

# **¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?**

***Guía Ilustrativa***

**En el marco del proyecto**

**“Apoyo al Programa Nacional de Cambio Climático en Costa Rica.  
Mejora de la capacidad de mitigación y adaptación de Costa Rica.”**

## Guía Ilustrativa: ¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?

Documento elaborado por encargo de



Elaborado por:

### **Autor**

Viquez Arias, Joaquín A.

### **Revisión y edición:**

Guerrero Piña, Jean Carlo  
Hernández Chanto, Carolina

**ACLARACIÓN:** Esta publicación ha sido preparada en el marco del proyecto “Apoyo al Programa Nacional Cambio Climático Mejora de la Capacidad de Mitigación y Adaptación de Costa Rica” implementado por MINAE y MIDEPLAN y ejecutado en Costa Rica por Instituto Costarricense de Electricidad. Sin perjuicio de ello, las conclusiones y opiniones de los autores no necesariamente reflejan la posición de las organizaciones involucradas. Además, cualquier referencia a una empresa, producto, marca, fabricante u otro similar en ningún caso constituye una recomendación por parte de las organizaciones involucradas.

## Contenido

Antecedentes	6
1. Uso de esta guía	6
2. Preparación y toma de muestras	6
2.1. Rango de aplicaciones	7
2.2. Muestreo	7
2.2.1 Planeación	7
2.2.2 Ejecución	9
2.3. Conservación y transporte	11
2.4. Preparación de la muestra	12
3. Prueba de fermentación: <b>Procedimiento en lote</b>	12
3.1. Materiales y métodos	13
3.1.1. Aparato de la prueba de fermentación	13
3.1.2. Inóculo	18
3.1.3. Cantidad de la muestra	19
3.1.4. Uso de muestra de referencia	20
3.2. Procedimiento de la prueba	20
3.3. Evaluación y registro de los resultados	23
4. Prueba de fermentación: Procedimiento continuo	23
4.1. Metodología	23
4.1.1. Aspectos especiales	23
4.2. Métodos experimentales	26
4.2.1. Prueba simple de fermentación continua	26
5. Referencias	28

## Índice imágenes.

Imagen 1. Un residuo líquido; estiércol mezclado con agua por acción del manguereo.	7
Imagen 2. Un residuo pastoso; estiércol bovino siendo empujado.	7
Imagen 3. Un residuo sólido; cáscara de piña de una planta de procesamiento de jaleas.	7
Imagen 4. Ejemplo del muestreo siguiendo aspectos de seguridad como uso de guantes.	7
Imagen 5. Ejemplo del correcto etiquetado de una muestra; debe ser resistente al agua.	8
Imagen 6. Envases de 1 L de polietileno para el muestreo.	8
Imagen 7. Fuente generadora de sustratos líquidos (grupo1). Aguas residuales en una granja de cerdo.	9
Imagen 8. Tanque de recepción de aguas residuales en una granja de cerdo, con un equipo de agitación.	9
Imagen 9. Ejemplo de muestreo de un residuo líquido generado por una tubería. Se deben tomar submuestras de 1 L, y mínimo 10 L total de muestras, para la muestra final.	9
Imagen 10. Fuente generadora de sustratos pastosos. (a y b) lodo primario de una unidad DAF en una industria láctea, (b) mucílago de la industria de café, obtenida del proceso de desmucilaginado mecánico.	9
Imagen 11. Ejemplo de una fuente generadora de sustratos sólidos. (a) lodo secundario, luego de un proceso de prensado en una planta de tratamiento de aguas residuales aeróbica, (b) citropulpa proveniente de la industria del procesamiento del cítrico, y (c) pulpa o broza de café, del proceso de chancado del café.	10
Imagen 12. Un sustrato heterogéneo; sólidos orgánicos de origen domiciliario previamente separados en la fuente.	11
Imagen 13. Aplicación de la técnica de cuarteo para muestras heterogéneas.	11
Imagen 14. Muestras protegidas de oxígeno atmosférico, luz, calor y humedad.	11
Imagen 15. Etnvasado de muestras líquidas.	11
Imagen 16. Empaque de muestras sólidas en bolsas plásticas resistentes.	11
Imagen 17. Ejemplo de la estandarización del tamaño de partículas de la muestra a inferiores a 10 mm.	12
Imagen 18. Foto general de la prueba de fermentación en lote en la Universidad EARTH, Costa Rica.	13
Imagen 19. Botella de fermentación de 2 L del equipo de la Universidad EARTH, Costa Rica.	13
Imagen 20. Prueba de hermeticidad, aplicado al equipo de la Universidad EARTH, Costa Rica	14
Imagen 21. Acoples entre la botella de fermentación y el equipo para medición de volumen de biogás del equipo de la Universidad EARTH, Costa Rica	14
Imagen 22. Sistema de baño maría para mantener las botellas de fermentación a una temperatura constante. Universidad EARTH, Costa Rica.	15
Imagen 23. Mezclado de la botella de fermentación para muestras que tiendan a formar una capa flotante. Universidad EARTH, Costa Rica.	15
Imagen 24. Un sistema de horno para mantener las botellas de fermentación a una temperatura constante. a) corresponde a un horno rotatorio con jeringas en lugar de botellas, en la Universidad de Hohenheim, mientras que b). Es un sistema de horno ofrecido por la empresa Ritter.	15
Imagen 25. Cinco métodos para la medición de biogás generado: (a)* Técnica de la Universidad de Hohenheim, donde se utiliza una jeringa para las pruebas y medición de gas; (b)* Sistema con campana flotantes en la Universidad EARTH, Costa Rica, donde se mide por altura desplazada; el uso de medidor de flujo micro ("micro counter")- (c)* modelo de la empresa BioProcess Control instalado en la Universidad EARTH, (d)* modelo de la empresa Ritter, en la Universidad de Hohenheim; (e)* sistema de almacenamiento en bolsas plásticas y medido luego con flujómetro en la Universidad de Hohenheim; y (f)** sistema con un eudiómetro.	16
Imagen 26. Envases de medición de biogás llenos de solución de cierre. Universidad EARTH, Costa Rica.	17

Imagen 27. Inóculo proveniente de un reactor anaeróbico de flujo ascendente, sin aparente efecto de inhibición, color oscuro sin sólidos gruesos.	17
Imagen 28. Adaptación del inóculo a la temperatura de la prueba previamente.	18
Imagen 29. Ejemplo de la proporción entre inóculo y muestra (una relación 2:1, inóculo:muestra, en base en materia orgánica seca).	18
Imagen 30. Envase de celulosa microcristalina, que se pueden utilizar como muestras de referencias.	19
Imagen 31. Prueba en lote, donde se tienen 3 réplicas del sustrato a evaluar, y dos réplicas del inóculo. Universidad EARTH, Costa Rica.	19
Imagen 32. Ejemplificación donde a) primero se coloca la muestra en las botellas de fermentación, y luego b) se coloca el inóculo.	20
Imagen 33. “Enjuague” con nitrógeno para eliminar cualquier oxígeno atmosférico previo a cerrar la botella para iniciar la prueba.	20
Imagen 34. Lectura del biogás, y monitoreo del set todos los días.	21
Imagen 35. Equipo para la medición del contenido de metano en el Instituto Leibniz de Ingeniería Agrícola y Bioeconomía (ATB) en Potsdam, Alemania.	21
Imagen 36. Ejemplificación de la lectura de pH por terminado la prueba de fermentación.	21
Imagen 37. Sistema de pruebas de fermentación continua: (a) En el Instituto Costarricense de Electricidad en Costa Rica, y (b) En la Universidad de Hohenheim en Alemania.	22
Imagen 38. Reactor para fermentaciones continuas de 5 L, instalado en la Universidad de Hohenheim.	23
Imagen 39. Ejemplificación de un mecanismo, estilo baño maría, para la calefacción de un reactor de operación continua en Instituto Costarricense de Electricidad en Costa Rica. a) se puede observar el reactor sumergido en agua, y b) es el controlador de temperatura.	23
Imagen 40. Ejemplo de mecanismos para la agitación en reactores de uso continuo. a)* Reactores del Instituto Costarricense de Electricidad en Costa Rica, y b)** Instituto Leibniz de Ingeniería Agrícola y Bioeconomía (ATB) en Potsdam, Alemania.	24
Imagen 41. Ejemplo un mecanismo para evitar la pérdida de biogás, tanto en la alimentación, como en la agitación, en un reactor en el Instituto Leibniz de Ingeniería Agrícola y Bioeconomía (ATB) en Potsdam, Alemania.	24
Imagen 42. Ejemplo de un fermentador complejo instalado en la Universidad EARTH en Costa Rica.	25
Imagen 43. Alimentación diaria al fermentador, vía una entrada en la parte superior del fermentador.	25
Imagen 44. Unidad para la recolección del biogás y enviado luego a un medidor.	26
Imagen 45. Deshidratador de biogás, previo a su envío a un medidor de volumen de biogás.	26

## Antecedentes

La Asociación Costarricense de Biogás (Asobiogás) desde sus inicios ha definido dentro de sus objetivos estratégicos la promoción y socialización de la tecnología de biodigestión para la generación de energía, para su aprovechamiento eléctrico y/o térmico; como parte de una estrategia de desarrollo adaptado y bajo en emisiones. Es por ello, que dentro del marco del proyecto “Apoyo al Programa Nacional de Cambio Climático en Costa Rica”, se contrata los servicios profesionales de Asobiogás para elaborar una Guía fotográfica de cómo se debe implementar la metodología VDI 4630 (*Fermentation of organic materials. Characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentations test*).

### 1. Uso de esta guía

Este documento busca ser una guía, principalmente un apoyo ilustrativo para quienes desean evaluar la fermentación anaeróbica de materiales orgánicos, aplicando específicamente la **metodología VDI 4630** (*Fermentation of organic materials. Characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentations test*). Este documento sigue los mismos pasos establecidos en la metodología VDI 4630, haciendo un énfasis ilustrativo únicamente en las secciones de **preparación y toma de muestra**, y la **aplicación** de los procedimientos en **lote y continuo-simple**, de tal forma que el lector pueda tener claridad de cómo aplicar la metodología e ideas para su implementación.

Este documento no busca ser una traducción de la metodología, sino complementar con fotografías de pruebas realizadas anteriormente, en diferentes laboratorios, que sirvan de apoyo para la interpretación de la metodología original. Es altamente recomendable consultar el documento original para aplicar dicha metodología.

### 2. Preparación y toma de muestras

La toma, manipulación, y transporte de la muestra es un paso fundamental en la ejecución de la prueba, pero aún más en la veracidad de los resultados. Es difícil definir un procedimiento que pueda cubrir la gran gama de sustratos disponibles para la digestión anaeróbica, pero en su defecto sugieren el uso de prácticas más pragmáticas, basadas en las características del sustrato y los objetivos de la prueba (Standard, 2006). Debe quedar claro que el objetivo del muestreo será siempre tener una muestra que represente en su totalidad las características físicas y químicas del sustrato en cuestión.

A continuación, se detallan aspectos relevantes para el muestreo, rango de aplicaciones y el equipo a utilizar. También la importancia del etiquetado y conservación de la muestra previo a la ejecución de la prueba.

## 2.1. Rango de aplicaciones

Las aplicaciones descritas en (Standard, 2006) agrupan los sustratos en muestras líquidas, usualmente con las de 80% humedad, con un ejemplo en la Imagen 1; pastosa a “paleable”, con un ejemplo en la Imagen 2 y sólidas, usualmente con menos de 80% de humedad, con un ejemplo en la Imagen 3.



Imagen 1. Un residuo líquido; estiércol mezclado con agua por acción del manguereo.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)



Imagen 2. Un residuo pastoso; estiércol bovino siendo empujado.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)



Imagen 3. Un residuo sólido; cáscara de piña de una planta de procesamiento de jaleas.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

## 2.2. Muestreo

Las muestras van a variar espacial, material y temporalmente; esto según la homogeneidad o heterogeneidad de la muestra. Es altamente sugerido que el proceso de muestreo se realice por alguien experimentado, antes de obtener la muestra que será utilizada para la prueba (Standard, 2006).

### 2.2.1 Planeación

Previo al muestreo se deben conocer los aspectos del sustrato a evaluar. Estos son ejemplos de preguntas que deben ser contestadas previo a realizar el muestreo:

¿Cómo se genera el sustrato (tanques, tubería, montículos)?

¿Es el sustrato homogéneo o heterogéneo?

¿Cómo es el tamaño de partícula?

¿Existe una variación diaria, semanal, mensual o hasta anual en las características del sustrato?

¿Cuánta cantidad de muestra se requiere?

¿Debo realizar un submuestreo?

¿Cuántos submuestreros debo realizar?

**Guía Ilustrativa: ¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?**

Es fundamental que durante el muestreo se tomen consideraciones de seguridad laboral, asegurando el uso de anteojos de protección y guantes, como se muestra en la Imagen 4.



Imagen 4. Ejemplo del muestreo siguiendo aspectos de seguridad como uso de guantes.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Se sugiere llevar un **Registro de muestra**, que permita estandarizar y documentar aspectos relevantes durante el muestreo, donde se incluyan aspectos como la fecha/hora, la persona que realiza el muestreo, la duración, tipo de material, homogeneidad, y otras características. Esto además debe ir acompañado de una etiqueta como se muestra en la Imagen 5. (Standard, 2006) (Revisar el anexo A de dicha metodología)

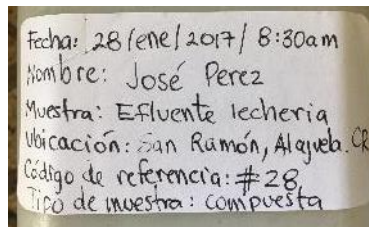


Imagen 5. Ejemplo del correcto etiquetado de una muestra; debe ser resistente al agua.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

El muestreo debe realizarse con equipos y envases limpios que no presenten características que contaminen la muestra. Son recomendables envases de polietileno, vidrio y acero inoxidable. Es importante que este envase tenga una boca de apertura ancha, para evitar la subjetividad del muestreo al “filtrar” partículas de gran tamaño.





Imagen 6. Envase de 1 L de polietileno para el muestreo.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

### 2.2.2 Ejecución

Durante el muestreo son considerados **homogéneos** los sustratos que macroscópicamente parecen serlo, con una consistencia que posea pocas o ninguna partícula de material foráneo, como sustratos líquidos o pastosos. Sin embargo, en ciertas circunstancias, como falta de mezclado o materiales acumulados en montículos, los sustratos homogéneos pueden estar heterogéneamente distribuidos; por lo que se debe asegurar tomar muestras representativas en todo momento. Las muestras son clasificadas en los siguientes subgrupos (Standard, 2006):

#### a) **Muestras líquidas - Grupo (1)**

Es importante que si la muestra es tomada de un tanque donde llegan los residuos líquidos, como el ejemplo de la Imagen 7, estas aguas sean previamente agitadas con equipos similares al mostrado en la Imagen 8. Se debe asegurar la toma de varias muestras, de varios puntos y a varias profundidades; asegurando una buena agitación del tanque, como en la Imagen 9. En caso de no tener un equipo similar, se recomienda utilizar equipos de bombeo; lo importante es que la muestra sea homogénea y representativa, pues en el tanque es común que los sólidos se sedimenten o floten. Se deben tomar submuestras de 1 L y mínimo un total de 10 L para la muestra final.



Imagen 7. Una fuente generadora de sustratos líquidos (grupo 1). Aguas residuales en una granja de cerdo.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)



Imagen 8. Tanque de recepción de aguas residuales en una granja de cerdo, con un equipo de agitación.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)



Imagen 9. Muestreo de un residuo líquido generado por una tubería. Fuente: (Viquez, 2009-2017)

### b) Muestras pastosas - Grupo (2)

La velocidad en que se muestrea y la profundidad en la que se incorpora el dispositivo de muestreo son irrelevantes para muestras homogéneas, pero se debe asegurar que no haya factores que causen su heterogeneidad, como es el caso de la sedimentación, y que ocurra un mezclado innecesario o involuntario. Ejemplo de muestras pastosas se pueden ver en la Imagen 10.

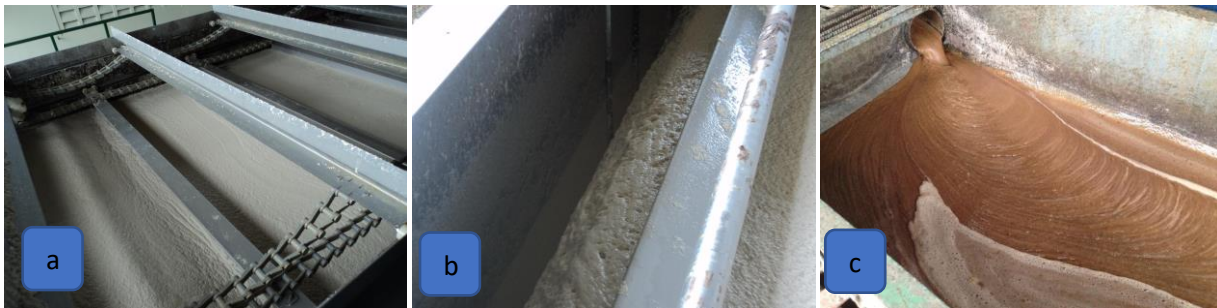


Imagen 10. Fuente generadora de sustratos pastosos. (a y b) Lodo primario de una unidad DAF en una industria láctea, (b) mucílago de la industria de café, obtenida del proceso de desmucilaginado mecánico. Fuente: (Viquez, 2009-2017)

### c) Muestras sólidas- Grupo (3)

Al igual que para sustratos líquidos y pastosos, en muestras sólidas se debe garantizar la homogeneidad y representatividad de la muestra. Si la muestra presenta segregación de características por su transporte u origen (como tamaño de partículas, humedad, etc), y esta segregación no puede ser corregida durante el muestreo, el sustrato debe considerarse del grupo 4 (Heterogéneo).

Las muestras pueden ser tomadas de diferentes puntos de montículos, o de diferentes flujos del sustrato, utilizando diferentes equipos de muestreo. Un ejemplo de muestras sólidas se observan en la Imagen 11.



Imagen 11. Ejemplo de una fuente generadora de sustratos sólidos. (a) lodo secundario, luego de un proceso de prensado en una planta de tratamiento de aguas residuales aeróbica, (b) citropulpa proveniente de la industria del procesamiento del cítrico, y (c) pulpa o broza de café, del proceso de chancado del café.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)

#### d) Muestras heterogéneas

Este tipo de sustratos son evidentemente heterogéneos y bajo ninguna táctica organoléptica pueden ser clasificados en ninguno de los tres grupos mencionados anteriormente (ejemplo en la Imagen 12), por lo que las estrategias de muestreo no son replicables. Para este tipo de muestras, (Standard, 2006) sugiere la incorporación de análisis estadísticos, muestreos muy meticulosos, realizado por personal altamente capacitado. Adicionalmente, se sugiere la técnica del cuarteo como parte del muestreo (ver Imagen 13).



Imagen 12. Un sustrato heterogéneo, sólidos orgánicos de origen domiciliario previamente separados en la fuente.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)



Imagen 13. Aplicación de la técnica de cuarteo para muestras heterogéneas.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)

### 2.3. Conservación y transporte

La muestra debe sufrir la menor cantidad de cambios físicos y químicos previo a la prueba. Para esto se debe asegurar que la muestra es almacenada en un envase seco, de boca ancha (similar al de la Imagen 6), y durante su transporte se debe proteger de oxígeno atmosférico, luz, calor y humedad. Un ejemplo de esto se muestra en la Imagen 14. Para muestras líquidas se pueden utilizar envases como los de la Imagen 15, y para muestras sólidas o pastosas, se pueden utilizar bolsas plásticas (ver Imagen 16).

**Guía Ilustrativa: ¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?**



Imagen 14. Muestras protegidas de oxígeno atmosférico, luz, calor y humedad.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)



Imagen 15. Envasado de muestras líquidas.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)



Imagen 16. Empaque de muestras sólidas en bolsas plásticas resistentes.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

## 2.4. Preparación de la muestra

La muestra por evaluar debe ser procesada para mejorar su representatividad. Algunas veces el sustrato es preparado inclusive previo a obtener la muestra final, especialmente para sustratos heterogéneos. La metodología (Standard, 2006) sugiere una reducción de tamaño menor a 10 mm, un ejemplo es empujar el sustrato a través de un tamiz apropiado como se muestra en la Imagen 17.



Imagen 17. Ejemplo de una estandarización del tamaño de partículas de la muestra a inferiores a 10 mm.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Se debe considerar que por la naturaleza de la prueba puede que la preparación sea distinta, o la trituración sea más fina. Debe quedar claro que cualquier reducción en el tamaño de la partícula, aumentará la superficie de contacto, y por tanto aumentará el rendimiento de metano de la prueba, por lo que se sugiere procesar la muestra con una similitud cercana a las condiciones reales del sustrato.

## 3. Prueba de fermentación: Procedimiento en lote

**Guía Ilustrativa: ¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?**

La prueba de fermentación en lote ofrece información como el rendimiento de biogás de un sustrato orgánico fermentado anaeróbicamente, como también una evaluación cualitativa de la velocidad de degradación y una evaluación cualitativa de las características inhibitorias del sustrato evaluado. Sin embargo, la prueba no ofrece información acerca de la estabilidad de un reactor con este sustrato, el rendimiento real bajo condiciones prácticas, la posibilidad de monofermentación del sustrato o las limitaciones de velocidad de carga orgánica en un reactor.

La precisión es el resultado de la calidad del inóculo utilizado y su actividad microbiológica, y la capacidad de adquisición precisa de las cantidades de biogás generada. La Imagen 18 ofrece una ilustración de un set experimental de pruebas en lote, utilizando la metodología de (Standard, 2006).



Imagen 18. Prueba de fermentación en lote en la Universidad EARTH, Costa Rica.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

### 3.1. Materiales y métodos

#### 3.1.1. Aparato de la prueba de fermentación

La metodología (Standard, 2006) hace referencia en más detalle de las características propias de los apartados a utilizar. Sin embargo, algo muy importante es que el equipo a utilizar sea hermético, y se garantice la no entrada de aire ni salida de biogás. El vidrio es el material de preferencia para el envasado. Un ejemplo de una botella plástica de 2 L de capacidad se puede apreciar en la Imagen 19.



Imagen 19. Una botella de fermentación de 2 L del equipo de la Universidad EARTH, Costa Rica.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

La hermeticidad aplica tanto para las botellas de fermentación como el equipo para la medición de biogás. Un ejemplo de una prueba de hermeticidad, que se recomienda realizar previo a la prueba, se muestra en la Imagen 20. El equipo es levemente presurizado y monitoreado para asegurar que la presión se mantenga constante por un periodo de tiempo determinado (idealmente 24 horas).



Imagen 20. Prueba de hermeticidad, aplicado al equipo de la Universidad EARTH, Costa Rica  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Un factor importante para asegurar la hermeticidad de los equipos es cerciorarse que las conexiones de las botellas de fermentación y los dispositivos para medición del biogás generado se encuentren en buen estado. En la Imagen 21 se muestran tapones de dudoso estado, que deberían ser cambiados previo a la prueba.



Imagen 21. Acoples de dudoso estado entre la botella de fermentación y el equipo para medición de volumen de biogás del equipo de la Universidad EARTH, Costa Rica  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Las botellas de fermentación, una vez introducido el inóculo o el sustrato a ser evaluado, deben ser incubados en condiciones mesofílicas ( $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), o condiciones termofílicas ( $55^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) (Standard, 2006). Para esto se pueden introducir en un baño de agua, conocido popularmente como un “baño maría” como se muestra en la Imagen 22. Se debe asegurar que el nivel del agua dentro del baño maría esté por encima del nivel de líquido en las botellas, para esto se puede utilizar pesas para mantener las botellas sumergidas. Para estas aplicaciones se debe asegurar realizar un mezclado para evitar la formación de escoria flotante y promover el contacto del sustrato con el inóculo, haciendo una mezcla manual (Imagen 23).



Imagen 22. Sistema de baño maría para mantener las botellas de fermentación a una temperatura constante. Universidad EARTH, Costa Rica.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)



Imagen 23. Mezclado de la botella de fermentación para muestras que tiendan a formar una capa flotante. Universidad EARTH, Costa Rica.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Otra forma para lograr la incubación es introducir las botellas de fermentación dentro de cámaras climáticas, que permitirían mantener una temperatura constante. Según (Standard, 2006) agregar ventiladores permitiría una adecuada recirculación del aire, para homogeneizar la temperatura interna. Un ejemplo de estas recamaras son las mostradas en la Imagen 24.

**Guía Ilustrativa: ¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?**

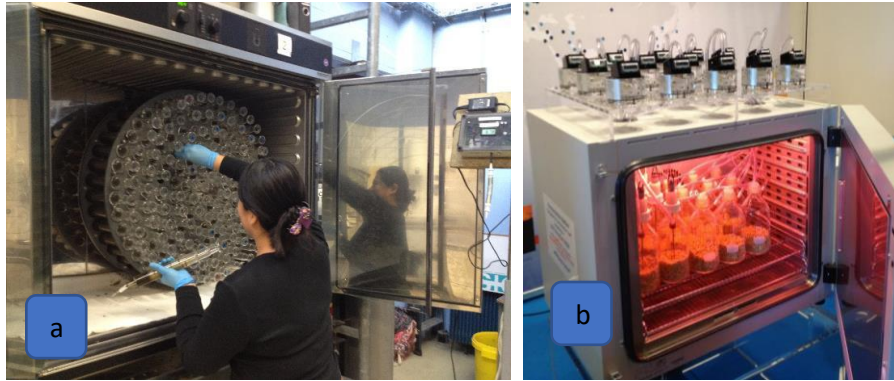


Imagen 24. Un sistema de horno para mantener las botellas de fermentación a una temperatura constante. a) corresponde a un horno rotatorio con jeringas en lugar de botellas, en la Universidad de Hohenheim, mientras que b). es un sistema de horno ofrecido por la empresa Ritter.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Finalmente, para correr pruebas de fermentación anaeróbica el equipo debe venir acompañado de un sistema para medición precisa de la cantidad de biogás generado. La metodología (Standard, 2006) ofrece una explicación detallada de 6 formas en las que puede ser cuantificado el biogás generado, el cual es altamente recomendado leer con detenimiento. La Imagen 25 muestra algunas de las opciones mencionadas en (Standard, 2006), instaladas en laboratorios alrededor del mundo.







Imagen 25. Cinco métodos para la medición del biogás generado: (a)\* técnica de la Universidad de Hohenheim, donde se utiliza una jeringa para las pruebas y medición de gas; (b)\* Sistema con campana flotantes en la Universidad EARTH, Costa Rica, donde se mide por altura desplazada; el uso de medidor de flujo micro (“microcounter”)- (c)\* modelo de la empresa BioProcess Control instalado en la Universidad EARTH, (d)\* modelo de la empresa Ritter, en la Universidad de Hohenheim; (e)\* sistema de almacenamiento en bolsas plásticas y medido luego con flujómetro en la Universidad de Hohenheim; y (f)\*\* sistema con un eudiómetro.

\*Fuente: (Viquez, 2009-2017)

\*\* Fuente: Del proyecto Re2Alko. Disponible en: <http://www.re2alko.de/Inhalt/Vorbehandlung.html>

Es importante mencionar que cuando el biogás es contabilizado con algún mecanismo como el desplazamiento de líquido, o en el cual el biogás este en contacto con un líquido que selle su salida como en los micro-contadores o las campanas flotantes de la Imagen 25b, se debe preparar un líquido “de cierre”. Este líquido corresponde a una solución ácida y saturada con sal. El objetivo es evitar que el CO<sub>2</sub> en el biogás se solubilice en el líquido, y afecta los resultados. En la Imagen 26 se muestra equipos de medición de biogás llenos con dicha solución de cierre.



Imagen 26. Envases de medición de biogás llenos de solución de cierre. Universidad EARTH, Costa Rica.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

### 3.1.2. Inóculo

El inóculo a utilizar puede ser un lodo secundario de una planta de tratamiento de aguas residuales anaeróbica, como el que se muestra en Imagen 27. Este lodo anaeróbico, debe contener como mínimo un 50% de MoS, y se debe asegurar que no ha estado expuesto a condiciones de inhibición. Según (Standard, 2006) es recomendable utilizar un lodo creado en laboratorio al no haber estado expuesto a gran variedad de sustancias, en comparación a un lodo de una planta de tratamiento.

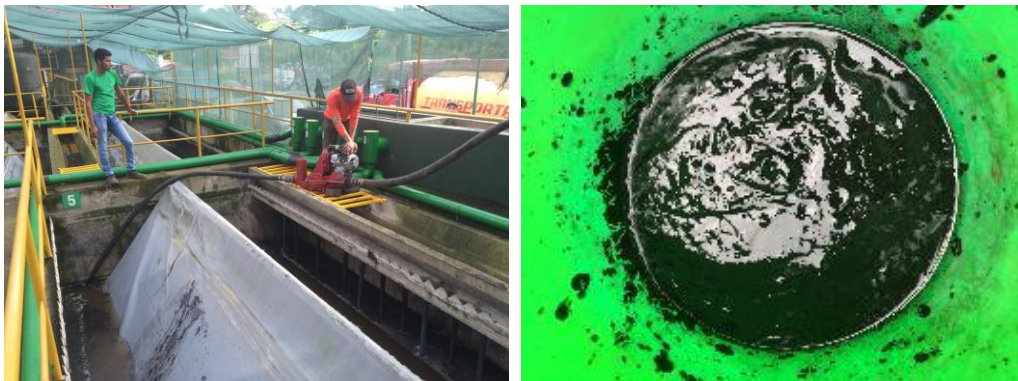


Imagen 27. Inóculo proveniente de un reactor anaeróbico de flujo ascendente, sin aparente efecto de inhibición, color oscuro sin sólidos gruesos.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Es recomendable una aclimatación a la temperatura en la que se correrá la prueba, por un periodo mínimo de una semana previo a la prueba, según (Standard, 2006). Esto se puede hacer colocando las botellas en el baño maría como se muestra en la Imagen 28. Esto permite que el lodo ingrese a un periodo de hambruna, liberando el metano residual.



Imagen 28. Adaptación previa del inóculo a la temperatura de la prueba  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

También se puede parear el lodo con el sustrato, es decir, tomar lodo de una planta que procesa un sustrato similar al sustrato al que se le correrá la prueba. Si un sustrato es conocido por tener dificultad de fermentación anaeróbica, se puede alimentar el inóculo con el sustrato en cuestión antes de la prueba para que el inóculo se adapte al sustrato. Finalmente, si existieran dudas sobre la replicabilidad de los resultados, por el origen del inóculo, se pueden correr pruebas subsiguientes utilizando el lodo resultante de la prueba, que es un lodo adaptado al sustrato.

### 3.1.3. Cantidad de la muestra

La cantidad de muestra a utilizar, o en otras palabras la relación inóculo: sustrato que se utilizaría en la prueba es una relación 2:1 (inóculo:muestra) en base a materia orgánica seca (Standard, 2006). Esto se hace para: 1) prevenir inhibición, 2) que el 80% de la cantidad de biogás generado venga de la muestra en sí y 3) que el contenido de sólidos totales no exceda el 10%, para evitar dificultades de transferencia de masa. En la Imagen 29 se muestra un ejemplo de la proporcionalidad, en el caso de una prueba con un inóculo al 6% de ST y 60% de MoS, y un sustrato heterogéneo con 20% de ST y 83% de MoS.



Imagen 29. Ejemplo de la proporción entre inóculo y muestra (una relación 2:1, inóculo:muestra, en base en materia orgánica seca).

Fuente: (Viquez, 2009-2017)

**Guía Ilustrativa: ¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?**

### 3.1.4. Uso de muestra de referencia

El uso de un “sustrato” de referencia en la prueba permite descartar cualquier problema con el inóculo o la prueba en sí. Se debe utilizar un sustrato al cual se le conozca su rendimiento. Su conversión es en un 100%, pero su degradación no es tan rápida. Un ejemplo es la celulosa microcristalina (Imagen 30). Esta, según (Standard, 2006), tiene un rendimiento entre 740 y 750 mL de CH<sub>4</sub>/g MoS, un 80% de este valor debe haber sido alcanzado como mínimo en la prueba.



Imagen 30. Ejemplo de un envase de celulosa microcristalina, que se pueden utilizar como muestra de referencia.  
Fuente: Tomado del sitio web: <http://www.blackburndistributions.com/>

### 3.2. Procedimiento de la prueba

Una vez preparados para correr la prueba en lote es recomendable tener duplicados, idealmente tres repeticiones de cada prueba. Un ejemplo, en la Imagen 31, muestra cómo existen dos sustratos en la prueba con tres repeticiones (en total hay 6 botellas con pesas anaranjadas), además de dos botellas (identificadas con pesas verdes), que son repeticiones solamente de inóculo.



Imagen 31. Una prueba en lote, donde se tienen 3 réplicas del sustrato a evaluar y dos réplicas del inóculo.  
Universidad EARTH, Costa Rica.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Según (Standard, 2006) es recomendable, una vez conocido la cantidad de sustrato e inóculo a utilizar, que se pesen directamente en las botellas de fermentación. Primero se pesa (y se coloca) el sustrato a evaluar en la botella, y luego se agrega el inóculo dentro de la botella. Una ejemplificación se muestra en la Imagen 32.

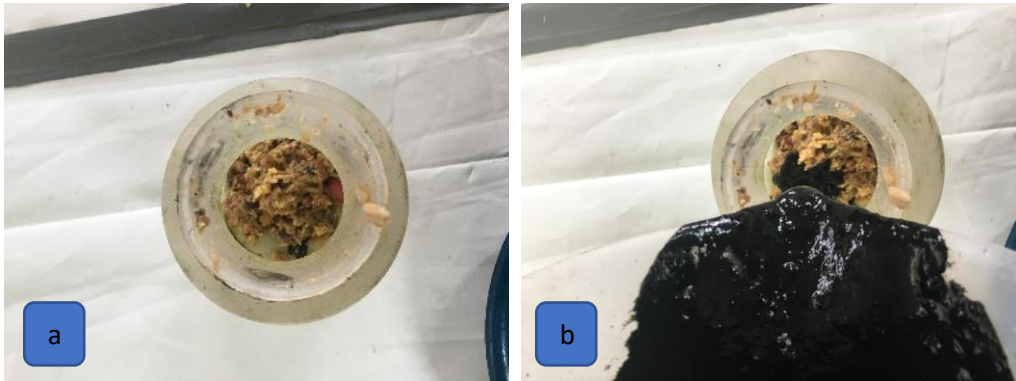


Imagen 32. Ejemplificación donde a) primero se coloca la muestra en las botellas de fermentación, y luego b) se coloca el inóculo.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Una vez llenas las botellas y listas para ser introducidas en el baño maría, se recomienda realizar un “enjuague” con nitrógeno gaseoso para eliminar o sacar el oxígeno atmosférico. Una ejemplificación se puede ver en la Imagen 33.



Imagen 33. “Enjuague” con nitrógeno para eliminar el oxígeno atmosférico previo a cerrar la botella para iniciar la prueba.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Una vez selladas las botellas e introducidas en el baño maría la prueba ha comenzado (se debe documentar la hora). Diariamente, especialmente en los primeros días de la prueba, se debe monitorear la producción de biogás, tomando los datos correspondientes (cantidad de biogás, temperatura ambiente o del gas, y la presión atmosférica) como se muestra en la Imagen 34. Cuando la capacidad máxima de almacenamiento del equipo utilizado para medir la cantidad de biogás haya sido alcanzada, es

**Guía Ilustrativa: ¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?**

recomendable realizar la medición de la cantidad de la concentración de metano (ejemplo de un equipo en la Imagen 35) y vaciar el dispositivo.

Se debe aclarar que para equipos, mostrados en la Imagen 25 (c y d), que no tengan un equipo de medición de la concentración de metano acoplado al flujo constante de biogás este debe ser almacenado en bolsas posteriores para luego hacer la medición del metano.



Imagen 34. Lectura del biogás, y monitoreo del set todos los días.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)



Imagen 35. Equipo para la medición del contenido de metano en el Instituto Leibniz de Ingeniería Agrícola y Bioeconomía (ATB) en Potsdam, Alemania.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)

La prueba debe continuar, hasta que la producción diaria de biogás es igual o menor al 1% de la producción de biogás acumulada. Al finalizar la prueba, se debe hacer las últimas mediciones de biogás y metano, y anotar la hora. Es recomendable documentar el pH de la botella de fermentación, tal y como se muestra en la Imagen 36.



Imagen 36. Lectura de pH al terminar la prueba de fermentación.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)

### 3.3. Evaluación y registro de los resultados

En (Standard, 2006) existe bastante detalle de cómo se debe evaluar cuantitativa y cualitativamente los resultados obtenidos, asegurándose de estandarizar las mediciones de biogás a mediciones de metano seco en condiciones estándares. La lectura de esta sección de (Standard, 2006) es recomendable.

## 4. Prueba de fermentación: Procedimiento continuo

La prueba de fermentación continua, a diferencia de una prueba “batch” o en lote, es una prueba que requiere de mayor supervisión. La razón por la cual se decide realizar una prueba en continuo es detallada en (Standard, 2006) pero entre algunas razones, se encuentra el interés en evaluar factores como la velocidad de carga orgánica, tiempo de retención hidráulico o celular, la formación y acumulación de compuestos intermedios, el efecto del arranque del reactor, el impacto de cargas de choque, entre otros. La Imagen 37 muestra dos ejemplos de sistemas de fermentación anaeróbica continua.



Imagen 37. Sistema de pruebas de fermentación continua: (a) En el Instituto Costarricense de Electricidad en Costa Rica, y (b) En la Universidad de Hohenheim en Alemania.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)

### 4.1. Metodología

#### 4.1.1. Aspectos especiales

El tamaño del reactor debe ir de la mano de la cantidad de sustrato al que se tiene disponible, o bien del que es factible almacenar durante períodos de tiempo necesarios para la prueba. Se deben considerar también la disposición final del efluente/digestato y el manejo del biogás. La figura geométrica y volumen del reactor también influye en la capacidad de instalar sensores y evitar que haya atascos en la tubería. En general, (Standard, 2006) sugiere el uso de reactores entre 5 L a 2 m<sup>3</sup>; un ejemplo de un reactor de 5 L se puede apreciar en la Imagen 38.

**Guía Ilustrativa: ¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?**



Imagen 38. Reactor para fermentaciones continuas de 5 L, instalado en la Universidad de Hohenheim.  
Fuente: (Viquez, 2009-2017)

La configuración de los reactores debe permitir también, el control de la temperatura. Esto se puede hacer, por ejemplo, introduciendo los reactores en un baño maría, como se muestra en Imagen 39, o bien la introducción de intercambiadores de calor internos.



Imagen 39. Ejemplos de un mecanismo, estilo baño maría, para la calefacción de un reactor de operación continua en Instituto Costarricense de Electricidad en Costa Rica. a) se puede observar el reactor sumergido en agua, y b) es el controlador de temperatura.

Fuente: (Instituto Costarricense de Electricidad, 2018)

**Guía Ilustrativa: ¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?**



La adición de mezclado o agitación es importante pues no es recomendable la acumulación de escoria flotante. Puede ser programada para operar de forma constante, o bien en intervalos de tiempo. La Imagen 40 muestra dos ejemplos de sistemas de agitación en fermentadores continuos.



Imagen 40. Ejemplo de mecanismos para la agitación en reactores de uso continuo. a)\* reactores del Instituto Costarricense de Electricidad en Costa Rica, y b)\*\* Instituto Leibniz de Ingeniería Agrícola y Bioeconomía (ATB) en Potsdam, Alemania.

\*Fuente: (Instituto Costarricense de Electricidad, 2018)

\*\*Fuente: (Viquez, 2009-2017)

Finalmente, los reactores deben estar equipados de entradas para la alimentación del sustrato, y salidas para recibir el efluente. Todo esto debe estar instalado de tal forma que evite la salida del biogás. Una estrategia, es sumergir los tubos de alimentación, y los ejes para el agitador, por debajo del nivel de líquido. Un ejemplo se puede apreciar en la Imagen 41.



Imagen 41. Ejemplo un mecanismo para evitar la pérdida de biogás, tanto en la alimentación, como en la agitación, en un reactor en el Instituto Leibniz de Ingeniería Agrícola y Bioeconomía (ATB) en Potsdam, Alemania.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)

## 4.2. Métodos experimentales

### 4.2.1. Prueba simple de fermentación continua

Como se mencionó en las secciones previas, un reactor para pruebas de fermentación continua simple es un envase hermético, termostáticamente equipado, con entradas y salidas para el sustrato y efluente, como salidas para la cuantificación, almacenamiento y caracterización del biogás.

Esta sección hace una leve descripción de la prueba simple, sin embargo, para más detalle es recomendable referirse a la metodología (Standard, 2006). En esta, también se menciona las pruebas de fermentación complejas, para las cuales se utilizan reactores como los que se muestra en la Imagen 42.



Imagen 42. Ejemplo de un fermentador complejo instalado en la Universidad EARHT en Costa Rica.

Fuente: (Viquez, 2009-2017)

El sustrato es tradicionalmente alimentado a mano (como se muestra en la Imagen 43), siendo pesado previamente. Este puede ser diluido en agua, en caso de que contenga una alta cantidad de sólidos, para de esta forma mantener un contenido de sólidos totales en el reactor constante. También se acostumbra mezclarlo con el efluente del reactor, para acelerar su mezclado y facilitar su alimentación.



Imagen 43. Alimentación diaria al fermentador, vía una entrada en la parte superior del fermentador.  
Fuente: (Instituto Costarricense de Electricidad, 2018)

El biogás que es generado diariamente puede ser acumulado en bolsas herméticas, luego conducido por un flujómetro para la cuantificación de la cantidad y con un medidor de gases cuantificar su calidad (contenido de metano, dióxido de carbono y sulfuro de hidrógeno principalmente). Un ejemplo de las bolsas y el flujómetro se puede apreciar en la Imagen 44. El biogás debería ser conducido por un mecanismo de secado previo, para realizar las mediciones de biogás “seco”. Un ejemplo de un condensador se puede apreciar en la Imagen 45.



Imagen 44. Unidad para la recolección del biogás y enviado luego a un medidor.  
Fuente: (Instituto Costarricense de Electricidad, 2018)



Imagen 45. Deshidratador de biogás, previo a su envío a un medidor de volumen de biogás.  
Fuente: (Instituto Costarricense de Electricidad, 2018)

Finalmente, la operación de los reactores debe ir en línea con los parámetros que se deseen evaluar. Según (Standard, 2006) se recomienda empezar con una velocidad de carga orgánica de  $0,5 \text{ kg MoS/m}^3 \cdot \text{d}$ , e ir incrementando en 0,5, una vez que el biogás que se genera diariamente es constante (usualmente 14 días). El incremento se puede seguir realizando hasta que el reactor no presente el incremento en la

**Guía Ilustrativa: ¿Cómo aplicar la metodología VDI 4630, para pruebas de fermentación anaeróbica?**

producción de biogás, lo que significa que el reactor está sobrecargado. Para resultados confiables, es recomendable operar bajo las condiciones deseadas por un mínimo de tres veces el tiempo de retención hidráulica.

## 5. Referencias

Instituto Costarricense de Electricidad. (2018). *Material fotográfico compartido por el Programa Biogas*. . Costa Rica.

Standard, V. D. (2006). *Fermentation of organic materials. Characterization of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests*.

Viquez, J. (2009-2017). Fotografías de la colección del autor en visitas a laboratorios de biogás. . Ninguna - Material propio. .