



## Producción de metano mediante digestión anaerobia de aguamiel, subproducto del beneficio húmedo del café

Methane production through anaerobic digestion of honey water, byproduct of coffee wet process

Fuilen Acarley G.<sup>1</sup>; Lawrence Quipuzco U.<sup>2,\*</sup>

Universidad Nacional Agraria - La Molina, Av. La Molina s/n- Lima-Perú.

### RESUMEN

Los efluentes del beneficio húmedo del café, comúnmente conocidos como aguas mieles, son generalmente desechados al ambiente sin tratamiento alguno y presentan una alta carga orgánica. Se evaluó la producción de gas metano a través del proceso de digestión anaerobia utilizando como inóculo estiércol fresco de vacuno. Para esto se llevó a cabo el ensayo del Potencial Bioquímico del Metano (PBM) utilizando un equipo manométrico de monitoreo continuo. Se evaluaron dos proporciones sustrato/ inóculo, obteniéndose como resultado un PBM de 481,2 ml CH<sub>4</sub>/g SV sustrato (329,0 ml CH<sub>4</sub>/g DQO sustrato) para la relación igual a 0,25 g SV sustrato/ g SV inóculo y un PBM de 377,0 ml CH<sub>4</sub>/g SV sustrato (257,7 ml CH<sub>4</sub>/g DQO sustrato) para la relación igual a 0,5. Con este estudio a nivel laboratorio se demostró que, las aguas mieles son un sustrato capaz de degradarse de manera anaerobia para la posterior producción de biogás.

**Palabras clave:** Potencial bioquímico; metano; agua miel; residuos de café; biogás.

### ABSTRACT

The effluents from the wet processing of coffee, commonly known as honey waters, are generally discharged into the environment without any treatment and have a high organic load. The production of methane gas through the anaerobic digestion process was evaluated using fresh cow manure as inoculum. For this, the test of the Biochemical Potential of Methane (PBM) was carried out using a continuous monitoring manometric equipment. Two substrate/inoculum ratios were evaluated, resulting in a PBM of 481.2 ml CH<sub>4</sub>/g SV substrate (329.0 ml CH<sub>4</sub>/g COD substrate) for the ratio equal to 0.25 g SV substrate/g SV inoculum and a PBM of 377.0 ml CH<sub>4</sub>/g SV substrate (257.7 ml CH<sub>4</sub>/g COD substrate) for the ratio equal to 0.5. With this laboratory-level study, it was shown that honey waters are a substrate capable of anaerobically degrading for the subsequent production of biogas.

**Keywords:** Biochemical potential; methane; honey water; coffee waste; biogas.

### 1. Introducción

En la agroindustria del café solamente se aprovecha un pequeño porcentaje del peso total; según Suarez (2012) este valor corresponde al 9,5%, mientras que el 90,5% restante son residuos. Los principales subproductos del beneficio del café son la pulpa, el mucílago y las aguas de lavado, también conocidas como aguas mieles. Es común que los residuos líquidos se viertan a los cuerpos de agua, contaminándolos; los residuos sólidos, usualmente son dispuestos sobre el terreno, contaminando de esta forma el suelo debido a los lixiviados que generan.

El café es el principal producto agrícola de exportación en el Perú y de acuerdo con el último Censo Nacional Agropecuario realizado en el año 2012, un aproximado de 223 mil familias conducían 425400 hectáreas dedicadas al cultivo de café (MINAGRI, 2018). Considerando esto, es necesario evaluar las diferentes alternativas de gestión de residuos de esta industria dado que generalmente no se realiza tratamiento alguno. La digestión anaerobia ofrece una oportunidad viable de aprovechamiento de las aguas mieles, mediante un proceso de degradación bioquímica en ausencia de oxígeno, el cual genera como producto principal gas metano. Este último puede

servir como una fuente energética in situ para las poblaciones que se dedican a la producción del café.

De acuerdo con lo señalado líneas arriba, el objetivo general de la presente investigación fue determinar el potencial de producción de metano de las aguas mieles del beneficio húmedo del café.

## 2. Material y métodos

El estudio se desarrolló como una investigación de campo y además implicó un trabajo experimental a nivel de laboratorio. A continuación, se señalará cada una de las etapas que se siguieron para su desarrollo.

### 2.1. Evaluación de las características físico-químicas del sustrato

a) Se realizó una evaluación del proceso total de producción de granos de café de la planta de beneficio húmedo ubicada en el Fundo Santa Teresa, distrito de Villa Rica, provincia de Oxapampa, departamento de Pasco. Para esto se realizó una entrevista con el señor Hans Brack, dueño de la finca y se hizo un recorrido para identificar todas las etapas que tienen lugar en la planta.

b) Se tomaron muestras simples del agua miel para posteriormente hacer los análisis de caracterización respectivos.

c) El pretratamiento consistió en la fermentación espontánea y anaeróbica del sustrato durante 5 días, a temperatura de 30 °C y al pH natural de las aguas mieles (aproximadamente 3,5 unidades) de manera que se aislen los procesos hidrolíticos, acidogénicos y acetogénicos de la etapa metanogénica.

d) Se determinó el Potencial de Hidrógeno (pH), Carbono Total (C), Nitrógeno Total (N), Fósforo Total (P), Sólidos Totales (ST), Sólidos Volátiles (SV), Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Ácidos Grasos Volátiles (AGV) del sustrato en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental y en el Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología Ambiental (CIQTOBIA) de la Facultad de Ciencias de la UNALM.

### 2.2. Evaluación de las características físico-químicas del inóculo

a) Se tomaron muestras de 20 kg estiércol del ganado vacuno del establo más cercano al Fundo Santa Teresa.

b) El pretratamiento consistió en la dilución, tamizado e incubación del estiércol con el fin de aislar los microorganismos y consumir el metano endógeno.

c) Se determinó la Conductividad Eléctrica (CE), Materia Orgánica en solución (MOS), macronutrientes (C, N, P, K total) y micronutrientes (Ca,

Mg, Na, Fe, Cu, Zn, Mn y B total) en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la UNALM. Mientras que la determinación del Potencial de Hidrógeno (pH), Sólidos Totales (ST), Sólidos Volátiles (SV), Alcalinidad Total (AT) y Actividad metanogénica específica (AME) se desarrolló en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ciencias de la UNALM.

### 2.3. Determinación de la producción de metano mediante el ensayo del potencial bioquímico del metano (PBM)

La determinación del PBM se realizó empleando un método manométrico. Para tal fin se empleó el equipo de medición OxiTop® Control OC, el cual es un equipo de monitoreo de presión que consta de un reactor de 1 L con un cabezal de medición que se inserta en la "boca" de los reactores y un control que usa una interfase infrarroja para transferir los datos.

a) Materiales

- Equipo de medición OxiTop® Control
- NaOH en perlas
- Buffer (NaHCO<sub>3</sub>)

b) Procedimiento

Se colocaron dentro de cada reactor las mezclas de inóculo y sustrato según las proporciones de sólidos volátiles indicadas en la [Tabla 1](#). Se realizaron 3 repeticiones por cada proporción y también se hicieron blancos para hacer la corrección por el metano endógeno del estiércol.

**Tabla 1**

Proporciones de relación Sustrato – Inóculo utilizadas en la prueba PBM

Tratamiento	M1	M2	Blanco
g SV sustrato	0,5	0,25	-
g SV inóculo			
g SV sustrato/L	2,5	1,25	0
g SV inóculo/L	5	5	1,5

Las proporciones elegidas se determinaron utilizando el criterio señalado por [Parra et al. \(2015\)](#), el cual recomienda que la relación de sólidos volátiles entre sustrato e inóculo debe ser menor a 2g SV sustrato/g SV lodo.

Cada botella se llenó hasta 0,8 L, dejando un 20 por ciento de espacio libre para el biogás. [Ortiz \(2011\)](#) obtuvo los mejores valores de producción de biogás con volúmenes de espacio de cabeza pequeños (20 a 25 por ciento del volumen total). Para evaluar solamente la producción potencial de metano de CH<sub>4</sub> se colocaron perlas de NaOH ([Parra et al., 2015](#)) en el compartimento con el que cuenta cada reactor en la boca, de manera

que se absorba todo el CO<sub>2</sub>, asimismo se debe considerar que gran parte del CO<sub>2</sub> ya fue liberado durante el pretratamiento. Se asumirá que la presión generada dentro de cada reactor solo será generada por el CH<sub>4</sub>. Souto *et al.* (2010) comprobaron la eficiencia de las perlas de NaOH usadas en el Sistema Oxitop® para la captura del CO<sub>2</sub>, pues el análisis de las muestras de biogás por cromatografía reveló la ausencia de este gas. Antes de cerrar los reactores se neutralizó la solución (debido al carácter ácido del agua miel) utilizando bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>) hasta un pH de 7 unidades, debido a que las arqueas metanogénicas necesitan un pH neutro para su correcto funcionamiento.

Se mantuvieron los reactores a temperatura ambiente con el fin de simular las condiciones reales de cambios de temperatura de la zona del cual se tomaron las muestras de aguas mieles.

Se realizó un monitoreo diario de la variación de la presión en los reactores y la prueba de PBM fue detenida cuando el volumen diario de producción de gas fue menor que el 1 por ciento del total de producción de gas (Cárdenas *et al.*, 2016).

#### c) Procesamiento y análisis de datos

Debido a que el equipo de medición OxiTop® Control es un sistema de monitoreo de presión fue necesario transformar dicha presión a volumen de metano producido por gramo de sólido volátil del sustrato en condiciones estándares de presión y temperatura, de manera que fuera comparable con otras investigaciones. Para realizar esto se tomaron en cuenta las ecuaciones proporcionadas por Cárdenas *et al.* (2016).

Para el análisis estadístico de los resultados se realizó un diseño experimental completamente al azar y se aplicó la prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA) a un 95 por ciento de confianza donde la variable independiente fue el potencial bioquímico del metano, el factor fue la relación sustrato/inóculo y las unidades experimentales las constituyeron los reactores anaerobios.

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Evaluación de las características físico-químicas del sustrato

##### a) Reconocimiento de campo

La planta de beneficio del café en estudio realiza un proceso húmedo, dentro del cual se identificaron las etapas que se explican a continuación.

El fruto del café o cerezo del café, después de ser cosechado de manera manual, atraviesa por un proceso de despulpado, para esto se cuenta

con una despulpadora de disco, zaranda y repasadora. En esta etapa se retira la cascarilla y la pulpa. Estos subproductos son colocados en un área de disposición de residuos sólidos.

Producto del despulpado se obtienen las semillas cubiertas por la película plateada, el pergamino y el mucilago, estas son sometidas a un proceso de fermentado durante una noche y al día siguiente son lavadas.

Luego del proceso de lavado se logra retirar la mayor parte del mucilago, quedando las semillas cubiertas de la película plateada y el pergamino, estas se exponen al sol con el objetivo de que pierdan humedad al aire libre, llegando a aproximadamente un 11,5 % de humedad. Seguidamente las semillas pasan a la planta de secado debido a que estas deben tener una taza limpia dentro de un periodo de 72 horas de ser cosechadas, para esto se cuenta con unidades de calor, obteniéndose entonces el café pergamino seco (cps), el cual está listo para su venta.

Por otro lado, los efluentes del lavado, denominados aguas mieles son neutralizados con cal debido a su carácter ácido y son derivados a una serie de pozas de sedimentación, para finalmente devolver el agua clarificada al río.

Es importante señalar que los residuos generados, producen impactos en el ambiente, ya sea el caso de la contaminación de los ríos por el vertimiento de las aguas mieles, la contaminación del aire por los olores que se disipan producto de la fermentación de los residuos sólidos, así como la contaminación del suelo producto de los lixiviados de los residuos sólidos que se escurren e infiltran.

##### b) Toma de muestra

La planta tiene una producción anual de 5000 quintales, equivalentes a 187500 kg de cerezo o 41400 kg de café pergamino seco (cps), los cuales se cosechan en diferentes proporciones a lo largo del año. Una primera etapa, denominada "rebusca", tiene lugar entre abril y mayo, generando aproximadamente un 15% de la producción anual. Luego de esta etapa, se encuentran la 1ra y 2da plena en los meses de junio y julio respectivamente, con una producción del 50% y 30% de la cosecha anual. Finalmente se encuentra la etapa de raspado en el mes de agosto, con una producción aproximada del 5% de la cosecha anual.

En cuanto a la producción diaria de café, se alcanza un máximo de 25000 kg de café cerezo (5520 kg de cps) y una producción mínima de

1500 kg de café cerezo (331 kg de cps), sin embargo, el gasto de agua diario es constante (6820 litros por día), es decir siempre se usa la misma cantidad de agua para el lavado, esto se explica por el hecho que durante los días de mayor producción se reutiliza el agua.

Es importante considerar que el hecho de reutilizar el agua constituye una ventaja, al mejorar la eficiencia en el uso de recursos, sin embargo, se debe considerar que durante los días de mayor producción se generará un efluente más concentrado dado que al reutilizar el agua de lavado se incrementa la carga orgánica. En promedio, durante los días de producción máxima se usan 1,24 litros de agua por kg de cps y durante los días de producción mínima se usan 20,6 litros de agua por kg de cps (Tabla 2).

**Tabla 2**  
Producción de café diaria y gasto de agua diario

Producción de café		Gasto de agua	
Diaria		Diario	Por kg de cps
Máxima	25000 kg cerezo o 5520 kg cps/día	6 820 L/día	1,24 L/kg cps
Mínima	1500 kg cerezo o 331 kg cps/día	6 820 L/día	20,6 L/kg cps

Según Zambrano *et al.* (2006), en un beneficiadero tradicional se consumen entre 40 y 50 litros de agua/kg cps para despulpar, transportar la pulpa, lavar y clasificar el café y en un beneficiadero con despulpado y transporte de pulpa sin agua, el cual es el caso de la planta de beneficio en estudio, se realiza un consumo de agua de lavado entre 20 y 25 litros de agua/kg cps.

Considerando el hecho de que hay épocas en las que la concentración del agua miel es mucho mayor, se tomaron muestras de las aguas mieles a fines del mes de mayo y a fines del mes de junio, teniendo en cuenta que los meses de mayor producción son junio y julio.

#### d) Pre-tratamiento

Como se mencionó anteriormente, el café pasa por un proceso de fermentación previa para retirar el mucílago antes de la etapa de lavado. En la fermentación del café ocurren varios procesos, básicamente las levaduras y las bacterias del mucílago mediante sus enzimas naturales oxidan parcialmente los azúcares y producen energía (ATP), etanol, ácido láctico, ácido acético y dióxido de carbono. Además, se obtienen otros alcoholes como propanol,

butanol, ácidos como el succínico, fórmico, butírico y sustancias olorosas como aldehídos, cetonas y ésteres. También se degradan los lípidos del mucílago de café y cambian el color, el olor, la densidad, la acidez, el pH, los sólidos solubles, la temperatura y la composición química y microbiana de este sustrato (Puerta, 2012).

De acuerdo con lo mencionado líneas arriba, el pretratamiento consistió en aprovechar los microorganismos anaerobios propios de las aguas mieles para aumentar la degradación del sustrato hasta compuestos de cadena corta.

Se colocaron las muestras a una temperatura de 30 °C dado que, de acuerdo con la bibliografía revisada, los microorganismos fermentadores del café son mesófilos. La mayoría de las levaduras crecen entre 5 y 39 °C, con óptimos de 28 a 35 °C, algunas se desarrollan entre 3 y 10 °C y todas mueren por encima de 50 °C. Las bacterias lácticas crecen entre 25 y 30 °C, pero pueden reproducirse a 0°C, mientras que las bacterias entéricas se desarrollan entre 22 y 37 °C. Asimismo no se modificó el pH natural de las aguas mieles dado que de acuerdo Montgomery y Bochmann (2014) las enzimas que degradan celulosa, hemicelulosa y almidón trabajan mejor a pH entre 4 y 6 y a temperaturas entre 30 y 50 °C, por lo tanto, una etapa de preacidificación incrementa la velocidad de degradación creando un ambiente adecuado para las enzimas.

Otro efecto positivo se produce debido a que además de H<sub>2</sub> y ácidos grasos volátiles, se forma CO<sub>2</sub> durante esta etapa. Esto significa que habrá menos CO<sub>2</sub> en el gas producido en la etapa metanogénica y por lo tanto mayor concentración de CH<sub>4</sub>.

Finalmente, otra ventaja constituye que los microorganismos de la fase hidrolítica son menos sensibles a muchos químicos (como fenoles, amonio, etc.) que los microorganismos de la etapa metanogénica, de esta forma muchos inhibidores químicos pueden ser destruidos en la primera etapa (Montgomery y Bochmann, 2014).

#### e) Caracterización fisicoquímica

En la Tabla 3 y Tabla 4 se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica del sustrato tanto antes como después del pretratamiento. De acuerdo con Chen y Neibling (2014), el pH se debe mantener entre 6,5 a 7,5 unidades dado que los formadores de metano son sensibles a cambios de pH y valores de pH

fuera de este rango afectarían sus velocidades metabólicas y progresiva o completamente detendrían la producción de metano.

**Tabla 3**

Caracterización fisicoquímica del sustrato sin ningún tratamiento

Parámetros	Unidad	Mayo	Junio
Potencial de Hidrógeno (pH)	-	3,5	3,4
Nitrógeno total (N)	mg/L	-	280
Fósforo total (P)	mg/L	-	4,76
Carbono total (C)	mg/L	-	810
Relación C/N	-	-	15,63
Conductividad eléctrica (CE)	dS/m	0,17	0,2
Sólidos Totales (ST)	g/L	3,11	5,16
Sólidos Volátiles (SV)	g/L	2,78	4,62
Sólidos Fijos (SF)	g/L	0,33	0,54
SV/ST	-	0,89	0,9
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg O <sub>2</sub> /L	4090	6720

**Tabla 4**

Caracterización fisicoquímica del sustrato luego del pretratamiento

Ácidos Grasos Volátiles (AGV)	Ac. Acético	mg/L	1559,3
	Ac. Propiónico	mg/L	498,3
	Ac. Isobutírico	mg/L	160,4
	Ac. Butírico	mg/L	321,7
	Ac. Isovalérico	mg/L	170,2
	Ac. Valérico	mg/L	324,3
	Ac. Isocaproico	mg/L	0,0
	Ac. Caproico	mg/L	157,0
	Ac. Heptanoico	mg/L	0,0

Martí (2006) señala que si el pH fuera menos de 6 produciría un biogás pobre en metano, el cual tiene menores cualidades energéticas. Como se observa en los resultados, el agua miel presenta un pH aproximado de 3,5 unidades, dicho carácter ácido podría ser considerado una desventaja para la degradación anaerobia, por lo que se debe controlar de manera cuidadosa este parámetro.

#### Relación Carbono-Nitrógeno (C/N)

Guarino *et al.* (2016) hallaron que a pesar de que los valores óptimos de C/N registrados en la literatura varían entre 20 y 30, sus muestras presentaron una alta productividad en un intervalo de C/N mucho más amplio, entre 9 y 50.

El agua miel reportó una relación C/N de 15,63, esto indica que hay una proporción de nutrientes con un contenido de nitrógeno un poco elevado. De acuerdo con Gil *et al.* (2018) cuando las concentraciones de nitrógeno superan los 400 mg/L, se presentan pérdidas debido a que el nitrógeno puede formar

precipitados, lo cual podría ser no beneficioso para la digestión anaerobia. Al respecto se indica que la concentración de nitrógeno total en el agua miel fue de 280 mg/L, por lo que no se espera algún tipo de inhibición debido al contenido de nitrógeno. Asimismo, no se ajustó la relación C/N con otro sustrato dado que el objetivo principal del proyecto fue evaluar el potencial de producción bioquímico del agua miel del beneficio húmedo del café y no de una mezcla de sustratos en co-digestión. Sin embargo, se considera que sería ideal ajustar dicha relación en un potencial proceso de digestión a escala piloto.

#### Conductividad Eléctrica (CE)

El agua miel presentó un valor de CE aproximada de 0,2 dS/m, este es un valor relativamente bajo, lo cual indica un bajo contenido de sales en el agua miel. Es importante tener en cuenta que una elevada conductividad eléctrica implicaría que los iones libres aumenten la presión osmótica del medio, por lo que un medio más salino puede provocar la deshidratación y posterior muerte de las bacterias (Ortiz, 2011).

#### Sólidos Totales (ST) y Sólidos Volátiles (SV)

La concentración de ST es variable, observándose una mayor carga en el mes de junio (5,16 g/L) comparado con el mes de mayo (3,11 g/L), esto se explica por el hecho de que durante el mes de junio se realiza la 1era plena de la cosecha del café, incrementándose asimismo la concentración de las aguas de lavado.

Por otro lado, la relación SV/ST indican que aproximadamente el 90% de este efluente contiene materia orgánica. Una relación SV/ST elevada confirma el alto contenido de materia orgánica biodegradable y una relación baja se relaciona generalmente con presencia de material vegetal de difícil degradación, lignina (Parra *et al.*, 2015), por lo que se considera que el agua miel es adecuada para la biodegradación.

#### Demanda química de Oxígeno (DQO)

La DQO del agua miel varió también por las mismas razones explicadas en el caso del contenido de sólidos totales. Se alcanzó una DQO máxima de 6720 mg/L. Al comparar la concentración en materia orgánica del agua miel con la de las aguas negras urbanas, entre 500 a 1000 mg/L, resulta ser de 7 a 13 veces mayor.

Cabe señalar que la alta carga orgánica de un efluente lo señala como un potencial sustrato para la degradación anaerobia.

### Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

El contenido de AGV en la muestra de aguas mieles se determinó por cromatografía de gases luego del pretratamiento.

Aproximadamente el 50% de los ácidos grasos volátiles determinados correspondieron al ácido Acético y en segundo lugar se encontró al ácido Propiónico (Figura 1). La predominancia de dichos ácidos de cadena muy corta (compuestos por dos y tres átomos de carbono respectivamente) fue un resultado esperado en las muestras de aguas mieles ya que el objetivo del pretratamiento fue tratar de aislar las etapas de hidrólisis, acidogénesis y acetogénesis, siendo el principal producto de estas el ácido Acético. El ácido Acético es el principal precursor del metano en la fase final denominada metanogénesis, lo que indica un resultado satisfactorio del pretratamiento.

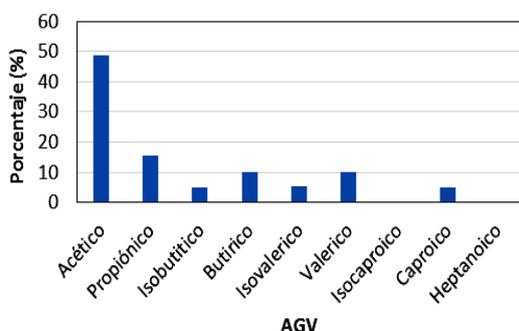


Figura 1. Composición en porcentaje del contenido de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) en las aguas mieles luego del pretratamiento.

### 3.2. Evaluación de las características físico-químicas del inóculo

Estiércol de ganado vacuno se guardó en bolsas cerradas herméticamente, luego fueron almacenadas en un congelador hasta realizar los análisis respectivos.

La incubación del inóculo durante 5 días aseguró que se eliminara la mayor parte del material biodegradable del mismo.

De acuerdo a los resultados (Tabla 5), el inóculo presentó un pH de 6,73 unidades mientras que el agua miel presentó un pH de 3,4 unidades, es importante destacar que el carácter ácido de la agua miel es equilibrado con el carácter básico del estiércol, llegando a un pH cercano a 6 durante su mezcla en las proporciones determinadas para los tratamientos planteados.

Tabla 5  
Caracterización fisicoquímica del inóculo

Parámetros	Unidad	Valor
Potencial de Hidrógeno (pH)	-	6,73
Conductividad Eléctrica (CE)	dS/m	4,32
Alcalinidad Total (AT)	mg CaCO <sub>3</sub> /L	3140
Sólidos Totales (ST)	g/L	18,14
Sólidos Volátiles (SV)	g/L	6,32
Sólidos Fijos (SF)	g/L	11,82
SV/ST	-	0,35
Carbono Total (C)	mg/L	4030,0
Nitrógeno Total (N)	mg/L	784,0
Relación C/N	--	5,14
Fósforo Total (P)	mg/L	192,0
Potasio Total (K)	mg/L	845,0
Calcio Total (Ca)	mg/L	1120,0
Magnesio Total (Mg)	mg/L	380,0
Sodio Total (Na)	mg/L	337,50
Hierro Total (Fe)	mg/L	430,13
Cobre Total (Cu)	mg/L	1,16
Zinc Total (Zn)	mg/L	13,96
Manganeso Total (Mn)	mg/L	16,26
Boro Total (B)	mg/L	3,00
Actividad metanogénica específica (AME)	g DQO/g SSV*día	0,015

La alcalinidad total del estiércol fue de 3140 mg CaCO<sub>3</sub>/L. Estudios previos han demostrado que valores de la alcalinidad de bicarbonato mayor a 2500 mg/L aseguran un buen control de pH (Martí, 2006).

### Conductividad Eléctrica (CE)

El inóculo presentó un valor de CE de 4,33 dS/m, este valor, así como el presentado para el caso de las aguas mieles, tampoco es alto, por lo que no se espera interferencia significativa en la actividad de los microorganismos debido a variaciones en la presión osmótica del medio.

### Sólidos Totales (ST) y Sólidos Volátiles (SV)

En el caso del inóculo, se tiene una relación de SV/ST de 0,35, lo que indican que el 35% de este contiene materia orgánica.

### Relación Carbono-Nitrógeno (C/N)

Se obtuvo una relación C/N bastante baja (5,14), debido a que gran parte del carbono se perdió después del pretratamiento en forma de CO<sub>2</sub> y otra parte se perdió en el filtrado del estiércol para la preparación del inóculo.

### Metales

De acuerdo con Chen *et al.* (2008) se han establecido diversos umbrales de toxicidad para metales alcalinos-térreos como el calcio, magnesio, sodio y potasio. Asimismo, existen relaciones antagónicas y sinérgicas entre los

mismos, de manera que dichas interrelaciones alcanzan equilibrios distintos para cada caso particular.

Los metales pesados poseen un efecto inhibitor cuando interfieren con el sistema enzimático de los organismos; sin embargo, bajas concentraciones de ciertos metales pesados son necesarias para la actividad microbiana. Cobalto, molibdeno y níquel son metales pesados importantes para la actividad de los productores de metano y sus enzimas (Schnürer y Jarvis, 2010). Los metales pesados causan inhibición y son tóxicos, el rango de concentraciones umbrales para varios de los metales pesados está alrededor de 100 mg/L. Algunos metales como el hierro, sin embargo, son relativamente no tóxicos y pueden aparecer en el proceso en concentraciones de cientos de gramos por litro sin causar ningún problema. Una buena explicación para esto es que los metales se unen a diferentes compuestos orgánicos (quelatos) en el proceso o forman precipitados como los sulfuros. El nivel en el cual la inhibición ocurre es incluso afectado por el hecho de que diferentes metales combinados pueden tener efectos antagónicos y sinérgicos entre ambos (Schnürer y Jarvis, 2010).

El inóculo presentó concentraciones medias a elevadas de Ca, Mg, K, Na y Fe. Por otro lado, metales como el cobre, zinc, boro y manganeso se detectaron en concentraciones muy bajas.

#### Actividad Metanogénica Específica (AME)

Se determinó una AME de 0,015 g DQO/g SSV\*día. Dicha AME no es muy alta en comparación de otros inóculos como por ejemplo lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, o lodos de reactores UASB, los cuales pueden alcanzar AME alrededor de 0,2 g DQO/g SSV\*día (Jijai *et al.*, 2014), debido a que están especializados en la degradación anaerobia de materia orgánica. Sin embargo, se optó por usar estiércol fresco de una granja aledaña a la zona de producción de café con el fin de simular las condiciones reales que podrían tomar lugar en el área de estudio durante el arranque de un potencial biodigestor.

#### 3.3. Determinación de la producción de metano mediante la prueba del potencial bioquímico del metano (PBM)

El monitoreo duró 50 días. El sistema Oxitop® Control realizó mediciones automáticas cada 4 horas: a las 12:50, 16:50, 20:50, 00:50 y 04:50 horas.

En la Figura 2 se presentan los resultados de variación promedio diaria de volumen de metano generado cada 4 horas (en porcentaje). Los picos de producción de metano se alcanzaron en el rango de máximas temperaturas diarias, es decir a las 12:50, comprobándose que la velocidad de producción de metano es directamente proporcional a la temperatura. Incluso pequeños cambios en temperatura (durante el periodo de monitoreo se alcanzaron temperaturas mínimas y máximas entre aproximadamente 14 °C y 19 °C) demuestran aumentar o reducir la velocidad de producción de biogás. Esto también es señalado por Parra (2015).

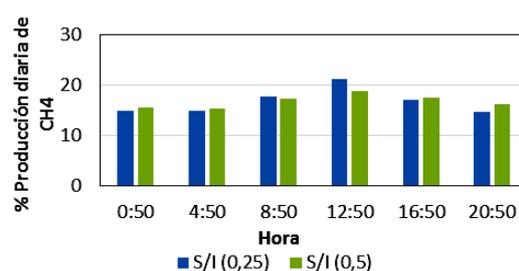


Figura 2. Variación promedio diaria de la producción de metano medida cada 4 horas.

Los microorganismos metanogénicos alcanzan producciones óptimas de biogás a temperaturas entre 25 a 35 °C (Wang *et al.*, 2019). A temperaturas menores declina la velocidad de crecimiento y actividad de los metanógenos. Sin embargo, las proporciones de Sustrato/Inóculo usadas en el presente trabajo produjeron metano aún a una temperatura ambiental de 16 °C (temperatura promedio durante el periodo que duró el ensayo del PBM). Por lo tanto, se espera una mayor velocidad en la degradación anaerobia del sustrato si se realizan pruebas en el área donde se generan las mencionadas aguas mieles debido a que la temperatura promedio anual en Villa Rica es de 17,7 °C.

El mayor porcentaje de metano (más del 70%) se produjo entre los días 12 al 42 en ambas proporciones (Figura 3). Esto es debido a que los microorganismos primero requieren un periodo de adaptación al sustrato (entre los días 1 y 11 aproximadamente), luego de esta etapa se realiza la biodegradación de la mayor parte de las aguas mieles (durante aproximadamente 30 días) y finalmente comienza un declive en la producción de metano (a partir del día 43) debido a que la cantidad de sustrato con la que contaban los microorganismos se ha consumido considerablemente.

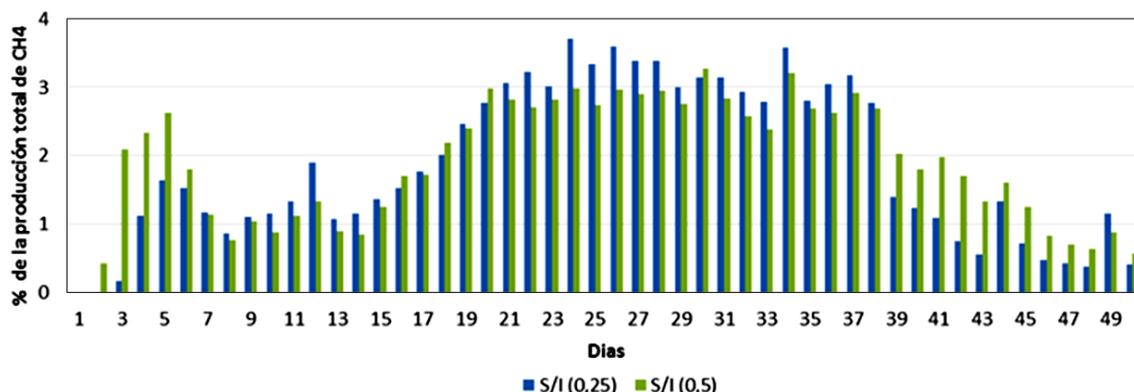


Figura 3. Variación promedio de la producción de metano diario.

El análisis de varianza a un 95% de confianza verificó que las medias de las dos proporciones propuestas no son iguales. Finalmente se utilizó la prueba “t” de student para concluir que a un 95% de confianza existe suficiente evidencia estadística para afirmar que la relación igual a 0,25 g SV sustrato/g SV inóculo produce un mayor Potencial Bioquímico del Metano que la relación 0,5.

En la Figura 4 se presenta el PBM promedio para las dos proporciones de g SV sustrato/g SV inóculo propuestas en ml CH<sub>4</sub>/g SV sustrato.

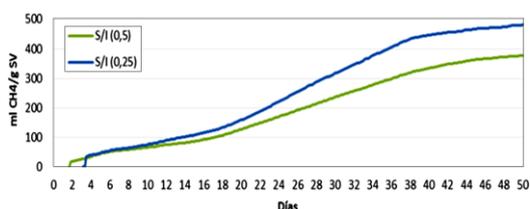


Figura 4. Potencial bioquímico del metano (PBM) promedio para cada proporción de sustrato/inóculo.

La Tabla 6 muestra el PBM para condiciones estándares de presión y temperatura.

Asimismo, de acuerdo con los resultados del PBM en ml CH<sub>4</sub>/g DQO sustrato se comprueba que el procedimiento llevado a cabo fue correcto dado que no se superó la producción máxima teórica de metano en condiciones estándares por gramo de DQO, la cual es de 0,35 L CH<sub>4</sub>/g DQO sustrato.

Tabla 6  
Resultados de Potencial Bioquímico de Metano

g SV sustrato/ g SV inóculo	PBM (ml CH <sub>4</sub> /g SV sustrato)	PBM (ml CH <sub>4</sub> /g DQO sustrato)
0,25	481,2	329,0
0,5	377,0	257,7

La producción máxima se estimó a partir del equivalente de oxígeno del metano de acuerdo

con el equilibrio químico en condiciones normalizadas de presión y temperatura (P = 760 mm Hg y T = 0 °C).

Es importante señalar que se consideró que la concentración del inóculo debe ser siempre más alta que la del sustrato (en términos de sólidos volátiles), debido a que si se tiene más cantidad de sustrato de la que pueden degradar los microorganismos por unidad de tiempo se estaría también subestimando el PBM. De acuerdo con lo mencionado, se observa que a medida que la relación de g SV sustrato / g SV inóculo se acerca a 1 se reportan menores valores de PBM, como se observa en la Tabla 1. Según Angelidaki *et al.* (2009), la proporción sustrato/inóculo debe ser reconocida como uno de los mayores parámetros que afectan los resultados de los ensayos anaerobios.

Las proporciones estudiadas fueron tomadas en función a otros investigadores (Tabla 1). Asimismo, Drogg *et al.* (2003) indica que la proporción de SV sustrato/SV lodo debe ser menor o igual a 0,5.

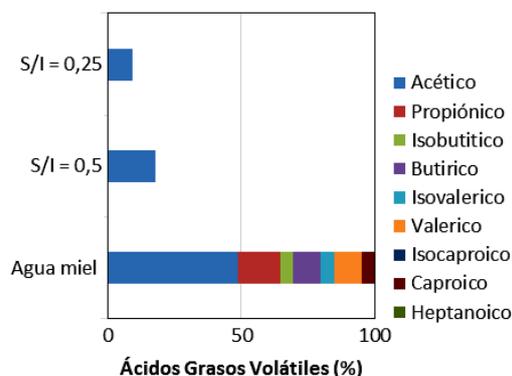
Tabla 1  
Resultados de PBM según la relación sustrato/ inóculo de investigaciones en común

Autor	Sustrato	Inóculo	g SV sustrato g SV inóculo	mL CH <sub>4</sub> g SV sustrato
Acarley	Agua miel del café	Estiércol	0,5	377,0
		Vacuno	0,25	481,2
Quintero, 2012	Mucílago de Café		1	250
		Estiércol	0,6	410
		porcino	0,5	730
			0,4	810
Viquez, 2014	Mucílago de Café	Lodo UASB	0,5	334
		Pulpa de Café	Lodo UASB	0,5
Parra, 2015	Biorresiduos Municipales		9	20
			4	60
		Lodo	2	90
		PTAR	1	90
			0,5	110
		0,25	190	

A pesar de que las condiciones operacionales, ni tampoco sustratos e inóculos de todas las investigaciones presentadas en la [Tabla 1](#) coinciden, se observa que a medida que la relación sustrato / inóculo disminuye se obtienen mejores resultados en el PBM, tanto para las investigaciones que utilizaron residuos del café (pulpa, mucílago, agua miel), como para las que utilizaron residuos de otro tipo (biorresiduos municipales).

Como prueba final, se realizó la determinación del contenido de Ácidos Grasos Volátiles en los efluentes. El único ácido graso volátil detectado fue el ácido acético, obteniéndose un rendimiento de degradación de aproximadamente 81,5 por ciento y 63,4 por ciento, para los tratamientos con proporciones de sustrato/inóculo de 0,25 y 0,5 respectivamente.

En la [Figura 5](#) se presenta de manera gráfica la disminución en la concentración de AGV en los efluentes con respecto al contenido antes de la etapa metanogénica. También es importante mencionar que el contenido de ácido acético final indica que aún existe un potencial mayor de producción de metano para los tratamientos propuestos.



**Figura 5.** Contenido de AGV en los efluentes de los tratamientos.

Cabe señalar que el tratamiento cuya proporción de sustrato/inóculo fue igual a 0,25 tuvo un mayor rendimiento, esto puede explicarse debido al hecho de que una sobrecarga de sustrato puede afectar el proceso de degradación anaerobia al sobrepasar la cantidad máxima de materia orgánica que los microorganismos presentes pueden degradar, asimismo se pudo ver afectada la capacidad buffer de las mezclas.

Asimismo, como se mencionó anteriormente, la actividad de las arqueas metanogénicas pudo haber sido afectada por los cambios de temperatura ya que el ensayo se realizó a temperatura ambiente, sin embargo, esto nos

permite simular mejor las condiciones reales en el caso de la construcción de un biodigestor a mayor escala.

Es importante señalar que el proceso de digestión anaerobia no se detuvo para ninguno de los tratamientos propuestos, es decir no se evidenció ningún tipo de inhibición severa en la actividad metanogénica de las bacterias, para esto se verificó que el pH al final del ensayo fuera neutro para todos los reactores, lo que demostró que no se produjo acidificación de las mezclas. Esto es importante debido a la tendencia que tienen las aguas mieles a acidificarse. Este resultado pudo haber sido afectado por la capacidad buffer que pudo haber ofrecido el estiércol vacuno, en cuando a su contenido de carbonatos.

Es importante señalar que el PBM no es una prueba precisa dado que en un ensayo en continuo o en un reactor a escala real cambiarían las condiciones operacionales y por lo tanto también los resultados, sin embargo, permite evaluar la potencial biodegradabilidad de los sustratos.

Otro factor para tener en cuenta es que en el ensayo del PBM es que los posibles inhibidores son diluidos y los efectos antagónicos o sinérgicos de la mezcla pueden ser evaluados de manera muy limitada ([Drosg et al., 2013](#)).

Finalmente, es importante señalar que, para poder utilizar el proceso de digestión anaerobia como medida de gestión de los residuos líquidos del beneficio del café, es necesario que se regule el consumo de agua de la fermentación y lavado del café, pues si la concentración de sólidos va más allá de lo esperado, es decir por una producción extraordinaria de café, esto influiría severamente en el desempeño de un potencial reactor anaerobio pudiendo causar su acidificación. [Zambrano et al. \(2006\)](#) recomienda usar entre 4 a 5 L de agua por kg de café.

#### 4. Conclusiones

El agua miel tiene un alto contenido de materia orgánica y por lo tanto es apta para la degradación anaerobia, asimismo dado su carácter ácido y los microorganismos propios del agua miel, se considera apta para una degradación anaerobia en dos fases.

Los microorganismos presentan una actividad metanogénica específica moderada, dado que se usó estiércol fresco para prepararlo.

El ensayo del PBM es una prueba efectiva para evaluar la biodegradabilidad anaerobia de las

aguas mieles, efluentes de la producción de granos de café, verificándose que la relación igual a 0,25 g SV sustrato/g SV inóculo produce un mayor Potencial Bioquímico del Metano (481,2 ml CH<sub>4</sub>/g SV sustrato ó 377,0 ml CH<sub>4</sub>/g DQO sustrato) que la relación de 0,5.

#### Orcid

L. Quipusco  <https://orcid.org/0000-0002-7282-0409>

#### Referencias bibliográficas

- Angelidaki, I.; Alves, M.; Bolzonella, D.; Borzacconi, L.; Campos, J.; Guwy A.; Kalyuzhnyi S.; Jenicek P.; van Lier J. 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology – WST*. IWA Publishing.
- Cárdenas, L.; Parra, B.; Torres, P.; Vásquez, C. 2016. Perspectivas del ensayo del Potencial Bioquímico del Metano – PBM para el control del proceso de digestión anaerobia de residuos. Facultad de ingeniería. Universidad del Valle. Cali Colombia.
- Chen, Y.; Cheng, J.; Creamer, K. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Department of Biological and Agricultural Engineering*. North Carolina State University, Raleigh, USA. *Bioresource Technology* 99: 4044-4064.
- Chen, L.; Neibling, H. 2014. *Anaerobic Digestion Basics*. University of Idaho Extension CIS 1215.
- Drosg, B.; Al seadi, T.; Braun, R.; Bochmann, G. 2013. Analysis and Characterisation of Biogas Feedstocks. *The Biogas Handbook. Science, Production and Applications*. Woodhead Publishing Series in Energy. Number: 52.
- Guarino, G.; Carotenuto, C.; Cristofaro, F.; Papa, S.; Morrone, B.; Minale, M. 2016. Does the C/N ratio really affect the Bio-methane Yield? A three years investigation of Buffalo Manure Digestion. *Chemical Engineering Transactions* 49: 463-468.
- Jijai, S.; Srisuwan, G.; O-thong, S.; Ismail, N.; Siripatana, C. 2014. Specific Methanogenic Activities (SMA) and Biogas Production of Different Granules Size and Substrates. *The 1st Environment and Natural Resources International Conference*.
- Martí, N. 2006. Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process. *Dissertation*. Boca Raton, Florida. USA.
- Ministerio de Agricultura y Riego del Perú (MINAGRI) 2018. Plan Nacional de Acción del Café Peruano 2018-2030.
- Montgomery, L.; Bochmann, G. 2014. Pretreatment of feedstock for enhanced biogas production. *IEA Bioenergy*.
- Ortiz, V. 2011. Puesta a punto de una metodología para la determinación de la actividad metanogénica específica (AME) de un fango anaerobio mediante el sistema Oxitop. *Influencia de las principales variables experimentales*. Trabajo fin de Máster en Ingeniería hidráulica y medio ambiente. Universidad politécnica de Valencia, España. 104 pp.
- Parra, R. 2015. Digestión Anaeróbica: Mecanismos Biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. *Producción + Limpia* 10(2): 142-159.
- Parra, B.; Torres, P.; Marmolejo, L.; Cárdenas, L.; Vásquez, C.; Torres, W.; Ordoñez, J. 2015. Efecto de la relación sustrato – inóculo sobre el potencial bioquímico del metano de bioresiduos de origen municipal. *Ingeniería Investigación y Tecnología* 4(4): 515-526.
- Puerta, I. 2012. Factores, procesos y controles en la fermentación del café. *Avances Técnico, Programa de Investigación Científica Fondo Nacional del Café, CENICAFE*. Volumen 422.
- Quintero, M.; Rondón, Y. 2012. Estudio preliminar de la producción de biogás a partir de la digestión anaerobia del mucilago de café utilizando lodo de estiércol de cerdo como inóculo. *Tesis Ing. Químico*. Facultad de ingenierías Físicoquímicas. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia. 48 pp.
- Schnürer, A.; Jarvis, A. 2010. *Microbiological Handbook for Biogas Plants*. Swedish Waste Management U2009:03. Swedish Gas Centre Report 207.
- Souto, T.; Aquino, S.; Silva, Q.; Chernicharo, L. 2010. Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test. *Biodegradation* 21: 411-424.
- Suarez, J. 2012. Aprovechamiento de los residuos sólidos provenientes del beneficio del Café, en el municipio de Betania Antioquía: Usos y Aplicaciones. Trabajo de grado Especialista en Gestión Integral de Residuos Sólidos y Peligrosos, Corporación universitaria Lasallista. Caldas, Colombia. 56 pp.
- Viquez, J. 2014. Rendimiento de la producción de metano a partir de pulpa y mucilago de café (*Coffea arabica*). *INFORMA al sector agropecuario* 68: 16-21.
- Wang, S.; Ma, F.; Ma, W.; Wang, P.; Zhao, G.; Lu, X. 2019. Influence of temperature and Biogas Production Efficiency and Microbial Community in a Two-Phase Anaerobic Digestion System. *Water* 11: 133.
- Zambrano, D.; Rodríguez, N.; López, U.; Orozco, P.; Zambrano, A. 2006. Tratamiento anaerobio de las aguas mieles del café. *Federación Nacional de Cafeteros de Colombia*. Gerencia Técnica. Programa de Investigación Científica. Centro nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía" CENICAFE. Boletín Técnico N° 29.

