



<http://opn.to/a/LK12k>

REVIEW | REVISIÓN

Transferability of Results from Laboratory Scale to Biogas Plants at Real Scale

Transferibilidad de resultados a escala de laboratorio a plantas de biogás a escala real

Dr.Sc. Hans Oechsner¹, MSc. Benedikt Huelsemann¹, Dr.C. Carlos M. Martínez Hernández^{1*},

¹University of Hohenheim. State Institute of Agricultural Engineering and Bioenergy, Germany.

¹¹Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

ABSTRACT. The costs of biogas plants are determined by the costs of the substrates they use, representing 40 to 60% of the annual operating costs of these in Germany, with energy crops being widely used as substrates in anaerobic digesters. The determination of methane performance in different substrates via Batch tests is carried out using the German VDI-4630 standard in approximately 40 different laboratories installed in Germany. The results obtained in the methane yield of the substrates valued at the laboratory level show great correspondence with those achieved at real scale in the active plants. The Biogas Guide compiled by KTBL German Agency based on the results obtained by several well-known laboratories and institutes in that country, has shown that the accuracy of these results can be taken into account for the economic planning studies of new biogas plants. Fermentation tests are the most accurate method for determining the methane yield of the parts of the plants under analysis. In recent times, the use of biogas laboratories has increased in the validation of methane yield at the laboratory scale of different substrates, motivating the cooperation and use of standard research protocols among them, thus ensuring a high quality of the results obtained and its replicability.

Keywords: Batch tests, anaerobic digester, German standard, VDI-4630.

RESUMEN. Los costos de las plantas de biogás están determinados por los costos de los sustratos que estas utilizan, representando un 40 a 60 % de los costos de operación anual de estas en Alemania, siendo muy utilizados cultivos energéticos como sustratos en los digestores anaeróbicos. La determinación del rendimiento de metano en diferentes sustratos vía pruebas Batch se realiza mediante la norma alemana VDI-4630 en aproximadamente 40 diferentes laboratorios instalados en Alemania. Los resultados obtenidos en el rendimiento de metano de los sustratos valorados a nivel de laboratorio muestran gran correspondencia con los alcanzados a escala real en las plantas en activo. La guía de Biogás compilada por la agencia alemana KTBL basada en los resultados obtenidos por varios laboratorios e institutos bien conocidos de ese país ha mostrado que la exactitud de dichos resultados puede ser tenidos en cuenta para los estudios de planificación económicas de nuevas plantas de biogás. Las pruebas de fermentación es el método más exacto para la determinación del rendimiento de metano de las partes de las plantas objeto de análisis. En los últimos tiempos, se ha incrementado el uso de laboratorios de biogás en la validación del rendimiento de metano a escala de laboratorio de diferentes sustratos, motivando la cooperación y utilización de protocolos investigativos estándar entre estos, de esta forma se asegura una alta calidad de los resultados obtenidos y su replicabilidad.

Palabras clave: Pruebas Batch, digestor anaeróbico, norma alemana, VDI-4630.

*Author for correspondence: Carlos M. Martínez Hernández, e-mail: carlosmh@uclv.edu.cu

Received: 02/11/2019.

Approved: 13/03/2020.

INTRODUCTION

What are Fermentation Tests Required for?

The economic efficiency of biogas plants is largely determined by the substrate costs. Approx. 40% to 60% of the annual costs of a biogas plant, fed with energy crops, are attributable to substrate procurement. It is, therefore, essential to calculate standard figures when planning a biogas plant. When using liquid manure and by-products, it is also essential to know the specific methane yield of the substrates used in order to enable optimum planning of a biogas plant. In addition to the data on the specific methane yield, further information on the fermentation substrate used is also required. In particular, the yield per unit area of fresh matter, the dry matter yield and the quality of the fodder have a considerable influence on the amount of methane that can be achieved.

In principle, the content of carbohydrates, fats and proteins correlates directly with the energy content of the substrate used and should actually be sufficient as a basis for calculating the methane yield. There are also a number of methods for this estimation. Starting with the calculation by Buswell (1939), who estimated the biogas yield, and the methane and carbon dioxide content in the biogas on the basis of the elementary composition of the substrate. Other calculations were made to determine the nutrient composition by Baserga (1998) and later by Keymer & Schilcher (1999). These values can only be used as a rough guide for simple planning of full scale biogas plants. As Czepuck *et al.* (2006), proved in comparison studies, the results deviate by 10 % to 20 % from the measured value in the biogas yield test. Since the plant substrate mass is composed of very different nutrient combinations, further estimation formulas have been proposed by Amon *et al.* (2007) and Kaiser (2007), as well as the laboratory determination of the fermentable volatile solid (FVS) value. VDI 4630 (2016) refers that some of these indicators allow a limited extension of the reliability of the results.

INTRODUCCIÓN

¿Para qué se requieren las pruebas de fermentabilidad?

La eficiencia económica de las plantas de biogás está determinada por el costo de los sustratos. Aproximadamente entre el 40 y 60% de los costos anuales de las plantas de biogás, alimentadas con cultivos energéticos, son atribuibles al suministro de los sustratos.

Es por esto, que es esencial realizar los cálculos y curvas estándar cuando se planea una planta de biogás. Cuando se utiliza excreta de animales y bio-productos es esencial conocer el rendimiento específico de metano de los sustratos a utilizar para realizar una planificación óptima de la planta de biogás. Además del rendimiento específico de metano, otras informaciones son requeridas de las pruebas de fermentación. En particular, el rendimiento por unidad de área de materia fresca, el rendimiento de la masa seca y la calidad del forraje tiene una gran influencia en la cantidad de metano que puede ser obtenido.

En principio, el contenido de carbohidratos, grasas y proteínas correlacionadas directamente con el contenido energético de los sustratos usados debería ser suficiente para conocer los valores del rendimiento de metano. Existen un número de métodos para su estimación. Comenzando con los cálculos efectuados por Buswell (1939), quien estimó el rendimiento de biogás, metano y dióxido de carbono partiendo de la composición elemental de los sustratos, otros cálculos fueron realizados para determinar la composición de nutrientes por Baserga (1998) y más tarde Keymer & Schilcher (1999). Estos valores pueden ser usados como una guía rústica para la planificación de una planta sencilla de biogás a escala real. Czepuck *et al.* (2006), han probado en estudios comparativos que la desviación de los valores medidos en las pruebas de rendimiento de biogás está entre 10 % y 20 %. Motivado por los diferentes combinaciones de nutrientes en la masa de los sustratos, otras fórmulas de estimación han sido expuestas por Amon *et al.* (2007) y Kaiser (2007), así como por la determinación en laboratorio de los valores de sólidos volátiles fermentables (FVS). VDI 4630 (2016), plantea que algunos de estos indicadores permiten una limitada extensión de los fiabilidad de los resultados.

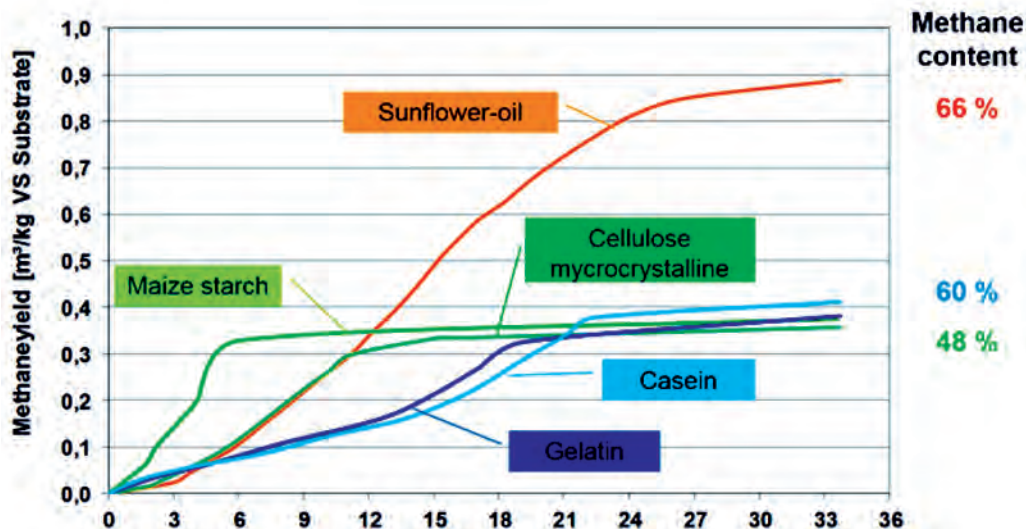


FIGURE 1. Methane yields and formation kinetics of different nutrient fractions (according to Czepuck *et al.*, 2006)

FIGURA 1. Rendimiento de metano en diferentes fracciones de nutrientes. Fuente:(Czepuck *et al.*, 2006).

Above all, the different compositions of the carbohydrate fraction and its extremely different digestibility have a clear effect on the degradability, the degradation kinetics and finally the achievable gas yield. While starch can be completely converted into biogas in about 5 days depending on its storage in the plant, the conversion of plant supporting tissues such as hemicellulose and cellulose is significantly slower. Especially if a high proportion of lignocellulose complexes is present, this has a negative effect on the methane yield and the substrate degradability. Therefore, a fermentation test is the most exact and recommended method for the exact determination of methane yield of plant mass (Czepuck *et al.*, 2006).

DEVELOPMENT

Reference on the Methane Yield of Common Substrates

For the use of common substrates, German KTBL (Advisory Board for Technology and Construction in Agriculture) has considered a great amount of research, which has been compiled with the help of a large number of individual results from several well-known laboratories and research institutions (KTBL, 2011). As a rule, these reference values are extremely valuable and very useful for the design and planning of biogas plants.

However, it must be noted that depending on the location, variety, vegetation course during the year, harvest time, storage and silage, significant deviations from the standard values are possible. For this reason, laboratory analysis in the biogas laboratory is useful in many cases for determining methane yield.

Guidelines for Fermentation Trials

Many guidelines are available to get a higher reproducibility of Biomass Methane Potential (BMP). Beside European standards (Holliger *et al.*, 2016), VDI 4630 is the most common guideline used in Germany. Guideline 4630 (VDI 4630, 2016) describes both, the procedure for carrying out batch and continue tests. KTBL "Interlaboratory Tests" working group developed, together with the VDLUFA, the VDLUFA Method for "Determination of biogas and methane yields in fermentation tests" VDI 4630 (2016), which somewhat simplifies the most important criteria for carrying out fermentation tests. The aim of this method is to improve the quality assurance of laboratory tests on biogas yield.

The regulations stipulate that a minimum number of test conditions must be satisfied:

- Use of suitable, gas-tight and tempered "small fermenters"
- Use of a suitable inoculum (either specially bred or fermentable material from active biogas fermenters; inoculum);
- Mixing ratio of inoculum and fermentation substrate (volatile solid (VS)-related) in a ratio of at least 2:1 to find sufficient buffer capacity in the fermentation Batch;
- Inoculum ferment in parallel as a zero sample;

La Figura 1 muestra las diferentes composiciones de la fracción de carbohidratos y sus diferentes digestibilidades, mostrando su efecto en la degradabilidad cinética y rendimiento de gas obtenido. Mientras que el almidón puede ser convertido en biogás en solo 5 días de acuerdo a su almacenamiento en la planta, la conversión de los tejidos de celulosa y hemicelulosa es significativamente más lenta. Especialmente si existe una alta proporción de componentes lignocelúsicos, esto incide en un efecto negativo en el rendimiento de metano y la degradabilidad de los sustratos. Por tal motivo, las pruebas de fermentación es el método más exacto para la determinación del rendimiento de metano de las partes de las plantas objeto de análisis (Czepuck *et al.*, 2006).

DESARROLLO

Referencia para la determinación del rendimiento de sustratos

Para el uso de sustratos comunes, el KTBL alemán (Buro de Asesoría Tecnológica y Constructiva en Agricultura) ha tenido en cuenta una numerosa cantidad de investigaciones, las cuales han sido compiladas en forma de guía, con la ayuda de gran cantidad de resultados investigativos obtenidos por prestigiosos laboratorios e instituciones de investigación (KTBL, 2011). Como regla, estos valores de referencias son extremadamente valiosos y útiles para el diseño y planificación de plantas de biogás. Sin embargo, se puede notar que en dependencia de la localización, el curso de la vegetación durante el año, período de la cosecha, almacenamiento y ensilaje, desviaciones significativas con respecto a los valores estándar pueden ser encontrados. Por esta razón, los análisis de laboratorio en los laboratorios de biogás son útiles para determinar previamente el rendimiento de metano a obtener en los sustratos a valorar.

Guía para llevar a cabo ensayos de fermentabilidad

Muchas guías hay disponibles para obtener alta reproducibilidad en el potencial de metano en biomásas (BMP). Al lado de las normas estándar europeas Holliger *et al.* (2016), La norma VDI 4630 es la más usada en el caso de Alemania. La norma VDI 4630 (2016) describe el procedimiento para llevar a cabo ensayos del tipo Batch y continuos. El grupo KTBL "Interlaboratory Tests" desarrolló junto con VDLUFA, el método VDLUFA para la "Determinación del rendimiento de biogás y metano en las pruebas de fermentación VDI 4630 (2016), estos han simplificado los criterios más importantes para llevar a cabo pruebas de fermentación. El objetivo de estos métodos es mejorar la calidad de las pruebas de laboratorio respecto al rendimiento de biogás.

Las regulaciones estipulan el mínimo número de condiciones de pruebas, las cuales deben satisfacer:

- El uso de conveniente de fermentadores pequeños a prueba de fuga de gases;
- El uso de un inoculum conveniente (material fermentable de plantas de biogas en producción, inóculo);
- La proporción de la mezcla de inóculo y sustrato de fermentación (sólido volátil (VS) en una proporción de por lo menos 2:1 para encontrar la capacidad buffer suficiente en el lote de fermentación;

- At least one standard substrate is also fermented (e.g. microcrystalline cellulose) in internal laboratory conditions;
- Fermentation temperature should be $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$;
- Measure biogas formation as often as possible and determine the methane content with each gas extraction;
- At least 25 days of fermentation time. Termination criterion for the test batch: if less than 0.5 % of the gas quantity formed to date is produced on at least 3 consecutive days;
- Reference of the methane yield to the VS input in the test substrate;
- If silages or substrates with volatile components (fermentation acids, alcohols) are used, the value of the VS content must be corrected (Mukengele & Oechsner, 2007);
- Standardization of gas production (0°C , 1013 hPa); consideration of water vapor.

In the evaluation, the inoculum own production of biogas/methane is deducted from the total production in order to determine only the biogas/methane yield of the sample tested. The amount of biogas/methane produced over the experimental time is shown as a sum curve.

Comparisons among Laboratories to Ensure Test Quality

Now in Germany, at least 40 laboratories offer tests to determine the methane yield of substrate samples. These laboratories are very experienced and they are involved in reducing the risk of errors due to the complex and multi-stage test procedures. In previous publications, the methane yields differ sometimes significantly from each other.

For this reason, KTBL working group has established a system of comparisons among laboratories of biogas in cooperation with VDLUFA-NIRS GmbH and with the financial support of BMELV. So far, eleven tests have taken place. The number of participating laboratories has been in the range of 20 to 33 laboratories. By evaluating the test results and a comprehensive description of the method as well as a detailed error analysis, the participants were able to identify and eliminate errors in their own procedures. All participating laboratories were required to comply with the VDI Guideline 4630 and the VDLUFA method regulation. Microcrystalline cellulose was used as the standard fermentation substrate for each pass. Besides that, other fermentation substrates were chosen. These substrates should cover the usual range of substrate variations from practice. Identical sample material was sent to all laboratories in all rounds. The samples were crushed. The substrates valued were wheat grain, dried maize, dried grass, maize silage and grass silage and rape press cake. When fresh silages were shipped, the effects of sample storage and sample homogenization on the final result were also possible to investigate.

It was noticeable, in the first run in 2006, the results for cellulose showed a relatively wide dispersion, although it was a very homogeneous and standardized substrate. The comparison of methane yield among the different laboratories show a variation coefficient between 19.5% and 8.4% in the eleven tests analyzed. When comparing the test setup and the results, it became clear that the differences were not due to the type

- Inóculos fermentan en paralelo como una muestra cero;
- Al menos un sustrato estándar (celulosa micro cristalina), también se fermenta en condiciones de laboratorio;
- La temperatura de fermentación a utilizar debe ser $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$;
- Mida tan a menudo como sea posible la formación del biogas y determine el contenido de metano en cada extracción de gas;
- Por lo menos 25 días de tiempo de fermentación. El criterio de terminación para el lote de prueba es cuando la cantidad de gas formado no sobrepasa 0.5% en 3 días consecutivos;
- El rendimiento del metano respecto a los sólidos volátiles (VS) en el sustrato de prueba;
- Si forrajes o sustratos con componentes volátiles (ácidos de fermentación, alcoholes) son utilizados, el valor de los sólidos volátiles (VS) debe corregirse (Mukengele & Oechsner, 2007);
- La estandarización de la producción de gas (el 0°C , 1013 hPa); en consideración al vapor de agua.

En la evaluación, la producción de biogás/metano del inóculo es deducida de la producción total para determinar solo la producción de biogás/metano de los sustratos objeto de evaluación. La cantidad de biogás/metano producido en el tiempo de experimentación es mostrado como una curva de la suma del acumulado.

Comparación entre laboratorios para asegurar pruebas de calidad

En Alemania, al menos 40 laboratorios están activos ahora para la determinación del rendimiento de metano en sustratos muestras. Estos laboratorios tienen mucha experiencia y están involucrados en tratar de reducir el riesgo de errores en los resultados y las metodologías de pruebas utilizadas motivadas por su complejidad. En publicaciones previas, se ha podido contactar que pueden existir diferencias significativas entre algunos de estos.

Por esta razón, el grupo de trabajo KTBL ha establecido un sistema de comparación entre laboratorios de biogás en cooperación con el grupo VDLUFA-NIRS GmbH y financiado por BMELV. Hasta ahora once pruebas tienen lugar. El número de laboratorios participantes está en el rango de 20 a 33. Evaluando los resultados de las pruebas y la descripción del método empleado; así como mostrando los detalles de los errores analizados, de esta forma los participantes identifican y eliminan errores de sus propios procedimientos. Todos los laboratorios participantes deben cumplimentar las normas VDI-4630 y las regulaciones del método VDLUFA. La celulosa micro cristalina es usada como sustrato fermentable estándar en cada paso en paralelo con los otros sustratos objeto de valoración. Estos sustratos deben cubrir el rango y la variación de los mismos en la práctica. Muestras semejantes fueron enviadas a todos los laboratorios. Las muestras fueron molidas, los sustratos objeto de valoración fueron: granos de trigo, maíz seco, hierba seca, maíz ensilado, hierba ensilada y tortas de rape. En los ensilajes fresco transportados, el efecto de su almacenamiento y homogenización fue también objeto de investigación.

Fue notable, en las primeras corridas de la celulosa micro cristalina en 2006, que los resultados mostraron gran dispersión, a pesar de resultar este sustrato muy homogéneo y estandarizado. La comparación del rendimiento de metano obtenido entre diferentes laboratorios mostró un coeficiente de variación entre 19,5% y 8,4% en las once pruebas objeto de análisis. Cuando se compararon el tipo

and size of the respective test facilities, but to the accuracy of methane measuring instruments, their regular calibration, the mathematical evaluation under consideration of the reference variables for standard conditions and the consideration of water vapor correction in the event of deviations, which played a more relevant role.

Influence of the Mode of Operation - Transfer from Batch to Continuous Operation

With the exception of a few systems, biogas plants are not operated as batch type in practice. Instead of this, they operate as continuous systems with addition of fresh fermentation substrate several times a day. As a result, the process steps for anaerobic decomposition of organic matter run parallel and simultaneously. While the batch approach shows a clear change in biogas composition during the test sequence, the continuous approach hardly allows a difference in gas quality to be measured over the course of the day, if the same substrate is fed continuously. In addition, with fully mixed fermenters, but also with the so-called “plug flow fermenters”, in close correlation with the hydraulic retention time of the substrate in the fermenter as well as with the fermenter geometry and the feeding frequency, certain parts of fresh or only partially degraded substrate, always leave the fermenter before the hydraulic retention time has elapsed. This occurs even before their entire methane yield potential has been obtained in the substrates.

In batch systems, on the other hand, it is waited until the fermentation process has almost completely decayed. For this reason, deviations are to be expected when batch results are transferred to continuous operation. Today, biogas plants in Germany are equipped with very long hydraulic retention times, partly due to legal requirements and also due to many of them operate in cascade arrangement to achieve the methane yield potential be fully exploited. Methane potentials and methane yields per substrate could then be determined at the same time in the experiments. By determining the residual gas potential as in the overflow of biogas fermenters, it is relatively easy to check to what extent the fermentation substrate used is utilized or whether there are still reserves in its potential energy. Investigations in various biogas plants in production as well as in plants in cascades have shown a narrow correlation between the gas potential of substrates and the hydraulic retention time (Mönch, 2014). As a rule, only a very low residual gas potential (< 5 % when determining the residual gas potential at mesophilic temperature) was measured in the retention time of the fermenter (including the secondary fermenter) over 100 days. The results of two federal measurement programs (FNR, 2005; 2009), confirm these statements. Research carried out at 25 biogas plants with different substrates and different cascade digesters showed, that the transferability from laboratory results to real plants is possible (Ruile *et al.*, 2015). In case of comparison of batch to full-scale biogas plant, it seems like the influence of low data quality on the full-scale biogas plant results in a bigger mistake than the measurement error based on batch tests.

de pruebas y los resultados, se pudo establecerse claramente que las diferencias no estaban dadas con el tipo y tamaño de los laboratorios utilizados. Sino con la exactitud de los instrumentos para medir el metano, su calibración, la evaluación matemática de las variables del sustrato de referencia bajo condiciones normales y su corrección en base a vapor de agua, lo cual jugó un papel más reconocible.

Influencia del modo de operación-transferencia desde el tipo batch a modo de operación continúa

Con la excepción de pocos sistemas, las plantas de biogás no operan en el tipo batch en la práctica. Estas operan en forma continua con la alimentación de sustratos fermentables frescos varias a veces al día. Como resultado, el proceso de descomposición anaeróbica de la materia orgánica se divide en varias etapas corriendo en paralelo y simultáneamente. Mientras que en el tipo batch se muestran claramente los cambios en la composición del biogás durante la secuencia de pruebas, en el tipo continuo es difícil medir el cambio en la calidad del gas durante el día, si el mismo sustrato es alimentado continuamente. Además, tanto en los fermentadores tipo mixtos como en los llamados fermentadores tipo “plug flow fermenters”, presentan una estrecha correlación entre el tiempo de retención hidráulica, su geometría y la frecuencia de alimentación, mostrando que cierta parte de los sustratos frescos o parcialmente degradados abandonan los fermentadores antes de haber culminado el tiempo de retención hidráulico. Esto ocurre incluso, anterior a que en los sustratos se halla obtenido su máximo potencial de metano.

En los sistemas Batch, por otra parte, se espera a que la fermentación ocurra totalmente o comience a caer vertiginosamente. Por esta razón, las desviaciones de los resultados obtenidos con la fermentación Batch deben ser tenidas en cuenta a la hora de su transferencia a los sistemas que operan continuos. Actualmente, en Alemania las plantas de biogás operan con un largo tiempo de retención hidráulica, debido a los requerimientos de las leyes alemanas y también debidas a que muchas plantas operan en cascadas, para aprovechar al máximo el rendimiento de metano de los sustratos tratados. El potencial de metano y su rendimiento por sustrato puede ser determinado al mismo tiempo en los experimentos. Determinando el potencial residual de gas en el sobre flujo de los fermentadores de biogás, es relativamente fácil chequear hasta qué punto el sustrato usado es utilizado o si todavía existe reservas en su potencial de energía. Investigaciones efectuadas en varias plantas de biogás en producción; así como en plantas en cascadas han mostrado una estrecha correlación entre el potencial de gas de los sustratos y el tiempo de retención hidráulica (Mönch, 2014). Como regla, solamente un bajo potencial de gas residual (< 5 % cuando se determina el potencial de gas residual a temperatura mesofílica) fue medida en el tiempo de retención del fermentador (incluyendo el fermentador secundario) sobre los 100 días. Los resultados de dos programas federales de medición (FNR, 2005; 2009), confirman estos planteamientos. Investigaciones ejecutadas en 25 plantas de biogás con diferentes sustratos y diferentes digestores en cascadas mostraron, que es posible la transferibilidad de los resultados de laboratorio a las plantas reales de biogás (Ruile *et al.*, 2015). En el caso de la comparación batch con las plantas de biogás reales, parece ser que la influencia de la baja calidad de los datos en las plantas de biogás reales resultó en un mayor error de las mediciones comparado con las pruebas batch.

In an extensive trial at the University of Hohenheim, various fermentation substrates were investigated in a combination of batch tests and continuous trials in the biogas laboratory. For continuous trials the residual gas potential of the fermenter in overflow was measured in batch tests. In these tests, maize silage, ground wheat seed and mixtures of both substrates were fermented. The substrates were dried at 60 °C and ground to inhibit possible effects of these pretreatments, then they were fermented in the digesters. The substrates were supplemented with liquid manure (17 % VS content) to enable stable operating conditions. Liquid manure was also fermented alone as a control variant. In continuous operation, 15 horizontal fermenters each with a useful fermenter volume (FV) of 17 l, were used with two organic loading rates (2.5 and 4.0 kg VS m⁻³ FV d⁻¹). The hydraulic retention time in the continuous fermenters was 35 days at a fermentation temperature of 37 ± 2°C. For each variation two repetitions were applied and the experiments lasted over 123 days, (= more than 3 retention times). In addition to the amount of biogas and methane, the volatile fatty acid content and the FOS/TAC value were regularly monitored.

The fermenter operation was very stable in all variants investigated. Only the maize silage variant with an organic loading rate of 4 kg VS/m³_{FV}d showed an increase in the fatty acids (HAC) to a maximum of 6,500 mg/l and a slight drop in the pH value to 7.2 from the 67th day of the experiment onwards. All other variants were stable (pH values 7.4 to 7.6) (Mukengele, 2017).

The discharge (fermentation residue) of the continuous running fermenters was collected towards the end of the experiment (105th, 108th and 115th days) in order to determine the residual methane potential in the Hohenheim biogas yield test (HBT) at a fermentation temperature of 37 °C for 35 days. In addition, the methane yield of fodders used as fermentation substrates was determined as standard in the HBT at 37 °C and a retention time of 35 days. This resulted in relatively high methane yields between 0.377 and 0.399 Nm³ methane per kg VS. Values between 4.7 and 5.3 kWh/kg VS were measured with the bomb calorimetric bomb.

In Figure 2 a balance of the various experimental approaches is shown. It can be seen, that with a high volume load (OLR 4) in continuous running digesters, especially with maize silage, less methane yield (81.0 % of the HBT potential) can be achieved than with a low loading rate (89.5 % with OLR 2.5). This also tends to be the case for cereals, but due to the very good degradability of ground cereal grain this is of little significance (89.7 % and 91.2 %).

The potential of residual gas and methane yields of the continuous tests resulted near to the values obtained in batch tests (values between 98.7 and 101.1 %). This proves that the results from batch tests can be transferred with high precision to continuous tests. However, it is essential to ensure that part of the methane potential that is flushed out of the fermenter via the fermentation residue, particularly in short retention times, (35 days), is quantified and utilized. It is not like that in cases of substrate hydraulic retention times of more than 100 days and several fermenters are connected in cascade.

En investigaciones en la Universidad de Hohenheim, varios sustratos fermentables fueron investigados en pruebas con fermentadores batch y continuos en su laboratorio de biogás. Para los ensayos en continuos, el potencial residual de gas del fermentador en sobre flujo fue medido en pruebas batch. En estas pruebas, ensilaje de maíz, semillas de trigo molido y mezclas de ambos sustratos fueron fermentados. Los sustratos objeto de valoración son secado a 60°C y molidos para inhibir posibles efectos de estos pre-tratamientos. Posteriormente fueron fermentados en los digestores. Los sustratos fueron suplementados con excretas líquidas (17 % VS) para lograr condiciones estables de operación. Excretas líquidas fueron fermentados en solitario como variante control. En operación continua, 15 fermentadores horizontales cada uno con un volumen útil (FV) de 17 l fueron usado con dos cargas orgánicas diferentes (2.5 y 4.0 kg VS m⁻³ FV d⁻¹). El tiempo de retención hidráulica en los fermentadores continuos fue 35 días a una temperatura de 37 ± 2°C. En cada variante dos réplicas fueron utilizadas y los experimentos tuvieron una duración de 123 días, (igual a más de 3 tiempos de retención). Además del contenido de biogás y metano, los ácidos volátiles grasos y los valores de la relación FOS/TAC fueron regularmente monitoreados.

La operación del fermentador fue muy estable en todas las variantes investigadas. Solo el ensilaje de maíz con una carga orgánica de 4 kg VS/m³_{FV}d mostró un incremento en los ácidos grasos (HAC) hasta un máximo de 6,500 mg/l y una ligera caída en el valor de pH 7.2 desde los 67 días de comenzado el experimento. Todas las otras variantes fueron estables con valores de pH entre 7.4 y 7.6, (Mukengele, 2017).

La descarga (residuos de la fermentación) de los fermentadores continuos fueron colectados hacia el final de los experimentos (105, 108 y 115 días) para determinar el potencial de metano residual en el banco de pruebas Hohenheim (HBT), a la temperatura de fermentación de 37 °C. Además, el rendimiento de metano de los sustratos utilizados como forrajes fue determinado como estándar en el HBT a 37 °C y tiempo de retención de 35 días. Estos resultados mostraron un relativo alto rendimiento de metano entre 0.377 y 0.399 m³ metano por kg VS. Valores entre 4.7 y 5.3 kWh/kg VS fueron medidos con la bomba calorimétrica.

En la Figura 2 se muestra un balance de varios ensayos de investigación. Se puede ver, que con una alta carga (OLR 4) en digestores continuos, especialmente con ensilaje de maíz, menos rendimiento de metano (81.0 % del HBT potencial) puede ser obtenido que con una carga orgánica baja (89.5 % con OLR 2.5). Esto es también el caso de los cereales, pero debido a la buena degradabilidad del grano de cereal molido esto es de poca significación (89.7 % y 91.2 %).

El potencial de gas residual y el rendimiento de metano en las pruebas con los fermentadores continuos resultaron cercanos los valores obtenidos con los fermentadores tipo batch.

En total, valores entre 98.7 y 101.1 %. Esto prueba que los resultados de las pruebas batch pueden ser transferidos con una alta precisión hacia las pruebas en continuo. Sin embargo, se hace necesario asegurar que parte del potencial de metano que sale del fermentador con los residuos de la fermentación, particularmente con periodos de retención hidráulico cortos (35 días) sea cuantificado y aprovechado. Esto no es así, en los casos en que el periodo de retención hidráulica de los sustratos es mayor de 100 días y varios fermentadores están conectados en cascada.

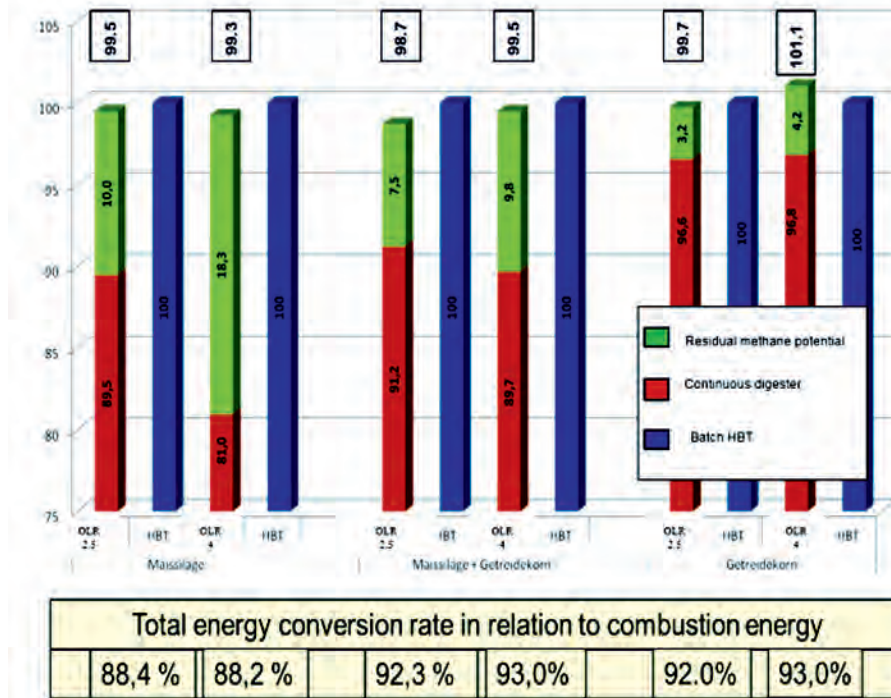


FIGURE 2. Methane yields from a continuous test at different OLR with subsequent determination of the residual methane potential in comparison to the methane yields from batch tests using the HBT method – comparative presentation.

FIGURA 2. Rendimiento de metano en pruebas fermentadores continuos a diferentes relaciones de cargas orgánicas(OLR)con la subsecuente determinación del potencial residual de metano en comparación con el rendimiento de metano obtenido en los fermentadores batch usando el método comparativo HBT.

Transferability of the Results in Batch Test to Plants in Production

Possible causes for deviations in the gas yields between laboratory and practice are the different fermentation conditions, e.g. the rate of organic loading or the “unpredictable” influences of biological processes in real practice. An overview of the differences between batch tests and real biogas plants is shown in Table 1 below.

In the design of biogas plants, the ratio of fermenter size and volume of organic load planned of the CHP plays an important role. In biogas plant management, the daily supply of substrates through the substrates used and their gas yields is decisive. Some uncertainties still exist related to fermentation tests, their evaluation and transferability to practical plants, mainly referred to biogas production (KTBL, 2011).

Possible deviations from the guideline values can result from the substrates, as they are required in large quantities for the biogas plant and their substrate properties can vary depending on the variety, harvest time and year of cultivation. For example, the substrate also changes its composition (DM/VS content, content of fermentation acids, pH value) in the bunker silos over the storage period. The determination of the substrate input quantity is difficult despite existing weighing equipment, because the scales often do not have the required accuracy, between the mixing vessel and the input screws and because the individual substrates are often not recorded separately and exactly, specially, if mixed silage is used as substrate. Neither the

Transferibilidad de los resultados batch hacia las plantas de biogás en producción

Posibles causas de las desviaciones en el rendimiento de biogás entre los resultados de laboratorio y los prácticos son las diferentes condiciones de fermentación, por ejemplo: rango de carga orgánica utilizada o en la práctica “impredecible” influencia de los procesos biológicos. Una apreciación global de las diferencias entre los experimentos batch y las plantas de biogás reales es mostrada en la Tabla 1.

En el diseño de plantas de biogás, la relación entre el volumen del digestor y el volumen de la carga orgánica planificada del CHP juega un importante papel. En el manejo de las plantas de biogás, el suministro diario de los sustratos a través de los sustratos usados y su rendimiento de gas es decisivo. Algunas incertidumbres todavía existen respecto a las pruebas de fermentación, su evaluación y transferibilidad hacia las plantas a escala real, en la mayoría de los aspectos mencionados relativos a la producción de biogás (KTBL, 2011).

Posibles desviaciones de los valores normados pueden venir de los sustratos, por lo que se requiere una gran cantidad de evaluación de plantas de biogás y de las propiedades de los sustratos, los cuales pueden variar en dependencia de: variedad, tiempo de cosecha, año de cultivación. Por ejemplo, los sustratos cambian también su composición (contenido de materia seca y sólidos volátiles (DM/VS), contenido de ácidos fermentables, valor de pH) en los silos tipo bunker durante el período de almacenamiento. La determinación de la cantidad de sustratos de entrada es dificultosa a pesar de que existen equipos de pesaje, porque las escalas a menudo no cuentan con una adecuada precisión, entre tolva de mezcla y su tornillo de entrada y también porque los sustratos individuales, no son a menudo pesados de forma exacta y separada, especialmente cuando

amount of liquid manure nor other liquids (rainwater, silo leachate) are measured.

son utilizados sustratos ensilados. La cantidad de excreta líquida y otros líquidos (lluvia, silo lechada) no es a menudo medida tampoco.

TABLE 1. Selected process differences between batch test setups and biogas plants
TABLA 1. Procesos y sus diferencias entre las pruebas tipo Batch y las plantas de biogás en producción

Parameters	Batch-test	Continuous fed full scale biogas plant
Digester volume	100 ml – 15 l	> 1000 m ³
Operating mode	No exchange of substrate	Daily exchange of material, substrate recirculation possible
Biological processes	Process stages running one after the other one	Process stages running in parallel
Organic loading rate	Over 50 g VS/l at the start of batch tests	2-5 g VS/l d
Hydraulic retention time	Over 35 days	> 150 days Digesters in cascade
Substrates	Usually single substrate, representative and homogenized	Mostly substrate mixture with different composition
Measuring methods	Exact weighing possible, exact determination of biogas quantity and quality	Weighing equipment in practice often inaccurate Gas meter not calibrated and often inaccurate Gas quality often not recorded

In the fermenter, process-related factors such as the mixture of substrates, their content of nutrients (especially trace nutrients), the biological environment in the fermenter, the retention time and the load volume also have an effect on the methane yield.

As with the implementation of measurement programs, like Federal Measurement Programs I and II. (FNR, 2005; 2009), there are in practice considerable problems in determining the biogas yield and especially the biogas quality. The electricity yield is often measured and estimated via the electrical efficiency of the CHP due to a lack of gas meters. The actual proportion of ignition oil and possibly own electricity consumers running through the meters must also be taken into account. In most cases, no conversion of standard conditions is carried out when providing practical measurement data. This can cause an overestimation of the gas volume over 20 % (Ruile *et al.*, 2015).

Practical Data and Batch Tests

The University of Hohenheim has a research biogas plant on a practical scale with an output of 350 kW-h/day. This plant is equipped with two separate fermenter lines (800 m³ usable volume each), so that comparative investigations are possible. The plant is also high equipped. The measurement devices are also frequently calibrated. It guarantees a high quality of data. In a study carried out by Mönch (2014), a comparison was made between the data at this plant and those on a practical scale, similar to what had previously been made with data obtained at laboratory scale. This biogas plant is intensively monitored, the quantity and quality of all input materials and the results obtained are precisely recorded and, as far as technically possible, kept constant during all the process. In the experiment, a relatively high proportion of liquid

En los fermentadores, varios factores relativos al proceso tales como: mezcla de los sustratos, el contenido de nutrientes, especialmente los nutrientes trazas, el medio biológico en los fermentadores, el tiempo de retención hidráulica y el volumen de carga también tienen un efecto en el rendimiento de metano obtenido.

Con la implementación del Programa de Medición Federal I y (FNR, 2005; 2009), ahora están en práctica la determinación de una considerable cantidad de problemas relativos al rendimiento de biogás y especialmente lo relativo a la calidad del biogás. El rendimiento eléctrico es a menudo medido y estimado vía la eficiencia de los motores que accionan los generadores CHP debido a la falta de metros contadores de gas. La actual proporción de ignición de combustible y la posibilidad de consumidores de electricidad propios contabilizados a través de metros-contadores debe ser tenida en consideración también. En la mayoría de los casos, una no conversión de las condiciones estándar es llevada a cabo cuando se toman los datos de las mediciones prácticas. Esto causa una sobreestimación del volumen de gas por encima de un 20 % (Ruile *et al.*, 2015).

Datos prácticos y pruebas Batch

La Universidad de Hohenheim tiene una estación de investigación con una planta de biogás a escala real que genera 350 kW-h/día de electricidad. Esta planta está equipada con dos digestores en cascada de 800 m³ de volumen útil cada uno, lo que permite comparar los resultados investigativos. La planta está altamente equipada. Los instrumentos de medición son calibrados frecuentemente. Esto garantiza una alta calidad de los datos obtenidos. En estudios llevados a cabo por Mönch (2014), se realizó un balance entre los datos de la planta y los obtenidos a escala real, similarmente a lo sucedido con los datos obtenidos a escala de laboratorio. La planta de biogás es monitoreada intensivamente, controlándose la cantidad y calidad de todos los sustratos de entrada y los resultados obtenidos, los cuales son grabados y mantenidos durante todo su procesamiento. En los experimentos, una relativa alta proporción de excreta liqui-

manure (50.0 %) was used (fresh mass). In addition, horse manure with other solid manure (23.6 %), maize silage (10.1 %), grass silage (8.8 %), cereal whole plant silage (4.6 %) and ground cereal grain (2.9 %) were used. The VS share of horse manure was 27.5 %. The substrate quality of all input materials was determined and as well as biogas and methane yields obtained in fermentation tests. The fermenters are equipped with a mechanical processing technology (Cross flow grinder, MEBA, Nördlingen, Germany). The daily input quantity of fresh mass was 12.1 t/d with a standard deviation of 2.9 %. The organic loading rate was 2.49 kg VS per m³ of FV/day and the HRT was 62.4 days.

With the aid of the weighed input quantities, their content of volatile solids and the laboratory values for the methane yield, the expected methane quantity of the fermenter was calculated and compared with the values measured by the gas meter of the fermenter. The results are shown in Figure 3.

das (50.0 %) es usada (masa fresca). También es utilizado excreta de caballos, excretas vacunas (23.6 %), ensilaje de maíz (10.1 %), ensilaje de hierbas (8.8 %), ensilaje de planta entera de cereal (4.6 %) y ensilaje de granos molidos (2.9 %). La porción de sólidos volátiles (VS) de las excretas de caballos fueron 27.5 %. La calidad de todos los sustratos de entrada fue determinada, así como el rendimiento de biogás y metano obtenidos en las pruebas de fermentación. Los fermentadores están equipados con una tecnología de procesamiento mecánico (molino de flujo cruzado, MEBA, Nördlingen, Germany). La cantidad de masa fresca de entrada diaria fue 12.1 t/d con una desviación estándar de 2.9 %. El rango de carga orgánica fue 2.49 kg VS/m³ de volumen útil (FV) día, el HRT fue 62.4 días.

Con la ayuda del peso de los datos de entrada, su contenido de sólidos volátiles y los valores del rendimiento de metano obtenido a escala de laboratorio, la cantidad y calidad de metano esperada en los fermentadores fue calculada y comparada mediante el metro de gas de los fermentadores. Los documentos son mostrados en la Figure. 3.

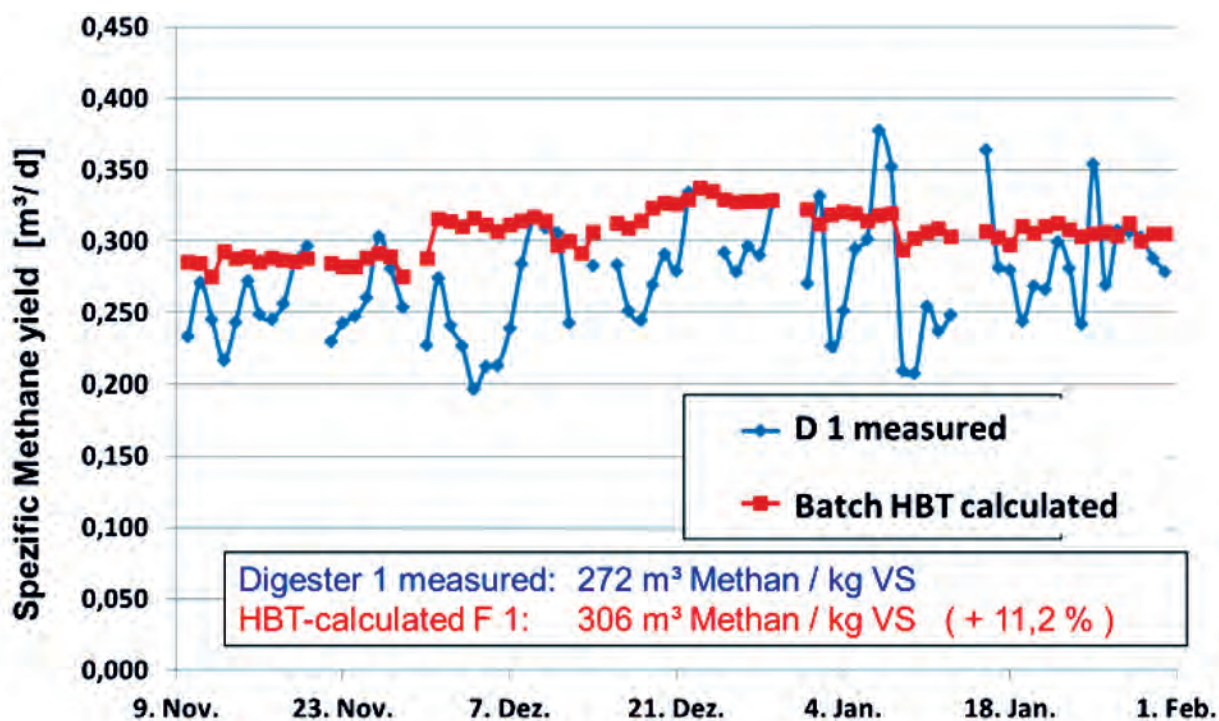


FIGURE 3. Comparison of the methane production determined by input quantity and HBT batch measurement with the actually measured methane production of the fermenter (Mönch, 2014).

FIGURA 3. Comparación de la producción de metano determinada con los datos cuantitativos HBT batch y la producción obtenida en los digestores 1 de la planta experimental de la Universidad de Hohenheim (Mönch, 2014).

During the 20-days observation phase there were certain fluctuations in the measured values, which were more variable in the input quantities. This dispersion can be explained by the fact that the daily fluctuations of the VS input have a direct effect on the calculated value for methane formation and are thus clearly visible in the graph, while these fluctuations in the measured values are compensated by the substrate degradation in the fermenters while several days passed. The mean specific methane yield of the values calculated via HBT was on average 305 l CH₄/kgVS respect to the values measured in the fermenters, 311

Durante 20 días de la fase de observación existieron ciertas fluctuaciones en los valores medidos, los cuales son más variables en las cantidades iniciales. Esta dispersión puede ser explicada por el hecho de que las fluctuaciones de los VS de entrada tienen un efecto directo en los valores calculados de la formación de metano y son claramente visibles en el gráfico, mientras que estas fluctuaciones en los valores medidos son compensadas por la degradación de los sustratos en los fermentadores al transcurrir varios días. El valor medio del rendimiento específico de metano en los valores calculados vía HBT fue como promedio 305 l CH₄/kgVS respecto a los valores medidos en los fermentadores 311 l CH₄/kgVS, lo cual representa solo un 2 %

l CH₄/kgVS, only 2 % higher. This very small deviation between the methane yields determined from laboratory values and the measured values at the practical fermenter confirms that the laboratory values can be used very well for an estimate of the methane yield to be expected and thus for an economic efficiency estimate. This applies if a representative sample was analyzed for the methane yield; the VS content of the substrate input and its exact weight were recorded regularly and at short intervals. As a rule, as this last example has shown, inaccuracies are more likely to occur when determining the mass in practice than when determining the methane yield in the laboratory.

RESULTS AND DISCUSSION

The work shows the feasibility of extrapolating results obtained to laboratory scale to real scale in the aspects related to the design and exploitation of biogas plants. These techniques of simulation of processes to small scale are much utilized at international level. In the Cuban case, this constitutes an obligatory reference and their applicability saves time, resources and money. In the last decade, works based on the simulation of fermentation processes to small scale in this thematic have been developed by investigators at Central University “Marta Abreu” of Las Villas and by others at University “José Martí Pérez» of Sancti Spíritus, where investigation projects, master and Doctorate thesis have being developed in theme analyzed in this work.

CONCLUSIONS

- The determination of methane yield by batch tests is now widely used in Germany and is carried out by at least 40 laboratories. Their quality is regularly assured by inter laboratory comparisons.
- Examples in the laboratory and in practice have shown that there is a relatively good correlation between laboratory and practical values for the methane yield. This also proved that the gas yield guidelines compiled by the KTBL on the basis of laboratory values from several well-known biogas laboratories are important and indispensable for the economic preliminary planning of biogas plants.
- In some cases, there are certain deviations from the assumed values at the biogas plant operated later. However, a large number of influencing factors affect the fermentation substrate used and its quality, but are also linked to the process and operating mode of the biogas plant.
- The production of biogas is a microbial degradation process involving a large number of microorganisms. Here, certain deviations in the range of 5 to 10 % are always possible. In order to ensure the accuracy of the laboratory tests when determining the methane yield, regular participation in inter laboratory comparisons and constant internal laboratory testing using standard substrates should be a way of validating the results obtained.

más alto. Esta pequeña desviación entre el rendimiento de metano determinado entre las condiciones de laboratorio y las condiciones reales confirman que los valores de laboratorio pueden ser usados muy bien para estimar el rendimiento de metano esperado a escala real y para estimar la eficiencia económica de este tipo de instalación. Esto aplica si una muestra representativa fue analizada para el rendimiento del metano; el contenido VS del sustrato de entrada y su peso exacto fue grabado regularmente y en intervalos cortos de tiempo. Como regla, como muestra el último ejemplo mostrado, las inexactitudes más probablemente a ocurrir en el proceso están relacionadas al determinar la masa en la práctica, que respecto ala determinación del rendimiento del metano en el laboratorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El trabajo muestra la factibilidad de extrapolar resultados obtenidos a escala de laboratorio a escala real en los aspectos relativos al diseño y explotación de plantas de biogás. Estas técnicas de simulación de procesos a pequeña escala son muy utilizadas a nivel internacional, en el caso cubano esto constituye una referencia obligatoria y su aplicabilidad ahorra tiempo, recursos y dinero. En la última década trabajos basados en la simulación de procesos de fermentación a pequeña escala en esta temática han sido desarrollados por investigadores de la Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas y por la Universidad “José Martí Pérez” de Sancti Spíritus, desarrollándose en ambas universidades proyectos de investigación, tesis de maestría y doctorado en la temática objeto de análisis en este trabajo.

CONCLUSIONES

- La determinación del rendimiento de metano mediante pruebas batch es ahora ampliamente usada en Alemania y es llevado a cabo por más de 40 laboratorios. La calidad de estas investigaciones es regularmente asegurada mediante la comparación entre los resultados obtenidos en los mismos.
- Los resultados alcanzados a nivel de laboratorio y en la práctica han mostrado que existe una buena correlación entre ambos respecto al rendimiento de metano. Esto también prueba que la guía compilada por KTBL basada en los valores obtenidos a nivel de laboratorio de renombrados laboratorios de biogás son importantes e indispensables para planificar y realizar una valoración económica preliminar de plantas de biogás.
- En algunos casos, existen desviaciones de los valores planificados y los realmente obtenidos en las instalaciones en producción. Sin embargo, un gran número de factores pueden afectar la fermentación de los sustratos usados y su calidad, además de que también está influenciado por el modo de operación y los procesos que ocurren en estas plantas de biogás.
- La producción de biogás es un proceso de degradación microbológico que involucra a un gran número de microorganismos. Aquí, desviaciones en un rango 5 a 10 % son posibles. Para asegurar la precisión de la prueba de laboratorio al determinar el rendimiento de metano, la comparación entre diferentes laboratorios y la utilización de sustratos estándar deben de ser ejecutadas todo el tiempo, como forma de validar los resultados obtenidos.

REFERENCES

- AMON, T.; AMON, B.; KRYVORUCHKO, V.; ZOLLITSCH, W.; MAYER, K.; GRUBER, L.: "Biogas production from maize and dairy cattle manure—influence of biomass composition on the methane yield", *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 118(1-4): 173-182, 2007, ISSN: 0167-8809.
- BASERGA, U.: *Landwirtschaftliche CO-Vergarungs-Biogasanlagen. Biogas aus organischen Reststoffen und Energiegras*, Nr. 512, Inst. FAT-Berichte, Germany, 1998.
- BUSWELL, M.A.: "Anaerobic fermentations", *Bulletin (Illinois State Water Survey) no. 32*, 1939.
- CZEPUCK, K.; OECHSNER, H.; SCHUMACHER, B.; LEMMER, A.: "Hohenheim biogas yield test-comparing theoretical yields with actual batch yields.", *Landtechnik*, 61(2): 82-118, 2006, ISSN: 0023-8082.
- FNR: *Ergebnisse des Biogas-Messprogramms, [en línea]*, Hrsg. FNR, Gülzow, Germany, 2005, Disponible en: <https://mediathek.fnr.de/ergebnisse-des-biogas-messprogramms.html>.
- FNR: *Biogas-Messprogramm II - 61 Biogasanlagen im Vergleich, [en línea]*, Hrsg. FNR, Gülzow, Germany, 2009, Disponible en: <https://mediathek.fnr.de/biogas-messprogramm-ii-61-biogasanlagen-im-vergleich.html>.
- HOLLIGER, C.; ALVES, M.; ANDRADE, D.; ANGELIDAKI, I.; ASTALS, S.; BAIER, U.; BOUGRIER, C.; BUFFIÈRE, P.; CARBALLA, M.; DE WILDE, V.: "Towards a standardization of biomethane potential tests", *Water Science and Technology*, 74(11): 2515-2522, 2016, ISSN: 0273-1223.
- KAISER, F.L.: *Einfluss der stofflichen Zusammensetzung auf die Verdaulichkeit nachwachsender Rohstoffe beim anaeroben Abbau in Biogasreaktoren*, Technische Universität München, Dissertation, München, Germany, 2007.
- KEYMER, U.; SCHILCHER, A.: *Considerations for the calculation of theoretical gas yields in biogas plants of fermentable substrates*, Landtechnik-Bericht 32, 1999.
- KTBL: *Batchtests - Methoden und Übertragbarkeit auf Praxisanlagen; Ta-gungsband Biogas*, VDI-Berichte 2121, VDI-Verlag (Hrsg.),Düsseldorf, 2011.
- MÖNCH, T.M.: "Enhancement of methane production with horse manure supplement and pretreatment in a full-scale biogas process", *Energy*, 73: 523-530, 2014, ISSN: 0360-5442.
- MUKENGELE, M.; OECHSNER, H.: "Effect of ensiling on the specific methane yield of maize", *Landtechnik*, 62(1): 20-21, 2007.
- MUKENGELE, M.M.: *Biochemical composition of biomass and its impact on the prediction of the specific methane yield potential, [en línea]*, University of Hohenheim, MEG Forschungsbericht Agrartechnik, 579, Dissertation, Germany, 2017, Disponible en: <http://opus.uni-hohenheim.de/volltexte/2017/1358/>.
- RUILE, S.; SCHMITZ, S.; MÖNCH, T.M.; OECHSNER, H.: "Degradation efficiency of agricultural biogas plants—a full-scale study", *Biore-source Technology*, 178: 341-349, 2015, ISSN: 0960-8524.
- VDI 4630: *Fermentation of organic substances – characterization of substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests*, no. ICS 13.030.30, 27.190, Inst. VDI-Verlag, Düsseldorf, Germany, 201.

Hans Oechsner, Professor and Researcher, University of Hohenheim. State Institute of Agricultural Engineering and Bioenergy (740). Garbenstrasse 9. Stuttgart. Germany.

e-mail: hans.oechsner@uni-hohenheim.de.

Benedikt Huelsemann, Professor and Researcher, University of Hohenheim. State Institute of Agricultural Engineering and Bioenergy (740). Garbenstrasse 9. Stuttgart. Germany.

e-mail: hans.oechsner@uni-hohenheim.de.

Carlos M. Martínez Hernández, Profesor Titular, Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Carretera a Camajuaní km.5.5. CP: 54830. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. e-mail:carlosmh@uclv.edu.cu

The authors of this work declare no conflict of interests.

This item is under license Reconocimiento-NoComercial de Creative Commons 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0).

The mention of trademarks of specific equipment, instruments or materials is for identification purposes, there being no promotional commitment in relation to them, neither by the authors nor by the publisher.