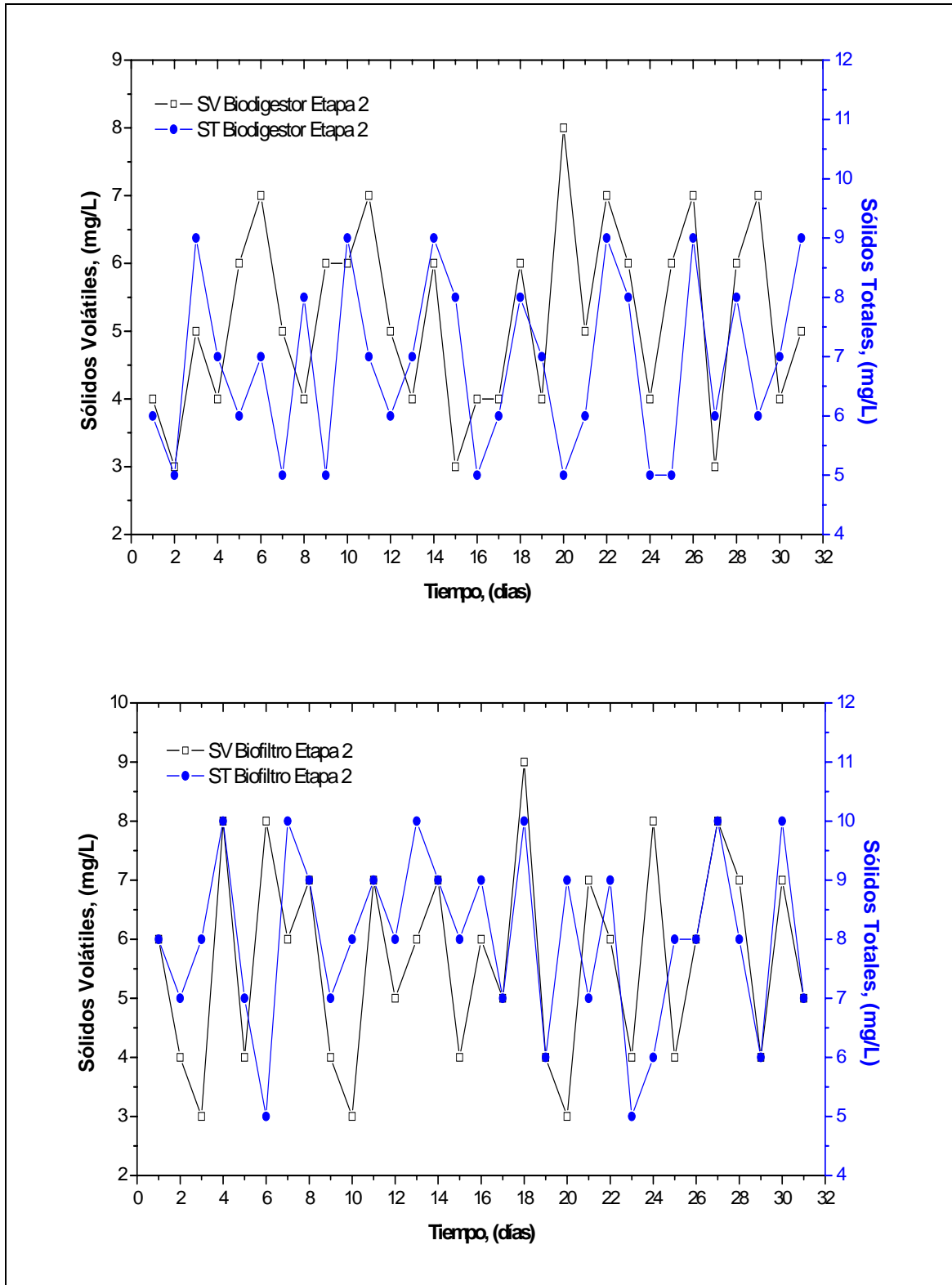


Figura 28. Variación de sólidos totales y volátiles en cada biorreactor, etapa II.

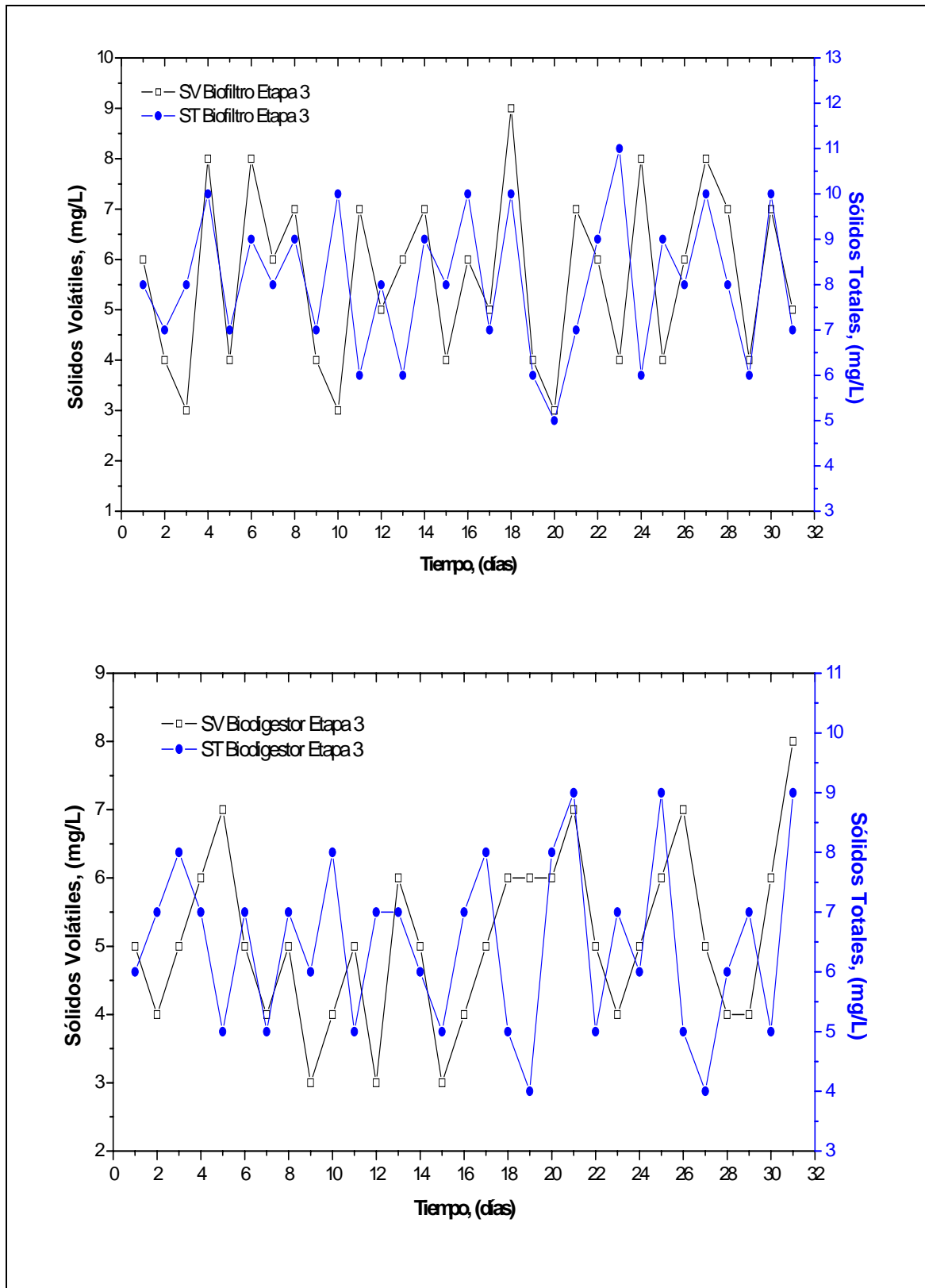


Figura 29. Variación de sólidos totales y volátiles en cada biorreactor etapa III.

7.4 Análisis Elemental

La tabla 15, muestra el análisis elemental realizado a las algas utilizadas como sustrato, el lodo obtenido en el biodigestor, el lixiviado traspasado al biofiltro y la purga recolectada de este. Se observa la enorme semejanza que hay entre las algas *Macrosystis pyrifera* y *Durvillea antarctica* en cada análisis, siendo además muy similares al porcentaje de 29.7% en el contenido de carbono, 4.2% de hidrógeno y 1.7% de nitrógeno reportado por Chinoweth et al.(1997), al utilizar el alga *Macrosystis Pyrifera*.

La relación C/N para las algas fue de 24 y 23 respectivamente, mayor a 17.5 obtenida por Chinoweth et al.(1997), y de 21.8 para el biofiltro y 21.9 para el biodigestor, encontrándose dentro del rango óptimo de 20:1 a 30:1 recomendados por Flotats et al.2000, Omer y Fadalla (2003). La composición del lodo generado por el ASBR posee buena calidad, y los nutrientes se encuentran dentro de los rangos para biofertilizantes mencionados por Westermeier (2004).

Tabla 15. Análisis elemental de lodo, algas, lixiviado y purga

ANALISIS	LODO	ALGA (A)	ALGA (B)	BIOFILTRO	BIODIGESTOR
Azufre	0.64 %	0.83%	0.88%	0.96%	1.86%
Carbono	37.66 %	38.94%	39.13%	32.01%	37.95%
Hidrógeno	5.59 %	5.22%	5.53%	2.13%	3.85%
Nitrógeno	4.31 %	1.58%	1.67%	1.47%	1.73%

7.5 Balances de masa.

Se realizó el balance de masa al carbono en el sistema global (figura 30), tomando en cuenta el volumen de biogás proveniente de la sumatoria entre la corriente del biodigestor y el biofiltro, se utilizó la concentración de metano y dióxido de carbono medidos experimentalmente en la corriente final del biogás, los porcentajes de carbono en las demás corrientes se obtuvieron también experimentalmente a través del análisis elemental.

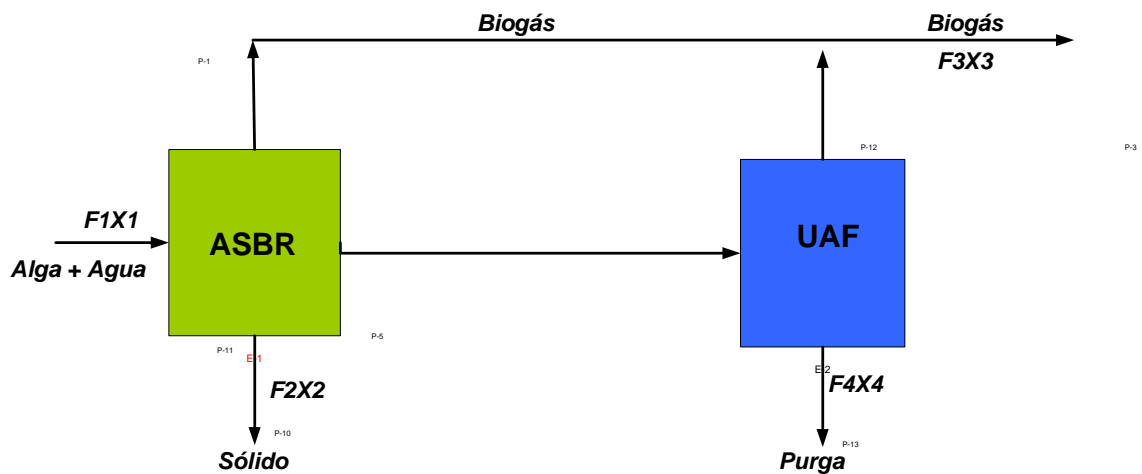


Figura 30. Flujos máscicos en el sistema global.

7.5.1 Balance global al carbono

El balance global del carbono permitió determinar el destino de cada gramo de carbono proveniente del alga utilizada como se observa en la tabla 16, y de esta forma saber qué porcentaje de éste efectivamente participa en la producción de AGV y biogás principalmente, como también cuanto carbono esta presente en el lodo y cuanto se recircula en el biofiltro. Para este fin, fue necesario hacer supuestos que permitieran realizar los balances satisfactoriamente con los datos que arrojó el análisis elemental, la producción y el porcentaje de metano.

Supuestos:

- Sistema en estado estacionario
- Sistema por lotes simple
- No existe generación de otros compuestos orgánicos volátiles

$$F_1 X_1 = F_2 X_2 + F_3 X_3 + F_4 X_4 \quad \text{Ecuación (6)}$$

Donde:

F_1 : Masa de algas entrada g Alga seca / día

X_1 : % de carbono en alga seca, (p/p)

F_2 : Masa de alga salida g Alga / día

X_2 : % de carbono en el sólido (p/p)

F_3 : Masa de biogás salida g Biogás / día

X_3 : % de carbono total en el biogás

F_4 : Masa de alga salida g Alga / día

X_4 : % de carbono (p/p) en la purga

Tabla16. Flujo másico de carbono diario para cada etapa experimental.

g carbono /día	Etapa I	Etapa II	Etapa III
$F_1 X_1$	1.170	1.110	1.050
$F_2 X_2$	0.722	0.663	0.351
$F_3 X_3$	0.241	0.232	0.246
$F_4 X_4$	0.207	0.215	0.453

De forma experimental se determinó que el 30% del biogás recolectado en el gasómetro provenía del hidrolizador, y el resto era generado en el biofiltro, en base a eso, fue posible conocer que porcentaje del carbono total que entra al sistema, participa en la formación de biogás, ácidos grasos y sólido no estabilizado, y de esta manera obtener eficiencias para ambos biorreactores en cada etapa.

En promedio el biodigestor presentó una eficiencia del 48%, es decir el 48% del carbono total que entró al sistema, participó en la generación de AGV y biogás, por otra parte el 42% del carbono que ingresa al biofiltro fue transformado a metano y dióxido de carbono.

Se observó que para la etapa I y II, los porcentajes de carbono para cada flujo son similares, (figura 31) sin embargo en la etapa III, la generación teórica de AGV en el hidrolizador, aumentó en casi el doble respecto de los experimentos anteriores, por lo mismo el porcentaje de sólidos en el biodigestor se redujo a casi la mitad en comparación a las otras etapas, de igual manera el biofiltro aumentó la cantidad de carbono en la purga y disminuyó levemente la producción de biogás.

A pesar de observarse en la etapa III, mayor solubilidad del alga en el biodigestor y por ende, un aumento en la cantidad de carbono disponible para la formación de biogás en el biofiltro, no se percibió incremento alguno en las cantidades diarias de biogás recolectado ni tampoco en la concentración de metano, a diferencia de lo esperado.

Es probable que haya existido una limitación por reacción, debido a la falta de biomasa en el biofiltro, en comparación al aumento de ácidos grasos volátiles que ingresaba a el, producto del alga utilizada, los microorganismos consumen el sustrato para producir metano hasta su capacidad máxima, luego de eso el aumento en la producción de metano se detiene, aunque el sustrato se continúe añadiendo, esta situación se podría revertir, aumentando la biomasa presente en el biofiltro o aumentando el tiempo de residencia de los ácidos en el reactor, también puede ser posible, una limitación por transferencia de masa en el metanizador, debido a la ausencia de agitación por el diseño de este tipo de reactores, sin embargo el mezclado es reemplazado por la recirculación constante del sustrato de manera eficiente, lo cual minimiza la opción de falta de agitación.

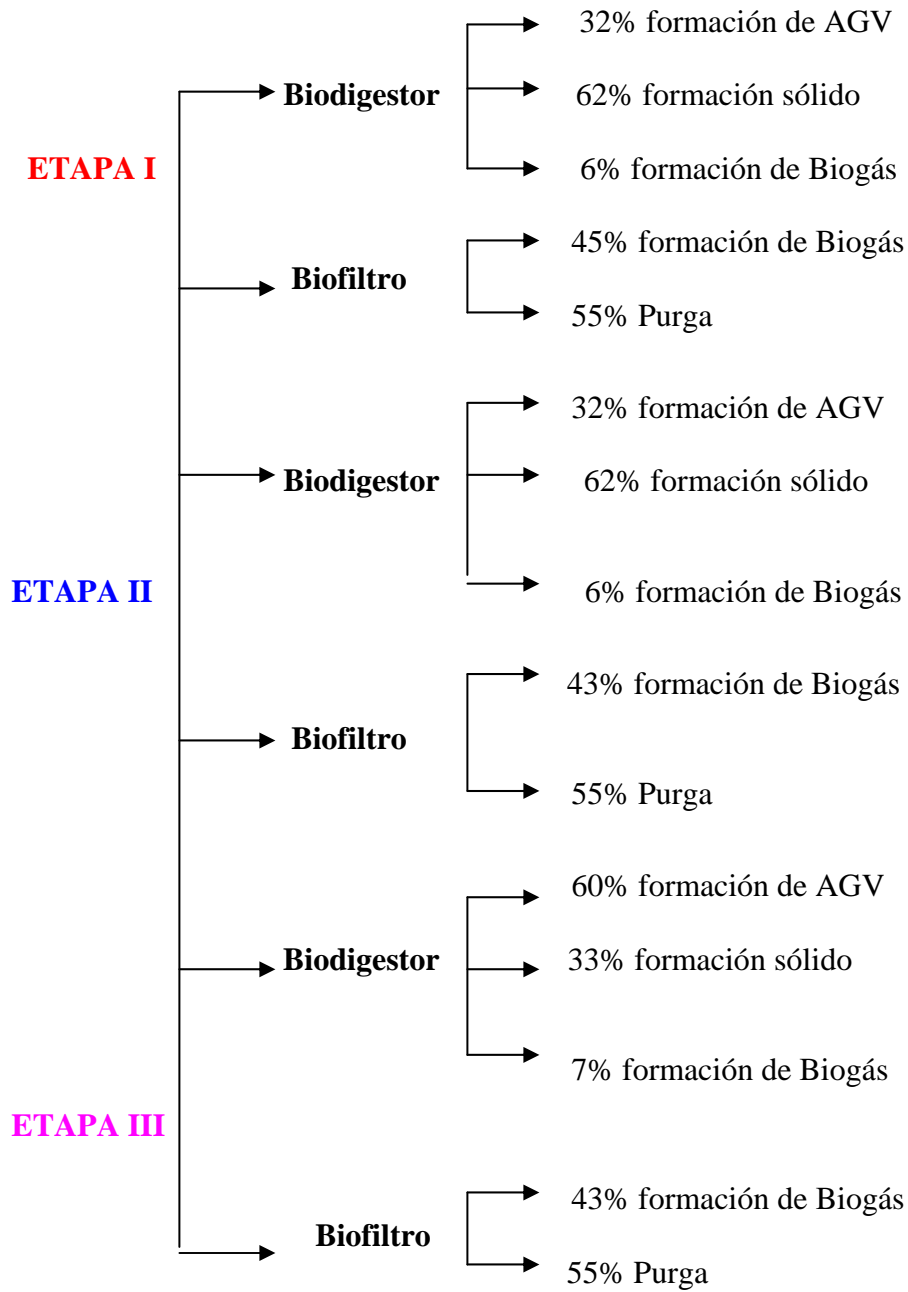


Figura 31. Porcentaje de carbono transformado a biogás, AGV y sólido, en cada etapa.

8. CONCLUSIONES

- Las algas marinas son un recurso biomásico renovable altamente biodegradable y es posible obtener biogás a partir de la degradación de éstas, en sistemas de bioconversión anaerobios en dos etapas, con porcentajes de metano considerados suficientes para ser utilizado como biocombustible bajo las condiciones de operación utilizadas en este estudio, como también un buen fertilizante natural.
- Por otra parte la separación física de las etapas hidrolíticas y metanogénica permitió alcanzar un alto nivel de control sobre los parámetros de operación una vez aclimatados los microorganismos en sus respectivos biorreactores.
- los dos tipos de algas estudiadas presentaron grandes semejanzas en sus composiciones elementales y altos rendimientos en la formación de metano al utilizarse por separado, sin embargo la mezcla de algas no presentó sinergia alguna en ninguna de las etapas, manteniendo la producción y concentración de metano respecto del alga pura.
- El alga *Macrosystis Pyrifera* generó 16.9 L de biogás con 65% de metano en un periodo de 31 días, el alga *Durvillea Antartica* generó 16.8 L con 64% de metano en igual periodo y finalmente de la mezcla de ambas en razón 1:1 se obtuvo 15.9 L con 64% de metano. Todos los experimentos se realizaron alimentando 3 g de alga seca por día, pura o en mezcla.

- El biodigestor presentó un 48% de eficiencia en la producción de ácidos grasos volátiles y biogás, mientras que el biofiltro obtuvo 43% de eficiencia en la formación de biogás.
- En las mediciones a los sistemas individuales, se obtuvo para el ASBR una producción promedio de biogás de 6.2 L y de 11.2 L para el UAF, con una producción diaria promedio de 413 mL/día para el biodigestor y 747 mL/día para el biofiltro, en total el biogás acumulado durante 15 días fue de 17.4 L, y el 30% de este fue generado en el biodigestor.
- La etapa más compleja del sistema de bioconversión anaerobio corresponde a la aclimatación del consorcio microbiano a las condiciones de trabajo, necesarias para degradar el alga de manera eficiente.
- La velocidad específica de crecimiento fue de 0.031 mg/L para el ASBR y de 0.033 mg/L para el UAF, mientras que la concentración de biomasa fue de 2.3mg/L para el biodigestor y 3.7 mg/L para el biofiltro.
- La medición de la DQO es una manera eficaz de observar la variación en el consumo de carbono por parte de los microorganismos en cada etapa, el promedio para el biodigestor fue de 6583 mg/L y 5471 mg/L para el biofiltro.

- La producción diaria de metano no presentó ninguna relación con el porcentaje de metano medido para un mismo día, es decir, los porcentajes más altos de metano obtenidos no necesariamente corresponden a los días con mayor biogás recolectado.
- La producción diaria promedio de biogás en cada etapa fue de 545 mL/día, 513 mL/día y 542 mL/día, la máxima producción fue de 900ml/día.
- El porcentaje de metano en el biogás producido con las algas puras y la mezcla fue de aproximadamente de 65% en volumen, sin sufrir variaciones, lo que lo transforma en un mezcla de gas atractiva cualquiera sea la variación en el volumen de producción de biogás.

9. SUGERENCIAS

Con el fin de continuar con este tipo de investigaciones, se recomienda desarrollar metodologías para realizar catastros en la región, de los residuos que pudieran ser utilizados en la generación de biogás, obtener a través del trabajo en laboratorio las tasas de eficiencia para la obtención de biogás de cada tipo de residuo y mezclas de ellos, y finalmente definir costos, inversiones y modelos de negocio que permitan a nuestra región alcanzar los beneficios de la explotación de recursos energéticos localmente disponibles.

Para el trabajo experimental se recomienda incluir en los análisis ya realizados, la medición de los ácidos grasos volátiles, con el fin de determinar la capacidad de formación de AGV que posee cada sustrato, además hacer mediciones de dióxido de carbono simultáneamente al metano y en forma diaria, también se recomienda evaluar el comportamiento del sistema trabajando en continuo o semicontinuo, utilizar como materia prima otras macroalgas, microalgas o biomasa proveniente de humedales, como también evaluar la eficiencia en la producción de biogás con distintas mezclas, o escalar el sistema anaerobio, añadiendo cantidades de sustrato mayores a las ya usadas.

10. BIBLIOGRAFIA

- Angelidaki, I. *Anaerobic Digestion in Denmark past, present and future*. Aprovechamiento Energéticos de Residuos Orgánicos, Nov. Berlin (Alemania), pp 214-215. (1997).
- APHA, Cleseri. L.S, *Standard Methods for examination of water and wastewater*, 18th, ed Enviromental Fed. Washington D.C, U.S.A (1992)
- Avila, R. *Biotecnología y su Aplicación*, Edit Erasur, pp 42-48, México (2002).
- Bonmanti. A, Flotats. X, Maten. L, Campos. E, *Study of Thermal Hydrolysis as a Pretreatment to Mesophilic Anaerobic Digestion of pig slurry*, Water science and Technology. vol 44 .pp 122-127 (2001).
- Bouallagui H., M. Torrijos, J. J. Godon, R. Moletta, R. Ben Cheikh, Y. Touhami, J.P. Delgenes and M. Hamdi. (2004). *Two-phases anaerobic digestion of fruit and vegetable waste: bioreactors performance*. J. Biochem. Eng. 21: 193-197.
- Chinoweth, D., Fannin, k. *Biological Gasification of Marine Algae*, Departament of Agricultural and Biological Engineering, University of Florida, October, pp 87-112(2002).
- Cofre, C. *Guía Para la Construcción y Operación de una Planta de Biogás, alimentada con lodos Residuales de la Industria Carnea*, Tesis para Optar al Titulo de Constructor Civil ,Universidad Austral de Chile, Valdivia (Chile), pp 86-99(2001).

- De la Fuente, E. *Estudio de la producción de Biogás en una unidad experimental de Relleno Sanitario*, Trabajo de tesis para optar al grado de Ingeniero Civil Industrial, Otorgado por la Universidad de Barcelona, España (1995).
- Derimel, B., Yenigun, O. *Two-phase Anaerobic Digestion Processes*. Review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*.10, pp 743-755(2002).
- Flotats, X., Bonmati, A., Campos, E., Teira, R. *El proceso de secado de purines en el marco de Gestión Integral de Residuos Ganadero*, Tratamiento de residuos ganaderos, Enero, Madrid (España), pp12-15 (2000).
- Flotats, X. *Aprovechamiento Energético de Residuos Ganaderos*, Departamento de Medio Ambiente, Universidad Lleida,(1997).
- Flotats, X. *Digestión Anaerobia Termofílica de Purines de Cerdo y Lodos de Plantas Depuradoras de Aguas Residuales Urbanas*. Congreso Ambiental, Bilbao,(1997).
- Goel, B., Pant, D.C., Kishore, V. *Two-phase anaerobic digestion of spent tea leaves for biogás and manure generation*. *Bioresource Technology* vol 80 153-156 (2001).
- Jain, S., Mattiasson, B. *Aclimatization of methanogenic consortia for low pH biomethanation process*. *Biotechnology Letters*, vol 20, n°8, pp 771-775 (1998).
- Jeason, D.Carrera,J. *Avances en Biotecnología Ambiental, tratamiento de residuos líquidos y sólidos*, vol 1, pp 35-52, Ed Acribia, Madrid, España (2000).

- Lay, J., Li, Y., Noyke, T. “*The Influence of pH and Ammonia Concentration on the Methane Production in High-Solids Digestion Processes*”. *Water Environment Research*, Vol 50, N°5, Julio/Agosto (1998).
- Lobos, J. “*Metodología para la Determinación de los Parámetros Cinéticos de las Poblaciones Microbianas de la Digestión Anaerobia*”. Tesis conducente al grado de Magister en Ciencias de la Ingeniería con Mención en Ingeniería Bioquímica, Universidad Católica de Valparaíso, Chile (1999).
- Mc Caskey, G. *Biofertilizantes, ventajas frente a fertilizantes químicos*. , Edt Escribía, pp 256-289, Barcelona España (1990).
- Omer, M.A., Y. Fadalla. Biogas energy technology in Sudan. *Renewable Energy*. 28:499-507. (2003).
- Paulostathis, F. Gomez, G. *Kinetics of Anaerobic Treatment a critical, Review in Environmental Control*. Vol 21(5,6), pp 411-490 (1991).
- Raynal J., J. P. Delgenes and R. Moletta. Two-phase anaerobic digestion of solid waste by a multiple liquefaction reactors process. *Bioresource Technol.* 65: 97-103 (1998).
- Santelices, B. *Seaweed research and utilization in Chile: moving into a new phase Hidrobiología, Simposio Biodiversidad Marina, Chile* (1996).
- Sanz, J. *The Action of antibiotic on the anaerobic digestion process*, *Biotechnology Review*, vol 2, pp 11-18, Octubre(1997).

- Solera, R., Romero, L. I, Sales. *The Evolution of Biomass in a two-phase Anaerobic Treatment Process During Start –up*. Dept of Chemical Engineering Food and Environmental Technology, Faculty of Marine Science, University of Cádiz, Campus Rio San Pedro, Spain (2002).
- Soria, M. *Producción de biofertilizantes mediante biodigestión anaerobia de excretas*. Instituto Tecnológico Agropecuario, México (2000).
- Superintendencia de electricidad y combustible. <http://www.sec.cl>
- Veeken, A., Sanders,W. *Analysis and optimization of the Anaerobic Digestion Of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste*. USA (2002).
- Veeken, A., Hamelers,B. *Effect of substrate – seed mixing and leach ate recirculation on solid state digestion of biowast*. Review Technology, vol 5 pp23-47 (2000).
- Westermeier, A. *Rol actual de los fertilizantes en la agricultura e industria forestal*. III Congreso Recuperación de suelos, Valdivia, julio (2004).
- Yu, H.; Samani, Z.; Hanson, A. Smith,G. (2002). *Energy Recovery from Grass Using Two-phase Anaerobic Digestion*. Waste Management, 22 1-5.

11. ANEXOS

A. Calculo del carbono total

Para la obtención del carbono total diario, presente en la corriente de biogás proveniente del biodigestor, se debió realizar el siguiente calculo:

Datos CH₄ :

densidad = 0.7169 kg/m³ = 0.0007169 g/mL (Referencia)

% CH₄ = 0.65 v/v

Flujo volumétrico = 406 mL/día

Peso molecular, PM (CH₄) = 16 g/mol

Peso molecular, PM (C) = 12 g/mol

$$f_3 \times C_{CH_4, 3} \times \rho_{CH_4} = m_{CH_4, 3} \quad (1)$$

donde:

f₃: Flujo volumetrico (mL/día)

m_{CH₄, 3}: Flujo masico (g CH₄ /día)

ρ_{CH₄}: densidad(g/mL)

C_{CH₄, 3}: % metano

$$m_{CH_4, 3} * \frac{PM C}{PM CH_4} = F_3 X_{CH_4, 3}$$

$$0.191 \text{ g C/ día} = F_3 X_{CH_4, 3}$$

Datos CO₂

$$\rho \text{ CO}_2 = 1.9763 \text{ kg/m}^3 = 0.0019763 \text{ g/mL}$$

$$\% \text{ CO}_2 = 0.16 \text{ v/v}$$

$$\text{PM (CO}_2) = 44 \text{ g/mol}$$

$$f_3 \times C_{\text{CO}_2, 3} \times \rho \text{ CO}_2 = m_{\text{CO}_2, 3}$$

donde:

f₃: Flujo volumetrico(mL/día)

m_{CO₂, 3}: Flujo masico(g CH₄/día)

ρ CO₂: densidad(g/mL)

C_{CO₂, 3}: % metano

$$m_{\text{CO}_2, 3} * \frac{\text{PM C}}{\text{PM CO}_2} = F_3 X_{\text{CO}_2, 3}$$

$$0.050 \text{ g C/ día} = F_3 X_{\text{CO}_2, 3}$$

Luego de obtenidos los flujos tanto para metano, como para dióxido de carbono, se suman y se obtiene el flujo total, el cual se utilizó en el balance al carbono, expuesto en los resultados.

$$F_3 X_3 = F_3 X_{\text{CH}_4, 3} + F_3 X_{\text{CO}_2, 3} = 0.241 \text{ g carbono/día} \quad (2)$$

B. Curva de calibrado

Para la obtención de velocidad específica de crecimiento de los microorganismos, se debió realizar una curva de calibrado absorbancia v/s tiempo, para posteriormente determinar las concentraciones de biomasa, expuestas en resultados.

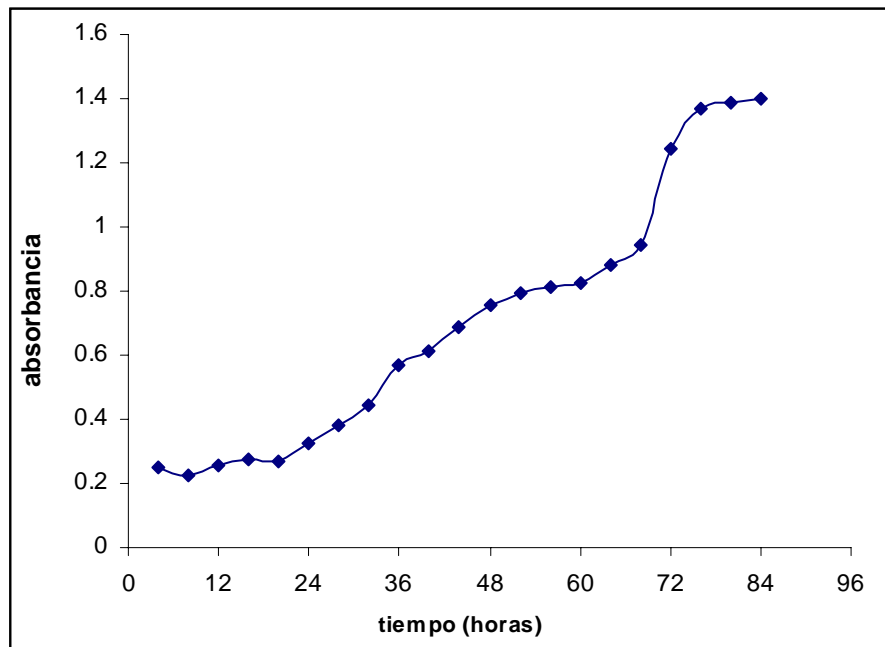


Figura 32. Curva de calibrado para el biodigestor anaerobio.

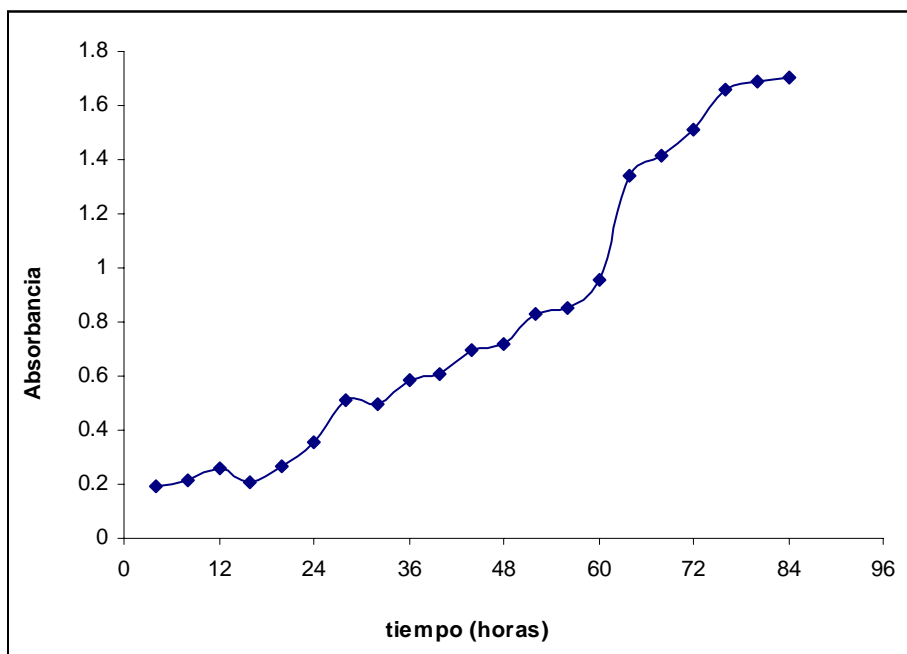
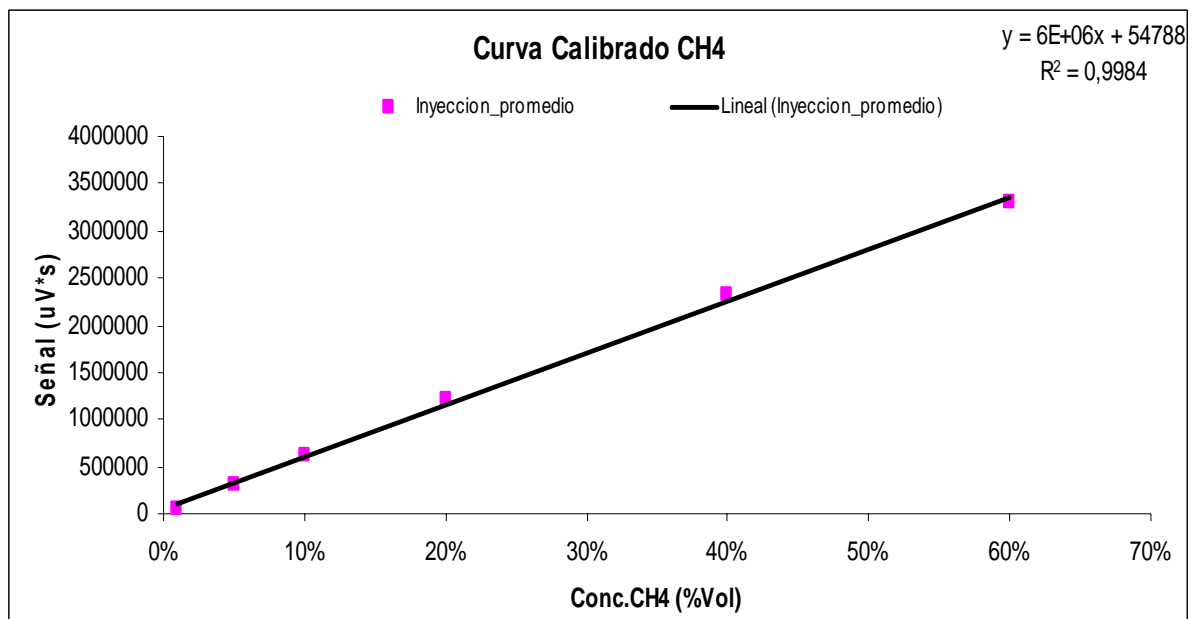


Figura 33. Curva de calibrado para el biofiltro anaerobio.**C. Curva de calibrado para el metano**

Para obtener los porcentajes de metano presentes en la muestra inyectada al cromatógrafo, fue necesario realizar una curva de calibrado que permitiese transformar las áreas entregadas por el sistema, a porcentaje de metano puro.

**Figura 34.** Curva de calibrado para la determinación de metano.

D. Flujos y concentraciones

Para los balances de masa, se utilizaron porcentajes de carbono presentes en el alga, sólidos y biogás para cada etapa, el desglose de estos datos se encuentra detallado en la tabla 2.

Tabla 17. Detalle de los flujos y concentraciones.

	Etapa I	Etapa II	Etapa III
F_1 g alga seca/día	3	3	3
X_1 % carbono	0.39	0.37	0.35
F_2 g alga / día	1.9	1.7	0.9
X_2 % carbono	0.38	0.39	0.39
F_3 g biogás / día	0.426	0.426	0.442
X_3 % carbono	0.57	0.54	0.55
F_4 g alga / día	0.646	0.632	1.224
X_4 % carbono	0.32	0.34	0.37