



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“Evaluación del potencial de metano utilizando residuos lignocelulósicos  
provenientes de una fermentación alcohólica”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**INGENIERO QUÍMICO**

**P R E S E N T A**

**OSCAR ENRIQUE FLORES PEÑA**



**Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Dr. Víctor Manuel Luna Pabello

**VOCAL:** Dr. Alfonso Durán Moreno

**SECRETARIO:** Dra. Luz María Lazcano Arriola

**1° SUPLENTE:** M. en I. Sergio Adrián García González

**2° SUPLENTE:** M. en I. Alejandra Mendoza Campos

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**UNIDAD DE PROYECTOS Y DE INVESTIGACIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL, LABORATORIO  
301-303, CONJUNTO E DE LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNAM**

**ASESOR DEL TEMA:**

---

**Dr. Alfonso Durán Moreno**

**SUSTENTANTE:**

---

**Oscar Enrique Flores Peña**



## Contenido

1. Resumen.....	1
2. Introducción .....	2
3. Justificación.....	3
4. Objetivos .....	4
4.1. Objetivo General .....	4
4.2. Objetivos Particulares .....	4
5. Alcances.....	4
6. Marco Teórico .....	5
6.1. Biorrefinería .....	5
6.2. Material lignocelulósico .....	8
6.2.1. Celulosa .....	8
6.2.2. Hemicelulosa .....	9
6.2.3. Lignina .....	9
6.3. Bioetanol de materiales lignocelulósicos.....	12
6.3.1. Pretratamiento.....	12
6.3.2. Hidrólisis .....	13
6.3.3. Fermentación .....	14
6.3.4. Metodología para producir bioetanol.....	14
6.4. Digestión Anaerobia.....	15
6.4.1. Etapas de la digestión anaerobia .....	16
6.4.2. Digestión anaerobia húmeda y seca .....	20
6.4.3. Factores que afectan la digestión anaerobia .....	21
6.4.4. Parámetros de diseño .....	26
6.4.5. Tipos de reactores.....	26
6.4.6. Inóculo.....	28
7. Metodología .....	29
7.1. Etapa I: Caracterización inicial de inóculo y sustratos. ....	29
7.1.1. Inóculo.....	29
7.1.2. Sustratos.....	30
7.2. Etapa II: Montaje y monitoreo de reactores a condiciones mesofílicas y termofílicas. ...	30
7.2.1. Potencial Bioquímico de Metano .....	30
7.2.2. Arranque de prueba .....	31



7.3. Etapa III: Caracterización final del digestato obtenido.....	32
6.4. Técnicas Analíticas.....	32
8. Resultados.....	34
8.1. Caracterización de inóculo y sustratos.....	34
8.2. Prueba de Potencial Bioquímico de Metano.....	36
8.2.1. Condiciones termofílicas.....	37
8.2.2. Condiciones mesofílicas.....	39
8.3. Caracterización del digestato.....	43
8.4. Relación bioetanol-digestión anaerobia.....	47
9. Conclusiones.....	49
Referencias.....	50
Anexo 1.....	53
Determinación de volumen de inóculo y sustrato.....	53
Solución amortiguadora de fosfatos.....	54
Solución de micronutrientes.....	54
Volumen de inóculo, sustratos y solución amortiguadora para cada reactor.....	54
Anexo 2.....	55
Gráficas de producción bruta de metano.....	55
Anexo 3.....	57
Producción bruta de metano a condiciones termofílicas.....	57
Producción bruta de metano a condiciones mesofílicas.....	61
Producción de metano (NmL/g SV).....	65
Anexo 4.....	68
(Humedad) Sólidos Totales APHA 2540 B.....	68
Sólidos totales, fijos y volátiles APHA 2540 G.....	69
Demanda Química de Oxígeno APHA 5220 D.....	70
Nitrógeno Amoniacal APHA 4500-NH <sub>3</sub> -B.....	72
<b>Tabla 1.</b> Ventajas y desventajas de la digestión seca y la digestión húmeda.....	20
<b>Tabla 2.</b> Principales sustratos con sus respectivos productos e inhibidores para cada etapa.....	25
<b>Tabla 3.</b> Técnicas y parámetros para la caracterización de muestras.....	33
<b>Tabla 4.</b> Caracterización de inóculo.....	34
<b>Tabla 5.</b> Caracterización de sustratos.....	35
<b>Tabla 6.</b> Caracterización de sustratos (DQO).....	35



<b>Tabla 7.</b> Producción de bioetanol por Rayner Carbonell Pérez (2016).....	47
<b>Tabla 8.</b> Producción bruta de metano. ....	47
<b>Tabla 9.</b> Producción de metano según diferentes autores.....	48
<b>Figura 1.</b> Esquema general de una biorrefinería. Adaptado y simplificado de Pandey, Höfer, Taherzadeh, Nampoothiri, y Larroche (2015). ....	7
<b>Figura 2.</b> Fórmula de la celulosa (Kobayashi, Ohta, & Fuk, 2012).....	9
<b>Figura 3.</b> Fórmula de la hemicelulosa (Kobayashi, Ohta, y Fuk, 2012). ....	9
<b>Figura 4.</b> Fórmula de la lignina (Kobayashi, Ohta, y Fuk, 2012). ....	10
<b>Figura 5.</b> Esquema de la estructura lignocelulósica (Ritter, 2008). ....	11
<b>Figura 6.</b> Principales productos de degradación producidos durante la hidrólisis de material lignocelulósico. Adaptado y traducido (Balat, 2011). ....	13
<b>Figura 7.</b> Metodología empleada por Carbonell Pérez (2016) para la obtención de bioetanol. Adaptación. ....	15
<b>Figura 8.</b> Diagrama general de la digestión anaerobia (Lin Chen , Ortiz, W.J. Steele, y Stuckey, 2014). ....	19
<b>Figura 9.</b> Esquema general de la metodología experimental. ....	29
<b>Figura 10.</b> Equipo AMPTS II de Bioprocess Control Sweden.....	31
<b>Figura 11.</b> Reactores con inóculo y sustrato. ....	32
<b>Figura 12.</b> Residuos de poda, cafetería y maíz, respectivamente, empleados como sustratos. ....	35
<b>Figura 13.</b> Producción bruta de metano a 56-58°C (NmL).....	37
<b>Figura 14.</b> Producción específica de metano a 56-58°C (NmL).....	38
<b>Figura 15.</b> Producción bruta de metano a 56-58°C (NmL/g DQO).....	39
<b>Figura 16.</b> Producción bruta de metano a 37°C (NmL). ....	40
<b>Figura 17.</b> Producción específica de metano a 37°C (NmL). ....	41
<b>Figura 18.</b> Producción bruta de metano a 37°C (NmL/g DQO). ....	41
<b>Figura 19.</b> Producción bruta de metano a 56-58°C (NmL/kg).....	42
<b>Figura 20.</b> Producción bruta de metano a 37°C (NmL/kg). ....	43
<b>Figura 21.</b> DQO residual del digestato. ....	44
<b>Figura 22.</b> Remoción de DQO del digestato.....	45
<b>Figura 23.</b> Nitrógeno amoniacal del digestato.....	46



## 1. Resumen

Debido a la demanda de energía, la preocupación por el cambio climático y el agotamiento en las reservas de combustibles fósiles, surge el interés para producir energía a partir de fuentes renovables. Los materiales lignocelulósicos, al ser abundantes y fáciles de conseguir, representan una opción para la producción de biocombustibles. A partir de estos materiales lignocelulósicos, se puede obtener bioetanol y los subproductos orgánicos producidos en este proceso, pueden ser aprovechados en la producción de biogás por medio de una digestión anaerobia.

En esta tesis se evaluó la producción de metano mediante una digestión anaerobia húmeda bajo condiciones mesofílicas (37° C) y termofílicas (58°C), con tres tipos de residuos lignocelulósicos que fueron sometidos previamente a una fermentación sacarificación simultánea para la obtención de bioetanol. Esto con la finalidad de identificar al sustrato que generara la mayor producción específica de metano y así definir qué sustrato es más aprovechable. Los sustratos empleados fueron residuos de cafetería o de alimentos, residuos de poda (pastos) y residuos de hoja de maíz.

Para llevar a cabo esto, la metodología experimental se dividió en tres etapas. En la primera etapa fue caracterizado el inóculo y los sustratos empleados, midiendo los sólidos totales, volátiles y fijos, la demanda química de oxígeno y el nitrógeno amoniacal. Con esto se determinó la cantidad de nutrientes de los sustratos y la cantidad en la que se alimentarían al potencial de metano. En la segunda etapa se montó el potencial bioquímico de metano y se hicieron dos pruebas, cada una con una duración de 20 días. La primera prueba se montó a condiciones mesofílicas (de 37° C) y la segunda a condiciones termofílicas (de 58°C). En la tercera y última etapa de la prueba, se caracterizó el digestato obtenido una vez que finalizaron las pruebas en el potencial bioquímico de metano con la finalidad de medir la remoción de materia orgánica.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se pudo observar que a condiciones termofílicas ocurrió una inhibición causada por altas concentraciones de nitrógeno amoniacal, mientras que a condiciones mesofílicas se dio una óptima digestión anaerobia, generando el triple de metano que a condiciones termofílicas. Con estos resultados, se pudo concluir que debido al ahorro energético, a la estabilidad del sistema y a la cantidad producida de metano, es recomendable emplear las condiciones mesofílicas en la digestión anaerobia.

Adicionalmente, se concluyó que los residuos de maíz y cafetería fueron los sustratos que produjeron una mayor cantidad de metano por kg de sustrato, y además fueron los sustratos que produjeron un mayor volumen de bioetanol por kg de sustrato, por lo que se considera la materia prima óptima para realizar una fermentación sacarificación simultánea seguida de una digestión anaerobia húmeda a condiciones mesofílicas. Dicho proceso secuencial optimizó el rendimiento de la biomasa lignocelulósica empleada.



## 2. Introducción

Los residuos sólidos urbanos son generados en las casas habitación como resultado de la eliminación de los materiales utilizados en las actividades domésticas o los que provienen de cualquier otra actividad desarrollada dentro de establecimientos o en la vía pública, con características domiciliarias. En México de esta generación de residuos sólidos urbanos, se estima que para 2012 el porcentaje de residuos de comida, jardines y materiales orgánicos similares fue del 52.4% (SEMARNAT, 2013-2014).

Una de las alternativas para el tratamiento de los residuos sólidos orgánicos es la producción de biocombustibles de segunda generación (residuos sólidos orgánicos lignocelulósicos). Con esta acción se podrían disminuir los volúmenes de residuos sólidos urbanos destinados a los rellenos sanitarios y, por otra parte, se obtendría un combustible limpio para su uso cotidiano (Arbuto, Martínez, y Murrieta, 2008).

Cabe mencionar que existen biocombustibles de primera y segunda generación. Los de primera generación se refieren a biocombustibles producidos a partir de biomasa que compite con la producción de alimentos y el uso de agua dulce, y/o causa deforestación o reducción de la biodiversidad. Los de segunda generación se refieren a aquellos biocombustibles producidos a partir de biomasa que puede ser cultivada sin afectar negativamente la cadena de suministro de alimentos, reservas acuíferas o causar deforestación; algunos ejemplos incluyen cultivos no comestibles, desechos municipales y algas (ATAG, 2011).

También existen biocombustibles de tercera y cuarta generación. La materia prima empleada para biocombustibles de tercera generación consiste en vegetales no alimenticios de crecimiento rápido, entre cuyas características se encuentran tener una alta densidad energética almacenada en sus componentes químicos (cultivos energéticos) y la captación de dióxido de carbono para la producción de insumos. Entre estos vegetales se encuentran los pastos perennes, árboles y plantas de crecimiento rápido, y algas. En cuanto a los biocombustibles de cuarta generación, son aquellos producidos a partir de bacterias genéticamente modificadas, las cuales emplean dióxido de carbono o alguna otra fuente de carbono para su producción. Dicha generación de biocombustible aún está en fase de desarrollo (Alvarez Maciel, 2009).

Los biocombustibles son obtenidos a partir de biomasa mediante su procesamiento químico, térmico o biotecnológico. Entre ellos se pueden mencionar el biodiesel, bioetanol, biogás y biohidrógeno. Los biocombustibles se utilizan principalmente como fuente de energía de vehículos a motor y producción de electricidad. Se obtienen a partir de materias primas de origen agrícola, ganadero y desechos orgánicos, los cuales pueden ser sustitutos de forma parcial o total de los combustibles de origen fósil (Arbuto, Martínez, y Murrieta, 2008).





También se ha desarrollado bioturbosina, la cual tiene propiedades similares al combustible para aviones tradicional. Este combustible se utiliza para muchos propósitos dentro de la aeronave y el motor, incluso como lubricante, fluido refrigerante y fluido hidráulico, así como para la combustión. Los biocombustibles de segunda generación deben tener la capacidad de sustituir y mezclar directamente con el combustible y deben tener las mismas cualidades y características. Esto es importante para asegurar que los fabricantes no tengan que rediseñar motores y que los proveedores de combustible no requieran desarrollar nuevos sistemas de suministro de combustible (ATAG, 2011).

La digestión anaerobia es una tecnología de tratamiento de residuos en el que es posible la recuperación de energía y el control de contaminación. Muchos residuos agrícolas e industriales son candidatos ideales para la digestión anaerobia, ya que contienen altos niveles de materiales fácilmente biodegradables. Sin embargo, también existen problemas como bajo rendimiento de metano e inestabilidad del proceso de digestión anaerobia.

Existen diferentes factores que afectan la producción de biogás, como son la temperatura, el pH, la relación C/N, o la composición del sustrato. Estos factores son cruciales para el proceso de digestión anaerobia ya que afectarán la producción en mayor o menor cantidad de metano (Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin, 2015).

Mediante este trabajo, se pretende utilizar residuos ricos en contenido lignocelulósico provenientes de un proceso de fermentación sacarificación simultánea como sustrato en digestión anaerobia, bajo condiciones mesofílicas y termofílicas. Esto con el fin de evaluar la producción de biogás para el aprovechamiento energético de residuos lignocelulósicos y así, determinar la factibilidad de la producción de biogás para cada residuo estudiado a través de parámetros fisicoquímicos.

### 3. Justificación

Debido a la alta demanda mundial de energía, junto con el agotamiento de las reservas de combustibles fósiles y la preocupación mundial por el cambio climático, surge el interés para encontrar cómo producir energía a partir de fuentes renovables (Zhang, Wang, Su, Qi, y He, 2010). Los materiales lignocelulósicos sirven como materia prima barata y abundante, que se requiere para producir biocombustibles a partir de recursos renovables. Durante el proceso de producción de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos se obtienen subproductos orgánicos que son susceptibles de ser aprovechados para la producción de biogás, lo cual es el tema central del presente trabajo.

En esta tesis se utilizarán como sustratos para digestión anaerobia los residuos lignocelulósicos provenientes de la cadena de producción de bioetanol.



## 4. Objetivos

### 4.1. Objetivo General

- Evaluar la producción de metano mediante una digestión anaerobia húmeda para el aprovechamiento energético de tres tipos de residuos lignocelulósicos sometidos previamente a una fermentación alcohólica.

### 4.2. Objetivos Particulares

- Caracterizar fisicoquímicamente los residuos lignocelulósicos como sustrato para la digestión anaerobia, con el fin de correlacionar dichas características con la producción de biogás.
- Identificar el sustrato que genera la mayor producción específica de metano por medio del potencial bioquímico de metano, a condiciones mesofílicas y termofílicas, para definir qué sustrato es más aprovechable.

## 5. Alcances

- Utilizar como sustratos en digestión anaerobia, tres tipos de residuos ricos en contenido lignocelulósico, residuos de cafetería, de poda y de maíz, sometidos previamente a un proceso de fermentación sacarificación simultánea para la obtención de bioetanol
- Montar la prueba de potencial bioquímico de metano bajo condiciones mesofílicas (37° C) y termofílicas (58° C).
- La producción de metano se cuantificará mediante un potencial bioquímico de metano de la empresa Bioprocess Control de Suecia.



## 6. Marco Teórico

El etanol es ahora el combustible renovable más importante en términos de volumen y valor de mercado. Sin embargo, la producción de segunda generación de etanol derivado de materiales lignocelulósicos está siendo ensayada en plantas piloto. El biogás es otra fuente de energía que se utiliza como combustible para automóviles, o para la producción de calor o electricidad en diferentes países. También se ha producido recientemente en balanzas industriales a partir de residuos sólidos municipales y algunos desechos homogéneos como el estiércol (Tahezadeh y Karimi, 2008).

### 6.1. Biorrefinería

Una biorrefinería consiste en el procesamiento sostenible de la biomasa con la finalidad de convertirlos en una gama de productos y energía comercializables. Dichos productos pueden ser productos intermedios o finales, e incluyen alimentos, materiales y productos químicos; mientras que la energía incluye combustibles, energía y/o calor. Una biorrefinería puede utilizar todo tipo de biomasa proveniente de la silvicultura, la agricultura, la acuicultura, los residuos de la industria y los hogares, incluyendo la madera, los cultivos agrícolas, los residuos orgánicos (tanto vegetales como animales derivados), los residuos forestales y la biomasa acuática (algas marinas) (Pandey, Höfer, Tahezadeh, Nampoothiri, y Larroche, 2015). En una biorrefinería, se deben utilizar simultáneamente tecnologías diferentes, incluyendo fermentación, biocatálisis, tecnologías térmicas y químicas para la conversión de biomasa en la producción y purificación de diferentes productos de valor añadido (Fernandes, Pereira, Serafim, Evtuguin, y Xavier, 2012).

La biomasa lignocelulósica es una materia prima compleja que puede ser procesada de diferentes maneras para obtener otros compuestos de valor añadido que contribuyen a la posibilidad de establecer una biorrefinería. Diferentes productos de valor agregado como el ácido láctico, ácido acético, furfural, metanol, hidrógeno y muchos otros productos se pueden obtener de sus azúcares. La lignina puede utilizarse para la producción de materiales avanzados, polímeros y aldehídos aromáticos (Fernandes, Pereira, Serafim, Evtuguin, y Xavier, 2012).

De esta manera, la biomasa lignocelulósica puede utilizarse como sustrato para la producción de biocombustibles de segunda generación, contribuyendo a la diversificación del suministro de energía y mitigación de gases, ofreciendo menos competencia para la industria alimentaria. El uso de estas materias primas para producir combustibles, energía y productos químicos de valor agregado, encaja bien con el concepto de biorrefinería invocado para disminuir la dependencia de los recursos fósiles y mejorar la sostenibilidad económica (Fernandes, Pereira, Serafim, Evtuguin, y Xavier, 2012). El enfoque principal de los sistemas de biorrefinería que entrarán en funcionamiento en los próximos años es la producción de biocombustibles para el transporte (Pandey, Höfer, Tahezadeh, Nampoothiri, y Larroche, 2015).



El bioetanol es uno de los productos que se pueden obtener a través de la biorrefinería utilizando recursos biológicos. Simultáneamente, el bioetanol es un elemento fundamental para la producción de varios otros productos químicos, generalmente petroquímicos, como acetaldehído, etano, etileno, propileno, butadieno, monóxido de carbono o hidrógeno. Hoy en día, casi el 95% del hidrógeno se produce a partir de materiales basados en fósiles, como el metano y la nafta. El bioetanol como reactivo químico para la producción de hidrógeno podría ser una forma de apoyar la economía del hidrógeno a partir de una fuente de energía renovable y limpia (Fernandes, Pereira, Serafim, Evtuguin, y Xavier, 2012).

Incluso después de todos estos bioprocesos, los residuos restantes (biomasa, azúcares no consumidos y otros compuestos) pueden ser utilizados en digestión anaerobia, la cual ha demostrado un gran potencial en el uso de recursos renovables. La digestión anaerobia es un proceso biológico mediante el cual la materia orgánica se transforma en metano y dióxido de carbono en ausencia de oxígeno. Los resultados preliminares mostraron que con un cultivo microbiano mixto se pueden producir ácidos grasos volátiles como los ácidos acético, propiónico y n-butírico, después de la producción de bioetanol (Fernandes, Pereira, Serafim, Evtuguin, y Xavier, 2012).

La digestión anaerobia se puede integrar en una biorrefinería como un pretratamiento biológico eficaz que facilita la posterior descomposición de la biomasa lignocelulósica en sus azúcares constituyentes (glucosa, galactosa, xilosa, arabinosa y manosa) y/o ácidos grasos de cadena corta (ácido acético, propiónico y butírico). Los componentes solubilizados pueden utilizarse entonces como precursores en la producción de diversos productos que van desde bioenergía/biocombustible ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$ , etanol y butanol) hasta ácidos orgánicos (ácido succínico) y biopolímeros (bioplástico). El digestato (que generalmente consiste en materia prima parcialmente digerida y células microbianas) se puede aplicar a la tierra agrícola como fertilizante orgánico para promover la retención de nutrientes (Sawatdeenarunat, Surendra, Takara, Oechsner, y Kumar Khanal, 2015).

Los residuos de biorrefinería se reconocen en formas útiles de energía, como el biometano o bioetanol, la electricidad y el calor que se emplean en la integración de los procesos de refinación biológica, como en el de la integración de los procesos de biorrefinado, tanto en el ámbito de la energía como en el de los materiales. Por otra parte, las grandes refinerías pueden producir una amplia variedad de productos de alto valor y pueden beneficiarse de potenciales asociados con la mejora de la integración de los materiales y la energía (Budzianowski, 2016).

En la figura 1 se muestra un esquema simplificado de una biorrefinería. En la parte superior se muestra la materia prima con la que dicha biorrefinería es alimentada, mientras que en la parte inferior se aprecian los productos generados. En la parte central de la figura, se muestran los procesos a los que se somete la materia prima para producir diferentes tipos de productos.

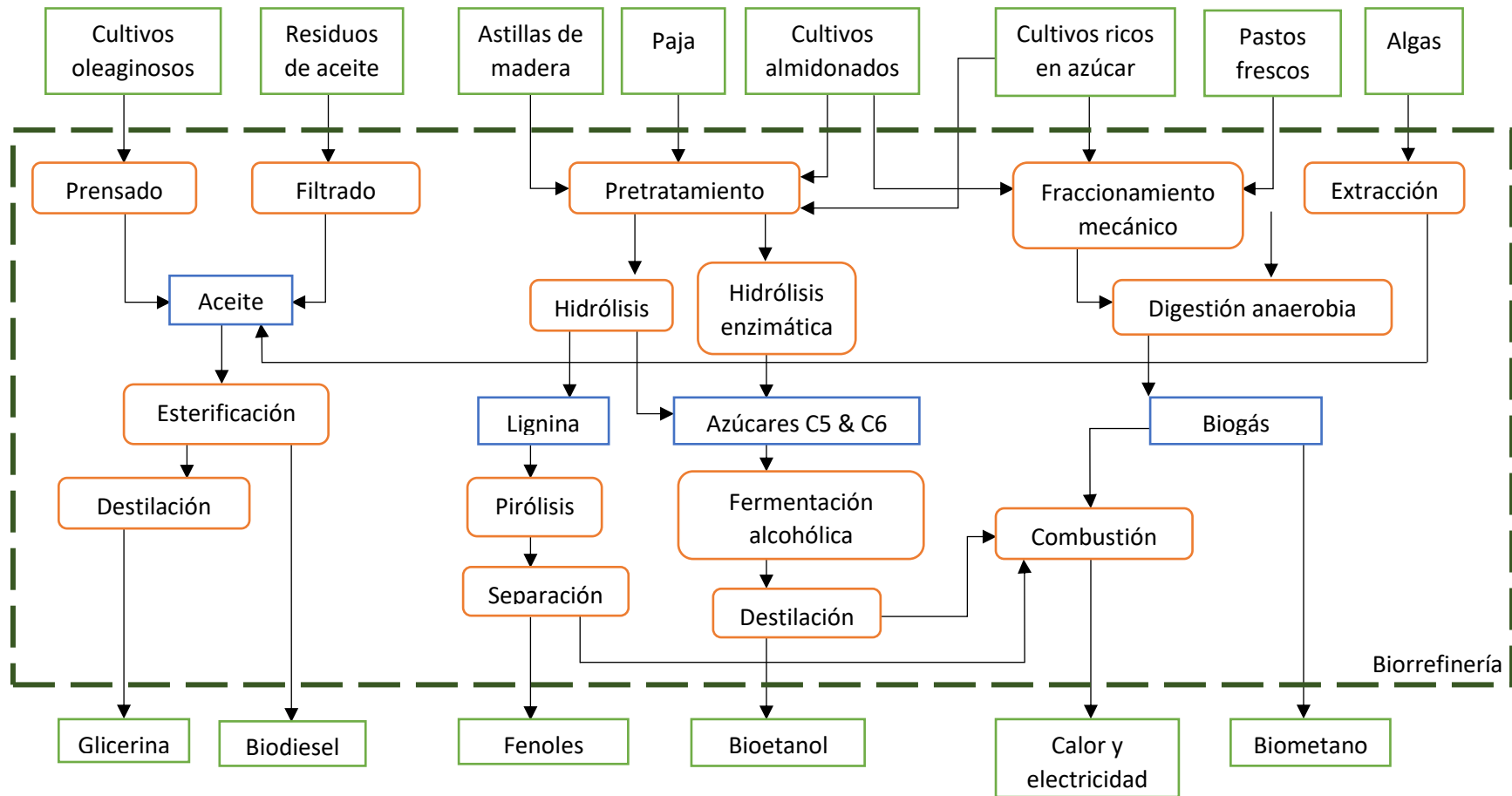


Figura 1. Esquema general de una biorrefinería. Adaptado y simplificado de Pandey, Höfer, Taherzadeh, Nampoothiri, y Larroche (2015).



## 6.2. Material lignocelulósico

La biomasa lignocelulósica contiene polímeros de celulosa, hemicelulosa y lignina, unidos en una estructura compleja. Los biocombustibles líquidos, tales como etanol, se pueden hacer a partir de la fermentación de azúcares derivados de la celulosa y hemicelulosa dentro de los materiales lignocelulósicos, pero la biomasa debe ser sometida a procesos de pretratamiento para liberar los azúcares necesarios para la fermentación (Agbor , Cicek , Sparling, Berlin, y Levin, 2011).

Las paredes celulares vegetales son estructuras complejas compuestas principalmente de lignocelulosa, el material orgánico más abundante en la Tierra. Los materiales lignocelulósicos están conformados principalmente por tres polímeros: celulosa, hemicelulosa y lignina. Estos polímeros se asocian uno con el otro formando una matriz compleja, la cual varía su composición según el tipo, especie e incluso fuente de la biomasa (Ritter, 2008).

La composición química de los materiales lignocelulósicos es un factor clave que afecta a la eficiencia de la producción de biocombustibles durante los procesos de conversión. La composición química y estructural de materiales lignocelulósicos es muy variable debido a las influencias genéticas y ambientales y sus interacciones. Una composición química típica de materiales lignocelulósicos es 48% C, 6% H, y 45% O en peso.

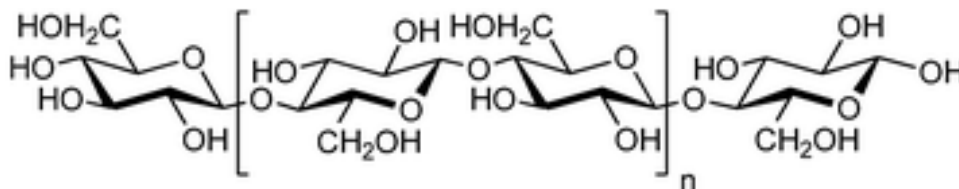
La celulosa y hemicelulosa, que por lo general constituyen dos tercios de la materia seca de la pared celular, son polisacáridos que pueden ser hidrolizados a azúcares y fermentados en bioetanol. El rendimiento del proceso, es decir, el rendimiento de bioetanol a partir de biomasa, se relaciona directamente con la celulosa, hemicelulosa, y la concentración de azúcar individual en el material de alimentación. La lignina no se puede utilizar para la producción de bioetanol (Balat, 2011).

### 6.2.1. Celulosa

La celulosa, el principal componente de la biomasa vegetal (30 a 60% de materia seca total de materia prima), es un polímero lineal de glucosa; la orientación de los vínculos y enlaces de hidrógeno adicionales hacen que el polímero sea rígido y difícil de romper (Balat, 2011).

Es el principal constituyente de la pared celular vegetal que confiere un soporte estructural. La celulosa es un polímero de  $\beta$ -D-glucopiranosas unidos a través de enlaces glicosídicos. La unidad de repetición de la cadena de celulosa es el disacárido celobiosa. Las cadenas de celulosa son agrupaciones que forman microfibrillas, que se juntan para formar fibras de celulosa. Las microfibrillas de celulosa son en su mayoría independientes. La estructura de la celulosa presenta enlaces covalentes, enlaces de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals. El enlace de hidrógeno dentro de las microfibrillas de celulosa determina la rectitud de la cadena, aunque también puede introducir orden (cristalino) o trastorno (amorfo) en la estructura de la celulosa (Agbor , Cicek , Sparling, Berlin, y Levin, 2011).

En la figura 2 se muestra la fórmula química de la celulosa, un polímero insoluble en agua compuesto de glucosa unida por enlaces  $\beta$ -1,4-glicosídicos y forma estructuras cristalinas robustas con enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares, que poseen alta estabilidad química (Kobayashi, Ohta, y Fuk, 2012).



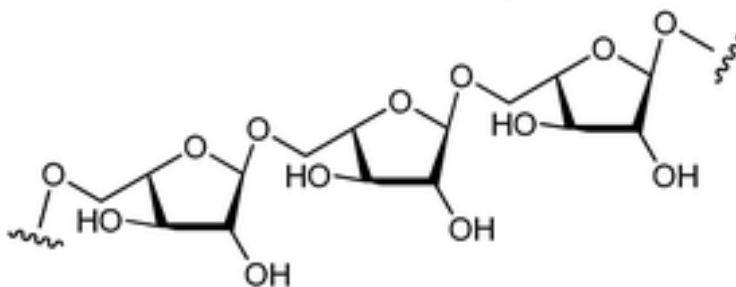
*Figura 2. Fórmula de la celulosa (Kobayashi, Ohta, & Fuk, 2012).*

### 6.2.2. Hemicelulosa

La hemicelulosa es el segundo polímero más abundante, representa un 20-40% de la materia seca total de materia prima (Balat, 2011) y difiere de la celulosa en que no es químicamente homogénea, tiene un peso molecular más bajo en comparación con la celulosa y posee ramas con cadenas laterales cortas que son fácilmente hidrolizables (Agbor, Cicek, Sparling, Berlin, y Levin, 2011). La hemicelulosa es la que le da la rigidez al complejo lignocelulósico (Ritter, 2008).

La hemicelulosa es un polímero corto, ramificado de azúcares de cinco y seis carbonos, pentosas y hexosas respectivamente. Por lo general se compone de xilosa y arabinosa (azúcares de cinco carbonos) y galactosa, glucosa y manosa (azúcares de seis carbonos). La hemicelulosa se hidroliza más fácilmente en comparación con la celulosa debido a su estructura ramificada (Balat, 2011).

En la figura 3 se muestra la fórmula de la hemicelulosa, un polisacárido que incluye pentosas y hexosas conectadas por varias formas de enlaces glicosídicos. Los componentes de las hemicelulosas varían dependiendo de las plantas (Kobayashi, Ohta, y Fuk, 2012).



*Figura 3. Fórmula de la hemicelulosa (Kobayashi, Ohta, y Fuk, 2012).*

### 6.2.3. Lignina

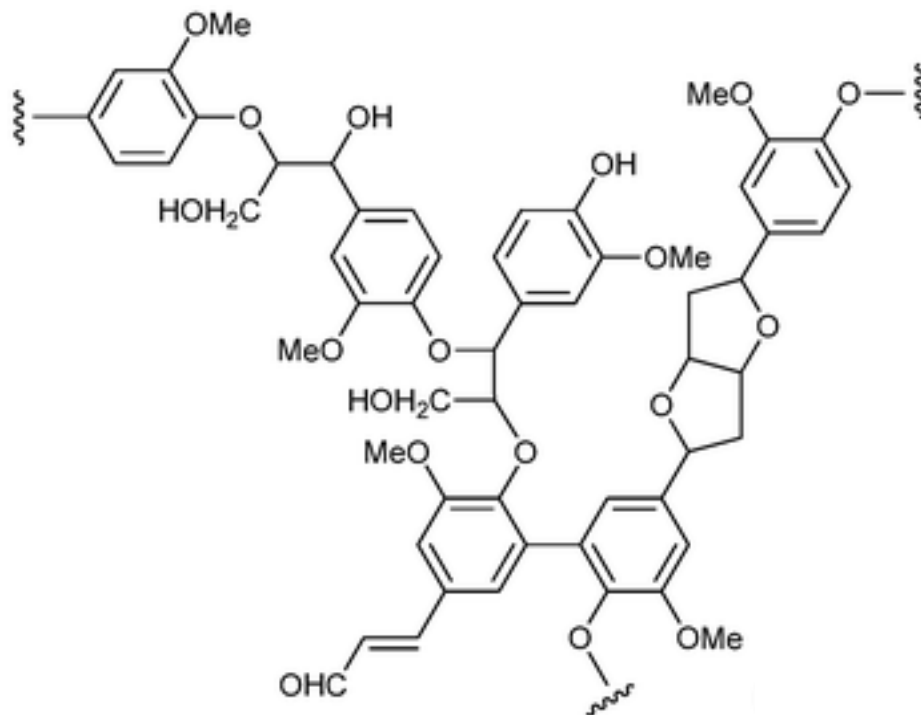
La lignina es el tercer polímero más abundante en la naturaleza. Representa el 15-25% de la materia seca total de materia prima (Balat, 2011). Está presente en las paredes celulares de plantas y confiere soporte estructural, impermeabilidad, y resistencia al ataque

microbiano y el estrés oxidativo. La lignina está compuesta de unidades fenil propano (p-cumaril, coniferil y alcohol sinapílico) unidas por diferentes vínculos (Agbor , Cicek , Sparling, Berlin, y Levin, 2011).

La lignina llena los espacios en la pared celular entre celulosa, hemicelulosa y pectina y está unido covalentemente a la hemicelulosa. La lignina se asemeja a una especie de resina de fenol-formaldehído que actúa como pegamento para unir la biomasa lignocelulosa (Ritter, 2008).

Los materiales orgánicos ricos en lignina y celulosa cristalina son muy recalcitrantes a la biodegradación bajo condiciones anaeróbicas. Existen varios procesos de pretratamiento que se utilizan comúnmente para destruir la matriz de lignocelulosa en la biomasa para facilitar la hidrólisis de los carbohidratos en monómeros de azúcar convertibles (Ahring, Biswas , Ahamed , Teller, y Uellendahl, 2015)

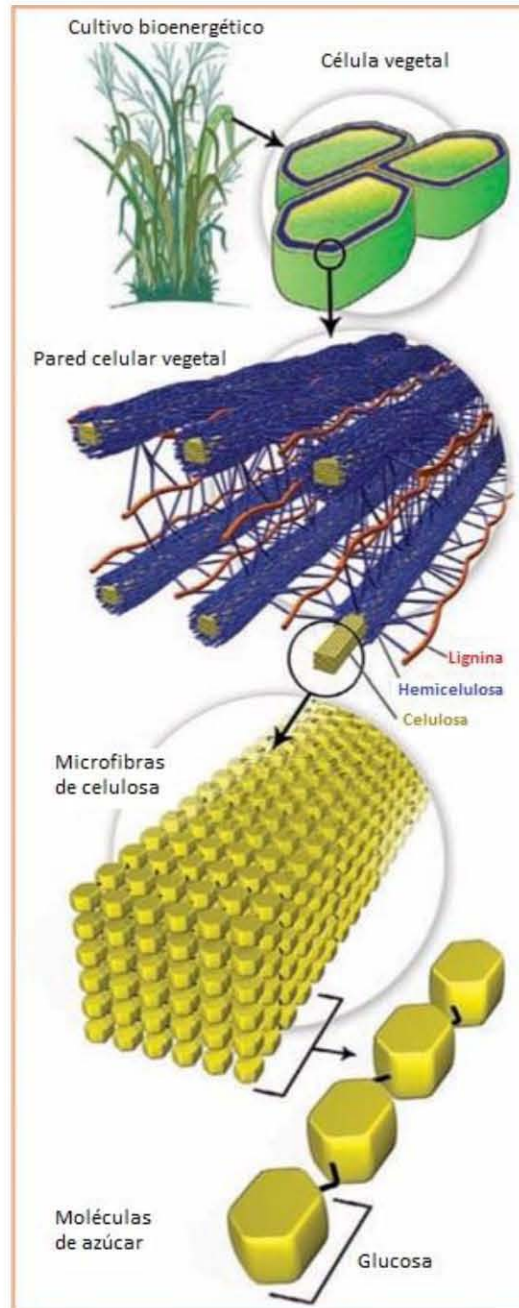
En la figura 4 se observa que la lignina es un polímero aromático tridimensional generado por la polimerización radical del alcohol p-cumárico, el alcohol coniferílico y el alcohol sinapílico (Kobayashi, Ohta, y Fuk, 2012).



*Figura 4. Fórmula de la lignina (Kobayashi, Ohta, y Fuk, 2012).*



En la figura 5 se muestra un esquema de un cultivo vegetal y como la celulosa, hemicelulosa y lignina forman parte de dicho cultivo. En esta figura se observa como la pared celular de una célula vegetal está compuesta de celulosa, hemicelulosa y lignina.



*Figura 5. Esquema de la estructura lignocelulósica (Ritter, 2008).*



### 6.3. Bioetanol de materiales lignocelulósicos

La conversión bioquímica de materiales lignocelulósicos a través de la sacarificación y fermentación es una vía principal para la producción de bioetanol a partir de biomasa. La biomasa lignocelulósica se puede convertir en bioetanol por hidrólisis y posterior fermentación. El hidrolizado obtenido se utiliza luego para la fermentación de bioetanol por microorganismos tales como levadura. Debido a que el hidrolizado de lignocelulosa contiene no sólo glucosa, sino también varios monosacáridos (por ejemplo, xilosa, manosa, fructosa, galactosa, y arabinosa) y oligosacáridos, los microorganismos deben estar obligados a fermentar de manera eficiente estos azúcares para el éxito de la producción industrial de bioetanol.

La bioconversión de material lignocelulósico a bioetanol es difícil debido a:

- La naturaleza resistente de la biomasa a la ruptura.
- La variedad de azúcares que se liberan cuando los polímeros de hemicelulosa y celulosa se rompen y la necesidad de encontrar o modificar genéticamente microorganismos para fermentar de manera eficiente estos azúcares.

Los pasos básicos del proceso en la producción de bioetanol a partir de materiales lignocelulósicos son: pretratamiento, hidrólisis y fermentación (Balat, 2011).

#### 6.3.1. Pretratamiento

El proceso de pretratamiento se requiere para romper la estructura de la lignina y romper la estructura cristalina de la celulosa con la finalidad de que los ácidos y enzimas puedan acceder fácilmente a la celulosa e hidrolizarla en monómeros.

El pretratamiento remueve la lignina, la hemicelulosa y reduce la cristalinidad de la celulosa. El pretratamiento mejora la biodigestibilidad y aumenta el rendimiento de producción de bioetanol o biogás proveniente de residuos lignocelulósicos (Behera, Arora, Nandhagopal, y Kumar, 2014).

El pretratamiento es fundamental para garantizar buenos rendimientos finales de los azúcares de celulosa y hemicelulosa. Si el pretratamiento no es lo suficientemente eficiente el residuo resultante no es fácilmente hidrolizable por la enzima celulasa. La hidrólisis sin pretratamiento presenta un rendimiento menor al 20%, mientras que los rendimientos de la hidrólisis tras un pretratamiento superan el 90% (Balat, 2011).

El pretratamiento químico de la biomasa lignocelulósica degrada la lignina en fenoles, lo que puede inhibir el proceso de fermentación. La concentración de estos compuestos depende del material (tipo de residuos), el método de pretratamiento, las condiciones a las que se llevó a cabo (temperatura, presión, pH). Los inhibidores son los derivados del furano, como furfural y derivados del fenol (ver figura 6).



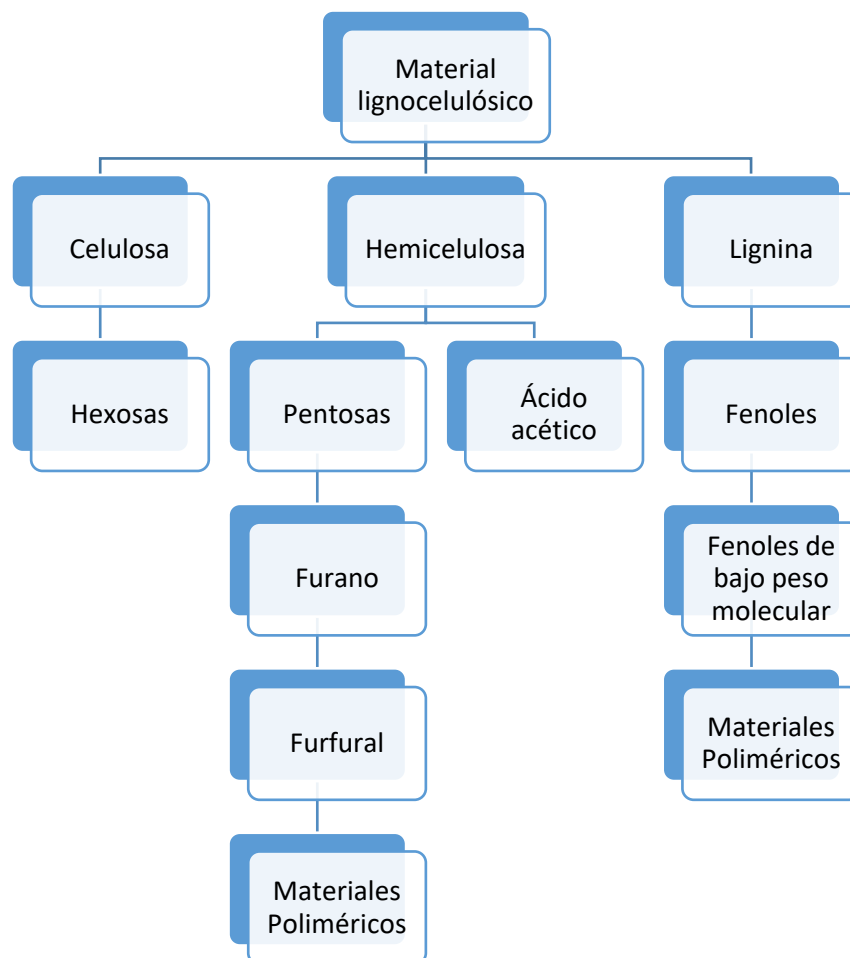
Para contrarrestar los efectos de estos inhibidores en el proceso de fermentación los microorganismos pueden ser adaptados a las condiciones del sistema. A bajas concentraciones, la presencia de inhibidores puede ser tolerada. El furfural no debe pasar los 0.5 g/L y así los microorganismos no serán afectados su rendimiento (Behera, Arora, Nandhagopal, y Kumar, 2014).

### 6.3.2. Hidrólisis

Antes de la fermentación los carbohidratos en los materiales lignocelulósicos necesitan ser convertidos en azúcares simples a través de un proceso llamado hidrólisis. Los métodos más comúnmente aplicados se pueden clasificar en dos grupos: la hidrólisis química y la hidrólisis enzimática.

Como se muestra en la figura 6, existen varios productos que pueden resultar de la hidrólisis del material lignocelulósico.

La celulosa se hidroliza en glucosa, un azúcar de seis carbonos. Mientras que la hemicelulosa se hidroliza a xilosa, manosa, ácido acético, galactosa y glucosa (Balat, 2011).



**Figura 6.** Principales productos de degradación producidos durante la hidrólisis de material lignocelulósico. Adaptado y traducido (Balat, 2011).



### 6.3.3. Fermentación

El sobrenadante de la hidrólisis enzimática de la lignocelulosa puede contener tanto hexosas como pentosas, si tanto la celulosa y la hemicelulosa son hidrolizados. Dependiendo de la fuente lignocelulósica, el hidrolizado típicamente consiste en glucosa, xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, fucosa y ramnosa. Los microorganismos pueden ser usados para fermentar todos los azúcares derivados de la lignocelulosa en bioetanol (Balat, 2011).

#### 6.3.3.1. *Sacarificación y fermentación simultáneas*

En este proceso, celulasas y xilanasas convierten los polímeros de carbohidratos en azúcares fermentables. Estas enzimas son muy susceptibles a la inhibición de retroalimentación por los productos - glucosa, xilosa, celobiosa, y otros oligosacáridos. Este proceso tiene una tasa mejorada de hidrólisis, necesita menor carga de la enzima, los rendimientos de bioetanol son más altos, y reduce el riesgo de contaminación.

Las principales ventajas de la sacarificación y fermentación simultáneas incluyen:

- Aumento de la velocidad de hidrólisis por la conversión de los azúcares que inhiben la actividad de celulasa
- Menos enzima requerida
- Mayores rendimientos del producto
- Menor necesidad de condiciones estériles ya que al eliminar inmediatamente la glucosa se produce bioetanol
- Menor tiempo de proceso
- Menor volumen del reactor

La principal ventaja de sacarificación y fermentación simultáneas es que el consumo inmediato de los azúcares por el microorganismo produce bajas concentraciones de azúcar en el fermentador, lo que reduce significativamente la inhibición de la enzima. La principal desventaja de SSF se encuentra en diferentes óptimos de temperatura para la sacarificación (323 K) y la fermentación (308 K).

La mejora del proceso más importante hecha para la hidrólisis enzimática de la biomasa es la introducción de sacarificación y fermentación simultáneas, que ha sido mejorado para incluir las enzimas de celulasa y microbios de fermentación en un recipiente para mejorar la economía de producción de bioetanol. La tecnología ha sido mejorada para incluir la co-fermentación de múltiples sustratos de azúcar, es decir, la sacarificación simultánea de celulosa (a la glucosa) y hemicelulosa (respecto a la xilosa), y co-fermentación de la glucosa y la xilosa por microbios genéticamente modificados en el mismo caldo (Balat, 2011).

#### 6.3.4. Metodología para producir bioetanol

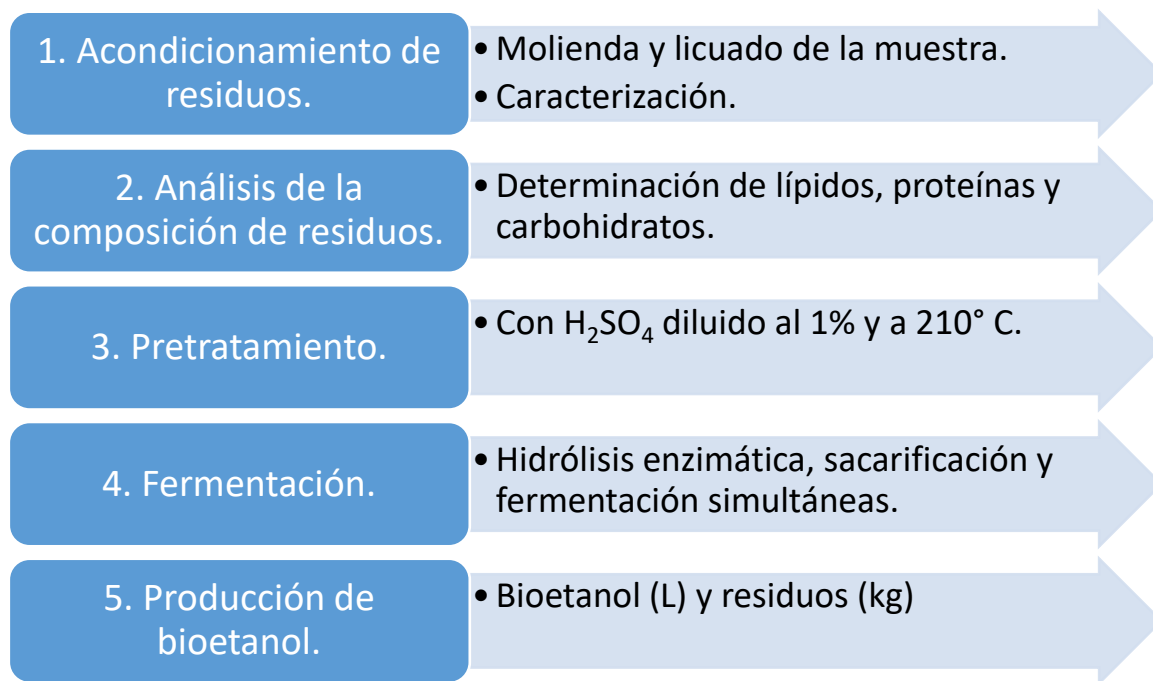
En este trabajo se propone evaluar la producción de metano mediante una digestión anaerobia húmeda de residuos lignocelulósicos que ya han sido previamente usados para



producir bioetanol. Para este fin, se utilizará como materia prima los residuos de una fermentación-sacarificación simultánea en la que se produjo bioetanol. Dichos residuos provienen de un trabajo del grupo de investigación (Carbonell Pérez, 2016).

Las materias primas que se utilizaron en la investigación previa fueron residuos de cafetería, residuos de maíz y residuos de poda. Los residuos de cafetería se obtuvieron del comedor de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México, los residuos de poda se obtuvieron de realizar un muestreo en la planta de composta de la Universidad Nacional Autónoma de México y los residuos de maíz se obtuvieron de un mercado sobre ruedas situado en Eje 10 de la colonia Pedregal de Santo Domingo, delegación Coyoacán.

Estas materias primas fueron acondicionadas para su caracterización a través de la molienda y licuado con el fin de aumentar la digestibilidad de la biomasa, el área de superficie específica, y romper la cristalinidad de celulosa. Posteriormente fueron analizadas para determinar su composición y pretratadas con ácido diluido con la finalidad de romper el complejo lignocelulósico y poner a la celulosa y hemicelulosa disponible a las enzimas para su posterior fermentación. En la figura 7 se muestra la metodología propuesta por Carbonell Pérez.



*Figura 7. Metodología empleada por Carbonell Pérez (2016) para la obtención de bioetanol. Adaptación.*

#### 6.4. Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia implica la degradación y la estabilización de materiales orgánicos bajo condiciones anaerobias por organismos microbianos y conduce a la formación de biogás (una mezcla de dióxido de carbono y metano, una fuente de energía renovable) y la



biomasa microbiana. El tratamiento anaerobio proporciona un método para reducir la contaminación de las operaciones agrícolas e industriales, mientras que al mismo tiempo compensa el uso de las operaciones de los combustibles fósiles.

Además, ofrece numerosas ventajas significativas, como los requisitos de energía más bajos, y la producción menor de lodos en comparación con el tratamiento aerobio tradicional (Chen , Cheng, y Creamer, 2008).

La digestión anaerobia es un proceso que, en ausencia de oxígeno, descompone la materia orgánica. El principal producto es el biogás, una mezcla de aproximadamente 65% de metano y 35% dióxido de carbono, junto con una cantidad reducida de una biomasa bacteriana (Mata-Alvarez, 2003).

#### 6.4.1. Etapas de la digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso multi-etapas donde destacan los siguientes pasos: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis, y metanogénesis.

##### 6.4.1.1. Hidrólisis

El primer paso en la biodegradación anaerobia es la conversión de los residuos complejos (partículas y polímeros solubles) en productos solubles mediante hidrólisis enzimática. Durante la hidrólisis, un grupo de enzimas hidrolíticas descomponen sustancias orgánicas complejas del sustrato (por ejemplo, proteínas, celulosa, lignina y lípidos) a monómeros tales como aminoácidos, azúcares simples, glicerol y ácidos grasos (Mata-Alvarez, 2003). La hidrólisis de moléculas complejas se lleva a cabo por la acción de enzimas extracelulares producidos por los microorganismos acidogénicos, tales como celulasas, proteasas, o lipasas. La hidrólisis de polímeros insolubles se considera generalmente como limitante de la velocidad (Lin Chen , Ortiz, W.J. Steele, y Stuckey, 2014).

En su conjunto, los productos de esta primera etapa son monómeros orgánicos, es decir, aminoácidos, ácidos grasos de cadena larga y azúcares (Mata-Alvarez, 2003).

La hidrólisis de los carbohidratos se lleva a cabo dentro de unas pocas horas, la hidrólisis de proteínas y lípidos dentro de pocos días. Los materiales lignocelulósicos se degradan lentamente y de forma incompleta (Deublein y Steinhauser, 2008).

La celulosa, es un ejemplo de un compuesto insoluble que se somete a la hidrólisis enzimática. Los microorganismos celulolíticos como *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteriodes*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora* y *Streptomyces* producen celulasas que hidrolizan la biomasa compuesta por celulosa (Jain, Jain, Wolf, Lee, y Tong, 2015).

##### 6.4.1.2. Acidogénesis

La acidogénesis incluye la fermentación de azúcares, aminoácidos y ácidos grasos a ácidos orgánicos (por ejemplo ácido acético, propiónico, fórmico, láctico, butírico, o ácido



succínico), alcoholes y cetonas (por ejemplo, etanol, metanol, glicerol, y acetona), dióxido de carbono, e hidrógeno. Este proceso es llevado a cabo por bacterias acidogénicas (Lin Chen , Ortiz, W.J. Steele, y Stuckey, 2014).

Los compuestos reducidos se convierten en una mezcla de ácidos grasos volátiles de cadena corta y otros productos menores con la ayuda de bacterias acidogénicas, las cuales consumen las micromoléculas solubles que se crean a partir de reacciones de hidrólisis y producen productos intermedios como los ácidos grasos volátiles, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, ácido acético y alcoholes (Jain, Jain, Wolf, Lee, y Tong, 2015).

Los géneros *Clostridium*, *Paenibacillus* y *Ruminococcus* aparecen en las primeras tres etapas de la digestión anaerobia pero son dominantes en la fase acidogénica. El grupo *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* es el segundo grupo más grande de microorganismos durante las dos primeras fases de descomposición, pero en la fase metanogénica representa menos del 5% de todos los microorganismos. Esto indica que las especies de estos grupos son los principales responsables de la degradación de los compuestos monoméricos (Deublein y Steinhauser, 2008).

#### 6.4.1.3. Acetogénesis

Los productos de la fase acidogénica sirven como sustrato para otras bacterias, los de la fase acetogénica. Las bacterias acetogénicas convierten los ácidos grasos en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono, los cuales son posteriormente utilizados por las arqueas metanogénicas (Lin Chen , Ortiz, W.J. Steele, y Stuckey, 2014).

Las bacterias acetogénicas son productoras de H<sub>2</sub> y a su vez sólo pueden obtener la energía necesaria para su supervivencia y crecimiento a muy baja concentración de H<sub>2</sub>. La formación de acetato mediante la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga (por ejemplo, ácido propiónico o ácido butírico) es termodinámicamente posible sólo con una baja presión parcial de hidrógeno.

La concentración de los iones de hidrógeno formados de forma intermedia afecta los productos de fermentación. Cuando la presión parcial de hidrógeno es baja, el acetato, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> son predominantemente formados por las bacterias acetogénicas. Cuando la presión parcial de hidrógeno es mayor, se forman predominantemente ácido butírico, caprónico, propiónico, valérico y etanol. A partir de estos productos, las arqueas metanogénicas pueden procesar sólo acetato, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (Deublein y Steinhauser, 2008).

La acetogénesis es considerado como termodinámicamente desfavorable a menos que la presión parcial de hidrógeno se mantenga por debajo de 10<sup>-3</sup> atm a través de la eliminación de hidrógeno por los microorganismos que consumen hidrógeno como metanógenos y / o homoacetógenos hidrogenotróficas (Kumar Khanal, 2008).



Tanto los microorganismos acetogénicos como metanogénicos deben vivir en simbiosis. Los organismos metanogénicos sólo pueden sobrevivir con una alta presión parcial de hidrógeno. Estos eliminan constantemente los productos del metabolismo de las bacterias acetogénicas del sustrato, a fin de mantener la presión parcial de hidrógeno a un nivel bajo adecuado para las bacterias acetogénicas (Deublein y Steinhauser, 2008).

Existen géneros microbianos completamente acetogénicos como el género *Acetobacterium* y *Sporomusa*. También existen géneros que contienen microorganismos tanto acetogénicos como no acetogénicos, tales como *Clostridium*, *Ruminococcus* y *Eubacterium*. Estos grupos guardan una relación entre los acetógenos que producen hidrógeno y metanógenos que lo consumen (Jain, Jain, Wolf, Lee, y Tong, 2015).

#### 6.4.1.4. Metanogénesis

En esta cuarta etapa, la formación de metano se lleva a cabo en condiciones estrictamente anaerobias. En la etapa de la metanogénesis, el acetato, hidrógeno, y dióxido de carbono se convierten en metano por microorganismos metanogénicos, que también están clasificados como arqueas compuestas de ambas bacterias gram-positivas y gram-negativas con una amplia variedad de formas, por ejemplo, cocoides y bacilos (Lin Chen , Ortiz, W.J. Steele, y Stuckey, 2014).

Alrededor del 72% de la producción de metano proviene de la descarboxilación de acetato, mientras que el resto proviene de la reducción de CO<sub>2</sub>. Los grupos de microorganismos implicados en la generación de metano a partir de acetato son conocidos como metanógenos acetotróficos o acetoclásticos. El metano restante se genera a partir de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> por los metanógenos hidrogenotróficos (Kumar Khanal, 2008).

La inestabilidad de esta fase puede ocurrir cuando las bacterias acetogénicas viven en simbiosis con otros organismos en lugar de las bacterias metanogénicas. Un ejemplo es cuando ocurre una simbiosis con microorganismos que reducen el sulfato a sulfuro de hidrógeno. Al necesitar estos otros microorganismos de hidrógeno, compiten con los metanógenos. Los metanógenos reciben menos alimentación y forman menos metano. Además, el sulfuro de hidrógeno afecta a los metanógenos tóxicamente (Deublein y Steinhauser, 2008).

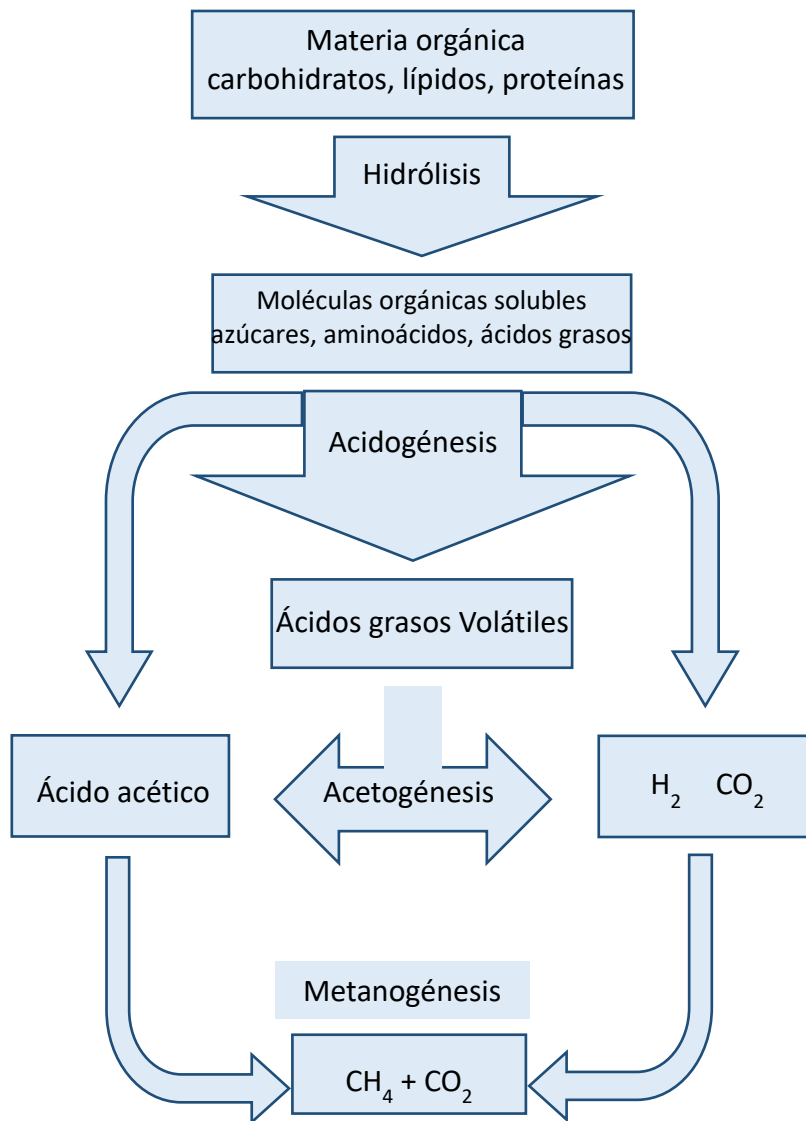
Los metanógenos tienen la tasa de crecimiento más lento y son los más sensibles al cambio en las condiciones ambientales, como la temperatura, el pH y las concentraciones de inhibidores. Debido a esto, la metanogénesis es comúnmente considerado como un paso limitante de la velocidad en el proceso de digestión anaerobia (Zheng, Zhao, Xu, y Li, 2014).

Durante esta etapa, los grupos metanogénicos principales son *Methanobacterium*, *Methanospirillum hungatii* y *Methanosarcina* (Deublein y Steinhauser, 2008).





En la figura 8 se muestra un esquema general de las etapas de la digestión anaerobia. Las macromoléculas se convierten en micromoléculas por medio de la hidrólisis, posteriormente en la acidogénesis se forman ácidos grasos que a su vez son consumidos en la etapa de acetogénesis para formar acetato,  $H_2$  y  $CO_2$ . En la etapa de metanogénesis se forma el metano a partir de acetato,  $H_2$  y  $CO_2$ .



**Figura 8.** Diagrama general de la digestión anaerobia (Lin Chen , Ortiz, W.J. Steele, y Stuckey, 2014).



#### 6.4.2. Digestión anaerobia húmeda y seca

Basado en el contenido de sólidos totales, la digestión anaerobia puede clasificarse como húmeda o seca.

Según Colazo, *et al.*, 2015, la digestión anaerobia húmeda se da cuando los residuos a tratar se digieren a menos de 20% de sólidos secos mientras que la digestión anaerobia seca se da cuando los desechos con un mayor contenido de sólidos secos a 20% se digieren (Colazo, Sánchez, Font, y Colón, 2015).

Según Zheng, *et al.*, 2014, generalmente cuando la digestión anaerobia opera con sólidos totales mayores al 15% se trata de una digestión seca, de no ser así se trata de una digestión anaerobia húmeda.

Se han hecho comparaciones entre ambas digestiones y se ha notado que la digestión anaerobia húmeda tiene una mayor rapidez de reacción y menores tiempos de retención mientras que la digestión seca ocupa un menor volumen de reactor y requiere de menos energía para calentar. Sin embargo, a escala de laboratorio, es más usada la digestión anaerobia húmeda (Zheng, Zhao, Xu, y Li, 2014).

En la tabla 1 se muestra un cuadro comparativo en el que se enumeran las ventajas y desventajas entre la digestión anaerobia húmeda y seca (Ge, Xu, y Li, 2016).

**Tabla 1.** Ventajas y desventajas de la digestión seca y la digestión húmeda (adaptado de Ge, Xu, y Li, 2016).

	<b>Digestión seca</b>	<b>Digestión húmeda</b>
<b>Ventajas</b>	<p>Mayor producción volumétrica de metano.</p> <p>Menor requerimiento energético para calentamiento.</p> <p>Menor generación de aguas residuales.</p> <p>Digestato con baja humedad que es fácil de manejar.</p>	<p>Adecuado para tratar desechos con humedad alta, como lodos de aguas residuales, residuos de alimentos o estiércol de ganado.</p> <p>Distribución bacteriana es homogénea y requiere menos tiempo para descomponer la materia orgánica.</p> <p>Usando biomasa lignocelulósica se obtienen rendimientos más elevados en la producción de metano.</p>
<b>Desventajas</b>	<p>Inadecuada transferencia de masa y carga orgánica alta, lo cual acumula inhibidores como nitrógeno amoniacal y ácidos grasos volátiles, que generan bajos rendimientos de metano.</p>	<p>Requiere una gran cantidad de agua para el tratamiento de residuos de baja humedad, lo cual conduce a una disminución en la producción de metano y un alto volumen de aguas residuales a tratar.</p>



### 6.4.3. Factores que afectan la digestión anaerobia

#### 6.4.3.1. Temperatura

La digestión anaerobia consiste en una serie de procesos microbianos que convierten la materia orgánica en metano y dióxido de carbono, y puede tener lugar bajo condiciones psicrófilas (menor a 20 °C), mesófilas (25-40 °C) o condiciones termófilas (50-65 °C), aunque la biodegradación bajo condiciones mesófilas es más común (Lin Chen , Ortiz, W.J. Steele, y Stuckey, 2014).

La ventaja de las condiciones psicrófilas es que se requiere una menor cantidad de energía para mantener la temperatura en el digestor psicrófilico en comparación con la digestión anaerobia mesófila y termófila, lo cual conlleva a un ahorro de energía y de costos (Mass, Saady, y Gilbert, 2015).

A condiciones mesófilas hay una mayor estabilidad y mayor riqueza en bacterias, se proporcionan bajos rendimientos de metano y existen desventajas relacionadas con desequilibrio de nutrientes.

La digestión anaerobia termófila se lleva a cabo en temperaturas que van desde los 55 a 70 °C. Al tener velocidades de reacción más rápidas y mayor capacidad de soporte de carga que la digestión anaerobia mesófila, la tasa de digestión es mayor a la mesófila. En consecuencia, exhibe una mayor productividad en comparación con la digestión anaerobia mesófila. Sin embargo, puede ocurrir una acidificación, generando una inhibición en la producción de biogás (Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin, 2015).

Debido a la diferente capacidad de adaptación de los diferentes microorganismos a la temperatura, la composición y abundancia de la comunidad microbiana varía con los cambios de temperatura, lo cual puede resultar en un cambio tanto de la vía metanogénica predominante como de la estabilidad del proceso. En los sistemas de digestión anaerobia, la importancia de la metanogénesis hidrogenotrófica aumenta a medida que la temperatura cambia de 37 ° C a 55 ° C, que se basa en la disminución observada de *Methanosaeta* acetoclasta y el aumento del *Methanothermobacter* y *Methanoculleus* hidrogenotróficos a temperatura elevada (Lin, De Vrieze, Li, y Li, 2016).

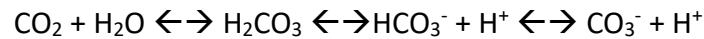
#### 6.4.3.2. Alcalinidad

Debido a que las bacterias metanogénicas son vulnerables a los cambios bruscos de pH, el sistema de tratamiento anaerobio necesita suficiente capacidad de amortiguamiento (alcalinidad) para mitigar el cambio de pH (Kumar Khanal, 2008).

Es posible evitar una acidificación en sistemas anaerobios usando una solución amortiguadora dióxido de carbono/bicarbonato/carbonato. El dióxido de carbono es formado continuamente en el sistema anaerobio. Cuando hay una caída de pH, el CO<sub>2</sub> se disuelve en el sustrato. Cuando se presenta una elevación de pH, el CO<sub>2</sub> forma ácido



carbónico, el cual se ioniza liberando iones hidronio de acuerdo a la siguiente ecuación (Deublein y Steinhauser, 2008):



Los valores típicos de la alcalinidad en la digestión anaerobia están en el intervalo de 2000 a 4000 mgCaCO<sub>3</sub>/L (Mata-Alvarez, 2003).

#### 6.4.3.3. pH

La tasa de crecimiento de los microorganismos se ve afectada significativamente por el cambio de pH. Un método para lograr un crecimiento óptimo de microorganismos es a través del control de pH, de esta forma se evita que aumente la concentración de amoníaco y ocurra una inhibición.

El pH con el que se opera afecta el progreso y los productos de la digestión anaerobia. El rango de pH ideal que se ha reportado va de 6.8 a 7.4.

La rapidez de la hidrólisis es dependiente del pH. Cabe destacar que ambos microorganismos metanogénicos y acidogénicos tienen niveles óptimos de pH. La metanogénesis es más eficaz en un rango de pH de 6.5 a 8.2, siendo 7.0 el pH óptimo, debido a que las bacterias metanogénicas disminuyen fuera de este rango. El pH óptimo de la acidogénesis va de 5.5 a 6.5. Debido a esto se prefiere un modo de operación que separe el proceso de digestión anaerobia en dos etapas: hidrólisis/acidogénesis y acetogénesis/metanogénesis (Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin, 2015).

#### 6.4.3.4. Nutrientes

Existen sustancias orgánicas e inorgánicas necesarias para los procesos de digestión anaerobia para funcionar de manera óptima. Se dividen en nutrientes y micronutrientes. Los nutrientes son: Carbono, fósforo, nitrógeno, azufre. Los micronutrientes son vitaminas y algunas trazas de minerales (Fe, Ni, Mg, Ca, Na, Ba, Tu, Mo, se y Co). Es importante mencionar que la presencia de micronutrientes se requiere en pequeñas cantidades, de lo contrario podría ser un factor inhibitorio (Mata-Alvarez, 2003).

Teniendo en cuenta el bajo rendimiento de producción de biomasa de un proceso anaerobio, los nutrientes y micronutrientes contenidos en los residuos sólidos orgánicos son por lo general suficientes para la digestión (Mata-Alvarez, 2003).

#### 6.4.3.5. Relación C/N

El carbón y el nitrógeno son el alimento de las bacterias anaerobias. El carbón es usado para obtener energía y el nitrógeno para formar la estructura celular (Jain, Jain, Wolf, Lee, y Tong, 2015). La relación C/N refleja los niveles de nutrientes de un sustrato. Si la cantidad de carbono o nitrógeno es insuficiente, se puede limitar el rendimiento de la digestión anaerobia. Debido a esto, los sistemas de digestión son sensibles a la relación C/N (Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin, 2015).



Una alta relación C/N no proporciona nitrógeno suficiente para mantener la biomasa celular y conduce a una rápida degradación de nitrógeno por microbios, lo que resulta en una menor producción de biogás. Sin embargo, una alta relación C/N induce una tasa baja de solubilización de proteínas y conduce a bajas concentraciones de nitrógeno amoniacal dentro de un sistema. Una baja relación C/N indica que hay una insuficiencia de fuentes de carbono, y el riesgo de la inhibición por amoníaco aumenta, al ser tóxico para los organismos metanógenos. Así, la inhibición por amoníaco se puede evitar mediante la optimización de la relación C/N en el proceso de digestión anaerobia (Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin, 2015).

Las bacterias anaerobias consumen 30 veces más carbono que nitrógeno, por lo que la relación óptima de estos dos elementos en la materia prima se considera en un rango de 30/1 hasta 20/1. La descomposición de materiales con alto contenido de carbono, superior a 35/1, ocurre más lentamente, porque la multiplicación y desarrollo de bacterias es bajo, por la falta de nitrógeno. En cambio, con una relación C/N menor de 8/1 se inhibe la actividad bacteriana debido a la formación de nitrógeno amoniacal (Varnero Moreno, 2011).

La relación óptima de C/N para la digestión anaeróbica se ha demostrado que debe estar entre 20 y 30 o entre 20 y 35, siendo 25 la más utilizada (Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin, 2015).

#### 6.4.3.6. *Sustratos*

La materia prima alimentada o sustrato, puede variar en composición, homogeneidad y biodegradabilidad. Cuando la materia prima es de origen vegetal o contiene más lignina, entonces la biodigestión se vuelve difícil. El proceso de digestión anaeróbica se ve afectado por componentes tales como paja, madera, materiales inorgánicos, vidrio, metales o componentes poliméricos, como los materiales plásticos. Estos materiales muchas veces causan fallas en el proceso (Jain, Jain, Wolf, Lee, y Tong, 2015).

Las concentraciones de ácidos grasos volátiles varía según el tipo de materia prima alimentada, esto en combinación con un pH bajo puede causar inhibiciones en el reactor. Los residuos de comida contienen materia orgánica que podría ser convertida en ácidos grasos volátiles fácilmente. Esto podría generar una caída de pH y causar una inhibición. Para reducir este riesgo, se sugiere una co-digestión con otro sustrato (Jain, Jain, Wolf, Lee, y Tong, 2015).

#### 6.4.3.7. *Inhibidores*

Una sustancia puede ser considerada como inhibidora cuando provoca un cambio adverso en la población microbiana o la inhibición del crecimiento bacteriano. La inhibición se indica generalmente por una disminución en la producción de gas metano y la acumulación de ácidos orgánicos (Chen , Cheng, y Creamer, 2008).



Las sustancias tóxicas más comunes y típicos que se encuentran en los reactores anaerobios son sustancias orgánicas como bencenos halogenados, fenoles halogenados, fenol, compuestos alifáticos halogenados y ácidos grasos de cadena larga (AGCL); así como compuestos inorgánicos, como amoníaco, sulfuro y metales pesados (Lin Chen , Ortiz, W.J. Steele, y Stuckey, 2014).

Las sustancias inhibitoras son la principal causa de la alteración y fracaso del reactor anaerobio ya que están presentes en concentraciones sustanciales en las aguas residuales y lodos. Se ha reportado una amplia variedad de sustancias que pueden tener efectos inhibidores de los procesos de digestión anaerobia, algunas de ellas se presentan en la tabla 2 para cada etapa de la digestión anaerobia; también se presentan las concentraciones inhibitorias reportadas y los métodos usados para determinar inhibidores.



**Tabla 2.** Principales sustratos con sus respectivos productos e inhibidores para cada etapa.

Etapa	Sustrato	Productos	Inhibidores		Métodos para determinar inhibidores	Referencias
<b>Hidrólisis</b>	Proteínas	Aminoácidos	Nitrógeno amoniacal Valores inhibitorios de 5 g/L		Destilación	Lin Chen , Ortiz, W.J. Steele, y Stuckey (2014) Yenigün y Demirel (2013)
	Celulosa	Celobiosa y glucosa				
	Hemicelulosa	Glucosa, xilosa, manosa				
	Almidón	Glucosa				
	Grasas	Ácidos grasos y glicerol				
	Pectina	Galactosa, arabinosa y ácido poligalacturónico				
<b>Acidogénesis (fermentación y oxidación anaeróbica)</b>	Aminoácidos, glucosa, ácidos grasos, glicerol, butirato, lactato)	Ácidos grasos volátiles (acetato, propionato, butirato, lactato)	AGCL	Valor Inhibitorio	Cromatografía	Palatsi, Affes, Fernandez, Pereira, Alves, y Flotats (2012) Yang, Xu, Ge, y Li (2015) Palatsi, Laurení, Andrés, Flotats, Nielsen, y Angelidaki (2009) Palatsi (2009) Fernández, Sánchez, y Font (2005) Fernández, Sánchez, y Font (2005) Fernández, Sánchez, y Font (2005)
			Oleico	0.5 g/L		
			Propionato	3 g/L		
			Palmítico	0.11 g/L		
			Esteárico	0.15 g/L		
			Oleico	30-300 mg/L		
			Linoleico	30 mg/L		
			Esteárico	100-300 mg/L		
<b>Acetogénesis</b>	Ácidos grasos volátiles, lactato y alcoholes	Acetato, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> si su presión parcial es mayor a 745 mbar		Cromatografía	Cazier, Trably, Steyer, y Escudie (2015)
<b>Metanogénesis</b>	Acetato	Metano, CO <sub>2</sub>	Ácidos grasos volátiles, H <sub>2</sub>		Cromatografía	Lin Chen , Ortiz, W.J. Steele, y Stuckey (2014)



#### 6.4.4. Parámetros de diseño

El tiempo de retención, junto con la velocidad de carga orgánica determinada por el tipo de sustrato, son los principales parámetros de diseño, definiendo el volumen del digestor.

##### 6.4.4.1. Tiempo de retención

Con este término se designa al volumen de sustrato orgánico cargado diariamente al digestor. Este valor tiene una relación de tipo inversa con el tiempo de retención, dado que a medida que se incrementa la carga volumétrica disminuye el tiempo de retención.

Las bacterias requieren de un cierto tiempo para degradar la materia orgánica. La velocidad de degradación depende en gran parte de la temperatura; mientras mayor sea la temperatura, menor es el tiempo de retención o fermentación para obtener una buena producción de biogás.

En un digestor que opera a régimen estacionario o discontinuo (Batch), el tiempo de retención es el que transcurre entre la carga del sistema y su descarga.

En un sistema de carga diaria (régimen semicontinuo), el tiempo de retención va a determinar el volumen diario de carga que será necesario para alimentar al digestor, ya que se tiene la siguiente relación:

$$\frac{\text{Volumen del digestor (m}^3\text{)}}{\text{Tiempo de retención (días)}} = \text{Volumen de carga diaria (m}^3\text{/d)}$$

Mientras menor sea el tiempo de retención, el tamaño del digestor se reduce y también los costos.

Con relación al tipo de sustrato, generalmente los materiales con mayor proporción de carbono retenido en moléculas resistentes como la celulosa demandarán mayores tiempos de retención para ser totalmente digeridos.

El tiempo de retención usual en el rango mesofílico está entre 15 y 20 días, aunque este valor depende del tipo de reactor utilizado (Varnero Moreno, 2011).

#### 6.4.5. Tipos de reactores

Los biodigestores varían ampliamente de acuerdo con su complejidad y utilización. Los más sencillos caen dentro de la clasificación de digestores discontinuos o de cargas por lotes y los más complejos se caracterizan por poseer dispositivos que permiten alimentarlos, proporcionándoles calefacción y agitación. Resulta conveniente clasificarlos según su modo de operación con relación a su alimentación o carga en los siguientes tipos:

##### 6.4.5.1. Continuo

Cuando la alimentación del digestor es un proceso ininterrumpido, el efluente que descarga es igual al afluente o material de carga (que entra al digestor), con producciones de biogás, uniformes en el tiempo. Corresponde a plantas de gran capacidad, tipo industrial, en las





cuales se emplean equipos comerciales para alimentarlos, proporcionándoles calefacción y agitación, así como para su control. Dado que se genera una gran cantidad de biogás, habitualmente, éste se aprovecha en aplicaciones industriales (Varnero Moreno, 2011).

#### 6.4.5.2. *Semicontinuo*

Cuando la primera carga que se introduce al digestor consta de una gran cantidad de materias primas. Posteriormente, se agregan volúmenes de nuevas cargas de materias primas (afluente), calculados en función del tiempo de retención hidráulico y del volumen total del digestor. Se descarga el efluente regularmente en la misma cantidad del afluente que se incorporó. Este proceso es usado en el medio rural, cuando se trata de sistemas pequeños para uso doméstico (Varnero Moreno, 2011).

#### 6.4.5.3. *Batch*

Los digestores se cargan con las materias primas en una sola carga o lote. Después de un cierto período de fermentación, cuando el contenido de materias primas disminuye y el rendimiento de biogás decae a un bajo nivel, se vacían los digestores por completo y se alimentan de nuevo dando inicio a un nuevo proceso de fermentación. Esto se conoce también como digestores *Batch* (Varnero Moreno, 2011).

Este reactor consiste en una unidad de llenado y drenaje de un único depósito que utiliza el mismo tanque para el tratamiento. Por lo tanto, todos los pasos y procesos ocurren en un solo recipiente o tanque. En comparación con sistemas continuos, el reactor *batch* muestra mejor control del proceso y una mayor eficiencia del proceso. Este reactor se considera como una buena opción para aplicaciones de bajo flujo (Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin, 2015).

La alimentación o carga del digestor con la materia prima, sólida, seca, se realiza por lotes (discontinua) y la carga de los residuos estabilizados se efectúa una vez que ha finalizado la producción de biogás.

Ventajas del digestor batch (Varnero Moreno, 2011):

1. Simplicidad operativa.
2. Ocupa menor volumen de digestor por volumen de biogás producido, debido a la alta concentración de materia seca en el sustrato (40 – 60%).
3. Ocupa de 60 – 80% menos de agua que los digestores continuos y semicontinuos.
4. No forma costra ni necesita agitación diaria.
5. No sufre cambios de temperaturas violentos.
6. Ocupa menos mano de obra, ya que no necesita carga diaria, sino cada 2 o 3 meses para carga y descarga. Durante el resto del tiempo, basta amontonar el material a usar.
7. La mayor parte del bioabono se obtiene en forma sólida, siendo más fácil de esparcir en la preparación de suelos.



8. La corrosión de las tapas de los digestores es menor, debido a que éstas están insertas en un sello de agua.
9. No requiere de cuidados especiales que pueda causar accidentes en la fermentación anaeróbica.
10. Se puede construir sobre el suelo o semienterrado. Es ideal para localidades de nivel freático superficial o terreno en rocas.

A pesar de estas ventajas, la principal desventaja es la producción irregular de biogás y la inestabilidad en la población microbiana (Jain, Jain, Wolf, Lee, y Tong, 2015).

#### 6.4.6. Inóculo

El inóculo es de gran importancia ya que provee no solo a los microorganismos, sino a los macro y micro nutrientes, así como la capacidad de amortiguar el pH. Los efluentes de la digestión anaerobia húmeda y el digestato de la digestión anaerobia seca, son usualmente mejores fuentes de inóculo ya que poseen poblaciones más elevadas de metanógenos activos y ya están aclimatadas a las condiciones a las que se lleva a cabo la digestión anaerobia (Yang, Xu, Ge, y Li, 2015).

Además de las arqueas metanogénicas, las enzimas hidrolíticas pueden mejorar el rendimiento en la producción de metano. La relación óptima de enzimas hidrolíticas y arqueas metanogénicas en la digestión anaerobia se recomienda que sea de 24, menor que la relación en donde la hidrólisis es la etapa limitante y mayor que la relación en la que la metanogénesis es la etapa limitante (Yang, Xu, Ge, y Li, 2015).

La relación sustrato-inóculo (S/I) puede variar el rendimiento de la producción de metano. Una inoculación grande puede acortar el tiempo de producción de metano y generar una mayor cantidad, así como un exceso de inóculo puede reducir la producción volumétrica de metano. Para balancear esto, se sugiera una relación S/I de 2-3 con base en los sólidos volátiles (Yang, Xu, Ge, y Li, 2015).

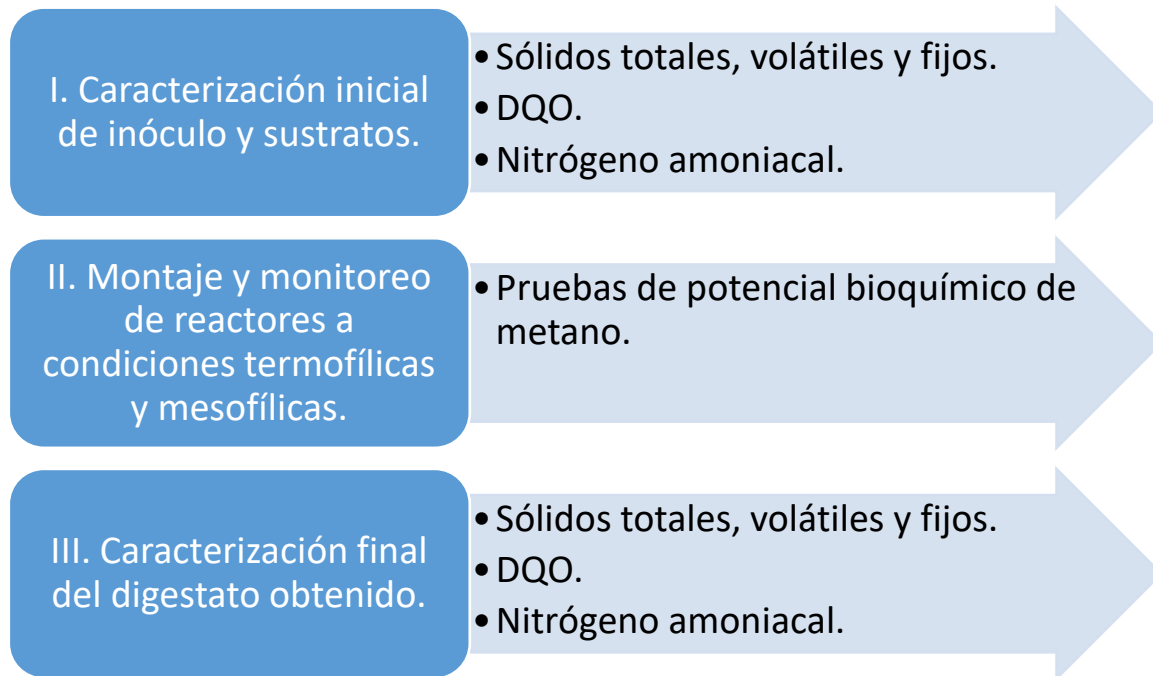
Se ha estudiado una amplia gama de relaciones S/I en digestión anaerobia seca con biomasa lignocelulósica. Se ha demostrado que las relaciones S/I comprendidas entre 2 y 3 (base sólidos volátiles) son adecuadas bajo condiciones mesófilas, mientras que a condiciones termófilas, se prefirió una relación F/I más alta, de 4-6 (Ge, Xu, y Li, 2016).



## 7. Metodología

Para lograr los objetivos planteados en este trabajo, la metodología experimental se dividió en tres etapas descritas en la figura 9.

Para este trabajo se usó como materia prima los residuos del trabajo de maestría de Carbonell Pérez (2016), en el que se produjo bioetanol como ya se describió en el apartado 5.3.4. Metodología para producir bioetanol.



*Figura 9. Esquema general de la metodología experimental.*

### 7.1. Etapa I: Caracterización inicial de inóculo y sustratos.

En esta etapa se determinaron las características físicas y químicas de los sustratos e inóculo con el fin de determinar la cantidad de nutrientes. Con base en esta caracterización se estableció la cantidad de inóculo y sustrato que se alimentarían en el potencial de metano.

Para caracterizar el inóculo se determinaron los sólidos totales, volátiles y fijos, la humedad y la demanda química de oxígeno (DQO). Para caracterizar los sustratos, se determinó también el nitrógeno amoniacal. Estas determinaciones fueron hechas con base en las técnicas estándar APHA citadas en la tabla 3.

#### 7.1.1. Inóculo

Se utilizó como inóculo lodos anaerobios provenientes de un reactor UASB de la planta de tratamiento de agua residual de Grupo Modelo SA de CV. Estos lodos fueron almacenados en un bidón de 20 L en el cuarto frío del Laboratorio 301 del Conjunto E de la Facultad de Química a 4° C. El inóculo se montó de manera aislada en un reactor llamado blanco.



### 7.1.2. Sustratos

Los sustratos utilizados en este trabajo fueron los residuos que quedaron luego de haber pasado por un proceso para producir bioetanol. Estos fueron residuos de maíz, cafetería y poda.

Los residuos de maíz corresponden a la hoja de maíz que es usualmente empleada para la elaboración de tamales. Según Carbonell Pérez, 2016, el material lignocelulósico presente en dicho sustrato corresponde al 63.3% de los sólidos volátiles de dicho residuo.

Los residuos de cafetería corresponden a residuos de alimentos que, al estar compuestos en su mayoría por material vegetal, se consideran como material lignocelulósico. Según Carbonell Pérez, 2016, la cantidad de material lignocelulósico para dicho sustrato es del 38.1% de los sólidos volátiles de dicho residuo.

Los residuos de poda corresponden a pastos, los cuales tienen un alto contenido de celulosa, de entre 40% y 50%. Según Carbonell Pérez, 2016, el material lignocelulósico representa el 44.1% de los sólidos volátiles de este residuo.

Dichos sustratos se encontraban en un medio acuoso y fueron puestos a baño maría durante 10 minutos para evaporar el alcohol que pudieran contener. Posteriormente fueron almacenados en tubos Falcon de 50 mL y puestos en el cuarto frío del Laboratorio 301 del Conjunto E de la Facultad de Química a 4° C para su posterior uso.

También se utilizó un cuarto sustrato: acetato de sodio con una concentración de 25 g/L. Este sustrato fue usado como un control positivo con la finalidad de usar como un sustrato ideal y poder comparar cualitativamente la producción de metano con los demás sustratos. Se eligió este sustrato debido a que el acetato, funciona como alimento ideal para las arqueas metanogénicas acetotróficas o acetoclásticas.

## 7.2. Etapa II: Montaje y monitoreo de reactores a condiciones mesofílicas y termofílicas.

En esta etapa se utilizó el potencial bioquímico de metano tanto a condiciones mesofílicas (37° C) como a condiciones termofílicas (58° C) con el fin de determinar la cantidad de metano generada. Estas pruebas duraron 20 días cada una. El pH se controló mediante una solución amortiguadora de fosfatos.

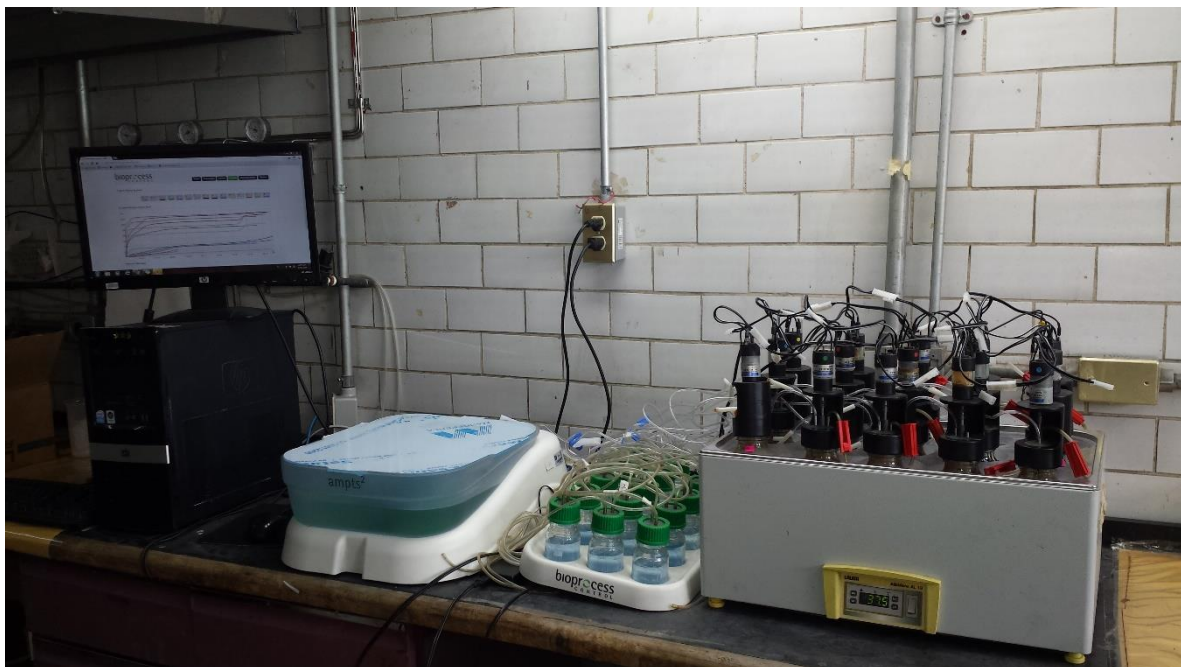
### 7.2.1. Potencial Bioquímico de Metano

Las pruebas de potencial bioquímico de metano se utilizan para determinar la biodegradabilidad anaerobia y determinar el potencial de metano final de residuos o biomasa, así como la velocidad de biodegradación en condiciones de laboratorio. Esta prueba se usa para medir la cantidad de metano producida por un sustrato (Bioprocess Control Sweden, 2011).

Las muestras tratadas en este trabajo fueron analizadas en el equipo de potencial bioquímico de metano AMPTS II (*Automatic Methane Potential Test System*) de la compañía Bioprocess Control de Suecia. La medición del volumen de biogás y los datos generados durante su uso son registrados de manera automática.

Este equipo está conformado por quince reactores, cada uno con un volumen de trabajo de 500 mL y con un sistema de agitación individual, una trampa con solución de NaOH 3N por la que pasa el biogás con la finalidad de capturar CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S, y un dispositivo de celdas multiflujo que cuantifica el volumen de metano. Los reactores se introducen en un baño maría para mantener constante la temperatura. El volumen de gas generado es registrado continuamente con respecto al tiempo para cada uno de los reactores mediante un sistema automatizado de medición de datos. El equipo se muestra en la figura 10.

Esta prueba consiste en colocar la muestra del sustrato junto con los lodos anaerobios en un reactor hermético. Para cada reactor se requieren 8 g de SV de inóculo 1.6 g de DQO de sustrato. La cantidad de inóculo adicionado en cada uno de los reactores es la misma mientras que para calcular el volumen de sustrato se determina primero la DQO para cada sustrato (Anexo 1).



**Figura 10.** Equipo AMPTS II de Bioprocess Control Sweden.

### 7.2.2. Arranque de prueba

Se montaron los reactores por triplicado, utilizando como sustratos los residuos de maíz, poda, cafetería y acetato de sodio. También se montaron reactores blancos, conteniendo únicamente inóculo sin sustrato alguno. Dichos reactores se muestran en la figura 11.

A los reactores se le agrega la cantidad calculada de inóculo y sustrato y con la solución amortiguadora se afora a 350 mL para mantener un pH neutro. También se le añade a cada reactor 1 mL de solución de micronutrientes (Anexo 1). Los reactores se colocan en un baño maría a temperatura y agitación constante.



*Figura 11. Reactores con inóculo y sustrato.*

### 7.3. Etapa III: Caracterización final del digestato obtenido.

En esta etapa se determinaron las características físicas y químicas del digestato obtenido una vez que terminaron las pruebas en el potencial bioquímico de metano. Esto con la finalidad de calcular la remoción de materia orgánica.

Para esta etapa, se emplearon las técnicas analíticas para determinar la humedad, sólidos totales, volátiles y fijos, demanda química de oxígeno (DQO) y nitrógeno amoniacal, de acuerdo a las técnicas estandarizadas APHA citadas en la tabla 3 y descritas en el anexo 4.

### 6.4. Técnicas Analíticas

Las técnicas analíticas empleadas durante el desarrollo experimental están basadas en las técnicas estandarizadas APHA (American Public Health Association (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater, 2005). Dichas técnicas se muestran en la tabla 3 y se encuentran descritas en el anexo 4.



*Tabla 3. Técnicas y parámetros para la caracterización de muestras.*

<b>Determinación</b>	<b>Método</b>	<b>Observaciones</b>
<b>Humedad</b>	APHA 2540-B	Gravimetría. Se obtiene por diferencia entre la masa inicial y los sólidos totales determinados.
<b>Sólidos Totales (ST)</b>	APHA 2540-G	Gravimetría. Sólidos secados a una temperatura de 103 a 105° C.
<b>Sólidos Volátiles y Fijos (SV, SF)</b>	APHA 2540-E	Gravimetría. Sólidos secados a 103-105° C e incinerados a 550° C.
<b>Demanda Química de Oxígeno (DQO)</b>	APHA 5220-D	Espectrofotometría. Digestión por reflujo cerrado a 150° C con reactivos preparados. Lectura a 600 nm.
<b>Nitrógeno Amoniacal</b>	APHA 4500-NH <sub>3</sub> -B	Destilación a una solución indicadora de ácido bórico y titulación con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .
<b>Potencial de Metano</b>	AMPTS II	Medición del biogás a partir de la digestión de 1.6 g de DQO de muestra inoculada con 8 g de SV de inóculo.



## 8. Resultados

### 8.1. Caracterización de inóculo y sustratos

En las tablas 4, 5 y 6 se observan la caracterización inicial tanto para el inóculo como los sustratos usados en este trabajo.

**Tabla 4.** Caracterización de inóculo.

<b>Humedad (%)</b>	93.68 ± 0.21
<b>ST (mg/L)</b>	78.02 ± 5.22
<b>SV (mg/L)</b>	65.60 ± 4.43
<b>SF (mg/L)</b>	12.42 ± 0.79
<b>DQO (g<sub>O2</sub>/L)</b>	24.97 ± 0.82

En esta tabla se observa que del inóculo, 65.5 mg/L corresponden a sólidos volátiles, mientras que 12.42 g/L corresponden a los sólidos fijos. Los sólidos volátiles corresponden a la materia orgánica, es decir, biomasa en forma de bacterias y arqueas metanogénicas (o microorganismos anaerobios); mientras que los sólidos fijos corresponden a material recalcitrante, es decir, material que no va a degradarse durante la digestión anaerobia.

También cabe mencionar que la humedad al representar el 93.68% indica que la proporción de sólidos totales fue del 6.32%, o bien, 78.02 mg/L como se indica en la tabla. Esto significa que el inóculo se encontraba en un medio acuoso donde por cada litro de inóculo, 78.02 mg correspondían a los lodos anaerobios.

En las tablas 5 y 6 se muestran las caracterizaciones de los sustratos usados para la digestión anaerobia, mientras que en la figura 12 se muestran los sustratos empleados.





**Figura 12.** Residuos de poda, cafetería y maíz, respectivamente, empleados como sustratos.

Como puede apreciarse en la figura 12, los sustratos utilizados se encontraron en un medio acuoso.

**Tabla 5.** Caracterización de sustratos.

	<b>Poda</b>	<b>Maíz</b>	<b>Cafetería</b>
<b>Humedad %</b>	96.16 ± 0.46	96.56 ± 0.01	93.23 ± 0.17
<b>ST (mg/L)</b>	42.96 ± 1.27	38.64 ± 0.46	77.81 ± 6.92
<b>SF (mg/L)</b>	17.30 ± 2.49	17.84 ± 0.34	34.70 ± 4.67
<b>SV (mg/L)</b>	25.67 ± 1.23	20.80 ± 0.12	43.11 ± 2.25
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N (mg/L)</b>	64.4 ± 3.96	81.2 ± 3.96	109.2 ± 3.96

**Tabla 6.** Caracterización de sustratos (DQO).

	<b>DQO (gO<sub>2</sub>/L)</b>	<b>DQO (gO<sub>2</sub>/kg)</b>
<b>Poda</b>	7.88 ± 0.79	7.97 ± 0.80
<b>Maíz</b>	30.10 ± 0.69	31.16 ± 0.71
<b>Cafetería</b>	31.25 ± 1.59	32.30 ± 1.64
<b>Acetato de Sodio</b>	14.06 ± 0.40	15.04 ± 0.42

En cuanto a los sólidos totales de los sustratos, es posible observar que, en relación con las humedades, los residuos de cafetería son los que más sólidos totales tuvieron con un 6.77%



mientras que los residuos de poda y maíz tuvieron la mitad de esto con 3.84% y 3.44% respectivamente. Cabe destacar que, en cuanto a sólidos volátiles, los residuos de cafetería fueron los que contenían más materia orgánica susceptible de ser degradada con 43.11 mg/L. Le siguen los residuos de poda con 25.67 mg/L y los residuos de maíz con 20.80 mg/L.

Estos tres residuos provienen de materiales lignocelulósicos que fueron previamente fermentados. Es decir, tanto su hemicelulosa y celulosa fue oxidada para producir azúcares y bioetanol. La lignina al no ser utilizada en cantidades significativas durante la fermentación, es probable que se haya quedado en los residuos usados en este trabajo y sea el motivo por el cual hay una cantidad significativa de sólidos fijos dentro de nuestros sustratos. Los materiales orgánicos ricos en lignina y celulosa cristalina son muy recalcitrantes a la biodegradación bajo condiciones anaerobias (Ahring, Biswas, Ahamed, Teller, y Uellendahl, 2015).

En cuanto a la DQO se puede decir que los residuos de poda fueron los que obtuvieron una DQO más baja con 7.88 g<sub>O2</sub>/L, mientras que los residuos de maíz y cafetería obtuvieron una DQO de 30.10 g<sub>O2</sub>/L y 31.25 g<sub>O2</sub>/L. Esto significa que los residuos de poda tienen menos material orgánico que puede ser oxidado comparado a los otros sustratos, por este motivo, los residuos de poda requieren de una mayor cantidad en volumen para meter 1.6 g de DQO a los reactores.

Cabe mencionar que también se usó un cuarto sustrato: acetato de sodio en una concentración de 25 g/L con la finalidad de ser un control positivo y su DQO fue de 14.06 g<sub>O2</sub>/L.

Para evitar posibles inhibiciones dentro de nuestro sistema, se midió el nitrógeno amoniacal rondando entre los 64.4 mg/L de los residuos de poda, y los 109.2 mg/L de los residuos de cafetería. Se observó que, de acuerdo con la bibliografía, no rebasan los 5 g/L que son susceptibles de causar una inhibición (Yenigün y Demirel, 2013) por lo que, en teoría, los sustratos utilizados no deberían tener problemas de inhibición.

Durante la degradación biológica de los sustratos, es posible que se formen compuestos inhibidores como el nitrógeno amoniacal. Por encima de ciertas concentraciones, el nitrógeno amoniacal causa inestabilidad en el proceso, el cual es indiciado por una disminución la producción de metano. Para superar este problema, se puede diluir el contenido del reactor o del sustrato, o bien, ajustar la relación C/N de la materia prima alimentada (Mata-Alvarez, 2003). Al tratarse de una digestión anaerobia húmeda, en la que la solución amortiguadora de fosfatos le fue añadida, se optó por una dilución.

## 8.2. Prueba de Potencial Bioquímico de Metano

Esta prueba permitió evaluar la producción de metano a diferentes condiciones. Para ello, se reportó la cantidad de metano producido a lo largo de la experimentación. Las gráficas

completas producidas a partir de esta prueba se encuentran en el anexo 2, y las gráficas simplificadas con análisis estadístico se encuentran en el anexo 3.

### 8.2.1. Condiciones termofílicas

A estas condiciones se montaron reactores con cada uno de los sustratos y reactores únicamente con inóculo (blancos) durante 21 días. Se realizaron cinco pruebas por triplicado dando un total de 15 reactores: tres blancos, tres con acetato de sodio, tres con residuos de poda, tres con residuos de maíz y tres con residuos de cafetería.

En esta sección únicamente se reportan los datos más significativos a estas condiciones. La gráfica completa se puede ver en el anexo 2.

#### 8.2.1.1. Producción de metano

En la figura 13 se presenta la gráfica del comportamiento de la Prueba de Potencial Bioquímico de Metano que duró 21 días a condiciones termofílicas (56-58°C).

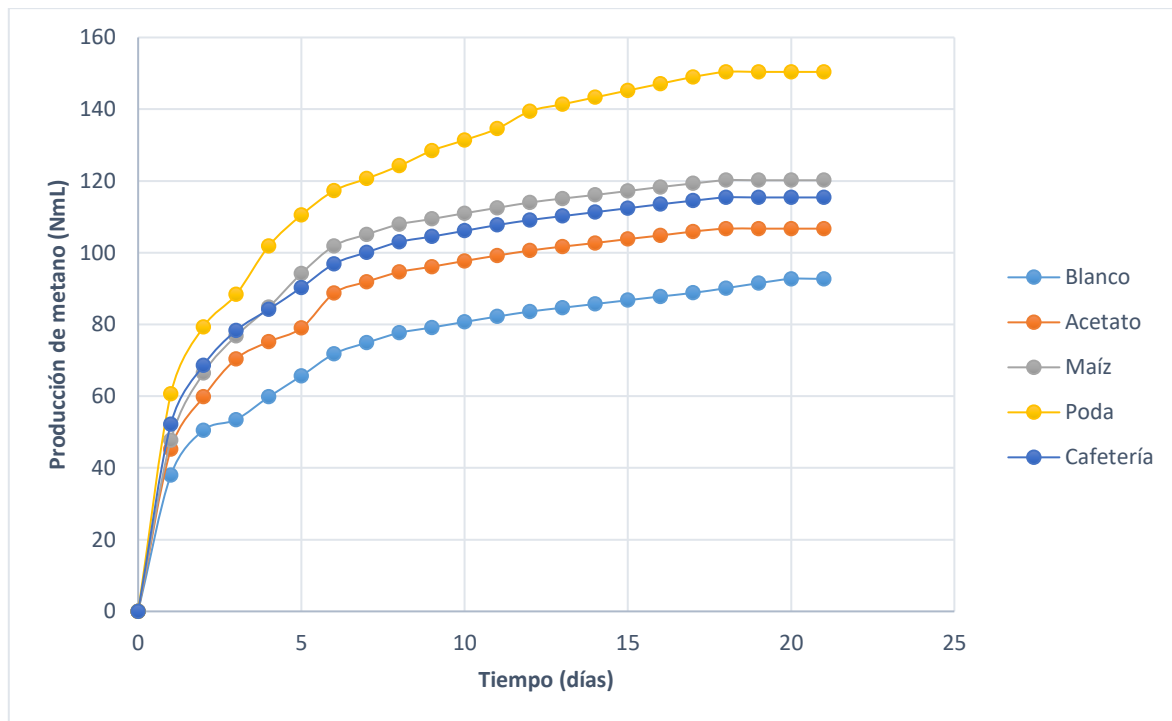


Figura 13. Producción bruta de metano a 56-58°C (NmL).

El reactor con acetato de sodio como sustrato al funcionar como blanco positivo y tener una producción por encima del blanco indica que está funcionando adecuadamente ya que tiene el comportamiento que se esperaba. Al existir dos vías para la generación de metano, a través de arqueas metanogénicas acetoclásticas y arqueas metanogénicas hidrogenotróficas, es de esperarse que el acetato de sodio forme metano únicamente por vía acetoclástica. También se esperaba que los sustratos de residuos lignocelulósicos



tuvieran una mayor producción de metano que el blanco y el acetato de sodio, debido a que ocupan las dos vías de producción de metano, lo cual también se lleva a cabo.

Como se observa en la gráfica, los residuos de poda (150.4 NmL de metano) fueron el sustrato que más metano produjo a lo largo de la prueba experimental, seguido por los residuos de maíz (120.2 NmL de metano), los residuos de cafetería (115.4 NmL de metano) y el acetato de sodio (106.7 NmL de metano).

A partir de estos resultados se calculó la producción específica de metano al restar la producción del blanco a los demás sustratos, llegando a la gráfica de la figura 14.

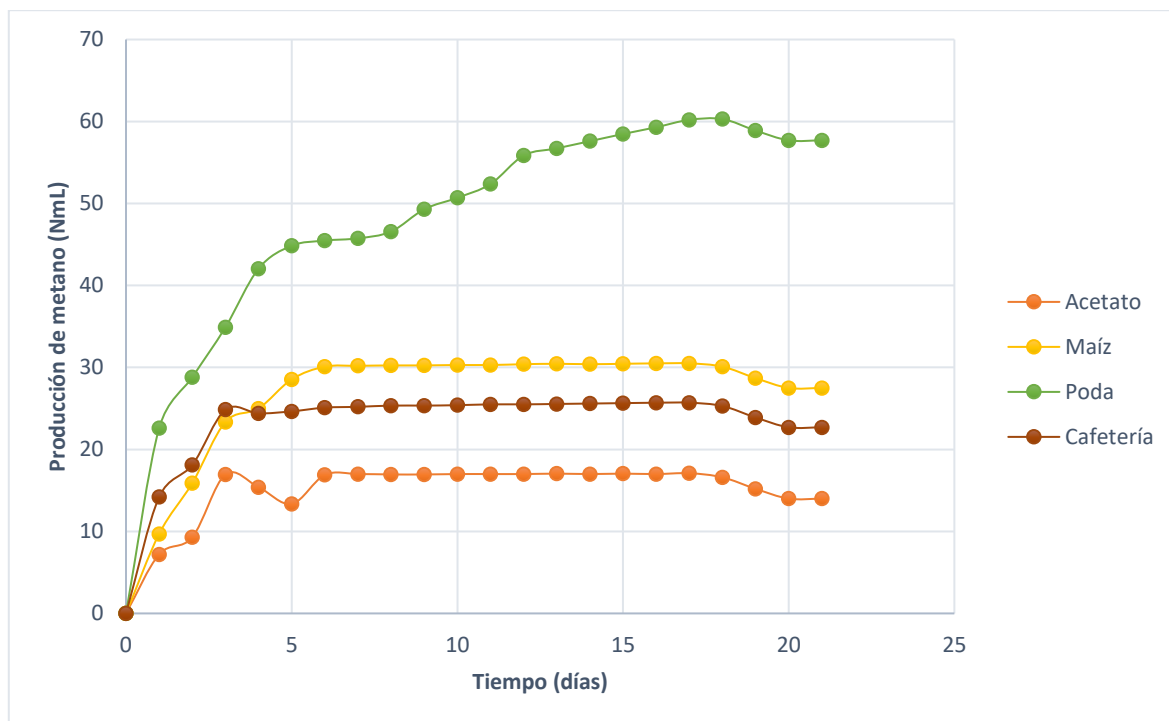


Figura 14. Producción específica de metano a 56-58°C (NmL).

En la figura 14 se observa la producción específica de metano para cada sustrato usado. En este caso es notorio que el sustrato que produjo una mayor cantidad de biogás a condiciones termofílicas fue el de residuos de poda, seguido de residuos de maíz y residuos de cafetería.

Sin embargo, hay que mencionar el hecho que estos resultados no están considerando la cantidad de DQO que le fue añadida en cada sustrato que fue de 1.6 g DQO. En la figura 15 se presenta el volumen de metano producido por cada 1.6 g de DQO.

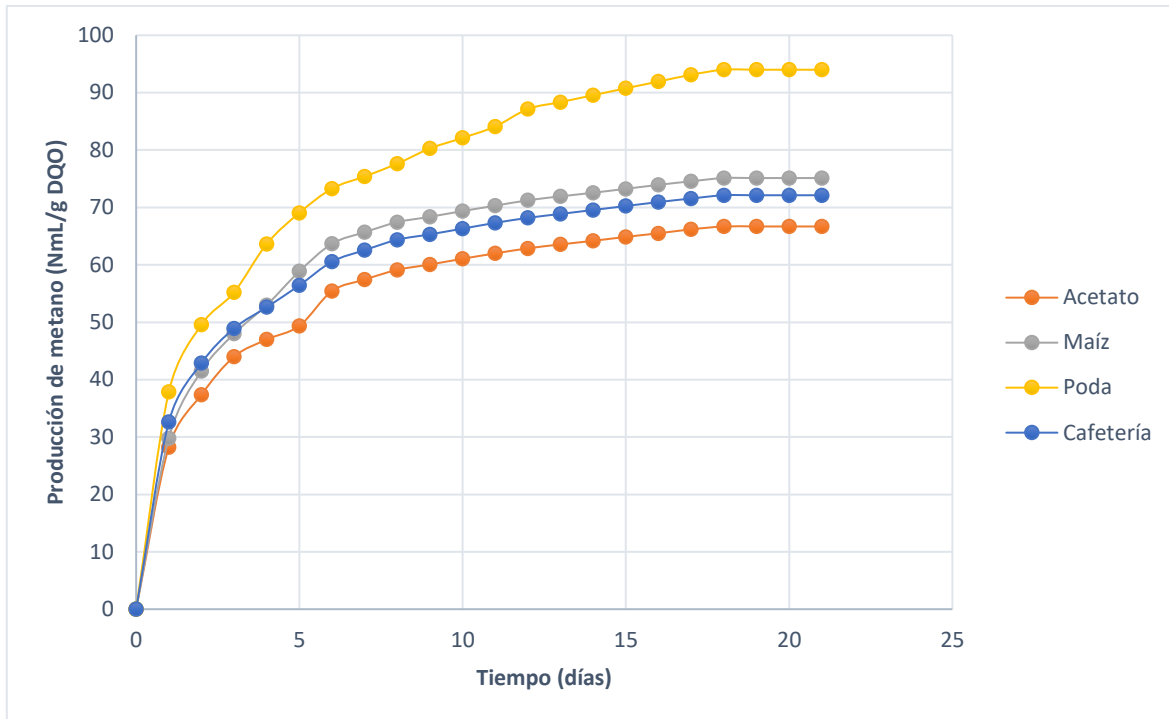


Figura 15. Producción bruta de metano a 56-58°C (NmL/g DQO).

En la figura 15 se observa que por cada 1.6 g de DQO de sustrato se produjo cierta cantidad de metano, siendo los residuos de poda el sustrato que más metano produjo por gramo de DQO (94 NmL/g DQO). Le siguen en orden de producción de metano los residuos de maíz (75.13 NmL/g DQO), los residuos de cafetería (72.13 NmL/g DQO) y el acetato de sodio (66.69 NmL/g DQO).

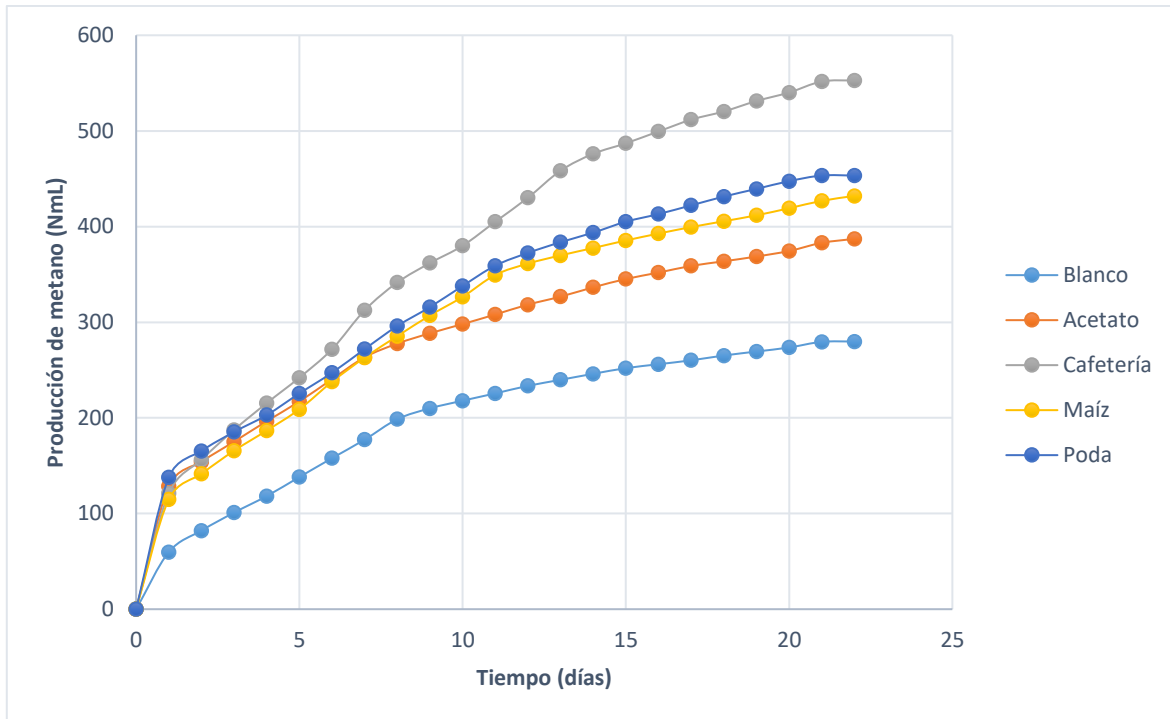
#### 8.2.2. Condiciones mesofílicas

A estas condiciones se montaron 13 reactores durante 22 días. Dos blancos, dos con acetato de sodio, tres con residuos de poda, tres con residuos de maíz y tres con residuos de cafetería. Esto debido a que las baterías de los agitadores al estar conectadas en serie no funcionaban adecuadamente con los 15 reactores.

En esta sección únicamente se reportan los datos más significativos a estas condiciones. La gráfica completa puede verse en el anexo 2.

##### 8.2.2.1. Producción de metano

En la figura 16 se presenta la gráfica del comportamiento de la Prueba de Potencial Bioquímico de Metano que duró 22 días a condiciones mesofílicas (37°C).



**Figura 16.** Producción bruta de metano a 37°C (NmL).

A estas condiciones el reactor con acetato de sodio como sustrato se encuentra por encima del blanco, lo cual era el comportamiento esperado. Los sustratos de residuos lignocelulósicos se encuentran por encima del blanco y del acetato de sodio. Nuevamente es el comportamiento que se esperaba en la gráfica.

En la figura 16 se muestra que el sustrato que produjo una mayor cantidad de metano fue el sustrato de residuos de cafetería (552.9 de metano), seguido por residuos de poda (453.4 NmL de metano), residuos de maíz (432.1 NmL de metano) y acetato de sodio (387.2 NmL de metano).

A partir de los datos de la figura 16 es posible calcular la producción específica de metano durante los 22 días que duró la prueba. La grafica de la producción específica se muestra en la figura 17.

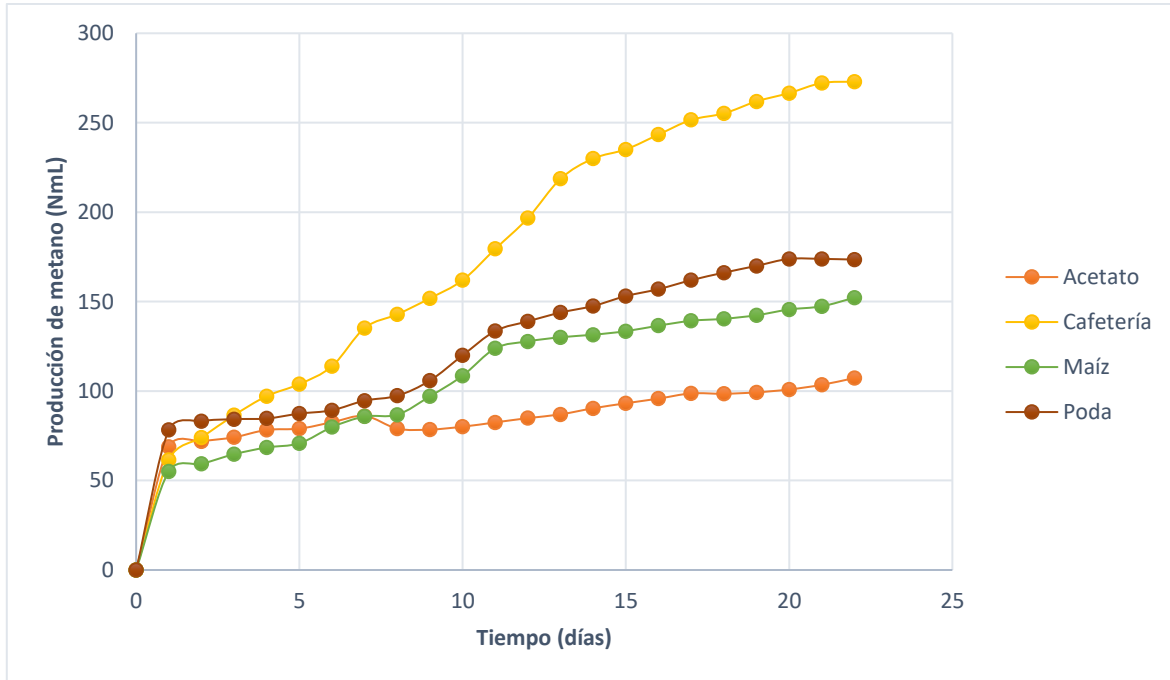


Figura 17. Producción específica de metano a 37°C (NmL).

En la figura 17 es posible observar con mayor claridad que los residuos de cafetería produjeron una mayor cantidad de metano, seguidos por los de poda y maíz.

En la figura 18 se muestra el volumen de metano producido por 1.6 g de DQO de sustrato.

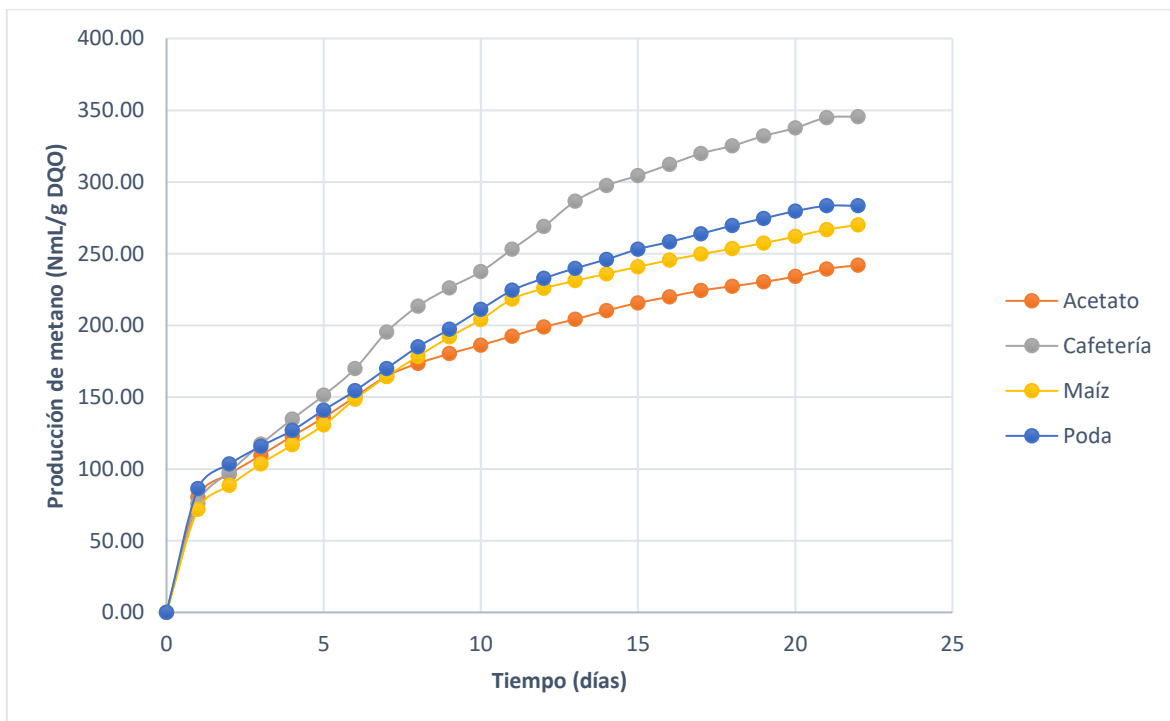
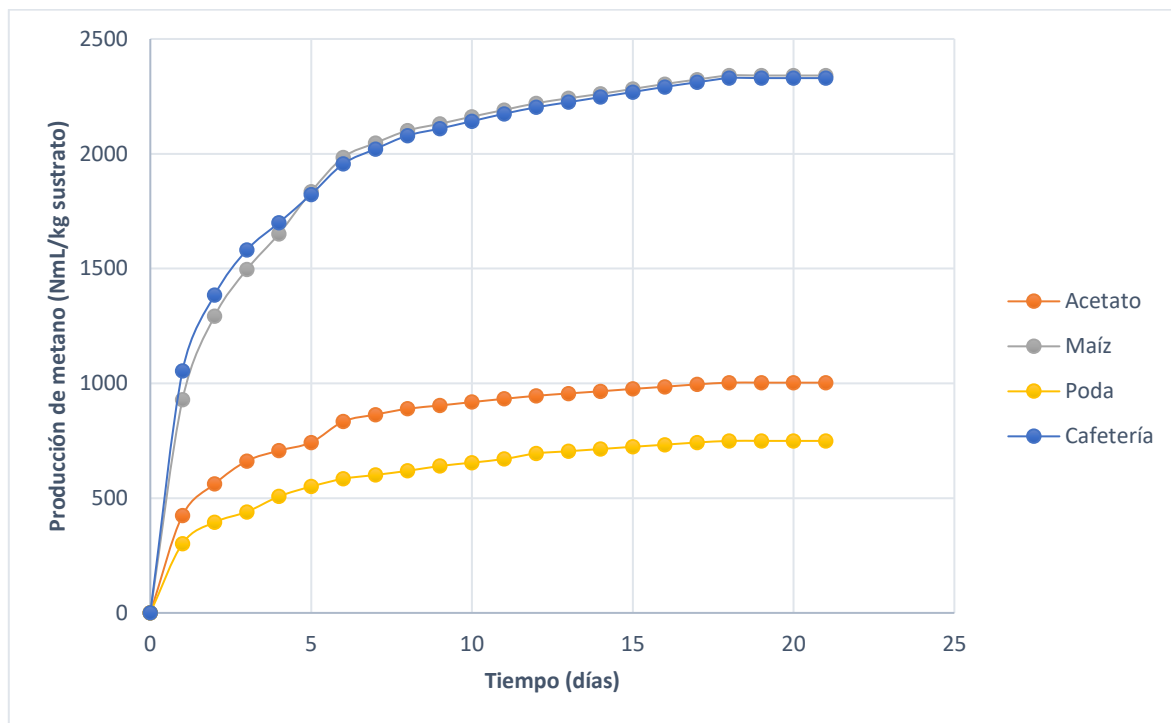


Figura 18. Producción bruta de metano a 37°C (NmL/g DQO).

En la figura 18 se puede observar que los residuos de poda (283.38 NmL/g DQO) fueron los que generaron una mayor cantidad de metano por gramo de DQO, seguidos de los residuos de cafetería (345.53 NmL/g DQO). Los residuos de maíz (270.06 NmL/g DQO) y acetato de sodio (242 NmL/g DQO) generaron una menor cantidad de metano por gramo de DQO.

Para facilitar la interpretación de datos, se convirtió la producción de metano a volumen de metano por masa de sustrato, llegando a los resultados mostrados en las gráficas de las figuras 19 y 20. En estas gráficas se observa la cantidad de metano que puede producirse por cada kg de sustrato.

En la figura 19 se observa la producción de metano a condiciones termofílicas. En esta gráfica se ve que los residuos tanto de maíz como de cafetería producen una mayor cantidad de metano por kg de sustrato.



**Figura 19.** Producción bruta de metano a 56-58°C (NmL/kg).

A diferencia de la gráfica en la figura 15 donde se aprecia que los residuos de poda generan una mayor cantidad de metano, en la gráfica de la figura 19 se muestra todo lo contrario. Esto se debe a que los residuos de poda, al tener la DQO más baja de todos los sustratos empleados, requirieron una mayor cantidad para alimentar 1.6 g de DQO al reactor. Dicho de otra forma, debido a su baja DQO, se requirió una mayor cantidad en masa de sustrato. Debido a esto la producción por kg de residuos de poda es muy baja.



En la gráfica de la figura 19 se observa que los sustratos de residuos de cafetería y maíz son los que producen una mayor cantidad de metano siendo de 2,330 NmL/kg y 2,341 NmL/kg respectivamente.

En la figura 20, se muestra la producción de metano a condiciones mesofílicas. En esta gráfica, nuevamente se aprecia que los residuos de maíz y cafetería produjeron una mayor cantidad de metano, mientras que la poda volvió a ser el sustrato que menor producción presentó.

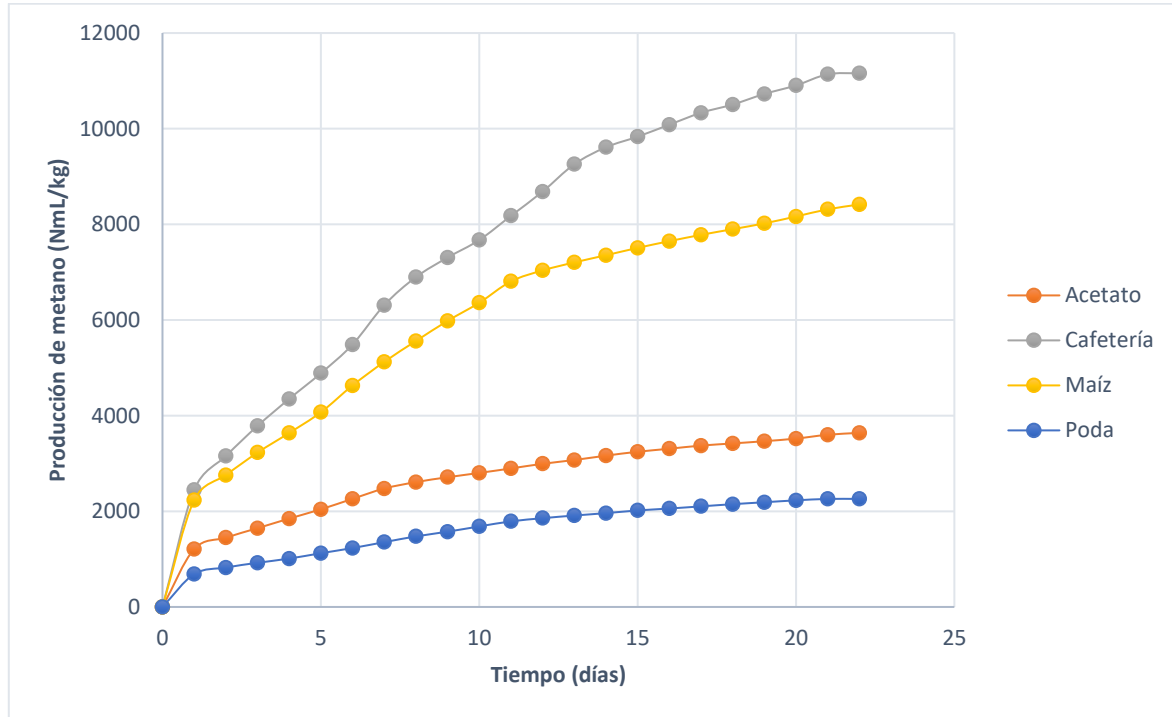


Figura 20. Producción bruta de metano a 37°C (NmL/kg).

De acuerdo con la figura 20, la menor producción de metano por kg de sustrato fue con los residuos de poda. Nuevamente esto se explica debido a su cantidad baja de DQO que requiere de una mayor cantidad en masa. La mayor producción de metano fue con los residuos de cafetería llegando a 11,162 NmL/kg y es seguida de los residuos de maíz con 8,415 NmL/kg.

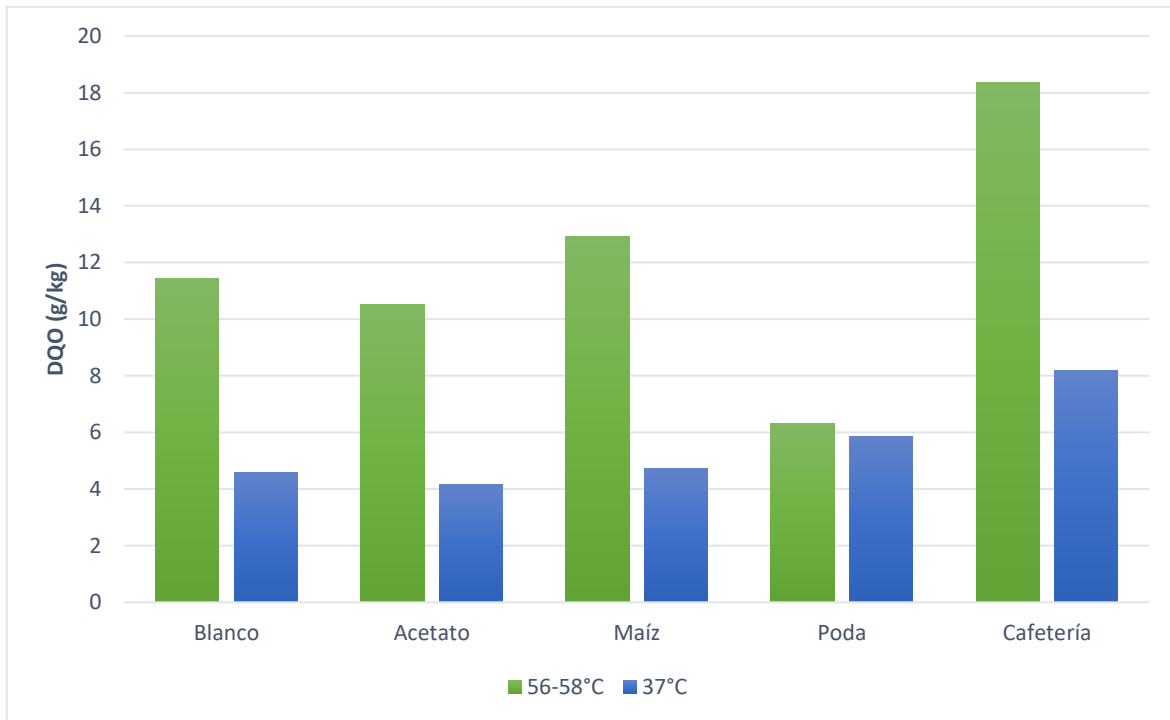
Los resultados de las figuras 19 y 20 vienen más adelante en la tabla 8.

### 8.3. Caracterización del digestato

Al finalizar las pruebas con el potencial bioquímico de metano, se analizó el digestato obtenido de dichas pruebas. Esto se hizo con la finalidad de comparar la remoción de nutrientes, posibles inhibiciones y buscar alguna relación con la producción de metano.

En cuanto a la DQO se hizo una comparación entre los reactores termofílicos y mesofílicos. La DQO es una medida de materia orgánica, si es alta significa que tiene una cantidad mayor

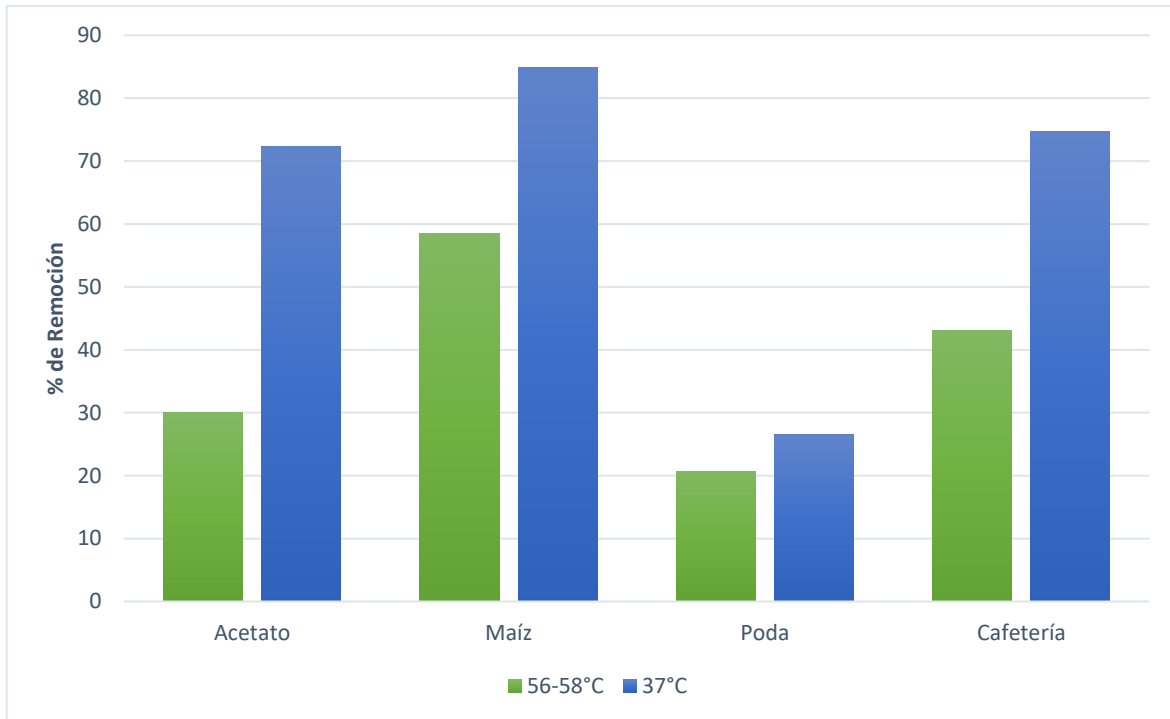
de materia orgánica que puede ser degradada. En la figura 21 se muestra una comparación de la DQO residual de los digestatos de los reactores a condiciones termofílicas y mesofílicas.



**Figura 21.** DQO residual del digestato.

En la gráfica de la figura 21 se observa que, en general, la DQO residual de los digestatos de los reactores a condiciones mesofílicas es menor comparados a los reactores a condiciones termofílicas. Esto quiere decir que los reactores mesofílicos tuvieron una menor cantidad de materia orgánica capaz de ser degradada. Sin embargo, aunque los reactores termofílicos tenían mayor cantidad de materia orgánica, ésta no fue degradada como se esperaba.

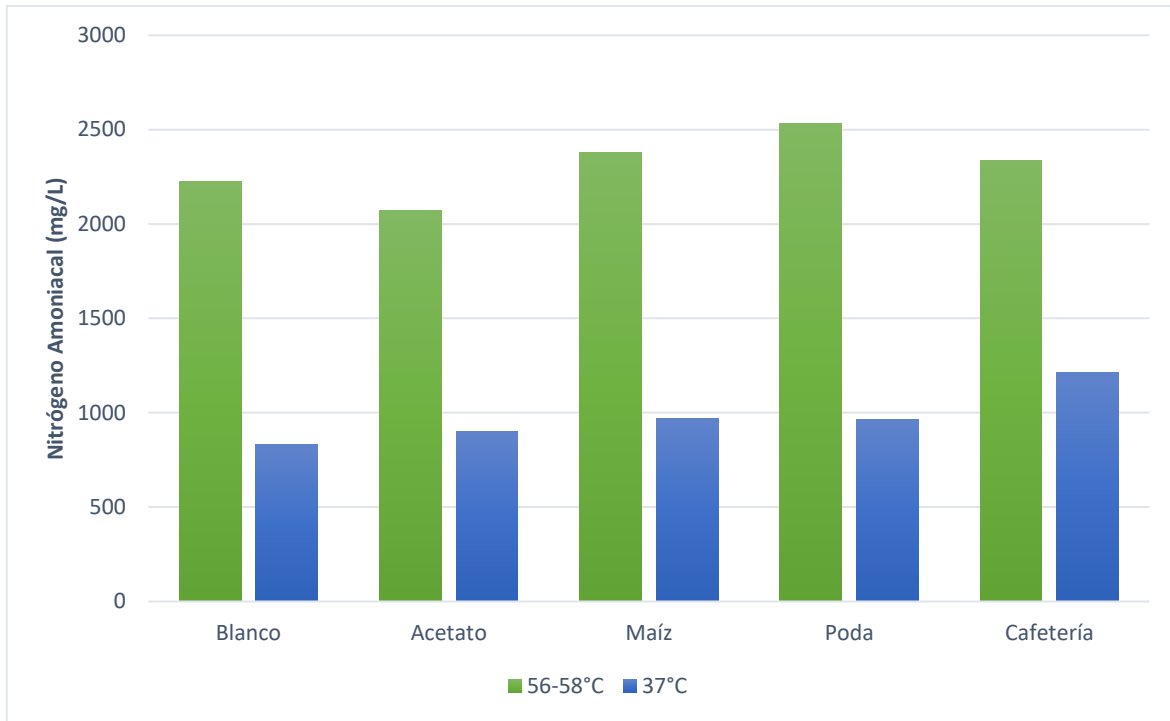
En la gráfica de la figura 22 se observa la remoción de DQO para cada reactor a diferentes condiciones.



**Figura 22.** Remoción de DQO del digestato.

En la gráfica de la figura 22 se observa que la remoción, en general, es mayor para los reactores mesofílicos. Si comparamos esto con la gráfica de la figura 21, podemos concluir que los reactores a condiciones mesofílicas al tener una remoción elevada, resultaron en una menor cantidad de materia orgánica. En cambio, con los reactores termofílicos, observamos que la remoción fue menor y por lo tanto quedó una mayor cantidad de materia orgánica en el digestato.

En la figura 23 se hace una comparación de nitrógeno amoniacal entre los reactores a condiciones termofílicas y a condiciones mesofílicas.



**Figura 23.** Nitrógeno amoniacal del digestato.

Para el caso de nitrógeno amoniacal, en la figura 23 se puede apreciar que los reactores a condiciones termofílicas tuvieron una mayor cantidad de nitrógeno amoniacal que a condiciones mesofílicas.

De los reactores termofílicos se puede concluir que al tener una mayor cantidad de nitrógeno inorgánico, se produjo una baja cantidad de metano. La presencia de nitrógeno amoniacal fue tóxica para las arqueas metanogénicas, por lo que disminuyó su población. Se sabe que los metanógenos acetoclásticos son más sensibles a la presencia de nitrógeno amoniacal en comparación con los metanógenos hidrogenotróficos (Yenigün y Demirel, 2013), lo cual explica la baja cantidad de metano producida a estas condiciones. Relacionando esto con la cantidad de DQO, se observa que hay materia orgánica pero no hay producción de metano, lo cual indica que hay bacterias acidogénicas y acetogénicas pero no hay suficientes arqueas metanogénicas.

En cuanto a los reactores mesofílicos, la cantidad de nitrógeno inorgánico fue menor y se produjo una mayor cantidad de metano. Al ser menor la cantidad de nitrógeno amoniacal, no hubo inhibiciones. Relacionando con la cantidad de DQO, se observa que, comparado con los reactores a condiciones termofílicas, a condiciones mesofílicas hay una mayor remoción de DQO y por lo tanto queda una menor cantidad de materia orgánica capaz de ser degradada.



#### 8.4. Relación bioetanol-digestión anaerobia

De acuerdo con Carbonell Perez (2016), al utilizar una concentración alta de enzimas equivalente a 80 mg de la CELUZYME y 600  $\mu\text{L}$  de CELUZYME XB, un pretratamiento mecánico, combinado con uno químico de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  diluido para la hidrólisis y un tiempo de proceso de 72 horas, se obtuvieron los siguientes volúmenes de bioetanol por base seca de sustrato:

**Tabla 7.** Producción de bioetanol por Rayner Carbonell Pérez (2016).

Sustrato	Bioetanol (mL/kg)*
Poda	188.5
Cafetería	282.8
Maíz	257.7

\* La unidad es mL de bioetanol por kg de base seca.

De acuerdo con los resultados experimentales de esta tesis, se obtuvo la producción de metano mostrada en la tabla 8.

**Tabla 8.** Producción bruta de metano.

		Poda	Cafetería	Maíz
<b>Producción de metano a 56-58°C</b>	(NmL <sub>CH4</sub> /kg sustrato)	749	2,330	2,341
	(NmL <sub>CH4</sub> /g SV)	18	55	53
	(NmL <sub>CH4</sub> /g DQO)	94	72	75
<b>Producción de metano a 37°C</b>	(NmL <sub>CH4</sub> /kg sustrato)	2,259	11,162	8,415
	(NmL <sub>CH4</sub> /g SV)	53	266	189
	(NmL <sub>CH4</sub> /g DQO)	283	346	270

Para poder comparar los resultados de esta tesis con datos reportados por otros autores, se hizo una conversión de unidades en la producción de metano (mL<sub>CH4</sub>/g SV). Dicha conversión puede verse en las gráficas del anexo 3.

De acuerdo a estos resultados, podemos concluir que para el caso de la producción de bioetanol es más conveniente usar los residuos de cafetería como materia prima ya que producen una mayor cantidad de bioetanol, seguido del maíz y al final de la poda. Tomando en cuenta que para la digestión anaerobia se utilizó como sustrato esta misma materia prima después de haber producido bioetanol, se puede observar que los residuos de cafetería y maíz fueron los que más metano produjeron, mientras que la poda produjo una cantidad significativamente menor.

Los resultados experimentales de este trabajo fueron comparados con datos teóricos mostrados en la tabla 9.



**Tabla 9.** Producción de metano según diferentes autores.

Materia prima	Producción de metano	Referencia
Poda (recortes de jardín)	44.6 mL/g SV	Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin (2015)
	74 m <sup>3</sup> /ton SV	Ge, Xu, y Li (2016)
Cafetería (alimentos)	330 mL/g DQO	Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin (2015)
	430 mL/g SV	Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin (2015)
Maíz (paja de maíz)	216.7 mL/g SV	Chunlan, Yongzhong, Xiaojiao, y Guangxin (2015)
	239 m <sup>3</sup> /ton SV	Ge, Xu, y Li (2016)

De acuerdo con los datos de la tabla 9, y comparado con los resultados experimentales de esta tesis los cuales están reportados en la tabla 8, es posible observar que a condiciones termofílicas, la producción de metano es muy baja comparada con la reportada por otros autores. Mientras que, a condiciones mesofílicas la producción de metano reportada en esta tesis es similar a la reportada por otros autores.

Para los residuos de poda, otros autores reportan una producción de metano entre 44.6 y 74 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SV. En esta tesis se produjeron 18 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SV a condiciones termofílicas, quedando muy por debajo de lo reportado por otros autores, y 53 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SV a condiciones mesofílicas, quedando dentro del rango reportado.

Para los residuos de maíz, se reportaron producciones de metano que rondaban entre 216.7 y 239 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SV. En esta tesis se produjeron 53 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SV a condiciones termofílicas y 189 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SV a condiciones mesofílicas. Ambos valores quedan por debajo de lo reportado, sin embargo, al haber producido bioetanol antes, esto podría justificarse.

Para los residuos de cafetería, se reportó una producción de metano de de 430 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SV. En esta tesis a condiciones termofílicas se produjeron 55 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SV y 266 mL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/g SV a condiciones mesofílicas. En este caso, al igual que con el maíz, los valores por debajo de lo reportado pueden justificarse con la producción previa de bioetanol.

Con estos datos podemos concluir que a condiciones mesofílicas, los resultados experimentales de esta tesis fueron satisfactorios.



## 9. Conclusiones

Los procesos de producción combinados de bioetanol y biogás tienen el potencial de aumentar el rendimiento energético de la producción de biocombustibles en comparación con los procesos de producción de bioetanol o biogás separados.

Uno de los desafíos principales en el uso de biomasa lignocelulósica para la producción de biogás, es su estructura y composición recalcitrante. Para poder aprovechar mejor esta materia prima, es necesario un pretratamiento para poder separar la celulosa y hemicelulosa de la lignina, y así facilitar la hidrólisis y consecuentemente aumentar la producción de metano.

La poda (7.97 g<sub>O2</sub>/kg), al tener una DQO menor al de la cafetería (32.30 g<sub>O2</sub>/kg) y el maíz (31.16 g<sub>O2</sub>/kg), requiere de una cantidad másica mayor para producir cierta cantidad de metano, mientras que los residuos de cafetería y maíz requieren de menor cantidad. Debido a esto, no es recomendable el uso de la poda como sustrato en digestión anaerobia.

A condiciones mesofílicas se produjo significativamente una mayor cantidad de metano, triplicando la producción de metano a condiciones termofílicas. Debido a esto y sumado al ahorro energético y a la estabilidad del sistema a condiciones mesofílicas, se recomienda emplear estas condiciones de temperatura.

Los residuos de maíz y cafetería son los sustratos que producen una mayor cantidad de metano por kg de sustrato, siendo a condiciones termofílicas de 2,341 NmL/kg y 2,330 NmL/kg; y a condiciones mesofílicas de 8,415 NmL/kg y 11,162 NmL/kg, respectivamente. Para la digestión anaerobia estos son los sustratos más recomendables.

La materia prima que produjo una mayor cantidad de bioetanol fue cafetería (282.8 mL/kg) y maíz (257.7 mL/kg). Los residuos de dicha materia prima a su vez produjeron la mayor cantidad de metano durante la digestión anaerobia, la cual, a condiciones mesofílicas fue de 8,415 NmL/kg de maíz y 11,162 NmL/kg de cafetería. Debido a esto, se considera que esta es la materia prima más adecuada para llevar a cabo un proceso de fermentación alcohólica seguido de una digestión anaerobia.

La producción secuencial de bioetanol y biogás mejoró el rendimiento de la biomasa lignocelulósica utilizada y aumentó la diversidad de los productos finales. De la fermentación alcohólica se obtiene bioetanol, de la digestión anaerobia metano, y de ambos procesos puede producirse calor y electricidad. Al obtener diferentes productos, se contribuye a la posibilidad de establecer una biorrefinería.



## Referencias

- Agbor , V., Cicek , N., Sparling, R., Berlin, A., & Levin, D. (2011). Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances* 29, 675–685.
- Ahring, B., Biswas , R., Ahamed , A., Teller, P., & Uellendahl, H. (2015). Making lignin accessible for anaerobic digestion by wet-explosion pretreatment. *Bioresource Technology*(175), 182-188.
- Alvarez Maciel, C. (2009). Biocombustibles: desarrollo histórico-tecnológico, mercados actuales y comercio internacional. *Economía Informa* 359, julio-agosto: 63-89.
- American Public Health Association (APHA). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (21 ed.). (2005). Washington, DC.
- Arbutó, J., Martínez , T., & Murrieta, F. (2008). Technical and economical evaluation of bioethanol production from lignocelulosic residues. *Tecnol. Ciencia, Educ.*, 23(1), 23-30.
- ATAG. (September de 2011). *Air Transport Action Group. Our Publications: Latest Publications*. Recuperado el 29 de Enero de 2017, de Beginner's guide to aviation biofuels: <http://www.atag.org/our-publications/latest.html>
- Balat, M. (2011). Production of bioethanol from lignocelulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management* 52, 858–875.
- Behera, S., Arora, R., Nandhagopal, N., & Kumar, S. (2014). Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocelulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*(36), 91-106.
- Bioprocess Control Sweden. (2011). *AMPTS II Automatic Methane Potential Test System: Operation and Maintenance Manual*. Recuperado el Agosto de 2016, de [www.bioprocesscontrol.com](http://www.bioprocesscontrol.com)
- Budzianowski, W. (2016). A review of potential innovations for production, conditioning and utilization of biogas with multiple-criteria assessment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*(54), 1148-1171.
- Carbonell Pérez, R. (2016). *Valorización de residuos orgánicos mediante el proceso de sacarificación y fermentación simultánea para la producción de bioetanol*. Tesis de maestría: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cazier, E., Trably, E., Steyer, J., & Escudie, R. (2015). Biomass hydrolysis inhibition at high hydrogen partial pressure in solid-state anaerobic digestion. *Bioresource Technology* 190, 106-113.
- Chen , Y., Cheng, J., & Creamer, K. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology* 99, 4044–4064.
- Chunlan, M., Yongzhong, F., Xiaojiao, W., & Guangxin, R. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 45, 540–555.





- Colazo, A.-B., Sánchez, A., Font, X., & Colón, J. (2015). Environmental impact of rejected materials generated in organic fraction of municipal solid waste anaerobic digestion plants: Comparison of wet and dry process layout. *Waste Management* 43, 84-97.
- Deublein, D., & Steinhauser, A. (2008). *Biogas from Waste and Renewable Resources: An Introduction* (First ed.). Weinheim: Wiley-VCH.
- Fernandes, D., Pereira, S., Serafim, L., Evtuguin, D., & Xavier, A. (2012). *Second Generation Bioethanol from Lignocellulosics: Processing of Hardwood Sulphite Spent Liquor, Bioethanol*. (Prof. Marco Aurelio Pinheiro Lima (Ed.) ed.). InTech. Obtenido de <http://www.intechopen.com/books/bioethanol/second-generation-bioethanol-from-lignocellulosics-processing-of-hardwood-sulphite-spent-liquor>
- Fernández, A., Sánchez, A., & Font, X. (2005). Anaerobic co-digestion of a simulated organic fraction of municipal solid wastes and fats of animal and vegetable origin. *Biochemical Engineering Journal*(26), 22-28.
- Ge, X., Xu, F., & Li, Y. (2016). Solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Recent progress and perspectives. *Bioresource Technology*(205), 239-249.
- Jain, S., Jain, S., Wolf, I., Lee, J., & Tong, Y. (2015). A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 52, 142-154.
- Kobayashi, H., Ohta, H., & Fuk, A. (2012). Conversion of lignocellulose into renewable chemicals by heterogeneous catalysis. *Catalysis Science & Technology*(2), 869–883.
- Kumar Khanal, S. (2008). *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications* (First ed.). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Lin Chen, J., Ortiz, R., W.J. Steele, T., & Stuckey, D. (2014). Toxicants inhibiting anaerobic digestion: A review. *Biotechnology Advances* 32, 1523–1534.
- Lin, Q., De Vrieze, J., Li, J., & Li, X. (2016). Temperature affects microbial abundance, activity and interactions in anaerobic digestion. *Bioresource Technology* 209, 228–236.
- Mass, D., Saady, N., & Gilbert, Y. (2015). Psychrophilic dry anaerobic digestion of cow feces and wheat straw: Feasibility studies. *Biomass and Bioenergy* 77, 1-8.
- Mata-Alvarez, J. (2003). *Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes* (First ed.). London: IWA Publishing.
- Palatsi, J., Affes, R., Fernandez, B., Pereira, M., Alves, M., & Flotats, X. (2012). Influence of adsorption and anaerobic granular sludge characteristics on long chain fatty acids inhibition process. *Water Research* 46, 5268-5278.
- Palatsi, J., Laurenzi, M., Andrés, M., Flotats, X., Nielsen, H., & Angelidaki, I. (2009). Strategies for recovering inhibition caused by long chain fatty acids on anaerobic thermophilic biogas reactors. *Bioresource Technology* 100, 4588-4596.



- Pandey, A., Höfer, R., Taherzadeh, M., Nampoothiri, K., & Larroche, C. (2015). *Industrial biorefineries and white biotechnology*. Waltham, MA, USA: Elsevier.
- Ritter, S. K. (2008). Lignocellulose: A Complex Biomaterial. *Chemical & Engineering News* 86, 15.
- Sawatdeenarunat, C., Surendra, K., Takara, D., Oechsner, H., & Kumar Khanal, S. (2015). Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*(178), 178-186.
- SEMARNAT. (2013-2014). *El Medio Ambiente en México*. Recuperado el 11 de Noviembre de 2016, de [http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe\\_resumen14/07\\_residuos/7\\_1\\_1.html](http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_resumen14/07_residuos/7_1_1.html)
- Taherzadeh, M., & Karimi, K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *International Journal of Molecular Sciences*(9), 1621-1651.
- Varnero Moreno, M. T. (2011). *Manual de Biogás* (Proyecto CHI/00/G32: Chile: Remoción de Barreras para la Electrificación Rural con Energías Renovables ed.). Santiago de Chile.
- Yang, L., Xu, F., Ge, X., & Li, Y. (2015). Challenges and strategies for solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*(44), 824-834.
- Yenigün, O., & Demirel, B. (2013). Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. *Process Biochemistry* 48, 901-911.
- Zhang, M., Wang, F., Su, R., Qi, W., & He, Z. (2010). Ethanol production from high dry matter corncob using fed-batch simultaneous saccharification and fermentation after combined pretreatment. *Bioresour. Technol.* vol. 101, no. 13, 4959-4964.
- Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F., & Li, Y. (2014). Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*(42), 35-53.



## Anexo 1

### Determinación de volumen de inóculo y sustrato

La cantidad de inóculo se calculó de la siguiente forma:

$$V_{in\acute{o}culo} = 8 \text{ g de SV} * \left( \frac{1}{SV \text{ de in\acute{o}culo} \frac{\text{g}}{\text{mL}}} \right) = \text{mL}$$

La cantidad de sustratos se calculó de la siguiente forma:

$$V_{sustrato} = 1.6 \text{ g de DQO} * \left( \frac{1}{DQO \text{ de sustrato} \frac{\text{g}}{\text{mL}}} \right) = \text{mL}$$

Resultados de las caracterizaciones de inóculo y sustratos

	SV (mg/L)	DQO (mg/L)
<b>Inóculo</b>	65.60	-
<b>Maíz</b>	-	30.10
<b>Poda</b>	-	7.88
<b>Cafetería</b>	-	31.25
<b>Acetato de sodio</b>	-	14.06

En la tabla previa únicamente se encuentran mencionados los datos necesarios para el cálculo del volumen requerido.

Ejemplo:

$$V_{in\acute{o}culo} = 8 \text{ g de SV} * \left( \frac{1}{0.06560 \frac{\text{g}}{\text{mL}}} \right) = 121.95 \text{ mL}$$



### Solución amortiguadora de fosfatos

Se prepararon dos disoluciones:

- $K_2HPO_4$  (174.18 g/mol): se pesa 17.418 g y se afora a 1 L
- $KH_2PO_4$  (136.09 g/mol): se pesa 6.805 g y se afora a 500 mL

Se mezclan ambas disoluciones y el pH debe ser neutro (7.15).

### Solución de micronutrientes

Para preparar la solución de micronutrientes se agregan los reactivos presentes en la siguiente tabla. Agitar hasta que se disuelvan y aforar a 1 L.

Reactivo	Concentración
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	2000 mg/L
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	2000 mg/L
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	500 mg/L
$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	30 mg/L
$ZnCl_2$	50 mg/L
$H_3BO_3$	50 mg/L
$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	90 mg/L
$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	50 mg/L
EDTA	1000 mg/L
HCl concentrado	1 gota

### Volumen de inóculo, sustratos y solución amortiguadora para cada reactor

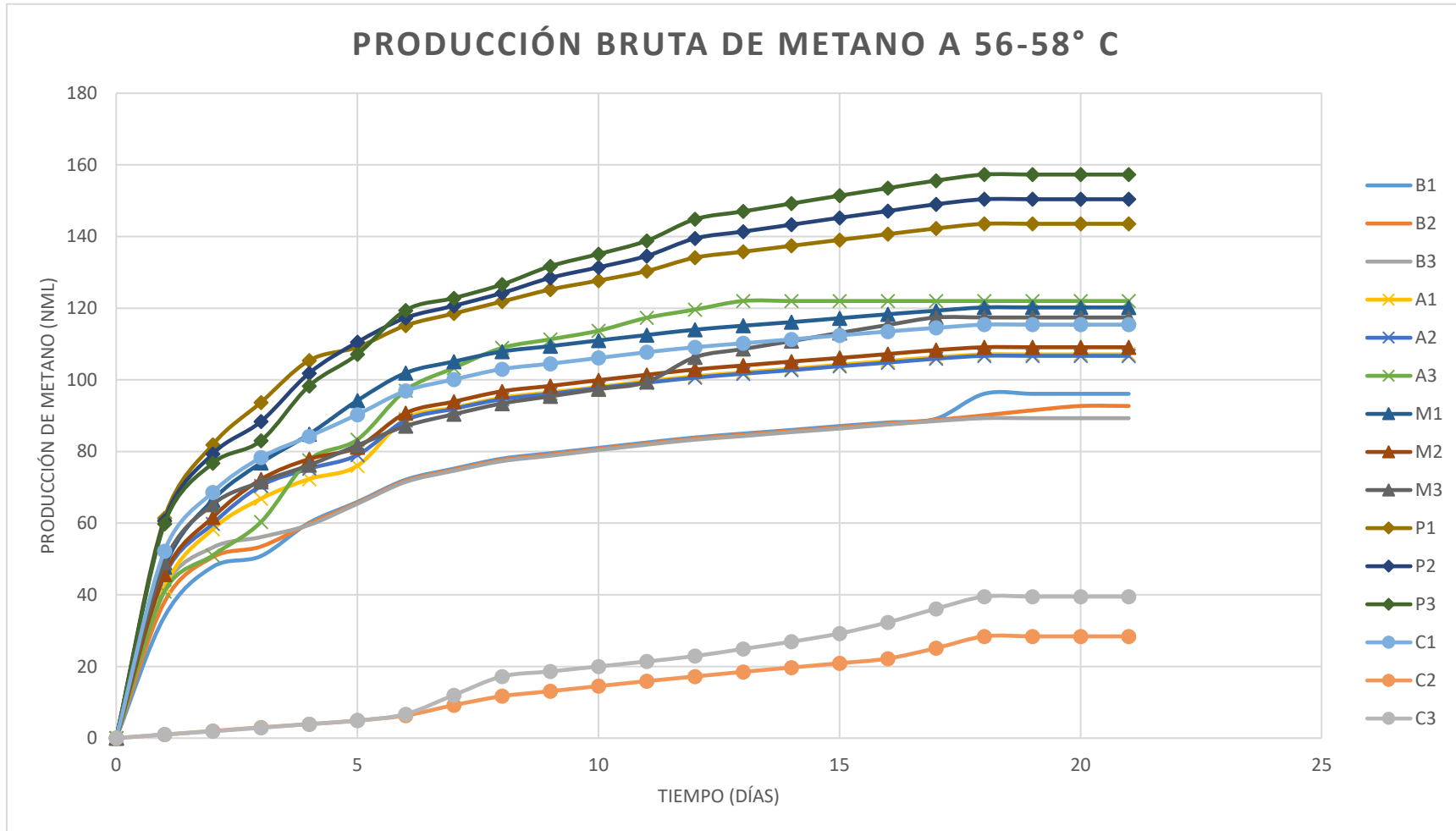
Las cantidades de sustrato, todos anaerobios o inóculo, y solución amortiguadora que se adicionó a los diferentes reactores se engloban en la tabla a continuación.

Reactores	V inóculo (mL)	M inóculo (g)	V sustrato (mL)	V buffer (mL)	V total reactor (mL)
Blanco	122	148	0	224	350
Maíz	122	148	11	213	350
Poda	122	148	41	183	350
Cafetería	122	148	10	214	350
Acetato de Sodio	122	148	23	201	350

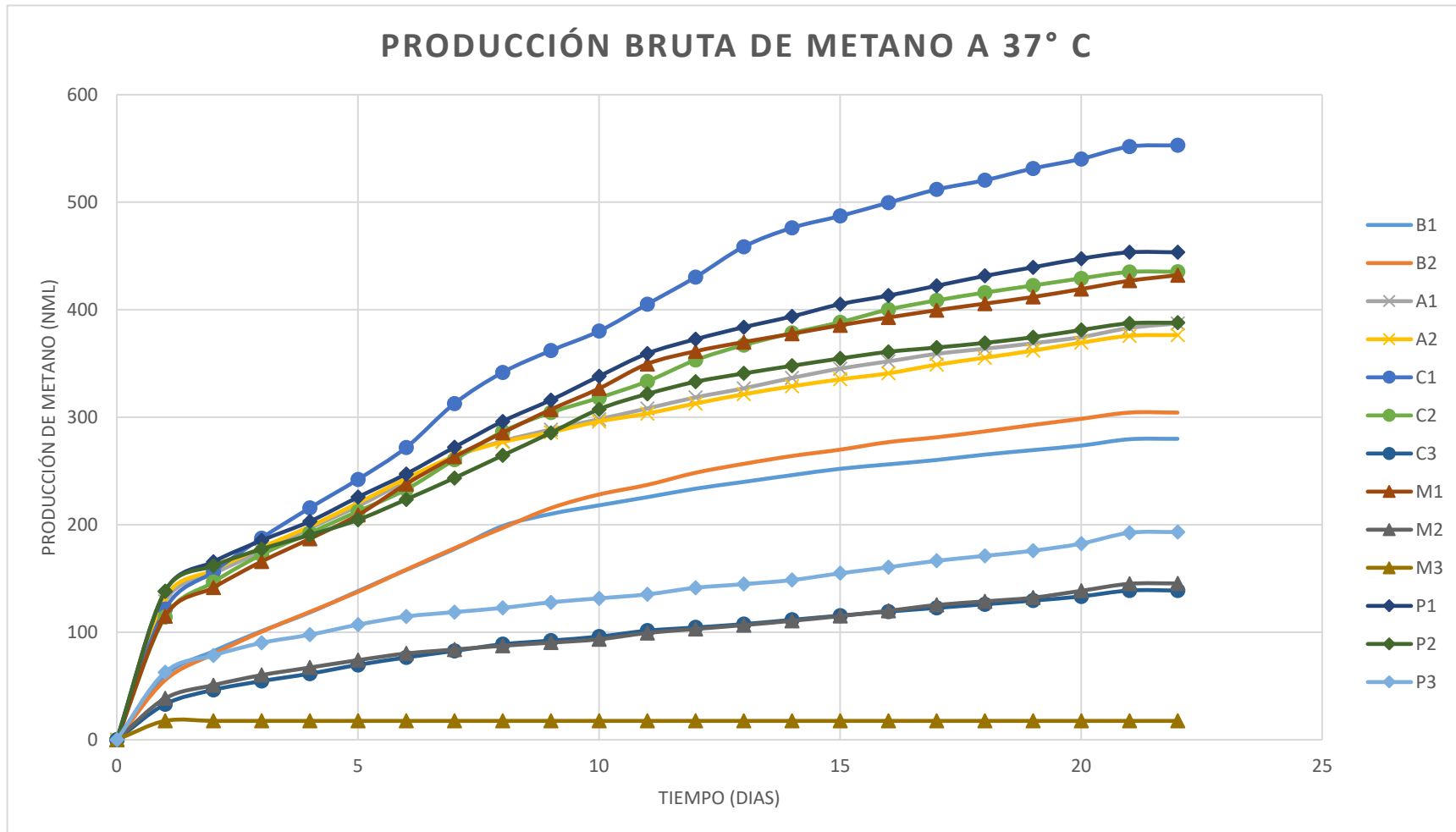


## Anexo 2

### Gráficas de producción bruta de metano



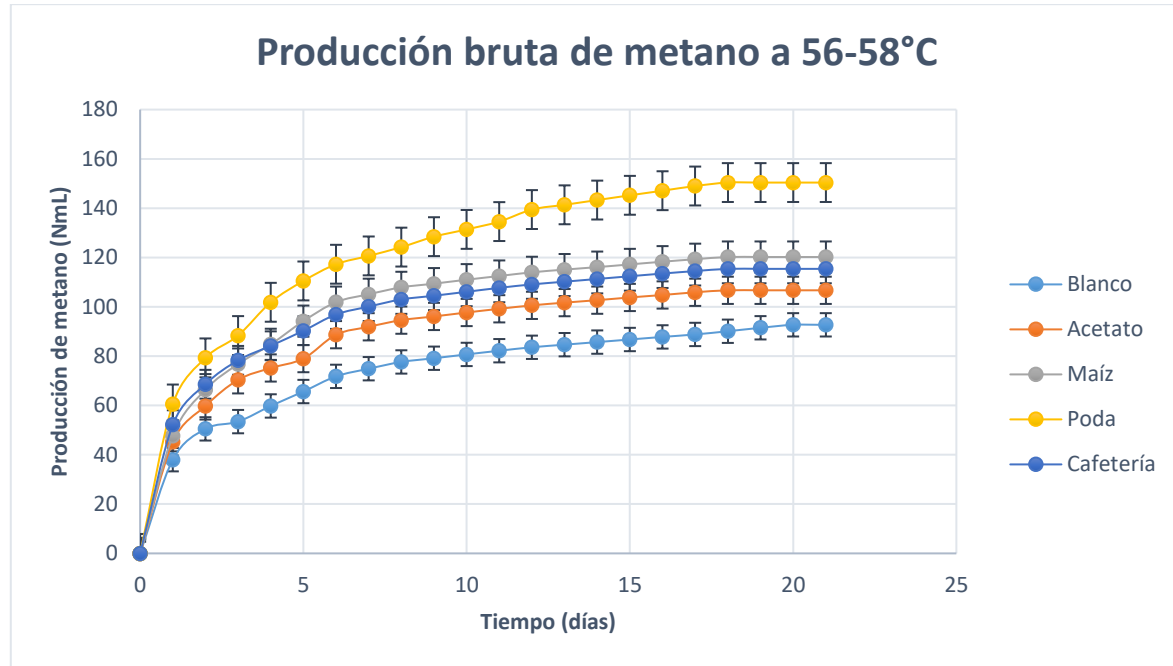
B: blanco; A: acetato de sodio; M: maíz; P: poda; C: cafetería



B: blanco; A: acetato de sodio; M: maíz; P: poda; C: cafetería

### Anexo 3

#### Producción bruta de metano a condiciones termofílicas



Para el análisis estadístico, se utilizó el programa STATGRAPHICS Centurion.

#### Análisis de varianza global (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	26577.4	4	6644.34	7.99	0.0000
Intra grupos	87351.3	105	831.917		
Total (Corr.)	113929.	109			

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 7.98678, es el cociente entre el estimado entre grupos y el estimado dentro de grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, se hizo una prueba de múltiples rangos.

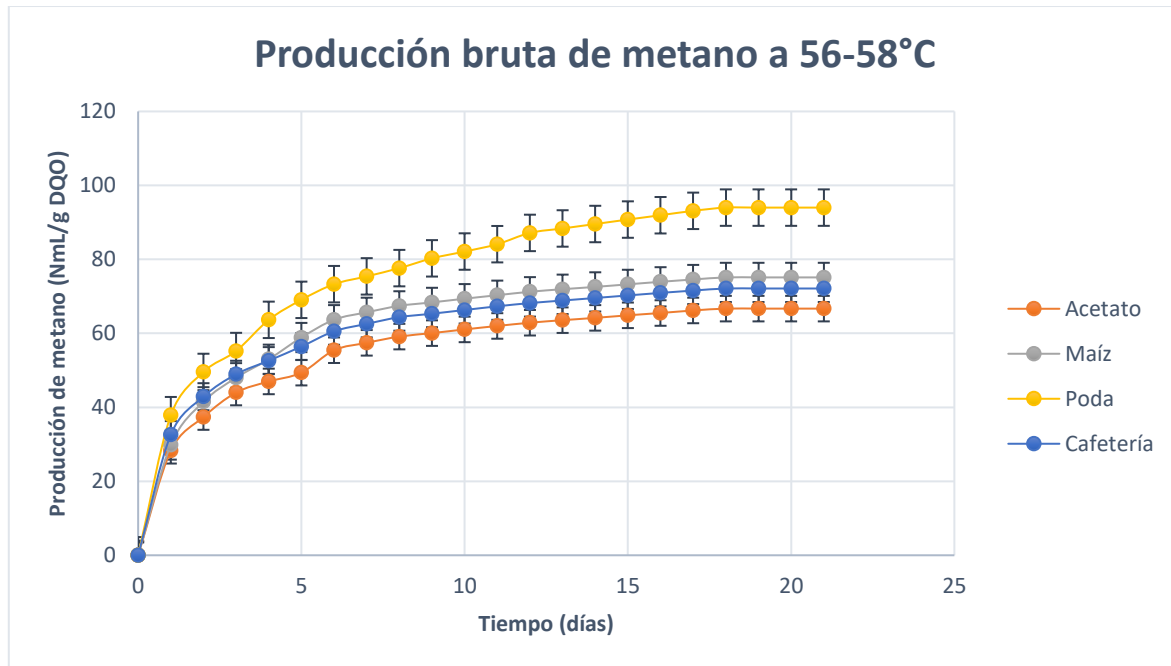
	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Blanco	22	73.55	X - -
Acetato	22	88.3682	X X -
Cafetería	22	96.5682	- X -
Maíz	22	99.9318	- X -
Poda	22	121.101	- - X



Se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Blanco - Acetato		-14.8182	17.2436
Blanco - Maíz	*	-26.3818	17.2436
Blanco - Poda	*	-47.5514	17.2436
Blanco - Cafetería	*	-23.0182	17.2436
Acetato - Maíz		-11.5636	17.2436
Acetato - Poda	*	-32.7332	17.2436
Acetato - Cafetería		-8.2	17.2436
Maíz - Poda	*	-21.1695	17.2436
Maíz - Cafetería		3.36364	17.2436
Poda - Cafetería	*	24.5332	17.2436

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 6 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.



Análisis de varianza global (ANOVA)





<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5013.66	3	1671.22	4.67	0.0046
Intra grupos	30079.3	84	358.087		
Total (Corr.)	35093.0	87			

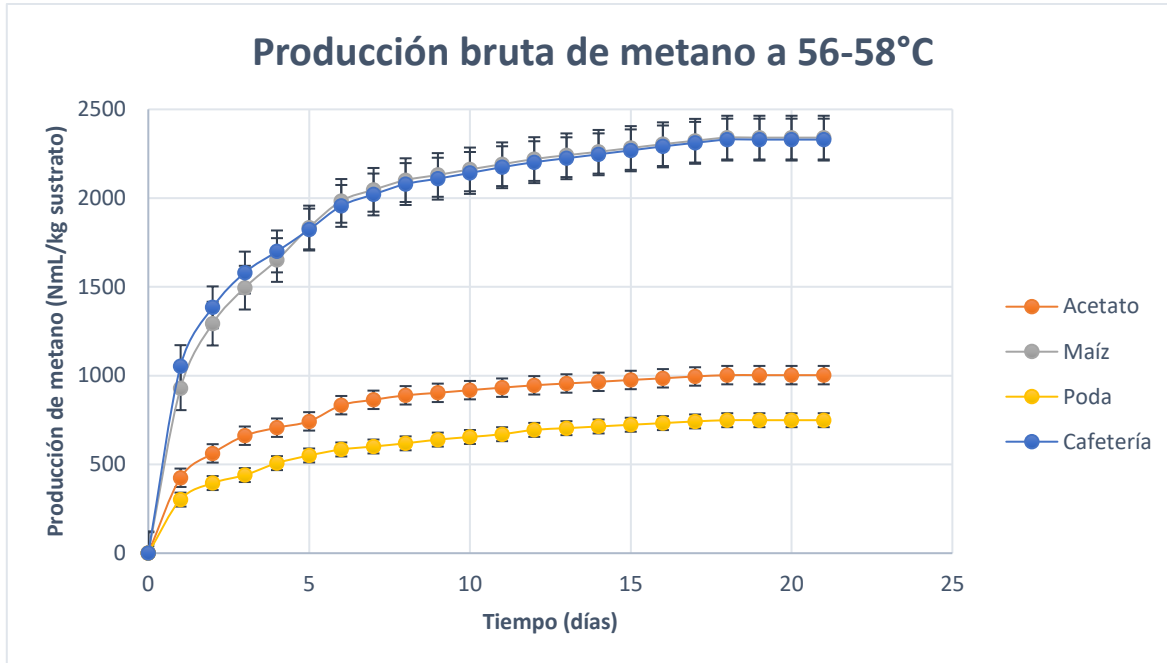
Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Acetato	22	55.2318	X -
Cafetería	22	60.3568	X -
Maíz	22	62.4591	X -
Poda	22	75.6895	- X

Se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Acetato - Maíz		-7.22727	11.3462
Acetato - Poda	*	-20.4577	11.3462
Acetato - Cafetería		-5.125	11.3462
Maíz - Poda	*	-13.2305	11.3462
Maíz - Cafetería		2.10227	11.3462
Poda - Cafetería	*	15.3327	11.3462

El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.



#### Análisis de varianza global (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3.39001E7	3	1.13E7	61.72	0.0000
Intra grupos	1.53789E7	84	183082.		
Total (Corr.)	4.9279E7	87			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Poda	22	603.236	X -
Acetato	22	830.661	X -
Maíz	22	1946.17	- X
Cafetería	22	1949.47	- X

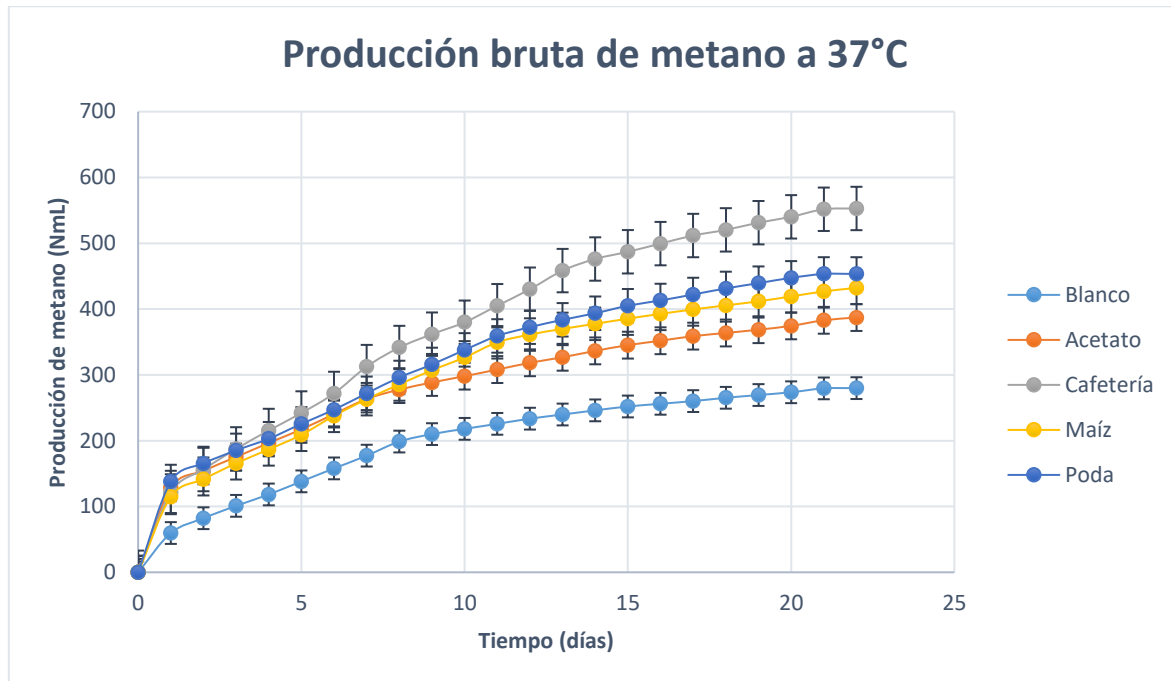
Se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Acetato - Maíz	*	-1115.51	256.553
Acetato - Poda		227.425	256.553
Acetato - Cafetería	*	-1118.81	256.553
Maíz - Poda	*	1342.94	256.553
Maíz - Cafetería		-3.29682	256.553
Poda - Cafetería	*	-1346.23	256.553



El asterisco que se encuentra al lado de los 4 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.

### Producción bruta de metano a condiciones mesofílicas



### Análisis de varianza global (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	375375.	4	93843.8	6.72	0.0001
Intra grupos	1.53568E6	110	13960.7		
Total (Corr.)	1.91106E6	114			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Blanco	23	197.487	X - -
Acetato	23	280.991	- X -
Maíz	23	303.022	- X X
Poda	23	320.048	- X X
Cafetería	23	371.97	- - X

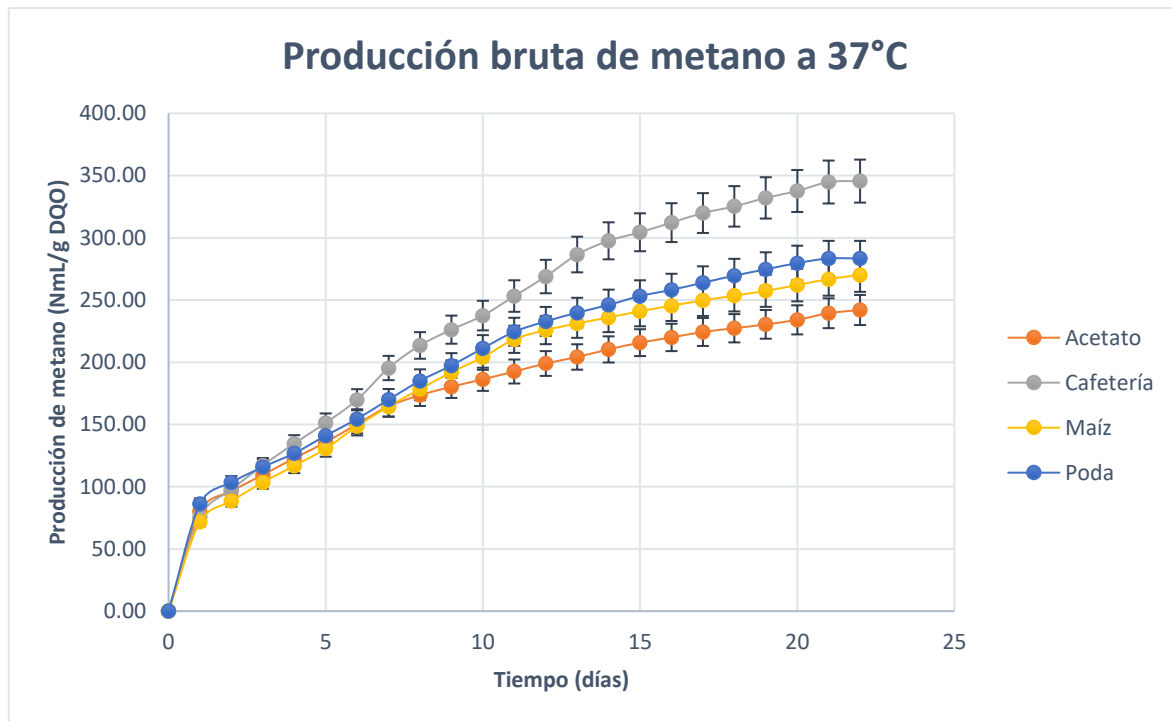
Se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.

Contraste	Sig	Diferencia	+/- Límites
.			



Blanco - Acetato	*	-83.5043	69.0492
Blanco - Cafetería	*	-174.483	69.0492
Blanco - Maíz	*	-105.535	69.0492
Blanco - Poda	*	-122.561	69.0492
Acetato - Cafetería	*	-90.9783	69.0492
Acetato - Maíz		-22.0304	69.0492
Acetato - Poda		-39.0565	69.0492
Cafetería - Maíz		68.9478	69.0492
Cafetería - Poda		51.9217	69.0492
Maíz - Poda		-17.0261	69.0492

El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.



**Análisis de varianza global (ANOVA)**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	40492.3	3	13497.4	2.18	0.0965
Intra grupos	545745.	88	6201.65		
Total (Corr.)	586238.	91			

Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

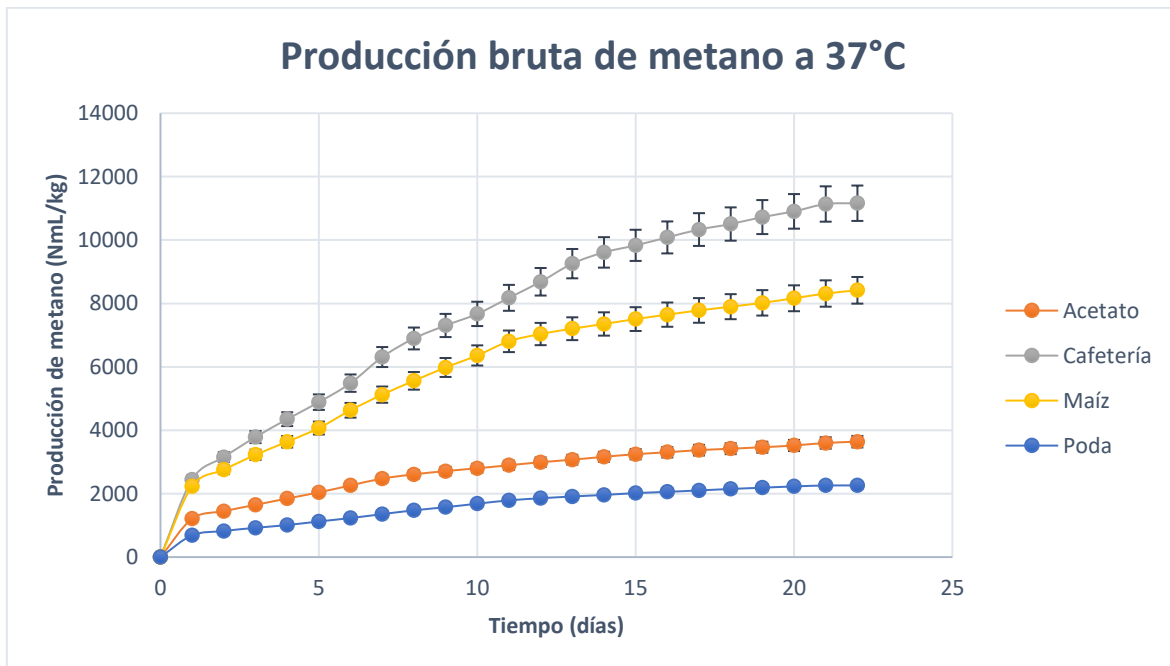


	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Acetato	23	175.62	X -
Maíz	23	189.39	X X
Poda	23	200.031	X X
Cafetería	23	232.482	- X

Se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Acetato - Cafetería	*	-56.8626	46.1495
Acetato - Maíz		-13.7704	46.1495
Acetato - Poda		-24.4117	46.1495
Cafetería - Maíz		43.0922	46.1495
Cafetería - Poda		32.4509	46.1495
Maíz - Poda		-10.6413	46.1495

Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.



#### Análisis de varianza global (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5.26367E8	3	1.75456E8	41.94	0.0000



Intra grupos	3.68186E8	88	4.18393E6		
Total (Corr.)	8.94553E8	91			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 5 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Poda	23	1594.24	X - -
Acetato	23	2641.32	X - -
Maíz	23	5901.35	- X -
Cafetería	23	7509.14	- - X

Se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.

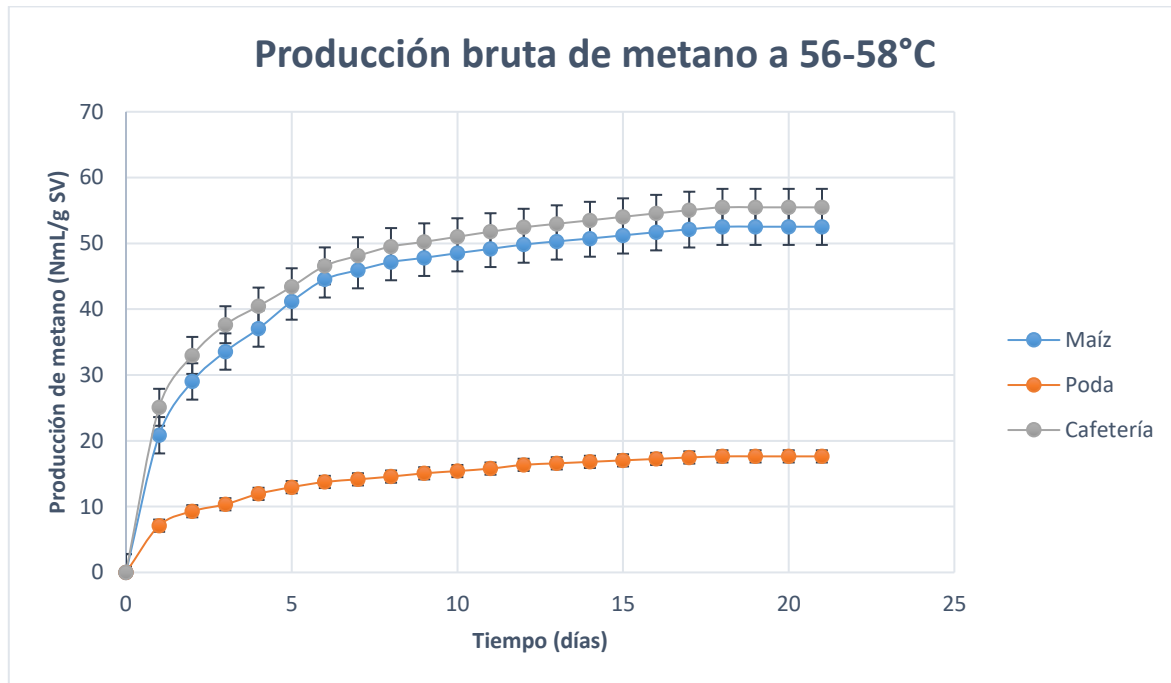
<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Acetato - Cafetería	*	-4867.82	1198.69
Acetato - Maíz	*	-3260.03	1198.69
Acetato - Poda		1047.08	1198.69
Cafetería - Maíz	*	1607.79	1198.69
Cafetería - Poda	*	5914.9	1198.69
Maíz - Poda	*	4307.11	1198.69

El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.



### Producción de metano (NmL/g SV)

Para la elaboración de estas gráficas, se calculó la cantidad de sólidos volátiles que se adicionaron para cada sustrato. Posteriormente la producción bruta de metano fue dividida entre el número de sólidos volátiles de cada sustrato.



### Análisis de Varianza Global (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	14043.0	2	7021.5	58.49	0.0000
Intra grupos	7563.14	63	120.05		
Total (Corr.)	21606.1	65			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

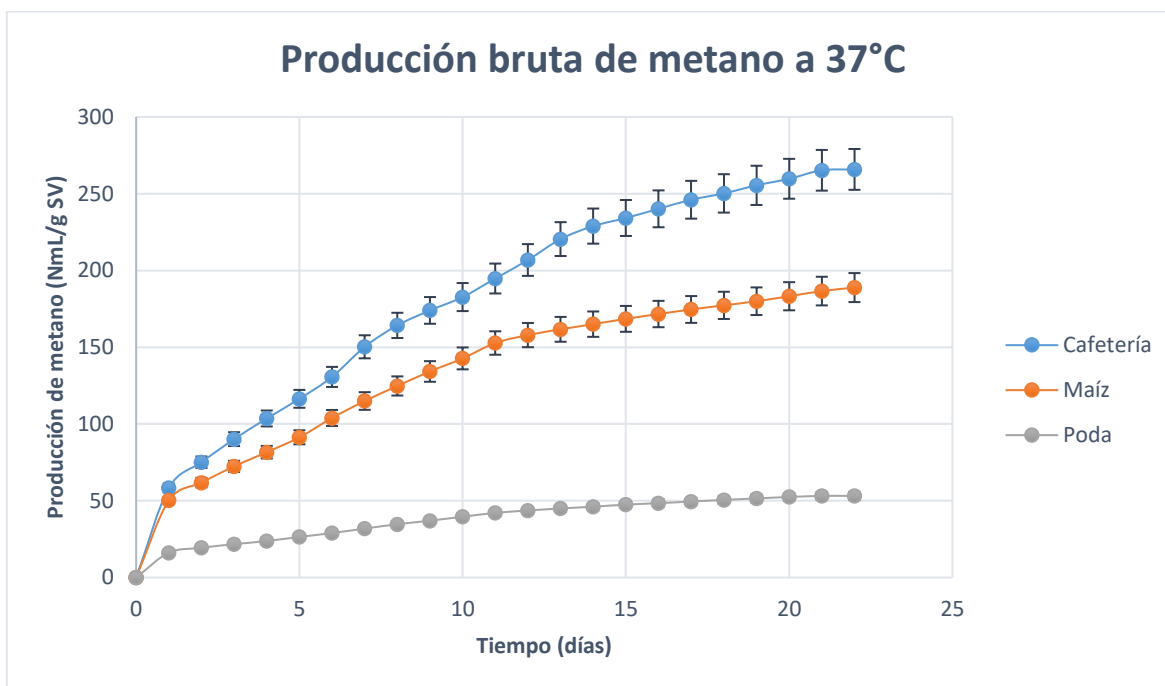
	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Poda	22	14.2004	X -
Maíz	22	43.6765	- X
Cafetería	22	46.427	- X

Se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.



Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Maíz - Poda	*	29.4761	6.60169
Maíz - Cafetería		-2.75052	6.60169
Poda - Cafetería	*	-32.2266	6.60169

El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.



#### Análisis de Varianza Global (ANOVA)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	238637.	2	119319.	41.29	0.0000
Intra grupos	190728.	66	2889.82		
Total (Corr.)	429366.	68			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Poda	23	37.5291	X - -
Maíz	23	132.44	- X -
Cafetería	23	178.832	- - X

Se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X.





<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Cafetería - Maíz	*	46.392	31.6498
Cafetería - Poda	*	141.302	31.6498
Maíz - Poda	*	94.9105	31.6498

El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.



## Anexo 4

### (Humedad) Sólidos Totales APHA 2540 B

*Principio:* Se evapora una muestra correctamente mezclada en una placa pesada y secada a peso constante en un horno a 105 °C. El aumento de peso sobre el de la placa vacía representa los sólidos totales.

*Instrumental:*

- a) Placas de evaporación: placas de evaporación de 100 mL de capacidad, fabricadas con uno de los materiales siguientes:
  - a. Porcelana
  - b. Platino
  - c. Vaso alto de sílice
- b) Horno de mufla para operar de 550 a  $\pm 50$  °C
- c) Baño de vapor
- d) Desecador provisto de un desecante que contiene un indicador colorimétrico de concentración de humedad.
- e) Horno de secado para operaciones a 105 °C.
- f) Balanza analítica capaz de pesar hasta 0.1 mg.

*Procedimiento:*

Preparación de la placa de evaporación: Si se va a medir sólidos volátiles, incinérese una placa de evaporación limpia a  $550 \pm 50$  °C durante una hora en un horno de mufla. Si solamente se intentan medir sólidos totales, caliéntese la placa limpia a 105 °C durante una hora. Consérvese la placa en el desecador hasta que se necesite. Pesar inmediatamente antes de usar.

Análisis de la muestra: Elijase un volumen de muestra que proporcione un residuo entre 2.5 y 200 mg. Transfiérase un volumen medido de muestra bien mezclada a la placa pesada previamente y evapórese hasta que se seque en un baño de vapor o un horno de secado. Secar la muestra evaporada al menos durante una hora en horno a 105 °C, enfriar la placa en desecador para equilibrar temperatura y pesar.

*Cálculo:*

$$\text{mg de sólidos totales/L} = \frac{(A - B) * 1000}{\text{vol. de muestra mL}}$$

Donde:

A = peso de residuo seco + placa, mg

B = peso de la placa, mg



### Sólidos totales, fijos y volátiles APHA 2540 G

*Principio:* Este método se aplica en la determinación de sólidos totales y sus fracciones fijas y volátiles en muestras sólidas y semisólidas como sedimentos de río o lago, lodos aislados en procesos de tratamiento de aguas limpias y residuales y aglomeraciones de lodo de filtrado al vacío, de centrifugación u otros procesos de deshidratación de lodos.

*Instrumental:* Se requieren todos los instrumentos enumerados en la sección 2540B. También puede utilizarse una balanza capaz de pesar hasta 10 mg.

*Procedimiento:*

a) Sólidos totales

Preparación de la placa de evaporación descrita en la sección 2540 B.

Análisis de la muestra:

Muestras líquidas: Si la muestra contiene suficiente humedad para fluir con mayor o menor facilidad, agítese para homogeneizarla; a continuación colóquese de 25 a 50 g en una placa de evaporación y pésese. Evapórese hasta desecación al baño María, séquese a 105 °C durante una hora, enfríese para equilibrar la temperatura en un desecador individual con desecante activo y pésese.

Muestras sólidas: Si la muestra consta de partículas discretas de material sólido, extráiganse los fragmentos o pulverícese toda la muestra. Deposítese de 25 a 30 g en una placa de evaporación y pésese. Déjese en un horno a 105 °C durante toda la noche. Enfríese para equilibrar la temperatura en un desecador individual con desecante activo y pésese.

b) Sólidos fijos y volátiles

Transfírase la muestra a un horno de mufla frío, caliéntese hasta 550 ± 50 °C e incinérese durante una hora. Si el residuo contiene grandes cantidades de materia orgánica, incinérese primero el residuo en un quemador de gas protegido por una campana de extracción. Enfríese en desecador para equilibrar la temperatura y pésese.

*Cálculo:*

$$\% \text{ de sólidos totales} = \frac{(A - B) * 100}{C - B}$$

$$\% \text{ de sólidos volátiles} = \frac{(A - D) * 100}{A - B}$$

$$\% \text{ de sólidos fijos} = \frac{(D - B) * 100}{A - B}$$

Donde:

A = peso del residuo seco + placa, mg

B = peso de la placa, mg



C = peso de la muestra húmeda + placa, mg

D = peso del residuo + placa después de ignición, mg

### Demanda Química de Oxígeno APHA 5220 D

*Principio:* La DQO es una medida aproximada del contenido total de materia orgánica presente en una muestra. En esta determinación analítica se realiza el proceso de biodegradación que realizan los microorganismos, mediante un proceso de oxidación forzada, utilizando un oxidante químico.

La mayor parte de la materia orgánica resulta oxidada por una mezcla a ebullición de los ácidos crómico y sulfúrico. Se somete a reflujo una muestra en una solución ácida fuerte con un exceso conocido de dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ). Los vasos de reacción son ampollas de cristal selladas o tubos de cultivo tapados. El consumo de oxígeno se mide a 600 nm con un espectrofotómetro.

#### *Instrumental:*

- Tubos de digestión HACH
- Digestor de DQO a 150 °C por 2 horas
- Espectrofotómetro

#### *Reactivos:*

##### Solución de digestión ( $K_2Cr_2O_7$ )

1. Pesar 10.216 g de  $K_2Cr_2O_7$  previamente secado en la estufa a 103 °C durante 2 horas.
2. Agregar el  $K_2Cr_2O_7$  a un matraz aforado de 1 L y adicionar 500 mL de agua destilada.
3. Agregar 167 mL de  $H_2SO_4$  concentrado. La reacción es exotérmica.
4. Disolver 33.3 g de  $HgSO_4$  en agua destilada y agregar a la solución de  $K_2Cr_2O_7$ .
5. Dejar que se disuelva y aforar a 1 L con agua destilada.

##### Reactivo de $H_2SO_4$

1. Pesar 10.09 g de  $Ag_2SO_4$  y agregarlo a un matraz aforado de 1 L.
2. Aforar con  $H_2SO_4$  concentrado.
3. Dejar reposar sin agitación durante el tiempo necesario para que el  $Ag_2SO_4$  se disuelva.

#### *Procedimiento:*

1. En un vial de 10 mL agregar
  - a. 2.5 mL de muestra
  - b. 1.5 mL de solución de digestión ( $K_2Cr_2O_7$ )
  - c. 3.5 mL de reactivo de  $H_2SO_4$



Las muestras se realizan por triplicado y se debe hacer un blanco con agua destilada que es tratado igual que las muestras.

2. Una vez preparadas las muestras se tapan y se agitan. Posteriormente se someten a reflujo cerrado durante 2 horas a 150 °C en un digestor de DQO.
3. Enfriar las muestras a temperatura ambiente.
4. Leer la absorbancia de las muestras a 600 nm. Se debe pasar primero el blanco para ajustar la absorbancia a cero.
5. Registrar los datos y calcular la concentración de las muestras usando la curva de calibración.
6. En caso de haber preparado una dilución, la concentración calculada anteriormente debe multiplicarse por el factor de dilución para obtener la concentración real de la muestra.

*Elaboración de curva de calibración:*

1. Se debe realizar una solución patrón de biftalato ácido de potasio ( $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ )
  - a. Pesar 0.850 g de  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$  previamente secado a 120 °C.
  - b. Aforar con agua destilada a 1 L.
2. Preparar las siguientes diluciones a 100 mL para tener una curva de calibración para un intervalo de 50 a 900 mgDQO/L.

<b>DQO (mg/L)</b>	<b>Vol. de solución patrón (mL)</b>
<b>50</b>	5
<b>150</b>	15
<b>250</b>	25
<b>350</b>	35
<b>450</b>	45
<b>550</b>	55
<b>650</b>	65
<b>750</b>	75
<b>850</b>	85

3. Preparar un blanco con agua destilada para fijar la absorbancia a cero en 600 nm.
4. Medir la absorbancia de cada una de las diluciones
5. Elaborar una gráfica en donde aparezca la concentración (x) vs la absorbancia (y).
6. Hacer regresión lineal para conocer el coeficiente de regresión ( $R^2$ ) y la ecuación de la recta.



### Nitrógeno Amoniacal APHA 4500-NH<sub>3</sub>-B

*Principio:* El nitrógeno amoniacal se encuentra en forma de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y NH<sub>3</sub>. La muestra se tampona a pH 9.5 con un buffer de borato para reducir la hidrólisis de cianatos y los compuestos orgánicos nitrogenados. Se destila a una solución indicadora de ácido bórico para después ser titulada con una solución de ácido sulfúrico 0.02 N.

#### *Instrumental:*

- Equipo de destilación BÜCHI

#### *Reactivos:*

##### Solución Buffer de Boratos 0.025N

- Solución de borato de sodio Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O: Disolver 9.5 g de tetraborato de sodio en 1 L de agua destilada.
  - Solución de NaOH 0.1N: Disolver 4 g de NaOH en 1 L de agua destilada.
1. Adicionar 88 mL de solución de NaOH 0.1N a 500 mL de solución de Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O 0.025N y aforar a 1 L.

##### Solución de NaOH 6N

1. Disolver 120 g de NaOH en 200 mL de agua destilada.
2. Aforar a 500 mL de agua destilada.

##### Solución de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>

1. Secar ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) en la estufa a 105 °C por 24 horas.
2. Disolver 20 g de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> en 500 mL de agua destilada.
3. Antes de usar agregar a cada muestra dos gotas de indicador.

##### Solución estándar de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.02N

1. Diluir 0.56 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado en 1 L de agua destilada.
2. Estandarizar con una solución de carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 0.05N y titular potenciométricamente a pH 5.

##### Solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.05N

1. Secar de 3 a 5 g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 250°C por 4 horas y dejar enfriar en un desecador.
2. Pesar 2.5 g de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y transferir a un matraz aforado para disolver a 1 L de agua destilada. La solución será estable solamente una semana.



*Procedimiento:*

1. A una muestra de xxx mL adicionar 25 mL de la solución buffer de boratos. Las muestras se realizan por duplicado y se debe hacer un blanco de agua destilada.
2. Ajustar pH con una solución de NaOH 6 N, si es necesario, para alcanzar un pH de 9.5.
3. Destilar la muestra durante 5 minutos usando el equipo de destilación BÜCHI.
4. Recoger el destilado en 25 mL de solución indicadora de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>. Esta solución es de color violeta y al recibir el nitrógeno vira a un color verde brillante.
5. Titular la solución recogida con una solución 0.02 N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Se titula hasta que la solución vire a un color violeta pálido y se registra el volumen gastado.

*Cálculo:*

$$N - NH_4^+(mg/L) = \frac{(A - B) * N * 14000}{vol. de muestra (mL)}$$

Donde:

A = volumen de solución H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.02 N gastado en titular la muestra.

B = volumen de solución H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.02 N gastado en titular el blanco.