



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
AMBIENTAL – AGUA

PRODUCCIÓN DE METANO EN UN SISTEMA EN DOS ETAPAS A PARTIR DE
RESIDUOS DE BIORREFINERÍA

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
ALBERTO HERNÁNDEZ JUÁREZ

TUTOR PRINCIPAL:
GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ
INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNIDAD ACADÉMICA JURQUILLA

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, OCTUBRE 2019



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.

Tabla de contenido

	Página
Índice de figuras.....	v
Índice de Tablas	vii
Agradecimientos	2
Resumen.....	3
Introducción	5
1. Marco teórico.....	6
1.1. Uso del etanol como combustible en México	6
1.2. Producción de etanol en México	6
1.3. Biorrefinerías.....	7
1.3.1. Residuos lignocelulósicos	7
1.3.2. Pretratamiento de los residuos lignocelulósicos.....	8
1.3.3. Operaciones unitarias involucradas en biorrefinerías.....	8
1.3.4. Termohidrólisis y sus residuos generados.....	9
1.3.4.1. Fermentación y sus residuos.....	9
1.3.4.2. Residuos de destilación o vinazas	10
1.3.4.3. Integración de un sistema combinado para la obtención de biocombustibles y energía	10
1.4. Digestión anaerobia.....	11
1.4.1. Digestión anaerobia en dos etapas.....	11
1.4.2. Ácidos Grasos Volátiles (AGVs) provenientes de la etapa acidogénica.....	12
1.4.2.1. pH en la digestión anaerobia en dos etapas	12
1.4.2.2. Alcalinidad	13
1.4.2.3. Tiempo de retención hidráulica (TRH)	13
1.4.2.4. Temperatura en reactores de dos etapas	13
1.4.2.5. Remoción de materia orgánica	14
1.5. Relación carbono nitrógeno	15
1.5.1. Co-digestión	15
1.5.2. Co-digestión en dos etapas	16
2. Objetivos.....	17
2.1. Objetivos particulares.....	17
Hipótesis	18
3. Metodología.....	19
3.1. Estrategia experimental	19

3.2.	Residuos de termohidrólisis	19
3.2.1.	Extracción de la fracción soluble de los residuos de termohidrólisis.....	20
3.2.2.	Técnicas generales.....	20
3.2.2.1.	Análisis fisicoquímicos	20
3.2.3.	Análisis instrumental.....	20
3.2.3.1.	Análisis de biogás.....	20
3.2.3.2.	Análisis de compuestos específicos	20
	Identificación de minerales.....	21
3.2.4.	Experimentación a escala laboratorio en condiciones mesófilas y termófilas	21
3.2.5.	Experimentación en reactores piloto	21
3.2.6.	Cálculo de velocidad específica de producción.....	21
3.2.7.	Cálculo de rendimiento	22
4.	Caracterización y pruebas de co-digestión	23
4.1.	Introducción	23
4.2.	Lixiviación de los residuos de termohidrólisis.....	24
4.3.	Resultados y discusión	25
4.3.1.	Caracterización residuos de termohidrólisis.....	25
4.3.2.	Pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM).....	27
4.3.2.1.	Preparación de los reactores	27
4.3.2.2.	Método de cuantificación de metano en el equipo AMPTS.....	27
4.3.3.	Resultados del PBM.....	29
4.3.3.1.	Paja de trigo.....	29
4.3.3.2.	Rastrojo de maíz.....	29
4.3.3.3.	Potencial bioquímico de todos los residuos.....	30
4.3.4.	Co-digestión	31
4.3.4.1.	Propuesta de co-sustratos	31
4.3.4.2.	Aloe	32
4.3.4.3.	Digestato.....	33
4.3.4.4.	Estiércol.....	34
4.3.5.	Comparación de los diferentes co-sustratos	35
4.4.	Conclusiones parciales	38
5.	Evaluación del tiempo de retención hidráulica en la digestión anaerobia en dos etapas.....	39
5.1.	Introducción	39
5.2.	Metodología	40
5.2.1.	Operación reactor etapa acidogénica.....	40
5.2.2.	Operación de la etapa metanogénica.....	40
5.3.	Resultados y discusión	42

5.4.	Producción de AGVs.....	42
5.4.1.	Análisis estadístico de los TRH.....	43
5.5.	Producción de metano en la segunda etapa	44
5.6.	Conclusiones parciales	48
6.	Operación en reactores pilotos	49
6.1.	Introducción	49
6.2.	Metodología	50
6.2.1.	Reactor etapa acidogénica	50
6.2.2.	Tanque de almacén o estabilizador	50
6.2.3.	Reactor etapa metanogénica.....	50
6.3.	Resultado y discusión.....	51
6.3.1.	Producción de reactor etapa acidogénica	51
6.3.2.	Producción de hidrógeno en reactor acidogénico.....	52
6.3.3.	Producción de metano	53
6.3.4.	Limitantes del sistema	57
6.4.	Conclusiones parciales	58
7.	Arranque condiciones termófilas.....	59
7.1.	Introducción	59
7.2.	Metodología	60
7.2.1.	Reactor acidogénico	60
7.2.2.	Reactor metanogénico	60
7.3.	Resultados y discusión	62
7.3.1.	Reactor acidogénico	62
7.3.2.	Reactor metanogénico	64
7.4.	Conclusiones parciales	67
8.	Operación en reactores pilotos	68
8.1.	Introducción	68
8.2.	Metodología	69
8.2.1.	Reactor etapa acidogénica	69
8.2.2.	Reactor etapa metanogénica.....	69
8.3.	Resultado y discusión.....	70
8.3.1.	Etapa acidogénica.....	70
8.3.2.	Etapa metanogénica.....	72
8.3.2.1.	Limitantes del sistema	73
8.4.	Conclusiones parciales	74
9.	Conclusiones.....	75
	Referencias.....	76

Índice de figuras

	Página
Figura 1.1 Producción de etanol en México Fuente sin hacer diferencia de materia prima (Fernández y Venegas, 2017).....	6
Figura 1.2 Diagrama general del rompimiento del material lignocelulósico para la liberación de celulosa (Hsu <i>et al.</i> , 1980; Jaramillo y Sanchez, 2018).	8
Figura 1.3 Diagrama general de una planta bioquímica de producción de etanol y los residuos de cada etapa	9
Figura 1.4 Diagrama general del reactor tubular hidrotérmico (Caballero-Berragan <i>et al.</i> , 2017).	9
Figura 1.5 a) Esquema de reacción para una biorrefinería basado en cultivos mixtos que indican el flujo de material. b) Diagrama de bloques de proceso. (Valdez-Vazquez y Sanchez, 2018).....	10
Figura 1.6 Esquema resumido del proceso de biogás (Gujer y Zehnder, 1983)	11
Figura 1.7 Ruta metabólica de la fermentación acidogénica (Zhou <i>et al.</i> , 2018).....	12
Figura 1.8 Tasa de crecimiento de los metanogénicos (Speece, 1996).....	14
Figura 1.9 Potencial de metano en relación a C/N a 55 y 35 °C (Wang <i>et al.</i> , 2014b).....	15
Figura 4.1 Extracción de lixiviados de termohidrólisis en agua con malla de 0.5 mm por 24 h.....	24
Figura 4.2 Residuos de termohidrólisis utilizados en el experimento.....	24
Figura 4.3 Esquema general de la preparación de los contenedores para las pruebas de potencial de metano.	27
Figura 4.4 Sistema automático de ensayo del potencial bioquímico de metano.	28
Figura 4.5 Diagrama general de la cuantificación de gas del equipo AMPTs	28
Figura 4.6 Cinética del potencial bioquímico de metano de los residuos de termohidrólisis de la paja de trigo	29
Figura 4.7 Cinética del PBM de los residuos de rastrojo de maíz.....	30
Figura 4.8 Cinética de las mezclas de aloe con MRT	33
Figura 4.9 Cinética de las mezclas de digestato con MRT.....	34
Figura 4.10 Cinética de las mezclas de estiércol con MRT	35
Figura 4.11 Comparación de todas las mezclas de cada uno de los co-sustratos	36
Figura 5.1 Diagrama del sistema en dos etapas escala laboratorio	41
Figura 5.2 Sistema en dos etapas escala laboratorio.	41
Figura 5.3. Producción de AGVs en la etapa acidogénica	42
Figura 5.4 Evolución de los carbohidratos en los dos TRH experimentados.....	43
Figura 5.5 Proporción de AGVs en relación a la DQO del efluente.	43
Figura 5.6 PBM en relación de los diferentes TRH probados.....	44
Figura 5.7 Gráfica del rendimiento de metano por DQO removido.....	45
Figura 5.8 Velocidad específica de producción de metano en función de diferentes tiempos de retención hidráulica.	45
Figura 5.9 DQO de entrada y salida del reactor metanogénico.....	46
Figura 5.10 pH y parámetro alfa, en relación a los diferentes TRH experimentados	46
Figura 6.1 Diagrama real de los reactores anaerobios en dos etapas, escala piloto.	50
Figura 6.2 AGVs producidos en la etapa acidogénica en el reactor piloto.	51
Figura 6.3 Producción a escala piloto de AGVs en relación a la DQO soluble.	51
Figura 6.4 Productividad y porcentaje de hidrógeno en reactor acidogénico	52
Figura 6.5 Productividad específica del reactor de etapa metanogénica.....	53

Figura 6.6 PBM del reactor piloto.....	54
Figura 6.7 Rendimiento del reactor piloto.....	54
Figura 6.8 Parámetro alfa y pH de la etapa metanogénica.....	55
Figura 6.9 Saturación de sólidos en válvula de la bomba de recirculación.....	57
Figura 7.1 Diagrama real de los reactores en dos etapas en termofilia	61
Figura 7.2 Producción los diferentes ácidos grasos en reactor ácido termófilo	62
Figura 7.3 Relación de la DQO soluble y los AGVs producidos durante el proceso acidogénico ...	63
Figura 7.4 Rendimiento en la producción de metano en el reactor termófilo.	64
Figura 7.5. Velocidad específica de producción de metano del reactor termófilo.	64
Figura 7.6 Gráfica de la evolución de la DQO en etapa metanogénica en termofilia	65
Figura 7.7 Parámetro alfa y pH del reactor termófilo de la etapa metanogénica.	65
Figura 8.1 Producción de los diferentes AGVs; b relación de la DQO y los AGVs producidos	70
Figura 8.2 Porcentaje de H ₂ y velocidad específica de producción de H ₂	71
Figura 8.3 DQO en la etapa acidogénica.....	71
Figura 8.4 Rendimiento de la etapa metanogénica piloto.	72
Figura 8.5 Velocidad específica de producción de metano del reactor piloto.....	72
Figura 8.6 Porcentaje de metano en el biogás del reactor metanogénico.....	73
Figura 8.7 Parámetro alfa y pH del reactor piloto termófilo	73

Índice de Tablas

Página

Tabla 1.1 Caracterización de algunos residuos lignocelulósicos generados en el país.	7
Tabla 1.2 Condiciones de operación en un sistema de dos etapas	14
Tabla 1.3 Comparación de sistemas en una y dos etapas, remoción de materia orgánica	15
Tabla 1.4 Diferentes co-sustratos y sus beneficios al sistema.....	16
Tabla 4.1 Caracterización de los lixiviados de los residuos de biorrefinerías.....	26
Tabla 4.2 Nomenclatura para experimentación en equipo AMPTS.....	29
Tabla 4.3 PBM de algunos residuos lignocelulósicos procedentes de un proceso de termohidrólisis	30
Tabla 4.4 Caracterización de la mezcla de residuos de termohidrólisis (MRT).....	31
Tabla 4.5 Caracterización de los diferentes co-sustratos	32
Tabla 4.6 Diseño experimental para las diferentes mezclas.....	32
Tabla 4.7 Resultados de la co-digestión de aloe	33
Tabla 4.8 Valores obtenidos en la co-digestión con digestato	34
Tabla 4.9 Resultados de la co-digestión de estiércol.....	35
Tabla 4.10 Valores de prueba estadística realizados en Minitab Statistical software	36
Tabla 5.1 Valores del análisis estadístico de ANOVA	43
Tabla 5.2 Clasificación de los diferentes grupos que presentan variación en relación al TRH.	44
Tabla 5.3 Medias obtenidas en prueba post hoc y clasificación de variación por grupo	47
Tabla 6.1 Comparación de estudios relacionados con la producción de AGVs.....	53
Tabla 6.2 Comparación de algunos trabajos en co-digestión y escalamiento piloto de reactores anaerobios	56
Tabla 7.1 Caracterización de los diferentes residuos procedentes del proceso de producción de etanol de segunda generación	60
Tabla 7.2 Condiciones de operación del reactor acidogénico	60
Tabla 7.3 Condiciones de operación de la etapa metanogénica	61
Tabla 7.4 Valores obtenidos en el análisis estadístico de ANOVA	63
Tabla 7.5 Valores obtenidos de la prueba post hoc Tukey-Kramer	63
Tabla 7.6 Comparación de las medias de los diferentes parámetros analizados	66

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Oscar González Barceló

Secretario: Dr. Arturo Sánchez Carmona

Vocal: Dr. Ulises Durán Hinojosa

1^{er}. Suplente: Dra. Flor de María Cuervo López

2^{do}. Suplente: Dr. Germán Buitrón Méndez

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL TRABAJO:

Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas Unidad Académica Juriquilla, Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Blvd. Juriquilla 3001, 76230 Querétaro, México.

TUTOR DE TESIS:

Dr. Germán Buitrón Méndez

FIRMA

Agradecimientos

Se agradece el apoyo de la DGAPA-UNAM a través del proyecto PAPIIT IN105119 y el Fondo de Sustentabilidad Energética SENER – CONACYT a través del proyecto 249564 Clúster de Biocombustibles Líquidos para el Autotransporte.

También quiero agradecer al Dr. Germán Buitrón Méndez, por todos los comentarios, sugerencias y consejos brindados durante el periodo de maestría, que sin duda alguna este trabajo no pudo haber sido una realidad sin su apoyo

A los técnicos académicos Mtra. Gloria Moreno, Mtro. Jaime Pérez, Mtra. Yunuen Téllez y al Lic. Ángel Hernández que en todo momento me ayudaron y que gracias a su apoyo logré superar los problemas que surgieron.

A mis amigos y amigas que conocí dentro del instituto, y a los que fuera del instituto también me apoyaron con cada una de sus palabras de motivación.

Resumen

Este trabajo está enfocado al tratamiento de residuos que se generan en un proceso de producción de etanol de segunda generación, los sustratos utilizados fueron bagazo de caña, bagazo de agave, paja de trigo y rastrojo de maíz. Los residuos procedentes de las diferentes etapas como pretratamiento, fermentación y destilación, presentaron características que permiten ser tratados mediante la digestión anaerobia. El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia del tiempo de retención hidráulica (TRH) y la temperatura (35 y 55 °C) sobre la producción de metano a partir de residuos de biorrefinería operando en un sistema en dos etapas (acidogénica y metanogénica).

Metodología: primero los residuos fueron caracterizados para conocer algunas propiedades del sustrato. Posteriormente se realizaron pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM), y así conocer el potencial de los residuos. Posteriormente se realizó una co-digestión con sustratos que aportaran nitrógeno y con ello se eligió el co-sustrato que incrementara el PBM. La segunda etapa constó en la evaluación del TRH en reactores escala laboratorio en condiciones mesófilas y termófilas, con el objetivo de conocer el TRH que favoreciera la producción de metano y remoción de materia orgánica. Los parámetros llevados a reactores pilotos de 30 L de volumen de operación, fueron 2 y 3 días para la etapa acidogénica y metanogénica, respectivamente.

En resultados y conclusiones se logró obtener un PBM de la mezcla de los residuos de termohidrólisis de 251 NmL de CH₄/ kg de sólido volátiles (SV) siendo un buen rendimiento reportado en literatura citada (Arreola-Vargas *et al.*, 2015), al realizar la co-digestión de la mezcla de residuos de termohidrólisis, se identificó que el aporte de 10% de estiércol vacuno incrementa hasta un 16.9% el PBM, siendo 302 NmL de CH₄/g SV.

La experimentación del TRH en el sistema en dos etapas demostró que el TRH de 2 días en condiciones mesófilas, favorece la producción de AGVs obteniendo hasta 8.9 g/L. Además, se observó que en la etapa metanogénica el TRH de 3 días a una carga de 6.6 g DQO/L-d, favorece la remoción de DQO y rendimiento, teniendo un 60% de remoción y un rendimiento de 250 NmL de CH₄/g DQO.

En la operación del TRH en los reactores pilotos se logró observar la presencia de hidrógeno teniendo productividades de hasta 420 NmL de H₂/L_{reactor}-d, en cuanto a la producción de ácidos grasos volátiles (AGVs) se obtuvieron concentraciones de 6.5 g DQO/L. Para la etapa metanogénica, la producción de metano fue similar a la experimentación en laboratorio, pero el rendimiento se vio limitado por la presencia de compuestos derivados de la lignina, como vainillina y fenol, los cuales están presentes en concentraciones inhibitorias, que pueden reducir el rendimiento hasta un 27%, con ello hay que considerar que los residuos de biorrefinería permiten la obtención de metano e hidrógeno, pero presentan inhibidores que limitan la obtención de estos.

Posterior a la experimentación piloto se realizaron pruebas en reactores escala laboratorio bajo condiciones termofílicas (55°C), con el objetivo de evaluar el efecto que se obtenía al trabajar a 55 °C para tratar los residuos de termohidrólisis, fermentación y destilación. Se identificó que un TRH de 2 d y una carga orgánica de 10 gDQO/L-d, favorecen la producción de AGVs. Mientras que en la etapa metanogénica un TRH de 3 d incrementa el rendimiento de metano (180 NmL CH₄/gDQO_{removido}-d), la velocidad específica (750 NmL de CH₄/L_{reactor}-d), y la remoción de carga orgánica (72%).

Al realizar las pruebas del TRH en los reactores piloto, en la etapa acidogénica, se logró detectar la presencia de hidrógeno el cual se obtenía a velocidades específicas de 680 NmL H₂/L_{reactor}-d, siendo un valor superior a lo reportado por Kongjan *et al.* (2010a), además se observó que en el reactor acidogénico es posible solubilizar el 30% de la DQO particulada. Para la etapa metanogénica la

producción de metano fue de 450 NmL de CH₄/L_{reactor}-d, siendo menor a lo reportado por Huang *et al.* (2017b), un factor que se detectó que podría afectar la producción de metano fue la presencia de compuestos derivados de la lignina que estaban a concentraciones inhibitorias.

Introducción

Como parte de los diversos procesos que permiten el aprovechamiento de los residuos lignocelulósicos se encuentra la producción de biocombustibles, gaseosos y líquidos, que sean amigables con el medio ambiente y así reducir las emisiones que se generan por el uso de fuentes fósiles.

El etanol puede obtenerse a partir de biomasa lignocelulósica mediante procesos convencionales basados en plataformas bioquímicas. El proceso consiste en la molienda de los residuos lignocelulósicos, posteriormente se realiza un tratamiento hidrotérmico, para ser llevado a una sacarificación, fermentación y finalizar con una destilación. En pretratamiento hidrotérmico o procesos de termohidrólisis la lignina es fragmentada para liberar la celulosa y carbohidratos, los cuales son sustratos para la fermentación alcohólica donde los microorganismos (bacterias y/o levaduras) se encargan de degradar carbohidratos (pentosas y/o hexosas). Con ello obtener un sustrato rico en etanol que seguirá un proceso de destilación para ser purificado, y así ser utilizado como fuente de energía para generar calor o ser utilizado en el autotransporte.

Del proceso de termohidrólisis se encuentran trazas de carbohidratos solubles; y de los procesos de fermentación y destilación se encuentran las vinazas y sedimentos que contienen cierta concentración de etanol y otros compuestos, además de biomasa en forma de levaduras o bacterias. Estos residuos pueden ser utilizados para obtener energía como el metano, el cual es producido a partir de la digestión anaerobia.

Se ha observado que al separar la digestión anaerobia en dos etapas (acidogénica y metanogénica) se facilita la operación de la misma y se puede reducir hasta un 26% el volumen de operación (Aslanzede *et al.*, 2014), de la cual en la etapa acidogénica se generan los ácidos grasos volátiles (AGV) que son consumidos durante la etapa metanogénica. Gracias a esto se evita la acidificación de los reactores, se promueve la producción de AGVs que son el sustrato principal de las bacterias metanogénicas, y se dan las condiciones para que cada grupo de bacterias se desarrollen en cada uno de sus ambientes.

Como parte de las estrategias que se emplean para tratar estos residuos, se considera que los volúmenes de producción son relativamente grandes proyectándose a cientos de toneladas por día, lo cual obliga a que la experimentación de laboratorio se realice a una escala que permita tratar tal cantidad de residuos.

1. Marco teórico

1.1. Uso del etanol como combustible en México

La Secretaría de Energía (SENER) en su boletín de febrero del 2018 reportó que en México se importan alrededor de 183 millones de barriles de gasolina por año para el uso del sector de autotransporte, del cual propone que, si se agregara un compuesto oxigenante en la relación del 11%, permitiría reducir el consumo de gasolinas, hasta 2,900 millones de litros anuales (SENER, 2018).

Bajo esta propuesta, compuestos como MTBE (metil-terbutil-eter) son agregados a las gasolinas, con el inconveniente reportado de toxicidad que presenta para el medio ambiente y la salud humana (Carrasco y Guevara, 2001), además que es obtenido a partir de fuentes fósiles. Por ello se propone el uso de etanol, que puede ser obtenido a partir de fuentes naturales frenando el uso de fuentes fósiles.

En este marco se desarrolla un proyecto que se encarga de obtener alcoholes a partir de diferentes fuentes. Entre los alcoholes investigados se encuentra el biobutanol y bioetanol, los cuales serán obtenidos a partir de residuos lignocelulósicos abundantes en el país como lo son rastrojo de maíz, paja de trigo, bagazo de caña y bagazo de agave (CEMIE-BIO, 2019).

1.2. Producción de etanol en México

Actualmente la producción de etanol en México ha tomado popularidad por la alta demanda de combustibles, además que es un producto que se puede obtener a partir de diferentes fuentes como cultivos vegetales y material lignocelulósico, entre los cultivos que se puede obtener son el sorgo, maíz, caña, trigo y cebada. En la Figura 1.1 es posible observar que para el año 2014 se había registrado una producción de aproximadamente de 662 millones de litros 10 veces más de lo registrado en el 2007 (Becerra *et al.*, 2009; Fernández y Venegas, 2017), lo cual indica que su producción va en aumento. Esto favorece a la reducción del uso de combustibles fósiles y la emisión de gases de efecto invernadero.

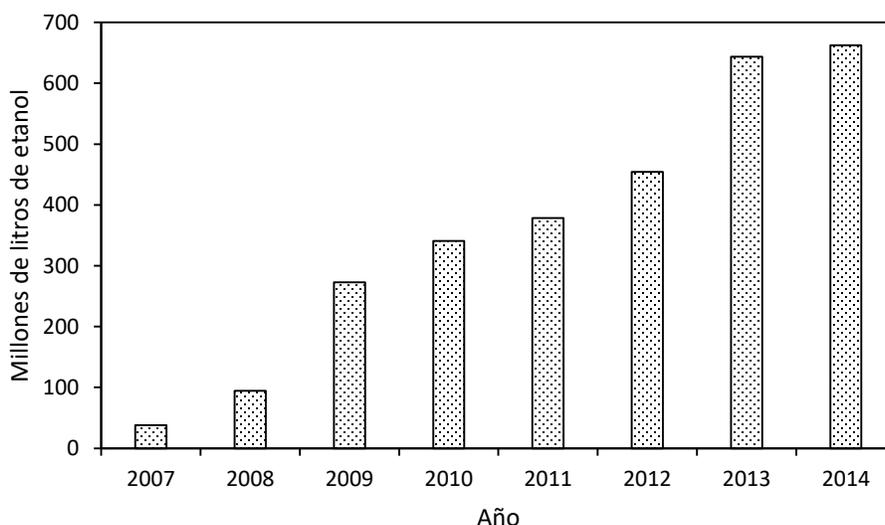


Figura 1.1 Producción de etanol en México Fuente sin hacer diferencia de materia prima (Fernández y Venegas, 2017).

Su producción se basa en su mayoría en cultivos los cuales se pretende remplazar por residuos lignocelulósicos y con ello comenzar a obtener etanol a partir de residuos.

Parte de la propuesta establecida por el CEMIE (Centro Mexicano de Innovación en Energía), es establecer un proceso en el que se utilicen residuos lignocelulósicos que puedan ser aprovechada y así obtener fuentes ricas en carbohidratos los cuales puedan ser fermentados para la obtención de etanol de segunda generación. Gracias a ello se proyecta establecer biorrefinerías que permitan tratar los residuos lignocelulósicos involucrando la ciencia aplicada al sector industrial.

1.3. Biorrefinerías

El concepto biorrefinerías se puede definir como un proceso que se encarga de convertir la biomasa en biocombustibles, servicios, productos o energía (Kamm y Kamm 2004; Castells *et al.*, 2012), los cuales pueden contribuir a satisfacer la demanda de recursos no renovables como el petróleo. Con el uso de la biotecnología se han mejorado los procesos para maximizar el aprovechamiento de la biomasa. Algunos procesos de biorrefinerías se enfocan en la hidrólisis enzimática para la obtención de hidrógeno (Han *et al.*, 2016), algunos se enfocan en la producción de productos líquidos como aceites o biocombustibles como lo son el etanol (Stamatelatos *et al.*, 2014). Gracias a los procesos que proponen las biorrefinerías se puede dar una alternativa a la producción de primera generación.

El utilizar los residuos procedentes de algún proceso agroindustrial, permite valorizar tales residuos, además, se abre la oportunidad de la obtención de energía de segunda generación. Algunos autores reportan tratamientos de residuos procedentes de un proceso de obtención de bebidas alcohólicas, las cuales son similares a los procesos de producción de etanol (Buitrón *et al.*, 2014), otros estudios revelan que es posible obtener energía a partir de residuos de cocina (Ramos *et al.*, 2012). En otros aspectos se pretende utilizar residuos lignocelulósicos, de los cuales es posible obtener azúcares fermentables que podrían ser dirigidos a la producción de etanol (Phillips, 2007).

1.3.1. Residuos lignocelulósicos

Actualmente en México, algunos cultivos como el maíz o el trigo generan gran cantidad de residuos posteriormente a la cosecha de los granos, estudios reportan que por kg de grano es posible obtener 1.05 kg de rastrojo de maíz, para el caso de la paja de trigo es posible obtener 1.1 por kg de grano (Hernández *et al.*, 2019), eso significa que se podrían generar grandes cantidades de residuos lignocelulósicos, y abre la oportunidad para tratar tales residuos para la obtención de energía.

Pero no solamente de las gramíneas es posible obtener residuos lignocelulósicos, el agave, es otro ejemplo de cultivo que genera ese tipo de residuos, además son cultivos muy importantes en el país (INEGI, 2010). Pero se debe considerar que estos residuos presentan cierta problemática para su disposición por sus características fisicoquímicas (CNIT *et al.*, 2008).

Estos residuos están conformados por celulosa, hemicelulosa y lignina, de los cuales, la celulosa es un compuesto conformado por polímeros de glucosa y genera interés para la obtención de azúcares fermentables que podrían ser dirigidos a una fermentación alcohólica (Rodríguez *et al.*, 2017), en la Tabla 1.1 se muestra con que porcentajes están presentes.

Tabla 1.1 Caracterización de algunos residuos lignocelulósicos generados en el país.

Sustrato	% Celulosa / Hemicelulosa	% Lignina	% Cenizas	Fuente
Bagazo de agave	52	7	8.8	(Gonzales-Garcia <i>et al.</i> , 2005)
Bagazo de caña	47	22	3	(García-Garcia <i>et al.</i> , 2013)
Paja de trigo	65	21	3.5	(FAO <i>et al.</i> , 2011)
Rastrojo de maíz	57	29	6.5	

Un inconveniente de estos residuos es la presencia de lignina la cual, encapsula a la celulosa y la disponibilidad de esta última está limitada. Por ello es necesario realizar un pretratamiento biológico, químico o físico (Stamatelatou *et al.*, 2014).

1.3.2. Pretratamiento de los residuos lignocelulósicos

Existen diferentes métodos de pretratamiento para los residuos lignocelulósicos, desde la reducción de partícula (físico), la hidrólisis con algún compuesto (química), hasta la hidrólisis enzimática (biológico). Estudios proponen realizar hidrólisis termoquímica, la cual permite obtener 25 g /L de carbohidratos (Arreola-Vargas *et al.*, 2015). En algunos casos se ha observado que es posible obtener 300 g de carbohidratos/kg de paja de trigo utilizando explosión de vapor (Ballesteros *et al.*, 2004).

Otros autores consideran que realizar un método combinado permite obtener mayor concentración de carbohidratos como es el caso de una hidrólisis con explosión de vapor seguido de una hidrólisis enzimática (Caballero-Barragán, *et al.*, 2018). Se debe mencionar que la explosión de vapor sin catálisis se considera como un método muy eficiente para la producción de etanol (Wang *et al.*, 2013), como se puede observar en la Figura 1.2, su aplicación está enfocada en la liberación de la hemicelulosa mediante el rompimiento de la lignina con el objetivo de dejar más expuesta la celulosa (Jaramillo y Sanchez, 2018)

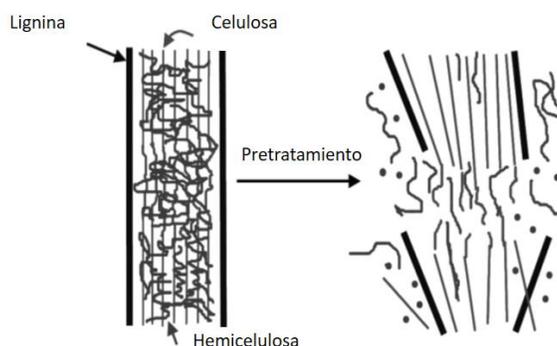


Figura 1.2 Diagrama general del rompimiento del material lignocelulósico para la liberación de celulosa (Hsu *et al.*, 1980; Jaramillo y Sanchez, 2018).

Gracias a estos métodos, es posible tratar residuos lignocelulósicos y establecer procesos de producción de etanol bajo el concepto de biorrefinerías con el fin de obtener energía a partir de fuentes renovables, estos procesos involucran ciertas operaciones unitarias que deben ser analizadas a detalle, por los residuos que serán generados y así considerar los posibles problemas implicados en el proceso.

1.3.3. Operaciones unitarias involucradas en biorrefinerías

Bajo las propuestas establecidas para la obtención de alcohol de segunda generación a partir de residuos lignocelulósicos se encuentran diferentes operaciones: tratamiento hidrotérmico, hidrólisis enzimática o sacarificación, una fermentación alcohólica y una destilación, este proceso ha sido evaluado para poder aprovechar los residuos lignocelulósicos al máximo, por ello se han realizado análisis detallados donde se obtenga etanol y butanol (Sanchez *et al.*, 2013; Valdez-Vazquez y Sanchez, 2018), en la Figura 1.3 se logra observar una serie de operaciones propuestas para la obtención de etanol de segunda generación la cual revela la posible generación de residuos (Erazo-Erazo *et al.*, 2004)

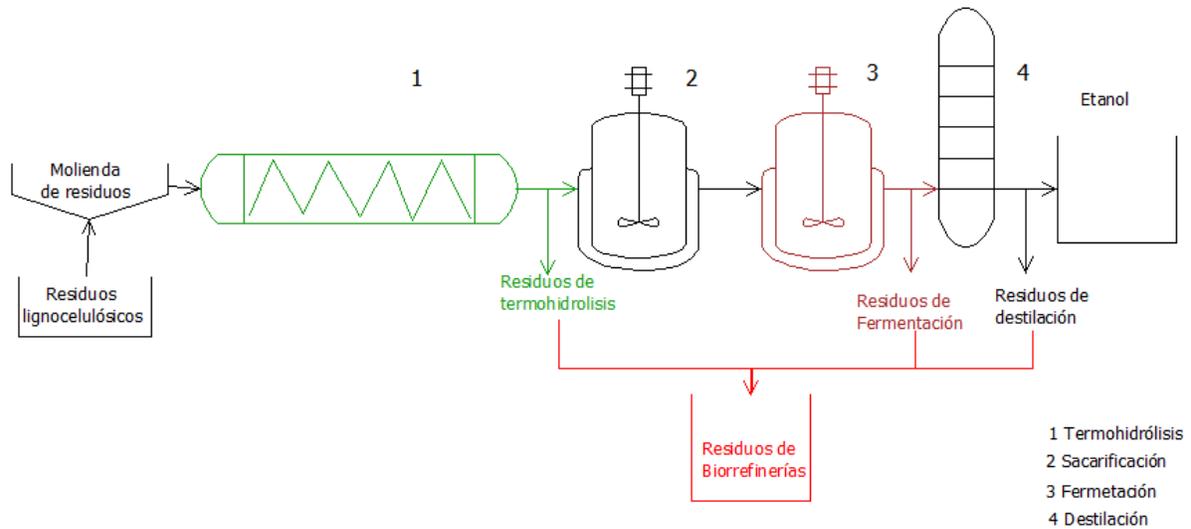


Figura 1.3 Diagrama general de una planta bioquímica de producción de etanol y los residuos de cada etapa

1.3.4. Termohidrólisis y sus residuos generados

Como se había mencionado, el proceso de termohidrólisis o explosión de vapor, involucra tratar la biomasa a altas temperaturas y presión, con el fin de remover la lignina, y liberar la celulosa y así poder ser dirigida a una hidrólisis enzimática (Rodríguez *et al.*, 2017).

Investigaciones recientes han diseñado reactores que tratan estos residuos de manera continua o semi-continua en escala piloto (Caballero-Barragan, *et al.*, 2018), en la Figura 1.4, se puede observar el diagrama general de un reactor de flujo pistón, el cual, es alimentado continuamente y la obtención de biomasa tratada también es continua, este proceso se generan dos fracciones, una líquida que contiene la hemicelulosas y la sólida que contiene celulosa, ambas fracciones son dirigidas a la siguiente operación (hidrólisis enzimática).

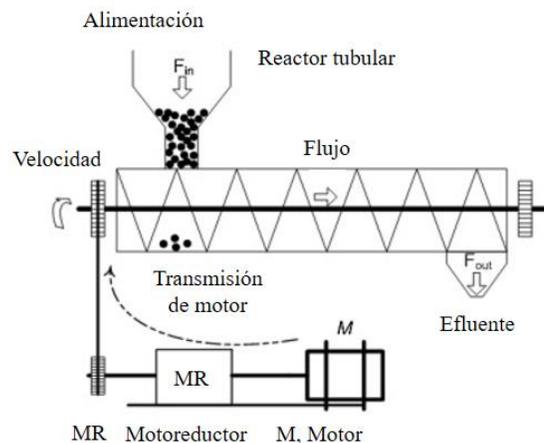


Figura 1.4 Diagrama general del reactor tubular hidrotérmico (Caballero-Barragan *et al.*, 2017).

1.3.4.1. Fermentación y sus residuos

Durante el proceso de fermentación donde es posible obtener acetona, butanol y etanol (una fermentación ABE) (Valdez-Vazquez y Sanchez, 2018), también se obtiene biomasa en forma de

levaduras (Willey *et al.*, 2008), además de los sólidos que no lograron ser tratados durante el proceso de hidrólisis enzimática. Estos dos residuos son separados del licor que será llevado a la destilación.

1.3.4.2. Residuos de destilación o vinazas

Las vinazas se definen como un residuo líquido compuesto de sustancias no volátiles que se genera y permanece en el fondo del alambique de la destilación del mosto fermentado durante el proceso de producción de alcohol o similares.

Considerando que para diversos tipos de vinaza se obtienen relaciones de demanda química y bioquímica de oxígeno (DBO/DQO) alrededor de 0.5, esto significa que contienen aproximadamente el 50% de materia biodegradable y el resto es materia orgánica integrada por compuestos de baja biodegradabilidad. Por su composición compleja, las vinazas representan una fuente muy importante de contaminación al suelo y a cuerpos de agua. Existen algunos avances en la producción de H₂ y metano a nivel laboratorio a partir de vinazas tequileras (Buitrón y Carvajal 2010; Buitrón *et al.*, 2014).

1.3.4.3. Integración de un sistema combinado para la obtención de biocombustibles y energía

Como parte de un sistema que aproveche al máximo el material en el sistema se pretende realizar una integración de los residuos de cada etapa con el objetivo de no solo obtener alcoholes si no también biocombustibles gaseosos como lo son metano e hidrógeno (Erazo-Erazo *et al.*, 2004), gracias a la integración de los diferentes sistemas de fermentación alcohólica y digestión anaerobia se logra tratar los residuos que se generan de cada operación unitaria (Figura 1.5).

Recientes proyectos de investigación han propuesto estos sistemas con el objetivo de establecer biorrefinerías que valoricen los residuos agroindustriales, entre ellos los lignocelulósicos, gracias a esto los análisis de impacto social, económico y ambiental son cubiertos para establecer una biorrefinería con enfoque sustentable (Valdez-Vazquez y Sanchez, 2018).

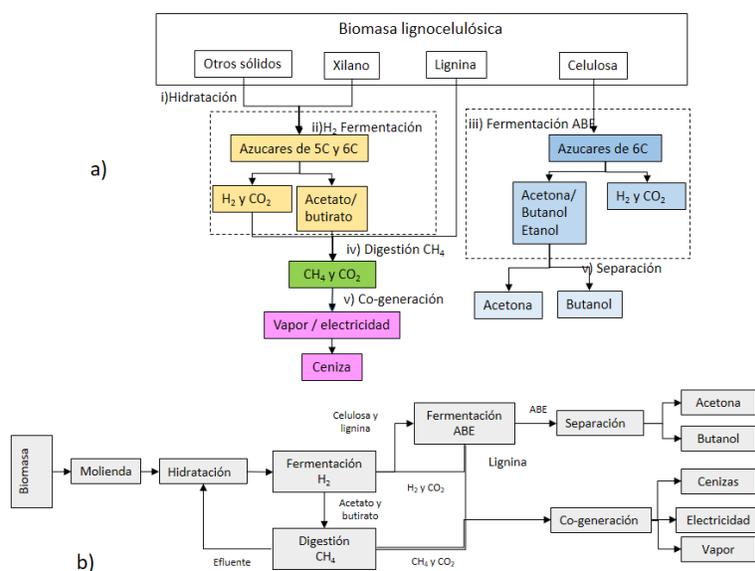


Figura 1.5 a) Esquema de reacción para una biorrefinería basado en cultivos mixtos que indican el flujo de material. b) Diagrama de bloques de proceso. (Valdez-Vazquez y Sanchez, 2018)

1.4. Digestión anaerobia

Se define como digestión anaerobia al proceso en ausencia de oxígeno, donde los microorganismos involucrados en este metabolismo utilizan nitratos, sulfatos y CO₂ como aceptor de electrones para reducirlos a nitrógeno, sulfuro y metano respectivamente (Willey *et al.*, 2008).

La materia orgánica (carbohidratos, proteínas y lípidos) son hidrolizados para tener moléculas de menor tamaño, posteriormente son transformados en ácidos de cadena media, para posteriormente ser transformados en ácidos de cadena corta del cual en su mayoría son convertidos a acetato para poder ser consumidos y dar como resultado la obtención de metano. En la Figura 1.6 se muestra el diagrama general de la digestión anaerobia propuesto por Gujer y Zander (1983).

La digestión anaerobia es un proceso muy complejo, en el cual se involucran diversos grupos de microorganismos solos o en consorcio, los cuales convierten la materia orgánica de la biomasa a diferentes subproductos (Stamatelatu *et al.*, 2014). Aplicado en el tratamiento de residuos líquidos provenientes de diversas fuentes permite obtener diferentes productos entre ellos los biocombustibles (IEA, 2009). Entre los biocombustibles se encuentran el biogás y biohidrógeno (Stamatelatu *et al.*, 2014).

Actualmente, se han propuesto alternativas que han maximizado la obtención de metano, reducir el volumen de reactores, tratar en menos tiempo los residuos y obtener hidrógeno y metano de manera separada (Buitrón *et al.*, 2014), esta alternativa es la digestión anaerobia en dos etapas.

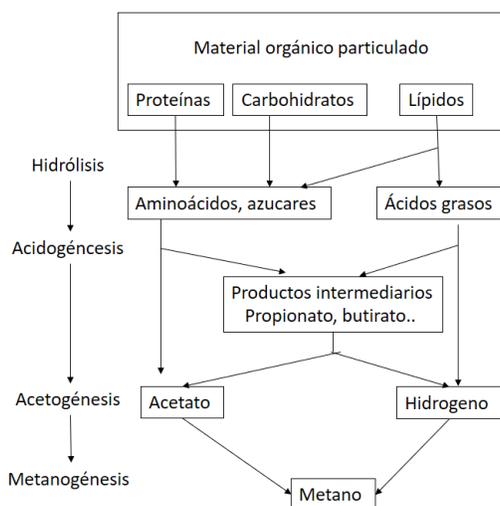


Figura 1.6 Esquema resumido del proceso de biogás (Gujer y Zehnder, 1983)

1.4.1. Digestión anaerobia en dos etapas

Se ha observado que la digestión anaerobia involucra a dos grandes grupos de microorganismos que se encargan de diferentes actividades, los acidogénicos y metanogénicos (Demirel y Yenigün, 2002; García-Aguirre *et al.*, 2017). Los acidogénicos los podemos encontrar en la etapa hidrolítica y acidogénica, los metanogénicos en las etapas acetogénica y metanogénica.

Estos se ven afectados de manera negativa cuando están interactuando en una sola etapa, factores como el pH es uno de los más importantes incluso es una de las razones por las que se puede diferenciar una etapa de la otra, la etapa metanogénica se lleva a cabo en condiciones neutras (pH

cercano a 7) y como dice su nombre la etapa ácida se lleva a cabo en condiciones ácidas (a pH 4.5-5.8) (Demirel y Yenigün, 2002).

1.4.2. Ácidos Grasos Volátiles (AGVs) provenientes de la etapa acidogénica

Los ácidos grasos volátiles son metabolitos resultantes de la etapa acidogénica, podemos encontrar ácido acético, propiónico y butírico (Demirel y Yenigün, 2002), en menores proporciones se pueden encontrar los ácidos isobutírico, valérico, isovalérico entre otros.

Al igual que otros productos resultantes del metabolismo de microorganismos dependen de muchas variables como el pH, temperatura, tiempo de retención hidráulica, inóculo entre otros.

Como se puede observar en la Figura 1.7, la producción de acetato, butirato y propionato se lleva a cabo por el cambio de diferentes intermediarios, se considera que la glucosa es la fuente de carbono, la cual, permite llevar a cabo una fermentación para la producción de ácidos grasos de cadena corta (Zhang *et al.*, 2017).

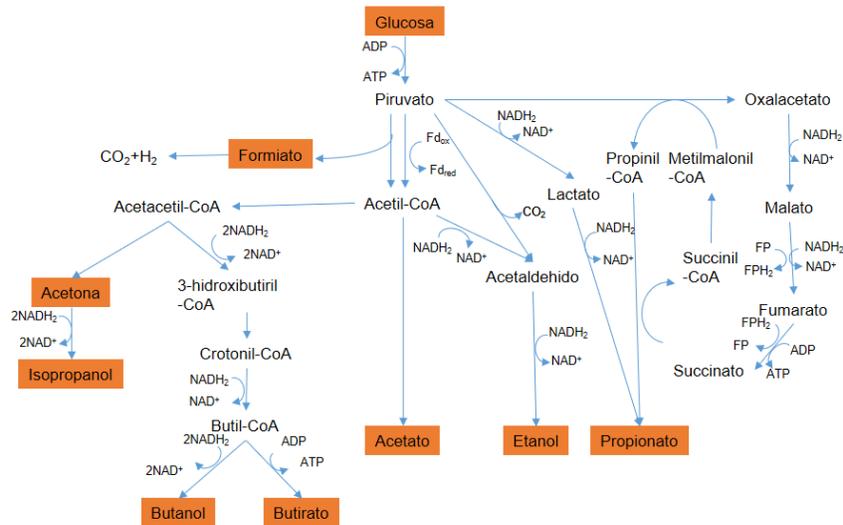


Figura 1.7 Ruta metabólica de la fermentación acidogénica (Zhou *et al.*, 2018).

1.4.2.1. pH en la digestión anaerobia en dos etapas

Estudios revelan que al poner en marcha un sistema anaerobio en una etapa, este se ve afectado negativamente por la actividad de los microorganismos acidogénicos (Chen *et al.*, 2015), los cuales acidifican el sistema y se estabilizan a pH de 5.5, a causa de ello se ve afectada la producción de metano.

La separación en dos etapas de la digestión anaerobia permite estimular en la etapa acidogénica la producción de AGVs, no obstante, no se debe superar valores de pH 6, el incremento al valor antes dicho favorecería la etapa metanogénica (Horiuchi *et al.*, 1999).

Se ha encontrado que el pH que favorece a los microorganismos acidogénicos oscila entre 4.5 y 5.8, esto se debe a que la actividad de sus enzimas se ve favorecida para la degradación de ciertos compuestos (Zhang *et al.*, 2005).

Para la etapa metanogénica, o segunda etapa, el pH óptimo oscila entre 6.5 y 8 (Horiuchi *et al.*, 1999). Dado que a pH diferente se ve afectada la transcripción de los genes involucrados en la producción de metano (Zhang *et al.*, 2018).

1.4.2.2. Alcalinidad

La alcalinidad de un agua se define como la capacidad de neutralizar ácidos, es expresada como carbonato de calcio (CaCO_3) (APHA, 1999). En procesos anaerobios es de vital importancia conocer la concentración en el sistema, autores reportan que durante obtención de metano la producción de CO_2 se ve favorecida, este último es soluble en agua lo cual da origen carbonatos y bicarbonatos (Gujer y Zehnder, 1983).

La alcalinidad en forma de bicarbonato en la digestión anaerobia es de gran importancia, el cual da un efecto de amortiguamiento a cambios de pH. Como se ha descrito anteriormente, la producción de ácidos orgánicos es parte de la digestión anaerobia, la concentración de los mismos provocaría un cambio drástico del pH, algunos autores reportan que la operación adecuada de reactores anaerobios presenta alcalinidades de 2,000 a 4,000 mg CaCO_3/L (APHA, 1999).

Por otra parte, un factor relacionado con la alcalinidad, que debe ser evaluado en la digestión anaerobia es el parámetro alfa, el cual es el cociente de la relación de la alcalinidad a pH 4.3 menos la alcalinidad a pH 5.4, entre la alcalinidad a pH 4.3, este factor ayuda a evaluar si nuestro reactor está trabajando adecuadamente. Un valor adecuado del parámetro alfa en la operación de reactores anaerobios es de 0.2 a 0.25.

1.4.2.3. Tiempo de retención hidráulica (TRH)

Se ha observado que la producción de ácidos grasos en reactores acidogénicos varía dependiendo de los tiempos de retención hidráulica, este se puede variar de días a horas. Un ejemplo de ello es la producción de butirato el cual se ve favorecido a TRH de 96 h (Bengtsson *et al.*, 2008), a TRH inferior a 4 días se ve favorecida la producción de acetato y propionato. Estudios revelan que TRH superior a 8 días no muestran variación significativa en la producción de AGVs (Lim *et al.*, 2008), por lo cual no se recomienda superar esos valores para la producción de ácidos grasos.

Para reactores de etapa metanogénica se ha observado que en condiciones mesófilas y una mezcla de acetato, propionato y butirato a una relación 2:1:1 respectivamente, con concentraciones de 70 g/L de DQO, un TRH de 4.46 d facilita la producción de metano (Labib *et al.*, 1992). Buitrón *et al.* (2014) observaron que a una carga de 1.7 g DQO/L y un TRH de 24 h había una producción de biogás con un 68% de metano, a TRH < 24 h y menor concentración de materia orgánica (<1.6 g/L) la calidad del biogás se ve afectada.

1.4.2.4. Temperatura en reactores de dos etapas

Otro factor que se debe tomar en cuenta en la digestión anaerobia en dos etapas es la temperatura, para el caso de una etapa acidogénica algunos autores reportan que la producción de AGVs no presenta variaciones en relación al cambio de temperatura además recomiendan que en condiciones mesofílicas (35 °C) es más rentable la obtención de los mismos (Jiang *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2018). No obstante, entre 35-45 °C se verá favorecida la producción de acetato y propionato, y cuando la temperatura oscila entre 55 y 70 °C la producción de butirato se ve favorecida (Jiang *et al.*, 2013; He *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2018).

Con respecto a la producción termófila de metano, se ve afectada por el consumo de energía que conlleva para alcanzar temperaturas de 55 °C. Cabe resaltar que algunos parámetros cinéticos se ven favorecidos comparando condiciones mesófilas en relación a las termófilas, un ejemplo de ellos es la velocidad específica de crecimiento de las bacterias metanogénicas termófilas (Figura 1.8), la cual, se ve favorecida hasta un 60% (Speece, 1996; Fernández-Rodríguez *et al.*, 2013), la velocidad de degradación de la materia orgánica también se favorece (Vindis *et al.*, 2019), el rendimiento en la

producción de metano a partir de residuos orgánicos municipales ($Y_{p/s}$) incrementa considerablemente hasta un 107% (Fernández-Rodríguez *et al.*, 2013).

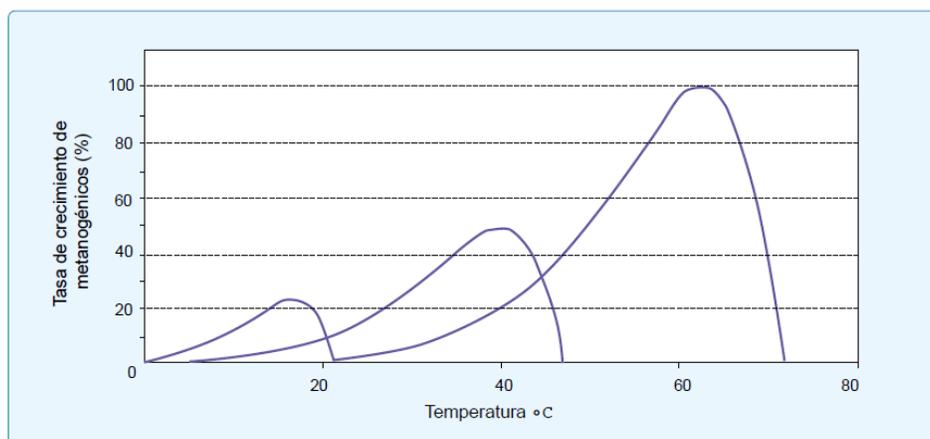


Figura 1.8 Tasa de crecimiento de los metanogénicos (Speece, 1996)

Es posible observar que algunas de las condiciones de operación para reactores en dos etapas ya están establecidos, las cuales podrán variar por la condición del sustrato a tratar, en la Tabla 1.2 se muestran algunas condiciones que proponen para la operación de un sistema en dos etapas.

Todo dependerá de la complejidad del sustrato, algunos estudios reportan que es posible tratar residuos lignocelulósicos en un periodo de 16 días (Arreola-Vargas *et al.*, 2015), siendo un lapso de tiempo muy largo, pero por otra parte algunos sustratos son degradados en menores lapsos de tiempo como es el caso de las vinastas tequileras las cuales podrían ser tratadas en 0.8 d lo cual es un corto lapso de tiempo (Buitrón *et al.*, 2015).

Tabla 1.2 Condiciones de operación en un sistema de dos etapas

Parámetro	Acidogénico	Metanogénico
pH	5.5	7.5
TRH	1-6 días	1-15 días
Productos principales	AGVs/ H ₂	Metano

1.4.2.5. Remoción de materia orgánica

Un parámetro de desempeño que permite evaluar la eficiencia del sistema en dos etapas es la remoción de la materia orgánica, la cual se evalúa a partir de la calidad del efluente, y así conocer el porcentaje de remoción. En la Tabla 1.3 se muestran las diferentes combinaciones de reactores y eficiencias de remoción de los sistemas en dos etapas comparado con sistemas en una etapa.

Tabla 1.3 Comparación de sistemas en una y dos etapas, remoción de materia orgánica

Sistema	Reactor	Sustrato	Carga orgánica (kg/m ³ -d)	TRH (h)	Temperatura	% remoción	Referencia
Dos etapas	CSTR-AF	Efluente de refresco	16	177.6	Mesofílica	96%	Ghosh <i>et al.</i> , 1985
Dos etapas	AF-UASB	Melaza de caña	11	21	Mesofílica	90%	Vinas <i>et al.</i> , 1993
Dos etapas	CSTR-UASB	Vinazas tequileras	1.7	24	Mesofílica	75%	Buitrón <i>et al.</i> , 2014
Una etapa	Digestor de flujo ascendente	Lodos	5	48	Mesofílica	< 53%	Lin y Ouyang, 1993
Una etapa	CSTR	Melaza de caña	5	216	Termófilo	66%	Yeoh <i>et al.</i> , 1997

1.5. Relación carbono nitrógeno

Otra característica que se debe tomar en cuenta para la digestión anaerobia es la relación carbono nitrógeno (C/N), este factor es de gran importancia, una variación del mismo podrá beneficiar o afectar la producción de metano, estudios revelan que en la digestión de excretas de ganado que presenten la relación C/N cercana a 30 (Figura 1.9) permite obtener una calidad de biogás de aproximadamente 70% de metano (Guarino *et al.*, 2016), relaciones inferiores o superiores podrían afectar la calidad del biogás.

Además, se debe tomar en cuenta la producción de nitrógeno en forma amoniacal, se ha observado que relaciones de C/N inferiores a 20 generan problemas de toxicidad en el sistema, evaluado a pH de 7 y en condiciones mesófilas y termófilas (Wang *et al.*, 2014b).

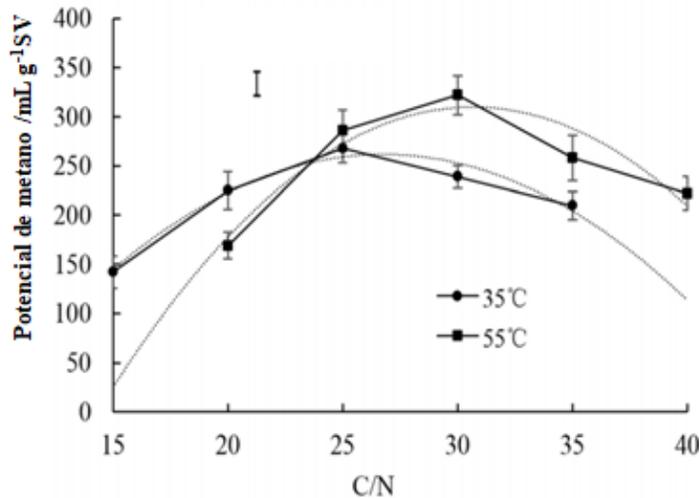


Figura 1.9 Potencial de metano en relación a C/N a 55 y 35 °C (Wang *et al.*, 2014b)

1.5.1. Co-digestión

La co-digestión es un proceso que involucra dos o más sustratos que permiten incrementar el potencial de producción de metano por kg de mezcla (Borowski y Weatherley, 2013), gracias a ello se favorecen las condiciones de nutrición que se ven limitadas por la deficiencia que tiene algún sustrato.

Para realizar co-digestión con diferentes sustratos es necesario determinar la deficiencia que se tiene en el sistema, si se requiere agregar carbono al sistema se recomienda aportar pajas o residuos lignocelulósicos ricos en carbono (Botero y Presto, 1987), algunos estudios revelan que un buen co-sustrato es el estiércol de pollo por su alto contenido de nitrógeno (Wang *et al.*, 2014b), otros autores recomiendan el pepino, el cual beneficia a la comunidad metanogénica (Wang *et al.*, 2018). Otro co-sustrato es el lodo proveniente de plantas tratadoras de aguas residuales (PTAR) el cual mejora la relación carbono nitrógeno, además de aportar elementos traza que favorecen la nutrición en el sistema (Oh *et al.*, 2017).

Para evaluar la productividad de metano se realizan pruebas de potencial bioquímico de metano las cuales revelan la biodegradabilidad de la mezcla, así como las condiciones en las que se pueda operar ya sea termófila o mesófila, además de evaluar el balance de nutrientes (Labatut *et al.*, 2011).

1.5.2. Co-digestión en dos etapas

Estudios en dos etapas demuestran que la mezcla de diferentes co-sustratos modifica la producción de AGVs en la etapa acidogénica, y la biodegradabilidad en la etapa metanogénica; viéndose favorecida la producción de butirato y la producción de metano respectivamente en cada etapa, teniendo como co-sustratos la paja de arroz y residuos de comida (Chen *et al.*, 2015).

La combinación de los diferentes co-sustratos son de gran importancia para obtener resultados favorables para la producción de metano. Andri *et al.*, (2017) reportaron que una mezcla de 1:1 de rastrojo de maíz dulce y estiércol (ya sea de caprino, vacuno o porcino) permite la remoción de al menos el 70% de la DQO presente en la mezcla. En la Tabla 1.4 se muestran algunos co-sustratos y el beneficio que aportan.

Tabla 1.4 Diferentes co-sustratos y sus beneficios al sistema

Co-sustrato	Beneficia	Incremento	Referencia
Excremento	Aporte de nitrógeno	50% biogás	Sarabia-Méndez <i>et al.</i> , 2017
Residuos de alimentos	Biodegradabilidad		
Pepino	Mejora la población microbiana	Diversidad en archeas	
Pajas o rastrojos	Aporte de carbono al sistema	Reducir la concentración de nitrógeno	Wang <i>et al.</i> , 2018
Lodo de PTAR	Aporte de nitrógeno y elementos traza	Reducción de TRH	Sarabia-Méndez <i>et al.</i> , 2017

2. Objetivos

Evaluar la influencia del tiempo de retención hidráulica y la temperatura sobre la producción de metano a partir de la co-digestión de residuos de biorrefinerías operando en un sistema en dos etapas (acidogénica y metanogénica).

2.1. Objetivos particulares

- Determinar el potencial bioquímico de metano de los residuos de termohidrólisis en co-digestión con co-sustratos que aporten nitrógeno.
- Evaluar la influencia del tiempo de retención hidráulica sobre el desempeño de un sistema en dos etapas (acidogénica y metanogénica) en reactores escala laboratorio bajo condiciones mesofílicas (35 °C) y termofílicas (55 °C).
- Evaluar el desempeño de un sistema en dos etapas a escala piloto operado bajo las mejores condiciones de tiempo de retención hidráulica obtenido a 35°C y a 55 °C en el sistema escala laboratorio.

Hipótesis

La producción de metano en el tratamiento de residuos de biorrefinería es afectada por la temperatura y el tiempo de retención hidráulica.

Los residuos de biorrefinería provenientes de un proceso de producción de bioetanol son un sustrato que al ser tratados mediante la digestión anaerobia, permitirá obtener metano.

3. Metodología

3.1. Estrategia experimental

La estrategia experimental que se adoptó para llevar a cabo la investigación comenzó con la caracterización de diferentes residuos lignocelulósicos, bagazo de agave, rastrojo de maíz, bagazo de caña y paja de trigo, generados en un proceso de producción de etanol, el cual generaba sólidos procedentes de un proceso de termohidrólisis, para lograr su caracterización se lixivió el sólido y así obtener dos fracciones: el lixiviado y el sólido.

Caracterizados los residuos se procedió a realizar pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM), y así conocer que fracción favorece para la obtención de metano, se propuso realizar una co-digestión con residuos que aportaran nitrógeno y así favorecer la relación C/N que fuera cercana a 25 e incrementar el PBM, entre los co-sustratos utilizados fueron digestato procedente de una planta de tratamiento de aguas residuales, residuos de aloe y estiércol vacuno.

Se estableció un sistema en dos etapas escala laboratorio a 35 °C, de 4 y 3 L de volumen de operación, para la etapa metanogénica y acidogénica respectivamente, la alimentación de los reactores fue una mezcla de los lixiviados procedentes de los residuos de termohidrólisis, el cual, permitiera experimentar con los tiempos de retención hidráulica (TRH) en cada una de las etapas

Posteriormente se determinó qué TRH favorece en la etapa acidogénica y metanogénica la producción de AGVs y metano respectivamente. Por ello fueron aplicados el TRH de 2 d para la etapa acidogénica y 3 d para la etapa metanogénica en los reactores de escala piloto de 30 L, con el objetivo de evaluar el efecto del incremento de volumen de operación.

En esta etapa de experimentación se trataron residuos de las diferentes etapas de producción de bioetanol (termohidrólisis, fermentación y destilación), los cuales contenían sólidos que debían ser solubilizados, como estrategia se optó por trabajar a 55 °C dado que a esta temperatura se facilita la solubilidad de los sólidos. La experimentación fue llevada a cabo en reactores de 4 y 9 L de volumen de operación, se experimentaron con diferentes TRH de los cuales se determinaría cual favorece la producción de AGVs y metano de la etapa acidogénica y metanogénica, respectivamente.

De los TRH experimentados se determinaron los TRH que favorecen la producción de AGVs y metano, los cuales fueron operados en los reactores escala piloto y así evaluar el efecto de cambio de volumen de operación al realizar el tratamiento de los residuos de biorrefinerías.

Se debe mencionar que en cada uno de los capítulos se describirá una metodología que especifica a detalle cada una de las condiciones de operación y experimentación.

3.2. Residuos de termohidrólisis

Los residuos utilizados en este trabajo fueron bagazo de agave, rastrojo de maíz, bagazo de caña y paja de trigo. En un reactor que operaba a 180 °C, 146 psig, por un tiempo de 45 min (Rodríguez *et al* 2017)., se generaba cierta porción de residuos al inicio del proceso, dado que no se alcanzaban las condiciones deseadas; una vez finalizado el proceso se generaba otra fracción de los residuos que no lograban ser tratados bajo las condiciones del reactor.

El proceso anteriormente descrito era realizado en el Laboratorio de Futuros en Bioenergía CINVESTAV Unidad Guadalajara, Jalisco.

3.2.1. Extracción de la fracción soluble de los residuos de termohidrólisis

Los residuos de termohidrólisis eran sólidos con apariencias fibrosas con cierta presencia de humedad, se propuso realizar lixiviación de la fracción soluble con el objetivo de separar los compuestos solubles.

El sólido era pesado y por 1 kg de sólido, se agregaban 2 litros de agua de grifo; posteriormente fueron depositados en contenedores de 20 L, se dejaba reposar por 24 h y posterior a ello, se prensaban los sólidos para extraer la mayor cantidad de lixiviado. El lixiviado resultante era preservado a 4 °C y acidificado con ácido fosfórico a pH 2 ± 0.3 .

3.2.2. Técnicas generales

3.2.2.1. Análisis fisicoquímicos

Con el fin de conocer las características que presenta los residuos de termohidrólisis después de ser lixiviados, se evaluaron diferentes parámetros, descritos en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1 Análisis fisicoquímicos para la caracterización de los residuos de biorrefinerías

Parámetro	Método
Sólidos totales y volátiles	(APHA, 1999)
Demanda química de oxígeno (total y soluble)	(APHA, 1999)
Alcalinidad	(APHA, 1999)
Análisis de carbón	Toc-5050
pH	(APHA, 1999)
Carbohidratos	Dubois <i>et al.</i> , 1956
Nitrógeno amoniacal	(APHA, 1999)
Fosfatos	(APHA, 1999)

3.2.3. Análisis instrumental

3.2.3.1. Análisis de biogás

Para el análisis de la producción de metano, hidrógeno y CO₂ en el biogás fue analizado usando un cromatógrafo de gases (8610C, SRI Instruments, Torrance, CA, USA) equipado con un detector de conductividad térmica (TCD) y dos columnas de acero (una columna empacada con sílice gel de 6' x 1/8'' y otra columna empacada con tamiz molecular 13x). Las temperaturas del inyector y detector son 90 y 150 °C, respectivamente. La temperatura inicial en la columna es de 40°C, la cual se mantiene por 4 min y después incrementa gradualmente hasta 110 °C a razón de 20°C min⁻¹. La temperatura final en la columna se mantiene por 3 min. Como gas acarreador fue utilizado nitrógeno a un flujo de 20 mL min⁻¹.

3.2.3.2. Análisis de compuestos específicos

Para análisis instrumental de los compuestos presentes en los residuos de termohidrólisis se realizó bajo un método instrumental para la identificación mediante el uso de HPLC, los componentes a estudiar son los siguientes:

- Hidroximetil furfural
- Furfural
- Acetato
- Propionato
- Butirato
- Etanol

- Acetona

De la fracción soluble fueron cuantificados AGVs y alcoholes al final cada uno de los ensayos, usando un cromatógrafo de gases (7890 B, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna DB-FFAP de 15 m de longitud (530 μm x 1 μm). Las temperaturas del inyector y detector se mantienen a 190 y 210 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. La temperatura inicial en la columna es de 60 $^{\circ}\text{C}$; después incrementa a 90 $^{\circ}\text{C}$ a razón de 15 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$; posteriormente a 170 $^{\circ}\text{C}$ a razón de 25 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ y se mantiene ésta temperatura por 3.5 min. Se usa gas nitrógeno como gas acarreador a 25 mL min^{-1} .

Identificación de minerales

Para la determinación de los diferentes minerales presentes en los residuos de termohidrólisis se realizó un análisis por espectro de masas, realizado en un equipo de absorción atómica Advanta PM LGBC Scientific, con una frecuencia de operación de 50 a 60 Hz, con un rango de detección de 185 -900 nm, la flama permitió la detección de Ca, Cu, Fe, Li, As, Pb y Ni. Las muestras fueron filtradas con filtros de 0.45 μm , para determinar los minerales solubles.

3.2.4. Experimentación a escala laboratorio en condiciones mesófilas y termófilas

Posterior a los resultados obtenidos de la co-digestión se estableció un sistema en dos etapas a 35 $^{\circ}\text{C}$, que permitiera experimentar con el TRH en la etapa acidogénica y la etapa metanogénica. En el reactor de etapa acidogénica se experimentó con TRH de 2 y 1 d, en el reactor de etapa metanogénica fue de 4, 3 y 2 d.

Para la experimentación a 55 $^{\circ}\text{C}$ en dos etapas se propusieron diferentes TRH, para el reactor acidogénico TRH de 1 y 2 d, para el reactor metanogénico fueron 3 y 2 días de TRH, del influente y efluente se realizaron análisis de DQO, AGVs, carbohidratos y sólidos, tanto de los reactores mesófilos y termófilos.

Posteriormente se realizó una prueba estadística de comparación de medias, y una prueba post hoc Tukey-Kramer que permitiera evaluar datos no balanceados (que no tienen el mismo número de muestras) el efecto del TRH en los diferentes parámetros de desempeño de las dos etapas, y así conocer el TRH que favorece la producción de metano, con el objetivo de operar los reactores piloto a esa condición.

3.2.5. Experimentación en reactores piloto

La operación mesófila y termófila de los reactores piloto, fue de TRH de 2 días para el reactor acidogénico, y para el reactor metanogénico fue de 3 días. Del influente y efluente de los reactores se evaluó la concentración de AGVs, DQO y sólidos. Para el análisis estadístico fue utilizada una ANOVA con una prueba post hoc de Tukey-Kramer.

3.2.6. Cálculo de velocidad específica de producción

Para realizar el cálculo de la velocidad volumétrica se propuso una ecuación donde se relaciona la producción de metano en cierto tiempo en relación al volumen del reactor, en la ecuación 3.1 se muestran las variables utilizadas para el cálculo.

$$Vp = \frac{v_1 - v_0}{\frac{t_1 - t_0}{v_{reactor}}} \quad \text{Ecuación 3.1}$$

Dónde: Vp es la velocidad de producción expresado en unidades de NmL de $\text{CH}_4 \text{L}_{reactor}^{-1} \text{d}^{-1}$;

v_0 es el volumen inicial expresado en NmL de CH_4 ;

v_1 es el volumen producido expresado en NmL de CH_4 ;

t_0 es el tiempo inicial que corresponde a v_0 , expresado en días (d);

t_1 es el tiempo transcurrido del cual se produjo v_1 y;

$v_{reactor}$ es el volumen del reactor expresado en L.

3.2.7. Cálculo de rendimiento

Para realizar el cálculo de la producción de metano por gramo de DQO removido, se utilizó la ecuación 3.2.

$$Y_{p/s} = \frac{\frac{v_1 - v_0}{t_n}}{\frac{s_i - s_e}{t_n} * \frac{v_{feed}}{t_n}} \rightarrow Y_{p/s} = \frac{v_1 - v_0}{(s_i - s_e) * v_{feed}} \quad \text{Ecuación 3.2}$$

donde; $Y_{p/s}$ es el rendimiento expresado en NmL de $\text{CH}_4/\text{g DQO}_{removido} \text{d}$;

v_0 es el volumen inicial, v_1 es el volumen producido o final en un tiempo n (t_n) expresando en NmL de CH_4 ;

s_i es la concentración de la DQO en el influente y s_e en el efluente expresado en g/L.

v_{feed} es el volumen alimentado del sustrato expresado en L.

t_n es el intervalo de tiempo siendo el mismo para el v_{feed} y v_1 .

4. Caracterización y pruebas de co-digestión

4.1. Introducción

El proceso de termohidrólisis permite romper la lignina y así liberar la celulosa que pueda ser utilizada para una fermentación (Rodríguez *et al.*, 2017), al término del proceso se obtienen dos fracciones: el hidrolizado y el sólido, este último contiene trazas de compuestos solubles que podrían ser utilizados para la producción de metano.

La caracterización de tales residuos es de gran importancia, dado que durante el proceso de termohidrólisis se obtienen carbohidratos, ácidos grasos de cadena corta y otros compuestos solubles como inhibidores que podrían afectar el proceso de digestión anaerobia (Barakat *et al.*, 2012).

Estudios revelan que lixiviar residuos de termohidrólisis da como resultado la obtención de dos fracciones, el sólido lixiviado y el lixiviado, al realizar pruebas de PBM se observa que el lixiviado permite obtener hasta 377 mL de CH₄/g SV de un lixiviado de bagazo de caña (Hernández-Ramírez, 2019).

Por otra parte, se debe considerar la limitación de nutrientes que pueden tener influencia sobre el PBM, como lo es el nitrógeno, Wang *et al.* (2014b) reportaron que es de gran importancia una relación de carbono nitrógeno (C/N) que oscile en valores de 25 a 30, valores menores o superiores a esta relación afectan el PBM, para ello se recomienda realizar una co-digestión con un sustrato que aporte nitrógeno.

4.2. Lixiviación de los residuos de termohidrólisis

Se observó que los residuos de termohidrólisis tenían características físicas de un sólido con cierta proporción fibrosa, las cuales podían observarse a simple vista (Figura 4.1 y 4.2). Cada uno de los residuos fue tratado individualmente para poder ser caracterizados.



Figura 4.1 Extracción de lixiviados de termohidrólisis en agua con malla de 0.5 mm por 24 h.



Figura 4.2 Residuos de termohidrólisis utilizados en el experimento.

4.3. Resultados y discusión

4.3.1. Caracterización residuos de termohidrólisis

De cada uno de los residuos utilizados en este proyecto se caracterizó el sólido (sin lixiviar), el lixiviado y el sólido lixiviado, de cada uno de ellos se analizaron diferentes parámetros. Es posible observar la presencia de monómeros como xilosa y glucosa, en los residuos sin lixiviar y los lixiviados, los cuales derivan del xilano y celulosa respectivamente (Rodríguez *et al.*, 2017), por otra parte, es posible encontrar concentraciones de carbohidratos totales solubles de 14 g/kg en el caso de la paja sin lixiviar, y una sumatoria de 5.1 g/kg de glucosa + xilosa, el resto de los carbohidratos podrían ser disacáridos y oligosacáridos solubles.

Al realizar una sumatoria de los compuestos identificados en relación a su DQO, aproximadamente el 6% de la DQO no es posible ser identificada, entre los compuestos es posible identificar derivados de la deshidratación de pentosas y hexosas como lo son furfural e hidroximetil-furfural, lo cual indica que es posible encontrar derivados de la lignina como lo son el seringaldehído y la vainillina, este último podrían afectar el proceso de digestión anaerobia (Barakat *et al.*, 2012).

Por otra parte, la DQO total de los residuos sin lixiviar, la cual es de 230 g/kg de residuo, podría generar un problema medio ambiental, por esta razón es necesario que sean tratados.

En la Tabla 4.1 se puede observar la caracterización de los diferentes residuos y cada una de las fracciones (lixiviado y sólido).

Tabla 4.1 Caracterización de los lixiviados de los residuos de biorrefinerías

	Paja de trigo			Bagazo de caña			Bagazo de agave			Rastrojo maíz		
	Sin lixiviar (g/kg)	Sólido (g/kg)	Lixiviado (g/L)	Sin lixiviar (g/kg)	Sólido (g/kg)	Lixiviado (g/L)	Sin lixiviar (g/kg)	Sólido (g/kg)	Lixiviado (g/L)	Sin Lixiviar (g/kg)	Sólido (g/kg)	Lixiviado (g/L)
Sólidos totales	177.8 ± 25	151.8 ±13	14.2±0.3	193.2±20	161.7±10	49.1±3	198.5±16	179.2±15	18.1±1	141±5	116.±9	30±2
Sólidos volátiles	142.2 ±16	121.5 ±10	11.3±1	154.6±15	129.4±5	39. 3±2	158.8±20	143.3±30	14.5±1	112±6	93±1	24.1±8
Glucosa	1.2 ±0.1	0	0.6±0.1	1.9±0.2	0	1±0.2	0.1±0.01	0	0.1	2±0.5	0.01	0.9±0.07
Xilosa	3.9 ±0.2	0.1	2±0.1	0.7±0.2	0	0.4	1.5±0.3	0.1	0.8±0.1	0.7±4	0	0.3±0.02
Carbohidratos solubles	14.6 ±0.5	0.2±0.01	7.3±0.5	25.6±1	0.2±0.01	12.8±0.5	8.2±0.2	0.2	4.1±0.1	32.4±8	0.3±0.01	16.2±4
DQO soluble	18.2 ±0.6	0.2±0.01	9.1±0.3	73±5	0.2±0.1	36.5±2	21±1	0.3±0.1	10.5±0.5	49±8	1.5±0.1	24.5±4
DQO total	160 ±20	150±15	11±0.5	190±10	160±5	40±3	250±20	230±19	12±1	265±6	244±5	25±3
HMF	0.2 ±0.01	0	0.1±0.01	0.2±0.01	0	0.1±0.01	0.1±0.01	0	0	0.2±0.04	0	0.11±0.01
Furfural	0.3 ±0.01	0	0.2±0.01	0.8±0.05	0	0.4±0.01	0.1±0.01	0	0.1±0.01	0.8±0.02	0	0.41±.01
N	0.001	N/D	0.0004	0.001	N/D	0.0003	0.001	N/D	0.0003	0.001	N/D	0.0003
Acetato	N/D	N/D	1.2±0.2	N/D	N/D	2.4±0.1	N/D	N/D	0.7±0.01	N/D	N/D	1.8±0.5
Butirato	N/D	N/D	0.15±0.01	N/D	N/D	0.1±0.01	N/D	N/D	0.01	N/D	N/D	0.01
Etanol	N/D	N/D	0.08±0.01	N/D	N/D	0.07±0.01	N/D	N/D	0.06±0.01	N/D	N/D	0.08±0.01
Propionato	N/D	N/D	0.08±0.01	N/D	N/D	0.03	N/D	N/D	0.05	N/D	N/D	0.02

N/D : No determinado

4.3.2. Pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM)

Las pruebas se llevaron a cabo como lo proponen Raposo *et al.* (2011), teniendo una relación sustrato-inóculo (S_0/X_0) de 0.5, o bien por cada g DQO se aportó 2 g sólidos volátiles (SV) de biomasa la cual permite producir 350 NmL de CH_4/g SV. Las pruebas fueron realizadas a 37 °C por triplicado, en los equipos AMPTS (por sus siglas en inglés, Automatic Methane Potential Test System) de Bioprocess control®, con reactores de 600 mL, con un volumen de operación de 360 mL.

Como trampa de CO_2 , se utilizó hidróxido de sodio a una concentración 3 N, en una botella de 120 mL y un volumen de 80 mL de hidróxido, con timolftaleína como indicador cambio de pH.

Para la cantidad de lodo anaerobio se caracterizaron los sólidos volátiles y así conocer la biomasa presente en el inóculo, posterior a ello se propuso fijar la cantidad de lodo siendo de 20 g con una biomasa de 1.4 g de SV y el sustrato se ajustaba para tener la relación S_0/X_0 de 0.5 g SV/g SV.

4.3.2.1. Preparación de los reactores

Para realizar el montaje de las pruebas de PBM, se procedió a depositar los 20 g de lodo anaerobio en el reactor de 0.6 L, posterior a ello se agregó agua. Fue agregado medio mineral propuesto por Angelidaki *et al.* (2009), teniendo las soluciones A (Fosfatos), B (Cloruros y sulfatos), D (minerales), y E (vitaminas), agregados a una en una mezcla de 10, 2, 1 y 1 mL por litro de sustrato; finalmente se agregó el sustrato (Figura 4.3). Cada una de las pruebas fue realizada por triplicado, se tomó muestras iniciales que fueron preservadas con ácido sulfúrico concentrado y almacenadas en refrigerador a 4 °C, con el fin de caracterizar.



Figura 4.3 Esquema general de la preparación de los contenedores para las pruebas de potencial de metano.

Instalación de la prueba en los equipos de AMPTS

4.3.2.2. Método de cuantificación de metano en el equipo AMPTS

La unidad de cuantificación se basa en la acumulación del gas en un dispositivo con un volumen conocido, cuando este se satura libera cierta cantidad de gas y el proceso inicia nuevamente (Figura

4.4 y 4.5.), la computadora realiza un registro en línea, gracias a de ello se puede tener un registro continuo de lo que se está obteniendo. Se debe mencionar que el equipo se encarga de realizar correcciones sobre la saturación de vapor y la normalización bajo condiciones de temperatura y presión normal que establece la ley de gases ideales.

Una vez corregido los valores de volumen obtenido se hace un registro donde se reporta el volumen acumulado y la relación con respecto al tiempo (velocidad volumétrica [NmL de gas/h]).

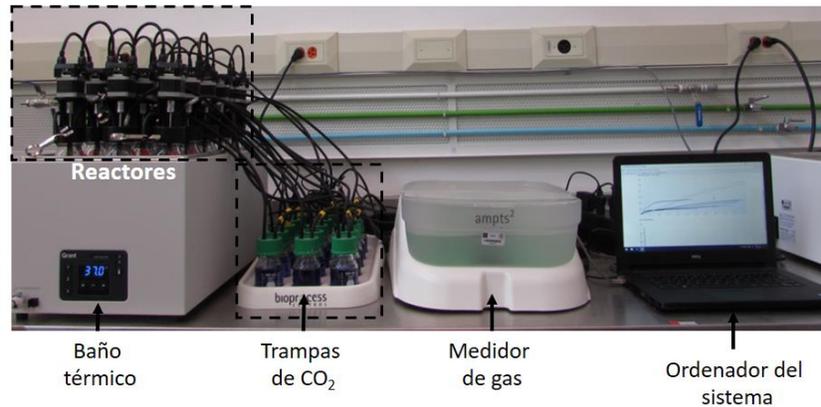


Figura 4.4 Sistema automático de ensayo del potencial bioquímico de metano.

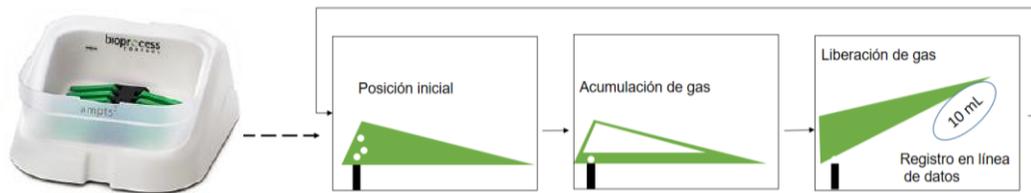


Figura 4.5 Diagrama general de la cuantificación de gas del equipo AMPTs

Como lo establece el protocolo de uso, se calibraron los medidores de gas, para la nomenclatura de cada una de las pruebas se rotularon las botellas con el fin de poder ser identificadas; en el interfaz de la página de Bioprocess Control, se estableció que: 360 mL era el volumen de operación del reactor, el volumen total del reactor fue de 600 mL, un 60% de metano asumido en el biogás, la eliminación de sobre estimación fue desactivada y la temperatura del experimento fue de 37 °C.

Para la configuración de la agitación se estableció como velocidad de agitación el 70% de la velocidad máxima, agitación encendida por 60 s y agitación apagada 180 s. Una vez realizado lo anterior se procedió a colocar los reactores en baño térmico, fueron gaseados con nitrógeno por aproximadamente 25 s, con el fin de inducir a un ambiente anaerobio.

1. Para el orden de los experimentos se propuso una nomenclatura (Tabla 4.2) que permita instalar un control blanco sin medio ni analito “Endógeno” (A), un control con glucosa (B), los otros tres restantes permitirán evaluar a tres concentraciones diferentes del sustrato de interés, con ello se puede realizar una experimentación de 3 tratamientos con tres réplicas. El experimento constó de la prueba de PBM del sólido sin lixiviar y de sus dos fracciones derivadas de la lixiviación (sólido y lixiviado).

Tabla 4.2 Nomenclatura para experimentación en equipo AMPTS.

Tratamiento	Réplicas		
	A1	A2	A3
B1	B2	B3	
C1	C2	C3	
D1	D2	D3	
E1	E2	E3	

Para el análisis de resultados se realizaron pruebas estadísticas de variancia ANOVA (por sus siglas en inglés, Analysis of variance), posteriormente se realizó una prueba de comparación múltiple y de rango (Tukey), para poder clasificar los grupos que presentaran diferencia y conocer cuál de ellos presenta mejor valor de PBM.

4.3.3. Resultados del PBM

Se realizaron las pruebas de PBM del rastrojo de maíz y paja de trigo, gracias a ello se lograba caracterizar el PBM de todos los sustratos de las fracciones sólidas, el lixiviado o hidrolizado y el residuo sin lixiviar. Se debe mencionar que el volumen de producción de metano fue reportado en condiciones de temperatura y presión normal (NmL), a 0 °C y 1 atmosfera de presión.

4.3.3.1. Paja de trigo

Se puede observar que el potencial bioquímico del lixiviado presenta valores de 212 NmL de CH₄ /g SV en un periodo de 8 días siendo el valor más alto comparado con el residuo sólido y el residuo sin lixiviar siendo de 109 y 95 NmL de CH₄ /g SV, respectivamente (Figura 4.6). Estos valores son próximos a los que obtuvo Ferreira *et al.* (2013), siendo de 250 NmL de CH₄ /g SV de una hidrolizado obtenido mediante un proceso hidrotérmico, pero se debe mencionar que ellos lo obtuvieron en 35 días, y en este trabajo se obtuvo la máxima producción en 10 días. Otros trabajos muestran que en un periodo de 4 días es posible obtener hasta 140 NmL de CH₄ /g SV en un proceso en continuo.

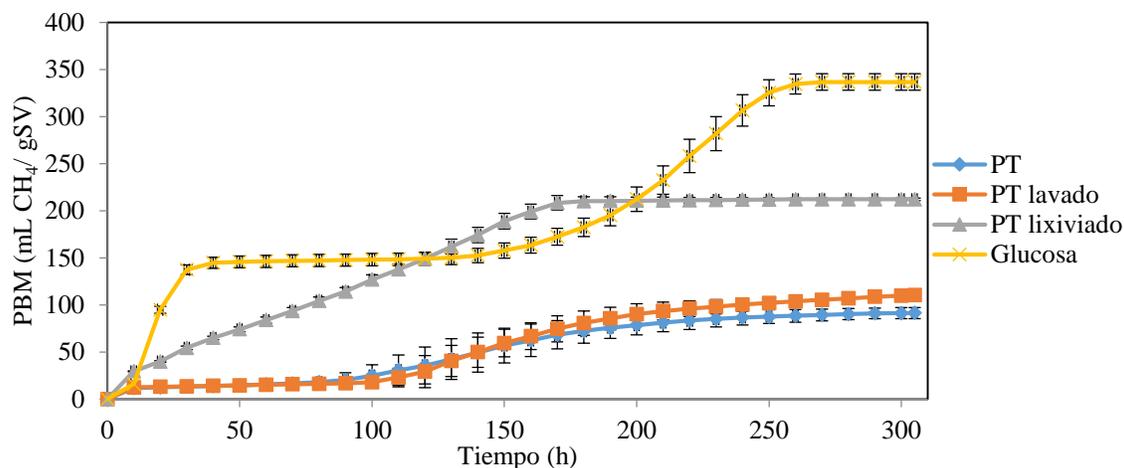


Figura 4.6 Cinética del potencial bioquímico de metano de los residuos de termohidrólisis de la paja de trigo

4.3.3.2. Rastrojo de maíz

El PBM del lixiviado de rastrojo de maíz (Figura 4.7) presentó mayor valor siendo de 270 NmL de CH₄ /g SV, del cual fue un 27% mayor que el residuo sólido (212 NmL de CH₄ /g SV) y un 77%

mayor que el rastrojo sin lavar (152 NmL de CH₄ /g SV). Otros estudios reportan que cuando se realiza un tratamiento químico al rastrojo, a una temperatura de 40 °C, en un periodo de 40 días se puede obtener hasta 300 mL de CH₄ /g SV (Menardo *et al.*, 2015). Otros trabajos bajo las mismas condiciones reportan que se puede obtener 300 mL de CH₄ /g SV del rastrojo sin tratar en mayores periodos de tiempo.

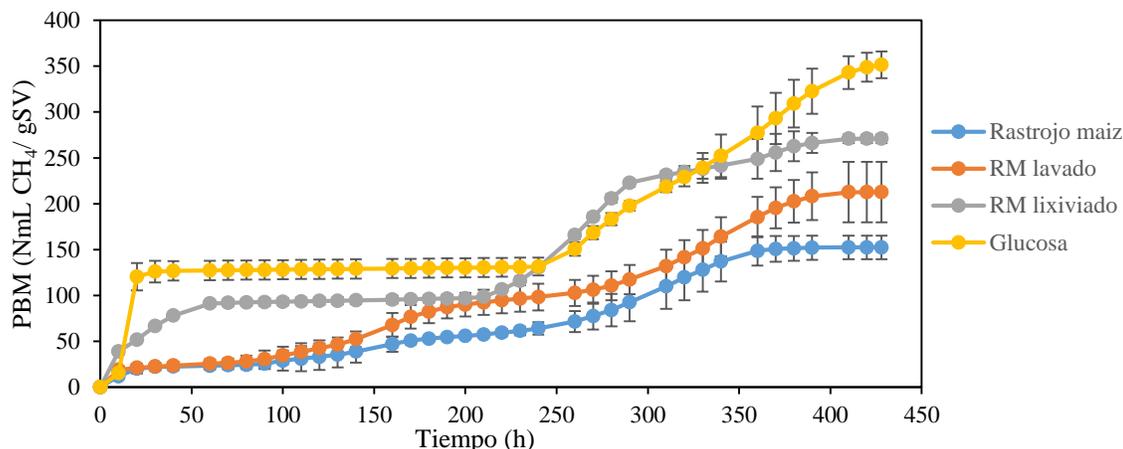


Figura 4.7 Cinética del PBM de los residuos de rastrojo de maíz.

4.3.3.3. Potencial bioquímico de todos los residuos

Otros trabajos asociados al tratamiento de residuos del proceso de termohidrólisis, muestran que el lixiviado de bagazo de caña presentó mayor potencial bioquímico de metano siendo de 358 mL de CH₄ /g SV (Hernández-Ramírez, 2019) valor semejante al almidón (Raposo *et al.*, 2011), esto indica que la biodegradabilidad del sustrato permite ser convertido a metano fácilmente (Angelidaki *et al.*, 2009). En proyectos similares pero que incluyen los sólidos en el sistema, se tuvo un pretratamiento de explosión de vapor + una hidrólisis enzimática, obteniendo valores de 14 mL de CH₄/ gSV (Mulat *et al.*, 2018), lo cual nos indica que se requiere de más operaciones unitarias al proceso si se desea incluir sólidos al sistema.

En este trabajo, se observó que el lixiviado presentó mayor PBM siendo de 271 y 212 NmL de CH₄ /g SV, de rastrojo de maíz y paja de trigo, respectivamente. En trabajos anteriores se habían analizado los residuos de bagazo de caña y bagazo de agave; en la Tabla 4.3, se muestran los valores obtenidos de cada una de las fracciones de los residuos lignocelulósicos.

Tabla 4.3 PBM de algunos residuos lignocelulósicos procedentes de un proceso de termohidrólisis

	Sólido lavado mL de CH ₄ /g SV	Lixiviado NmL de CH ₄ /g SV	Sin lavar NmL de CH ₄ /g SV	Referencia
Bagazo de Caña	134 ±10	358 ±19	75 ±7	Hernández-Ramírez 2019
Bagazo de agave	80 ±12	252 ±15	62 ±2	
Rastrojo de maíz	152 ±12	271 ±10	213 ±23	Este estudio
Paja de trigo	92 ±6	212 ±3	111 ±4	

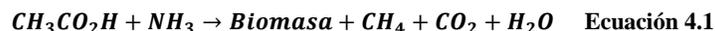
4.3.4. Co-digestión

Se procedió a realizar una mezcla de los residuos de termohidrólisis (MRT) con los diferentes volúmenes que se habían obtenido y así obtener una solución stock que podría ser utilizada para los diferentes experimentos. En la Tabla 4.4, se muestran los valores obtenidos.

Tabla 4.4 Caracterización de la mezcla de residuos de termohidrólisis (MRT)

Parámetro	MRT
DQO (g/L)	21.3 ±0.5
Sólidos volátiles (g/L)	22.3 ±0.5
Sólidos totales (g/L)	29.5 ±2
Carbohidratos (g/L)	14.2 ±0.3
TOC (g/L)	13.24 ±1.2
NH ₄ -N (mg/L)	0.3 ±0.2
NO ₃ -N (mg/L)	0.2 ±0.1
Acetato (mg/L)	956 ±57
Butirato(mg/L)	245 ±35
Fenoles totales (mg/L)	1956 ±35
Furfural (mg/L)	423 ±16
5-Hidroximetilfurfural	380 ±19
PBM (NmL CH ₄ /g DQO)	250 ±12

Sin embargo, en la caracterización se observó que la concentración de nitrógeno en forma amoniacal no superaba los 0.5 mg/L, concluyendo que habría carencia de nitrógeno en el sistema por lo cual se debía satisfacer la necesidad de nitrógeno. En literatura citada se puede identificar que los reactivos necesarios para llevar a cabo la metanogénesis por una vía acetoclástica se requiere acetato (Ferry, 2011) y el amoníaco (Doran, 1995), cuando alguno de estos reactantes falta el proceso se limita y la producción de metano decrece.



Como solución al problema presentado se estableció una co-digestión con sustratos que aportaran nitrógeno y como punto de referencia se tomó el potencial bioquímico de metano de la mezcla de los lixiviados, el cual, sería comparado con cada una de las propuestas de co-digestión.

Se debe mencionar que la relación de C/N de los residuos de termohidrólisis era 13.24/0.004 o bien 3310, y según Wang *et al.* (2014b); (Vindis, 2009), recomiendan, que una relación C/N debe estar entre 20 y 30 una relación mayor o inferior limita el potencial bioquímico de metano (PBM) en condiciones mesófilas y termófilas.

4.3.4.1. Propuesta de co-sustratos

Para seleccionar los co-sustratos utilizados se consideraron diferentes condiciones como: el aporte de nitrógeno al sistema, la fácil obtención del mismo y la producción en la región. Por ello se consideraron tres diferentes co-sustratos los cuales eran: digestato procedente de una planta tratadora de aguas residuales ubicada en San Pedro Mártir, Querétaro, del cual, estudios revelan que la co-digestión de digestato con residuos de alimentos mejora el potencial bioquímico de metano (Guerrero *et al.*, 2016).

Otro de los co-sustratos utilizados fueron residuos de aloe vera, del cual, se ha reportado que la demanda de productos derivados del aloe vera va incrementando (Domínguez-Fernández *et al.*, 2012), lo cual significa que surge un problema que no se consideraba, a este problema que emerge se

le debe proponer una solución y el uso de los residuos de aloe en digestión anaerobia podría ser una solución, (Huang *et al.*, 2016), además la presencia de compuestos nitrogenados como aminoácidos, vitaminas y proteínas podría aportar nitrógeno a la deficiencia presentada en la MRT.

Por último, el uso de estiércol como co-sustrato se consideró por la obtención de biogás que se genera naturalmente (Pinos-Rodríguez *et al.*, 2012), por otra parte, la concentración de nitrógeno que puede presentar el estiércol (De Wit *et al.*, 1997; Oh *et al.*, 2017), podría satisfacer los requerimientos en la producción de metano.

Para poder ser utilizados los co-sustratos se caracterizaron cada uno, en la Tabla 4.5 se muestran los parámetros evaluados.

Tabla 4.5 Caracterización de los diferentes co-sustratos

	Sólidos totales	Sólidos volátiles	DQO	Nitrógeno
Aloe vera (g/L)	70 ±3	57 ±0.4	36 ±1.5	0.04 ±0.003
Digestato (g/L)	216 ±7	83 ±2	16 ±0.2	1.3±0.05
Estiércol vacuno (g/g estiércol)	0.2 ±0.01	0.125±0.01	0.13 ±0.01	0.04 ±0.01

Teniendo caracterizados los co-sustratos se procedió a realizar las pruebas de potencial bioquímico de metano y así evaluar a ciertas concentraciones la influencia del co-sustrato en la mezcla de residuos de termohidrólisis (MRT), se propusieron 3 diferentes mezclas para cada uno de los co-sustratos.

Siendo la MRT sola sin co-sustrato, MRT al 90% y 10% del co-sustrato, 80% de MRT y 20% de co-sustrato; 60% MRT y 40% MRT; 0% MRT y 100% co-sustrato (Tabla 4.6).

Tabla 4.6 Diseño experimental para las diferentes mezclas

% MRT	% Co-sustrato
100	0
90	10
80	20
60	40
0	100

Con cada una de las mezclas se procedió a instalar pruebas de PBM en los equipos AMPTS para obtener triplicados de cada una de las mezclas. Con 20 g de lodo granular anaerobio procedente de una cervecera, una relación So/Xo de 0.5 (g SV/g SV), a 37 °C, con medio mineral según Angelidaki *et al.* (2009) y 3 g/L de bicarbonato como modificación al medio mineral que recomienda 2.8 g/L. Se tomaron muestras iniciales para posteriormente ser analizadas.

4.3.4.2. Aloe

Se logró observar en la gráfica de PBM, un decremento del PBM en relación con el aumento de aporte de aloe en la mezcla (Figura 4.8), o bien es inversamente proporcional al aumento de los residuos de aloe (Tabla 4.7), presentando valores de 214 NmL de CH₄ /g DQO, correspondientes a la mezcla del 50%.

Tabla 4.7 Resultados de la co-digestión de aloe

Mezcla		CH ₄	PBM	Velocidad
MRT	Aloe	(NmL)	(NmL CH ₄ / g SV)	(NmL CH ₄ / L _{reactor} -h)
100%	0%	152	255 ±7	8.8
90%	10%	151	235 ±3	10.4
66%	33%	144	229 ±9	11.2
50%	50%	133	214±26	9.5
0%	100%	97	149±19	8.2
Endógeno		0	0	0
Glucosa		253	320 ±10	46.4

En la cinética se observa que hubo un efecto de inhibición en el PBM, esto se debe a que el gel de sábila posee actividad antimicrobiana que inhibe la producción de ácido acético y propiónico, en un 25 y 89%, respectivamente (Pogribna *et al.*, 2008). Por esta razón posiblemente se redujo la producción de metano en relación al aumento de los residuos de aloe, teniendo un porcentaje de inhibición del 8 y 15% en la mezcla del 60 y 50% de MRT, respectivamente (Figura 4.8).

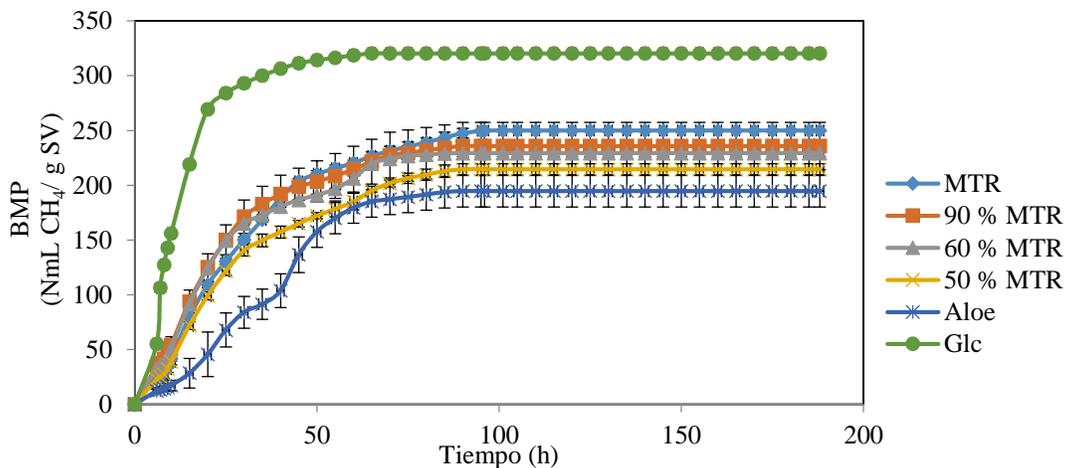


Figura 4.8 Cinética de las mezclas de aloe con MRT

4.3.4.3. Digestato

Para la co-digestión realizada con digestato se logró observar (Figura 4.9), que la mezcla de 40% de digestato incrementa un 22% el PBM siendo de 305 NmL de CH₄/g SV, para la mezcla de 10 y 20% se observa un incremento del 8 y 7%, respectivamente. En la Tabla 4.8 se muestran algunos parámetros obtenidos durante la cinética de PBM.

Tabla 4.8 Valores obtenidos en la co-digestión con digestato

MRT	Mezcla Digestato	CH ₄ (NmL)	PBM (NmL/gSV)	Velocidad (NmL/L _{reactor} -h)
100%	0%	156	252±5	12.2
90%	10%	161	216±37	12.6
80%	20%	148	264±52	12.4
60%	40%	172	305±24	11.9
0%	100%	59	64±3	3.2
	Endógeno	0	0	0
	Glucosa	429	323±17	40.5

Es posible observar que la velocidad volumétrica es semejante en todas las mezclas, esto se debe que el digestato aporta microorganismos que resulta ser un inóculo (Hosseini-Koupaie *et al.*, 2019), además de aportar nitrógeno y algunos elementos traza.

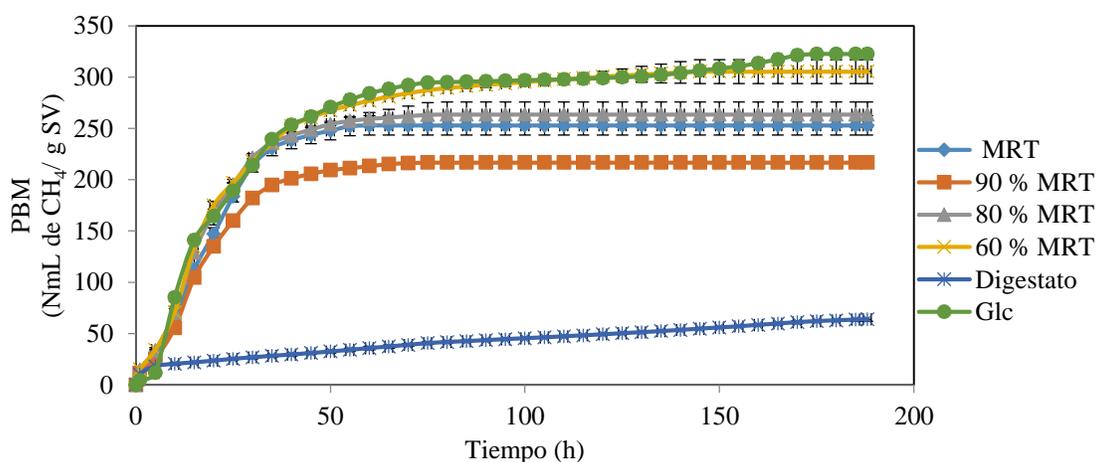


Figura 4.9 Cinética de las mezclas de digestato con MRT

4.3.4.4. *Estiércol*

La co-digestión de estiércol y MRT reveló que la mezcla de 90% de MRT, incrementó un 20% el PBM siendo de 301 NmL de CH₄/g SV, para el caso de las mezclas de 80 y 60% el incremento fue similar (Tabla 4.9).

Tabla 4.9 Resultados de la co-digestión de estiércol

Mezcla		CH ₄	PBM	Velocidad
MRT	Estiércol	(NmL)	(NmL CH ₄ /gSV)	(NmL/ L _{reactor} -h)
100%	0	108	257 ±5	7.1
90%	10%	129	301 ±37	11.6
80%	20%	158	297 ±52	12.5
60%	40%	226	308 ±24	8.1
0%	100%	1020	335±5	15.8
Endógeno		0	0	0
Glucosa		431	332 ± 17	35.5

La cinética reveló que la velocidad de producción también se vio afectada siendo igual a la glucosa, además que en un periodo de 5 días se había alcanzado casi la máxima producción de metano (Figura 4.10), además algunos estudios revelan que la relación C/N del estiércol favorece a la digestión anaerobia, al igual que es utilizado como inóculo por ello el estiércol solo tiene el PBM semejante al de la glucosa (Camacho *et al.*, 2017).

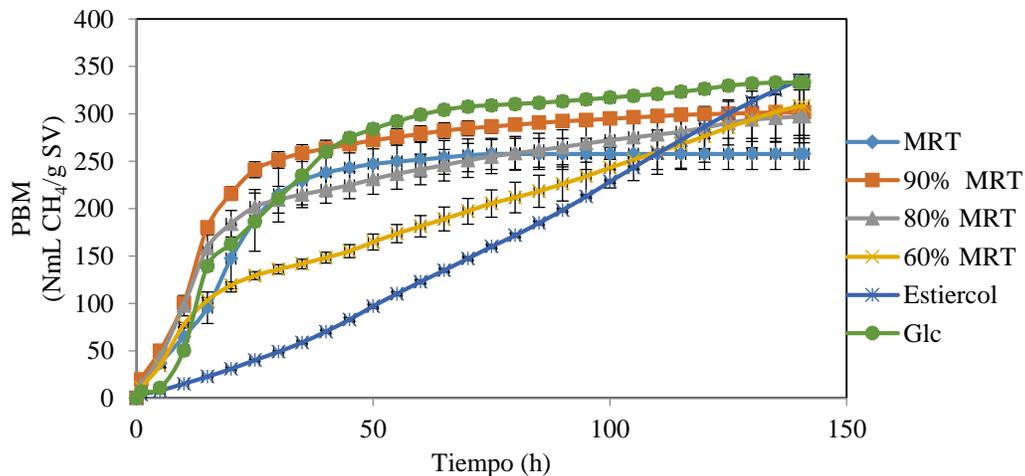


Figura 4.10 Cinética de las mezclas de estiércol con MRT

4.3.5. Comparación de los diferentes co-sustratos

Para analizar los resultados obtenidos de todos los co-sustratos (Figura 4.11), se realizó un análisis estadístico ANOVA donde se pudieran comparar todos los valores obtenidos, $n = 3$, el análisis fue realizado en la aplicación Minitab 17 Statistical Software®, el valor de $\alpha = 0.05$, comparados con la prueba post hoc de Tukey.

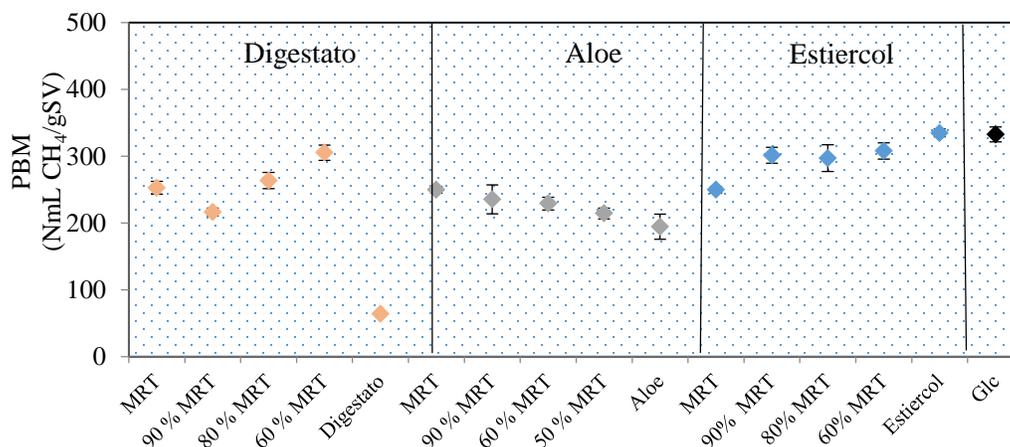


Figura 4.11 Comparación de todas las mezclas de cada uno de los co-sustratos

	MRT	Co-sustrato								
Co-digestión	100%	0%	90%	10%	80%	20%	60%	40%	0%	100%
Digestato	253 ± 10		217 ± 6		264 ± 12		305 ± 12		64 ± 3	
Aloe	250 ± 5		236 ± 22		229 ± 10		215 ± 8		195 ± 19	
Estiércol	250 ± 5		302 ± 12		297 ± 20		308 ± 12		335 ± 6	

Los resultados del análisis estadístico dieron como resultado la obtención de 6 diferentes grupos que tenían variación significativa unos de otros. Fueron clasificados como grupo A, B, C, D, E y F (Tabla 4.10).

Tabla 4.10 Valores de prueba estadística realizados en Minitab Statistical software

Analysis of Variance					
Fuente	G. L.	SC	C M	Valor F	Valor P
Mezcla	13	129999	9999.89	110.61	0
Error	16	1446	90.4		
Total	29	131445			

Mezcla	N	Medias	Grupos
40 % estiércol	3	344.4	A
Glucosa	3	338	A B
Estiércol	3	335.05	A B
20 % estiércol	3	305.6	A B C
40% digestato	3	305.44	B C
10 % estiércol	3	301	B C D
10% digestato	3	270.48	C D E
20% digestato	3	263.55	D E F
MRT	3	249.48	E F
20 % aloe	3	229.2	F G
10 % aloe	3	228.14	F G
40 % aloe	3	215	G
Aloe	3	150	H
Digestato	3	63.9	I

Dentro del grupo A se clasificó el estiércol y la mezcla del 40% lo cual indica que PBM fue de 345 NmL CH₄/g SV, para el caso del grupo B se encontró que la mezcla de 40% de digestato, 20 % y 10 de estiércol, presentaron un PBM de más de 300 NmL CH₄/g SV, dentro de los grupos C, D, E y F se clasificaron los que tenían variación significativa menor a los 263, siendo el digestato el que presentó menor PBM de 63 NmL CH₄/kg SV.

Para seleccionar el co-sustrato que favoreciera el PBM se consideró la cantidad que se agrega a la mezcla de residuos de termohidrólisis (MRT) y que incrementara el valor de PBM, del cual, el 10% de estiércol y 90% MRT, incrementaban el valor del PBM siendo de 251 a 302 NmL CH₄/kg SV o bien incrementaba el 20%.

Algunos estudios revelan que el aporte de estiércol en co-digestión con residuos lignocelulósicos mejora la relación C/N, y por consiguiente incrementa el PBM (Neshat *et al.*, 2017), se ha reportado que la relación C/N del estiércol vacuno es de 25, además que como parte de la microbiota presente en el estiércol se puede encontrar bacterias metanogénicas que son un inóculo natural (Camacho *et al.*, 2017; Botero y Presto, 1987).

4.4. Conclusiones parciales

Para todas las fracciones de los residuos de termohidrólisis, sólido, sólidos sin lixiviar y el lixiviado, el lixiviado presentó el mayor potencial bioquímico de metano, lo que indicó que es mejor trabajar con la mezcla de lixiviados en comparación con las otras fracciones, la cual presentó un potencial bioquímico de metano de 252 ± 12 NmL CH₄/g SV.

La mezcla de lixiviado presentó una relación C/N de 4000, que indicó una deficiencia de nitrógeno para llevar a cabo la digestión anaerobia. Para mejorar dicha relación se hizo la co-digestión con diferentes co-sustratos: aloe, digestato y estiércol, siendo este último con un aporte del 10% con el que obtuvo una relación C/N de 32, logrando incrementar el potencial bioquímico de metano un 20%, lo que representa 301 NmL CH₄/g SV.

5. Evaluación del tiempo de retención hidráulica en la digestión anaerobia en dos etapas

5.1. Introducción

La digestión anaerobia en dos etapas debe cumplir con algunos aspectos, uno de ellos es separar las reacciones (hidrólisis, acidogénesis y acetogénesis) que se llevan a cabo para la producción de ácidos grasos volátiles en una primera etapa y en una segunda etapa la producción de metano (metanogénesis), para lograr tal objetivo se debe realizar el proceso en dos reactores en condiciones diferentes. La elección de estos debe ser de gran importancia dado que de ello dependerá la obtención del producto de interés.

Para la etapa acidogénica, se debe operar a pH 5.5, para la etapa metanogénica a pH 7.5, el TRH es un parámetro que debe ser tratado de manera que este se ajuste a cada uno de los grupos de microorganismos que involucran cada una de las etapas.

Por ello se evaluó la influencia del TRH sobre el desempeño en la producción de AGVs en la etapa acidogénica y en la etapa metanogénica la producción de metano, remoción de materia orgánica y velocidad de producción.

Previo a la operación de los reactores piloto en dos etapas se realizaron pruebas a escala laboratorio con las cuales se obtuvieron las condiciones de operación que se aplicaron en la planta piloto.

5.2. Metodología

Para la selección del reactor a utilizar en cada una de las etapas, se consideraron diferentes aspectos de los cuales el mezclado, la capacidad de desfazar el TRH del tiempo de retención de sólidos (TRS), y así evitar la pérdida de biomasa en el sistema. Para la etapa acidogénica se propuso reactor anaerobio de lote secuenciado AnSBR (por sus siglas en inglés), el cual ha demostrado su facilidad para la adaptación del inóculo a sustratos específicos (Moreno y Buitrón, 2004) sin tener una pérdida de biomasa.

Para la etapa metanogénica se optó por un reactor UASB, (reactor de flujo ascendente de lecho de lodos, por sus siglas en inglés), del cual se ha observado que soporta altas cargas orgánicas de más de 10 g/L-d teniendo remociones de materia orgánica de más del 60% (Daud *et al.*, 2018), además de operar a TRH de 3 a 4 d (Uemura y Harada, 2000).

5.2.1. Operación reactor etapa acidogénica

El reactor de etapa acidogénica tuvo un volumen de operación de 4 L, una agitación de 200 rpm, a 35°C, como inóculo fue utilizado lodo granular anaerobio triturado (20% de volumen de operación), la alimentación del influente fue de 20 ± 2 g/L de DQO, con un controlador lógico programable (PLC) se controló el pH, el cual fue de 5.5, además se controló la alimentación y salida del reactor. La concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) del inóculo en el sistema fue de 16 g/L.

Para la alimentación del reactor se detenía la agitación por una hora, lo cual permitía que la biomasa del sistema se mantuviera dentro del reactor con el objetivo de desfazar el TRH del TRS. Posterior a la hora de sedimentación se removía el 60% del volumen de operación y era alimentada la misma cantidad de influente. El efluente fue conservado a 4 °C en un tanque de estabilización que captaba la producción diaria del reactor. El diagrama de la configuración de los reactores se muestra en la Figura 5.1. Se utilizaron dos TRH de 2 y 1 día.

Para determinar los parámetros de las entradas y salidas del sistema se realizaron análisis de carbohidratos, DQO y sólidos, además de cuantificar la producción de AVGs.

5.2.2. Operación de la etapa metanogénica

Como reactor de etapa metanogénica fue utilizado un UASB, con un volumen de operación de 2.9 L, una velocidad de ascensional de 7 m/h, a 35 °C, como inóculo fue utilizado lodo granular anaerobio, proveniente de una cervecería, siendo el 20% de volumen de operación, la concentración de SSV por el inóculo fue de 20 g/L. Se utilizó como alimentación el efluente generado por el reactor acidogénico. este efluente tuvo una concentración de 19 ± 2 g/L de DQO, el nivel de pH, el cual fue 7, fue controlado con un PLC, así como las bombas de alimentación y salida del reactor.

Como estrategia de experimentación se propusieron 3 TRH como 4, 3, y 2 días, del efluente de cada uno de los TRH se le determinó DQO y carbohidratos. El sistema en dos etapas de los reactores se muestra en la Figura 5.2.

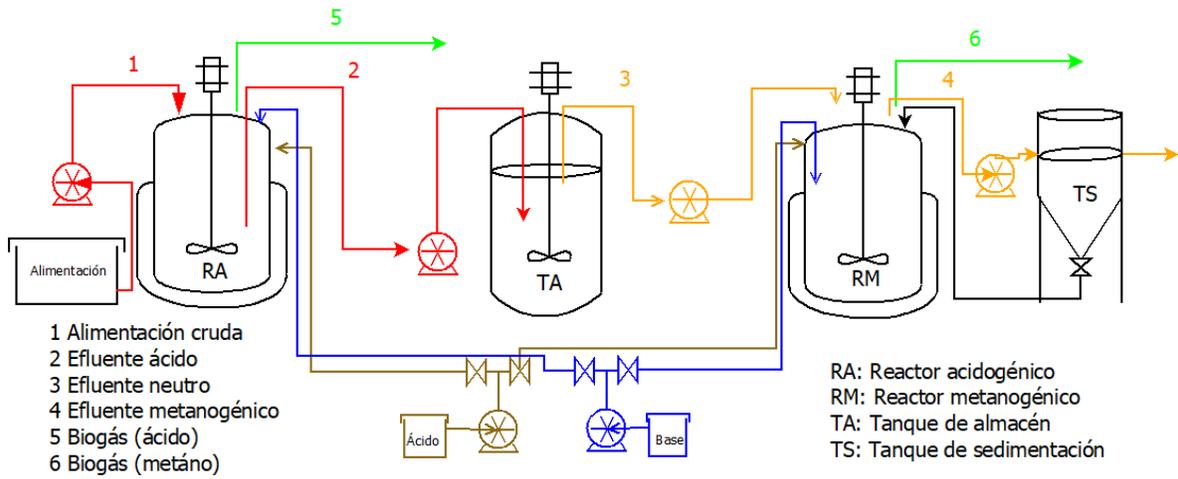


Figura 5.1 Diagrama del sistema en dos etapas escala laboratorio



Figura 5.2 Sistema en dos etapas escala laboratorio.

5.3. Resultados y discusión

5.4. Producción de AGVs

Para el análisis de la producción de AGVs en cada uno de los TRH aplicados, se realizó una relación de los AGVs del efluente menos los AGVs en el influente, como resultado se obtenían los AGVs producidos. Cada uno de los AGVs es presentado en relación a la DQO teórica con el objetivo de poder ser sumado.

Es posible observar que en ambos TRH la producción de acetato y butirato (Figura 5.3), siendo una fermentación ácida vía butirato (Zhou *et al.*, 2018; Saady, 2013). La cual es llevada a cabo a partir de la fermentación de glucosa (Glucólisis), en donde el acetato es un producto derivado de esta vía. Tal vía se lleva a cabo por microorganismos anaerobios estrictos que pertenecen al género *Clostridium* (Jorgensen y Fath, 2014; Ciani *et al.*, 2013).

Es posible observar que el cambio de TRH de 2 a 1 d, afecta la producción de AGVs en un 42% para el 4º ciclo de operación teniendo valores de 7.9 y 4.4 g DQO/L, respectivamente. En análisis de los carbohidratos (Figura 5.4.) revela que el cambio de TRH afecta también el consumo de carbohidratos, para el TRH de 2 días se tiene una concentración de 4.6 g/L, para el caso del TRH de 1 d la concentración en el efluente era de 7.5 g/L el cual corresponde a un 60% de los carbohidratos que ingresan.

La reducción de producción de AGVs y el consumo de carbohidratos, se ve asociada a que el tiempo de reacción del sustrato con los microorganismos se ve afectada al realizar el cambio de TRH (Zhou *et al.*, 2018; Bengstonne *et al.*, 2008).

Dinslade *et al.* (2000), reportan que una carga orgánica de 5.7 a pH de 5.5 en un reactor de etapa acidogénica la producción de AGVs se ve afectada cuando cambian el TRH de 2 d a 1 d, disminuyendo un 28%. Otro factor que se ve involucrado en la reducción de producción de AGVs es la carga orgánica, a TRH de 2 d se tenía una carga orgánica de 5 g/L-d, al realizar el cambio a 1 d, la carga también fue afectada incrementado a 10 g/L-d, Jiang *et al.* (2013), reportaron que cuando incrementa la carga orgánica de 5 a 16 g/L-d se ve afectada la producción un 60%.

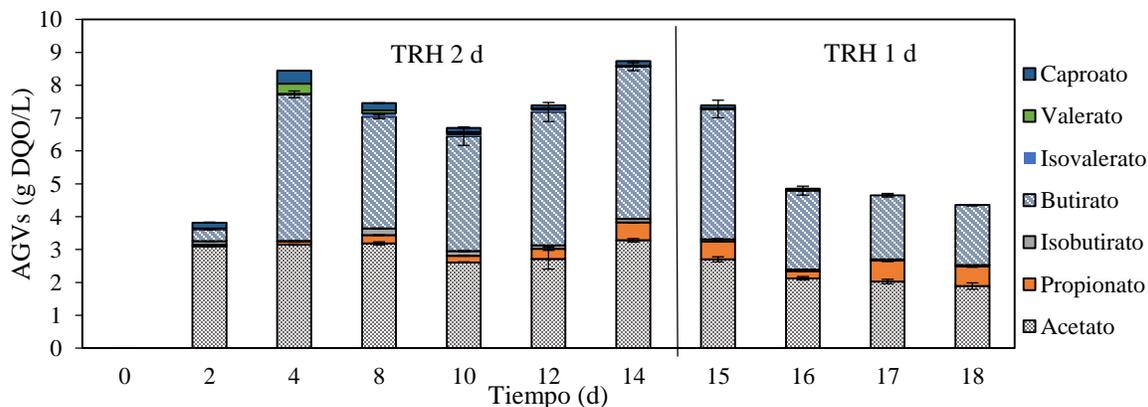


Figura 5.3. Producción de AGVs en la etapa acidogénica

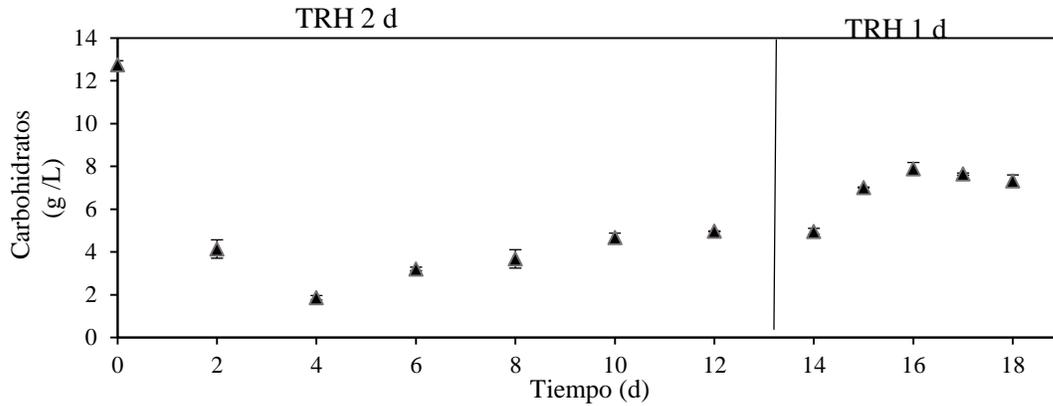


Figura 5.4 Evolución de los carbohidratos en los dos TRH experimentados.

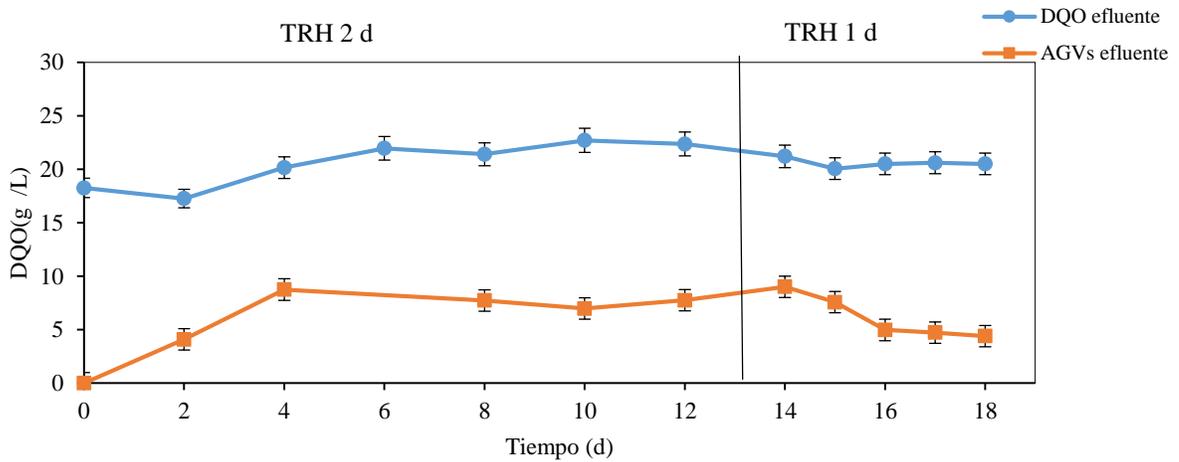


Figura 5.5 Proporción de AGVs en relación a la DQO del efluente.

5.4.1. Análisis estadístico de los TRH

Para realizar un análisis estadístico se consideraron los valores que no variaran más del 20%, con el fin de aplicar una ANOVA con prueba post hoc Tukey-Kramer (Baird y Kramer, 1960), la cual permite realizar pruebas estadísticas con valores no pareados (Tabla 5.1).

Para el TRH de 2 d se utilizaron 4 valores y para el TRH de 1 d se utilizaron los 3 últimos valores. Como resultado se logró observar que el cambio de TRH afecta de manera significativa la producción de AGVs teniendo como media una producción de 8.2 y 4.63 g DQO/L de AGVs para TRH de 2 y 1 d, respectivamente (Tabla 5.2).

Tabla 5.1 Valores del análisis estadístico de ANOVA

Fuente	G. L.	S.C.	C. M	Valor de F	Valor de P
TRH	1	14.7140	14.7140	57.83	0.005
Error	3	0.7633	0.2544		
Total	4	15.4773			

Tabla 5.2 Clasificación de los diferentes grupos que presentan variación en relación al TRH.

TRH	n	Media	Grupo
2	4	8.195	A
1	3	4.693	B

5.5. Producción de metano en la segunda etapa

Para evaluar el desempeño de cada uno de los TRH se realizó una medición de cada uno de los parámetros involucrados como lo fueron potencial bioquímico de metano (PBM), velocidad específica de producción, rendimiento, porcentaje de metano y remoción de materia orgánica.

Como parte de la estrategia de experimentación se propuso establecer un lote el cual permitiera una adaptación del inóculo al sustrato. Posterior al lote se puso en marcha el TRH de 4 d y con ello una alimentación continua. La DQO alimentada del sistema fue de 19.5 ± 2 de la cual aproximadamente el 53% eran AGVs, con una carga orgánica diferente para cada uno de los TRH: 5 g/L-d con TRH 4 d, 6.6 g/L-d con TRH 3 d y 10 g/L para TRH de 2 d.

En cuanto al PBM se pudo observar que para el TRH de 4 días fue de 85 NmL CH₄/g DQO_{alimentado} -d, al realizar el cambio de TRH a 3 d, incrementó un 8% teniendo valores de 92 NmL CH₄/g DQO_{alimentado} -d. Para el caso del TRH de 2 d presentó valores que oscilaban entre los 64 y 76 NmL CH₄/g DQO_{alimentado} -d (Figura 5.6.).

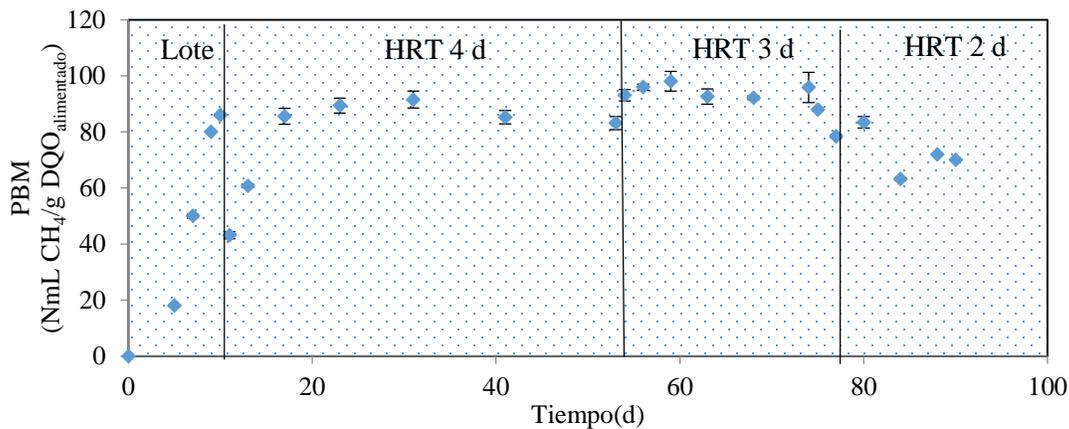


Figura 5.6 PBM en relación de los diferentes TRH probados

Para el caso del rendimiento (Figura 5.7) se pudo observar que a TRH de 4 días se obtuvieron rendimientos de aproximadamente 210 NmL CH₄/g DQO_{removido} -d, al realizar el cambio de TRH a 3 d el rendimiento incrementó un 10% teniendo valores de 226 NmL CH₄/g DQO_{removido} -d, posterior al cambio de TRH de 2 d este presentó una reducción del 19%, presentando valores de 185 NmL CH₄/g DQO_{removido} -d. La reducción de los valores de rendimiento y PBM, se asocian al cambio de TRH de 2 d, dado que se reduce el tiempo de reacción con los microorganismos (Zhou *et al.*, 2018; Bengstonne *et al.*, 2008), por otra parte, la carga orgánica de 10 g/L-d influyó en la reducción de los valores, se ha reportado que el cambio de carga orgánica puede tener un efecto de inhibición, estudios reportan que una carga orgánica de 7.2 g/L-d, permite una remoción del 73% de la DQO (Daud *et al.*, 2018; Halalshah *et al.*, 2005), para el TRH se logró observar una reducción de la remoción de materia

orgánica siendo un 48% (Figura 5.8), para el caso de los TRH de 3 y 4 se presentaron una remoción del 62% y 60%, respectivamente.

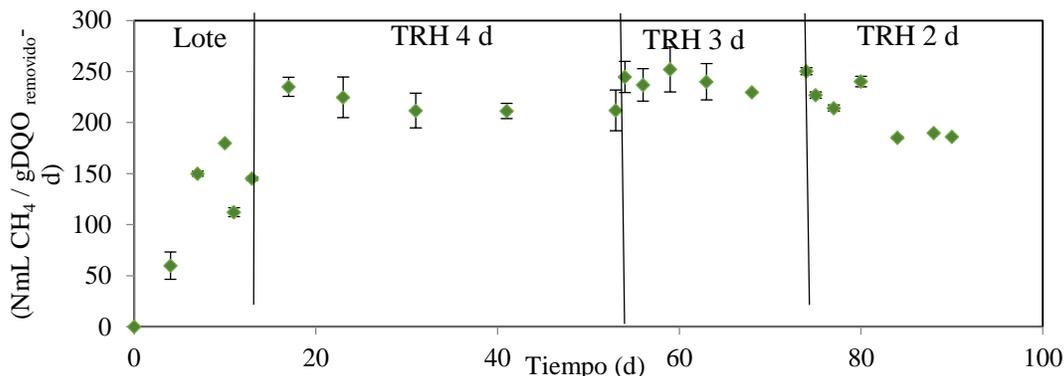


Figura 5.7 Gráfica del rendimiento de metano por DQO removido

Por otra parte, la velocidad específica de producción de metano para el TRH de 4 d, fue de 587 mL CH₄/L_{reactor} -d, al realizar el cambio a TRH de 3 d incrementó 5% teniendo valores de 616 mL CH₄/L_{reactor} -d, por otra parte, en el TRH de 2 la velocidad decreció un 30% presentando valores de 430 mL CH₄/L_{reactor} -d (Figura 5.8.).

Además, se puede observar que la calidad de metano se ve afectada para el TRH de 2 d, presentando un 51% de metano en el biogás, para el caso de los TRH de 4 y 3 d presentaron 65 y 62% respectivamente. Estudios reportan que un cambio en la composición de biogás, altas concentraciones de materia orgánica en el efluente son señal de la estabilidad el reactor (Chen *et al.*, 2015).

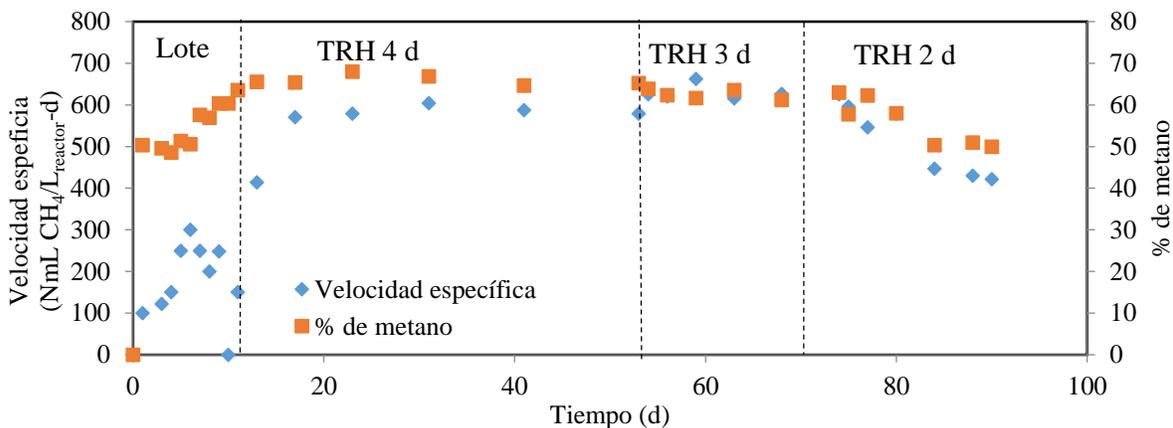


Figura 5.8 Velocidad específica de producción de metano en función de diferentes tiempos de retención hidráulica.

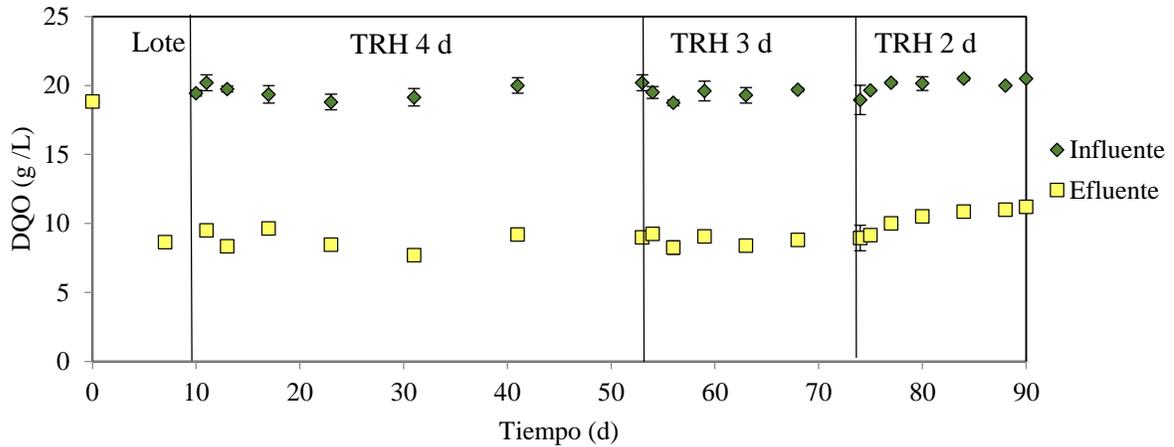


Figura 5.9 DQO de entrada y salida del reactor metanogénico.

Por otra parte, el parámetro alfa fue calculado con dos puntos de alcalinidad, uno con pH 5.75 y otro con pH 4.3, y con ello hacer el cociente $(alc\ 4.3 - alc\ 5.75 / alc\ 4.3)$, al realizar en análisis este varió en relación con el cambio de TRH de 2 días, el cual presentó valores de 0.45, siendo el óptimo de 0.2, esto indicó que la alcalinidad del reactor a TRH de 2 d se veía afectada (Figura 5.10). Los TRH de 4 y 3 d presentaron valores de 0.23.

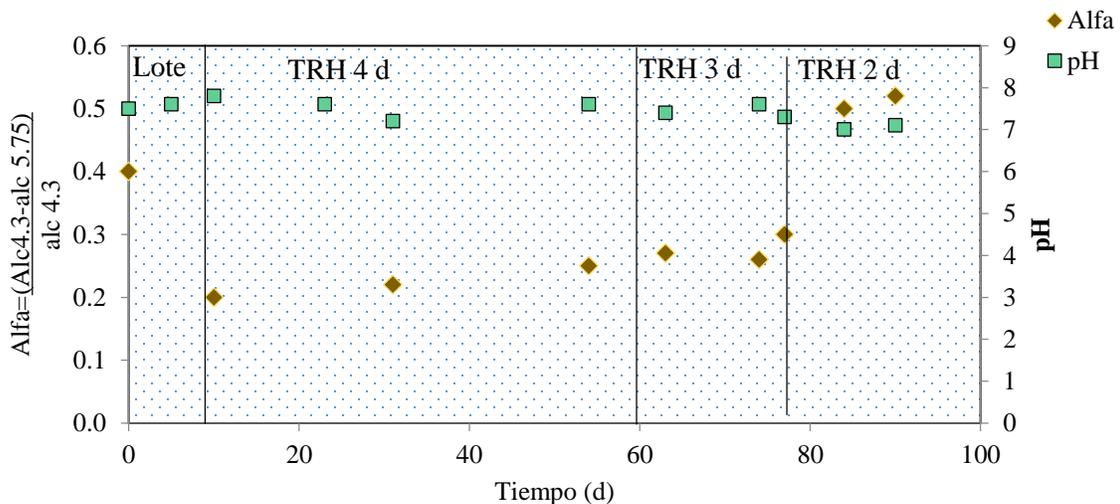


Figura 5.10 pH y parámetro alfa, en relación a los diferentes TRH experimentados

Para la selección del TRH que fue llevado al reactor piloto, se aplicó una prueba estadística a cada uno de los parámetros evaluados aplicando ANOVA y prueba post hoc Tukey-Kramer.

En la Tabla 5.3. se muestran las medias de cada uno de los parámetros evaluados de cada uno de los TRH, del cual se clasificaron en A, B, y C, siendo A el más alto y C el más bajo. Los valores que no compartieron la misma letra presentaban variación significativa.

Es posible observar que el TRH de 2 d presentó variación significativa y los valores más bajos en todos los casos, por otra parte, la comparación entre el potencial el parámetro alfa y la remoción de materia orgánica no presentan variación significativa entre el TRH de 3 y 4 días.

El rendimiento y la velocidad específica fueron favorecidos por el TRH de 3 d, presentando los valores más altos de 237 NmL de CH₄/g DQO_{removido} y 638 NmL CH₄ / L_{reactor}-d. Gracias a esta prueba estadística se concluye que el TRH que se debe aplicar en la planta piloto es de 3 d.

Tabla 5.3 Medias obtenidas en prueba post hoc y clasificación de variación por grupo

TRH	Rendimiento	Porcentaje de metano	Productividad volumétrica	Potencial	Alfa	Remoción
d	NmL de CH ₄ /g DQO _{removido}	%	NmL CH ₄ / L _{reactor} -d	NmL de CH ₄ /g DQO _{alimentado}		%
	Grupo	Grupo	Grupo	Grupo	Grupo	Grupo
4	220.5 B	65.0 A	587.3 B	89.3 A	0.21 A	56.8 A
3	237.3 A	62.5 B	638.3 A	95.3 A	0.25 A	54.5 A
2	187.0 C	50.3 C	432.7 C	69.3 B	0.43 B	47.3 B
Valor más alto	TRH 3	TRH 4	TRH 3	TRH 3 y 4	TRH 3 y 4	TRH 3 y 4

5.6. Conclusiones parciales

En la etapa acidogénica el análisis estadístico ($\alpha=0.05$), mostró que el TRH de 2 d favorece la producción de AGVs, al compararlo con el TRH de 1 d con una producción de 8.2 y 4.63 g DQO/L, respectivamente. Además, el TRH de 2 d se favorece la conversión de los carbohidratos a AGVs impidiendo el ingreso al reactor metanogénico evitando su eventual acidificación.

En la etapa metanogénica el análisis estadístico de los 3 TRH experimentados, 4, 3 y 2 d, mostró una diferencia significativa ($\alpha=0.05$) que indicó que el TRH de 3 d favoreció la velocidad específica de producción de metano y el rendimiento con 638 NmL CH₄/L_{reactor}-d y 237 NmL CH₄/g DQO_{removido}-d, respectivamente. Con el TRH de 3 d se manejó una carga orgánica de 6.6 g/L-d, con una eficiencia de eliminación de materia orgánica de 62%.

6. Operación en reactores pilotos

6.1. Introducción

Posterior a las pruebas obtenidas en laboratorio se lograron obtener diferentes condiciones que tratan los residuos de termohidrólisis mediante la digestión anaerobia, gracias a ello se establecieron los parámetros para ser aplicados a reactores de 30 litros tanto acidogénico como metanogénico en condiciones mesófilas, y poder tratar los residuos en una mayor escala.

El objetivo de llevar la experimentación a reactores pilotos, estaba relacionado con tratar la cantidad de residuos que se generan a partir de cada una de las operaciones unitarias en la biorrefinería propuesta. Si bien, operar a nivel piloto permitirá proponer una cantidad de residuos a tratar en un intervalo de tiempo y así probar las características que tendrán los efluentes resultantes del proceso de digestión anaerobia.

Por ello los factores como calidad del efluente, calidad de metano obtenido a partir del tratamiento, velocidad de producción y remoción de la materia orgánica son de mucha importancia pues gracias a estos parámetros se puede evaluar el desempeño del tratamiento en dos etapas.

6.2. Metodología

Para realizar la experimentación de los reactores piloto, se utilizaron los parámetros obtenidos en la experimentación en laboratorio.

6.2.1. Reactor etapa acidogénica

Las condiciones de operación fueron pH 5.5, 120 rpm, a 35 °C, lodo granular anaerobio triturado fue utilizado como inóculo en una relación del 20% del volumen de operación, siendo 23 g/L de sólidos suspendidos volátiles, el volumen de operación fue de 28 L (Figura 6.1.). Como medidor de flujo de gas, fue utilizado el equipo AALBORG ®, Mass flow meter GFM. La alimentación fue de 20 ±1 g DQO/L.

El tiempo de retención hidráulica fue de 2 días, para el proceso de alimentación, la agitación fue apagada aproximadamente 1 hora con el objetivo de sedimentar la biomasa, posterior a ello se removió el 70% del volumen del sistema y se alimentó la misma proporción al reactor. Se agregó medio mineral anaerobio que proponen Angelidaki *et al.* (2009): 10 mL de solución A, 2 mL de solución E, 1 mL de solución D y 1 mL de solución E, en un litro de sustrato. De las entradas y salidas se tomó muestra para analizar DQO, carbohidratos y AGVs.

6.2.2. Tanque de almacén o estabilizador

El efluente resultante del proceso acidogénico, fue almacenado a temperatura ambiente, preservado a pH 2 con ácido fosfórico para evitar cambios durante el periodo que no era utilizado. Antes de ser ingresado al reactor de la etapa metanogénica este se neutralizaba a valores de pH de 7.3, fue agregado 3 g/L de bicarbonato para aumentar la alcalinidad (Figura 6.1.).

6.2.3. Reactor etapa metanogénica

Para la etapa metanogénica se utilizó un reactor UASB (Figura 6.1.) de 30 L de operación con una velocidad ascensional de 0.04 m/h, a 35 °C, lodo granular anaerobio procedente de una cervecería fue utilizado como inóculo. La concentración del inóculo fue de 11 g /L de sólidos volátiles.

El TRH fue de 3 días, el cual fue el que presentó mayor productividad en la experimentación de laboratorio. Para incrementar el potencial bioquímico de metano se optó por utilizar 10% de estiércol. Al igual que la etapa acidogénica fue agregado medio mineral (Angelidaki *et al.*, 2009). Del influente y del efluente se analizaron DQO, sólidos (totales y volátiles) y carbohidratos. El biogás producido fue medido con un equipo Ritter ® Drum-Type Gas Meters serie TG (Wet-Test), para normalizar el volumen de biogás fue utilizado la ecuación de gases ideales el cual es afectado por la temperatura y presión.

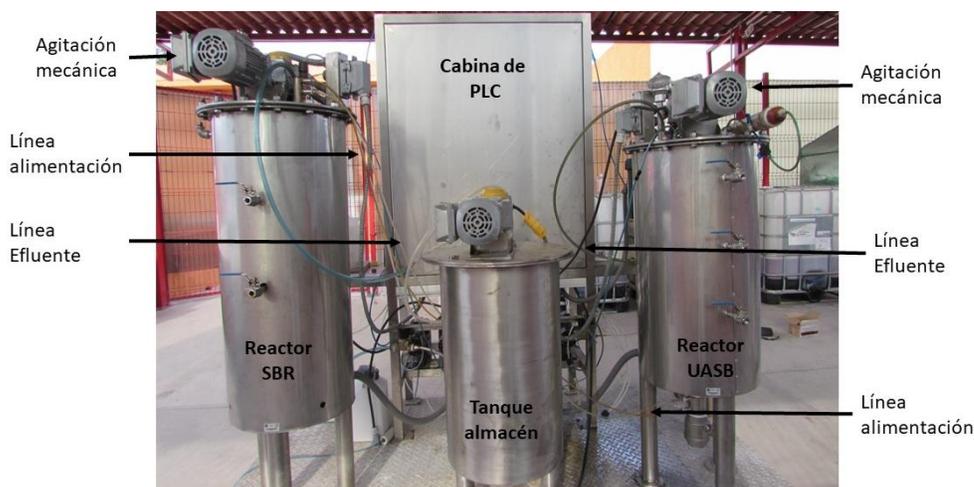


Figura 6.1 Diagrama real de los reactores anaerobios en dos etapas, escala piloto.

6.3. Resultado y discusión

6.3.1. Producción de reactor etapa acidogénica

Es posible observar que la producción de acetato y butirato predominó (Figura 6.2.), además se detectó la presencia de H_2 con ello se considera que se obtuvo una fermentación ácido-mixta vía butirato, donde diversos autores reportan que es posible que la fermentación vía butirato podría estar acompañada de la producción de bióxido de carbono e hidrógeno, por la oxidación del piruvato (Ciani *et al.*, 2013).

Se observó que la producción de acetato y butirato se vió favorecida en el día 15 obteniendo concentraciones de 2.73 g/L y 4.5 g/L siendo el butirato como AGV que predominó. Posterior al día 15 se presentó una falla en el sistema el cual obligó a que el pH fuera controlado de manera manual, esto redujo la producción de todos los AGVs.

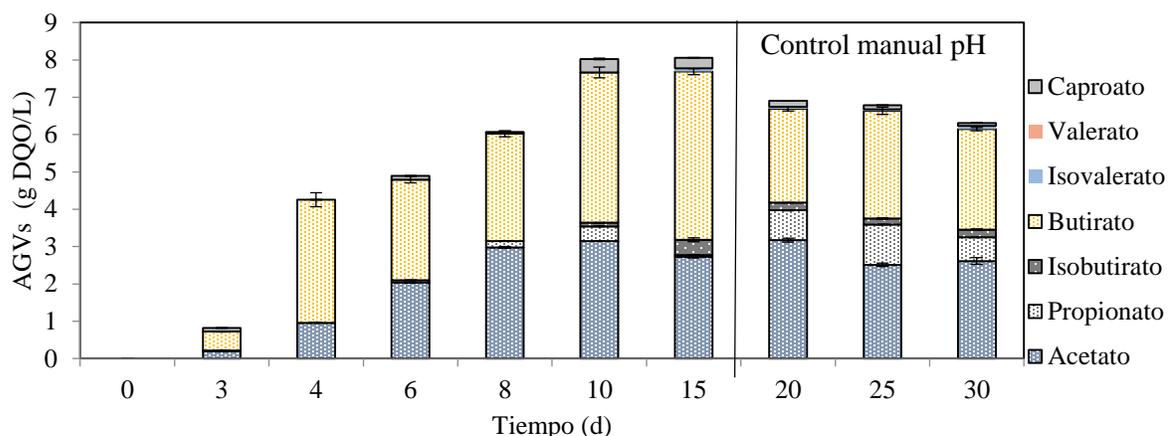


Figura 6.2 AGVs producidos en la etapa acidogénica en el reactor piloto.

Por otra parte, es posible observar la presencia de propionato en el día 20, un factor que se asocia a la presencia de este último a una falla técnica en el control de pH el cual tuvo que ser controlado manualmente pues este comenzó a tener valores de 4.6, diversos autores reportan que la fermentación vía propionato tiene lugar a valores de pH de 4.0-4.5 y este podría aportar un 10% de los AGVS totales en el sistema (Zhou *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2014a), para el caso de este experimento la proporción de propionato es del 11% de los AGVs producidos.

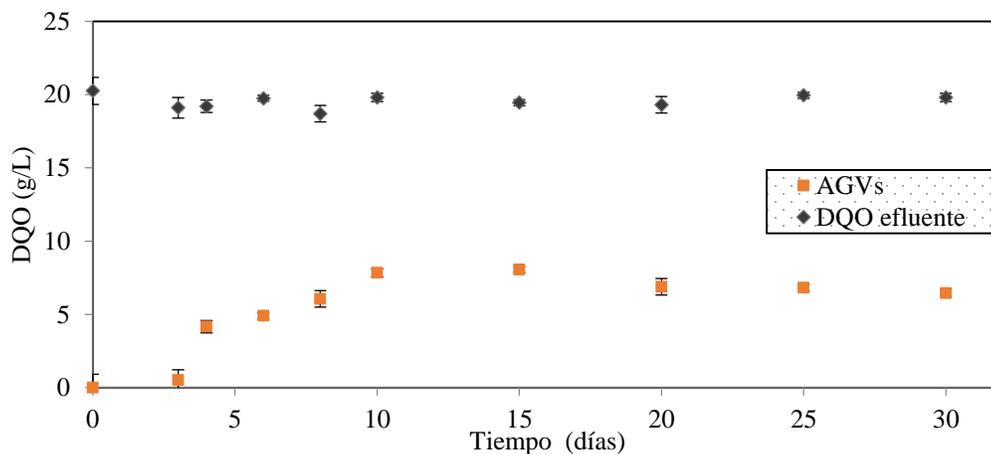


Figura 6.3 Producción a escala piloto de AGVs en relación a la DQO soluble.

6.3.2. Producción de hidrógeno en reactor acidogénico

Durante la operación en los reactores pilotos se logró observar la presencia de H_2 , el cual tuvo una velocidad específica de producción de aproximadamente $400 \text{ NmL de } H_2 / L_{\text{reactor-d}}$ y un porcentaje de H_2 de cercanos al 30% (Figura 6.4).

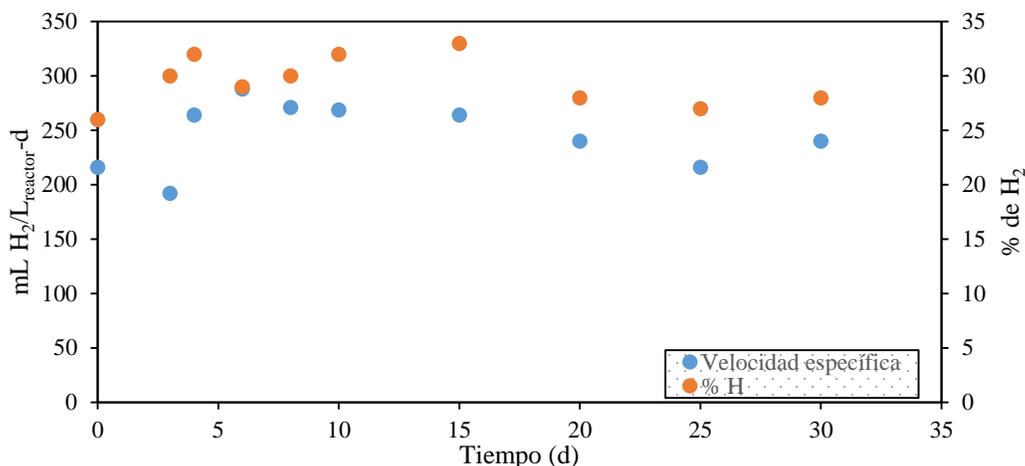


Figura 6.4 Productividad y porcentaje de hidrógeno en reactor acidogénico

La producción de hidrógeno se relaciona con la presencia de bacterias del género *Clostridium*, estudios reportan que *Clostridium* puede realizar una fermentación ácido-mixta vía butirato en conjunto de la producción de acetato e hidrógeno (Ciani *et al.*, 2013), este tipo de microorganismos ya han sido identificados en lodos granulares procedentes de cervecerías los cuales son sometidos a un pretratamiento térmico para la producción de hidrógeno, con el objetivo de seleccionar el grupo de microorganismos que produzcan endosporas (Buitrón y Carvajal, 2010), las cuales son del género *Clostridium* y así con ello tener un inóculo específico.

Además, para realizar este tipo de metabolismo se requieren carbohidratos que permitan realizar el proceso glucolítico, se debe resaltar el sustrato utilizado presentaba una concentración de 14 g/L de carbohidratos, lo cual favoreció al metabolismo presentado.

En la Tabla 6.1, se muestran los resultados obtenidos de diferentes trabajos de producción de AGVs, en donde es posible observar que una corriente rica de carbohidratos permite obtener una fermentación ácido-mixta por la vía acetato butirato, con ello teniendo una remoción de más del 90 % de los carbohidratos en el afluente.

Por otra parte, uno de los parámetros que es posible observar es la relación de DQO entre AGVs, pues este último representa más de un 50 %, en el efluente. Montiel-Corona y Razo-Flores (2018), reportan que en un sistema con 20 g/L de carbohidratos, tratados a un TRH de 0.25 d, es posible obtener 15 g/L de AGVs en relación a su DQO y remover hasta un 95 % de los carbohidratos.

Tabla 6.1 Comparación de estudios relacionados con la producción de AGVs

Influente	TRH	[AGVs]	Remoción		Referencia
			% acetato	% butirato	
g DQO/L	d	g/L	%	%	
2.154	2	1.56	48/15	N/R	Shi <i>et al.</i> , 2016
20	0.25	15	60/32	95	Montiel-Corona y Razo-Flores, 2018
25.5	0.5	8.5	18/82	95	Pattra <i>et al.</i> , 2008
20	2	10	40/30	90	Este trabajo

6.3.3. Producción de metano

Como estrategia de adaptación del inóculo se realizó un lote de 7 días, posteriormente a ello se realizó una alimentación semi-continua, la cual constó de apagar diariamente la recirculación por 20 min, se realizó un recambio de la 3ra parte del volumen de operación y se continuo con el proceso.

Fue posible observar que en la etapa metanogénica se presentó una productividad de más de 630 NmL CH₄/L_{reactor}-d (Figura 6.5), las cuales se obtuvieron posterior al día 20 de operación, siendo similares a lo obtenido en escala laboratorio la cual fue de 638.3 NmL CH₄/L_{reactor}-d.

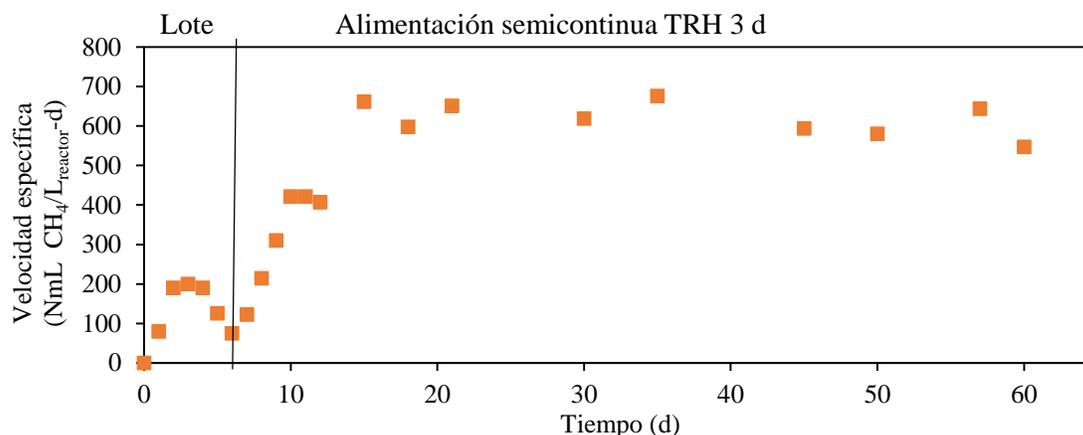


Figura 6.5 Productividad específica del reactor de etapa metanogénica

Por otra parte, el PBM y el rendimiento se vieron afectados, los cuales presentaron valores de 80 NmL CH₄/DQO_{alimentado}-d (Figura 6.6.) y 150 NmL CH₄/g DQO_{removido}-d (Figura 6.7.), uno de los factores a los que se le asocia la reducción de rendimiento y potencial, fue la velocidad ascensional a la que se trabajó, estudios reportan que una óptima velocidad ascensional es de 0.31 a 0.24 (Daud *et al.*, 2018; Uemura y Harada, 2000; Halalsheh *et al.*, 2005), valores superiores a 1.5 podrían limitar el contacto del sustrato con la biomasa y con ello reducir el tiempo de reacción, la velocidad ascensional a la que se trabajó fue de 0.04 m/h, esta variable no pudo modificarse dado que era un equipo que operaba a 745 W o bien a 1 caballo de fuerza, un equipo de mayor tamaño significaría incrementar los costos de operación.

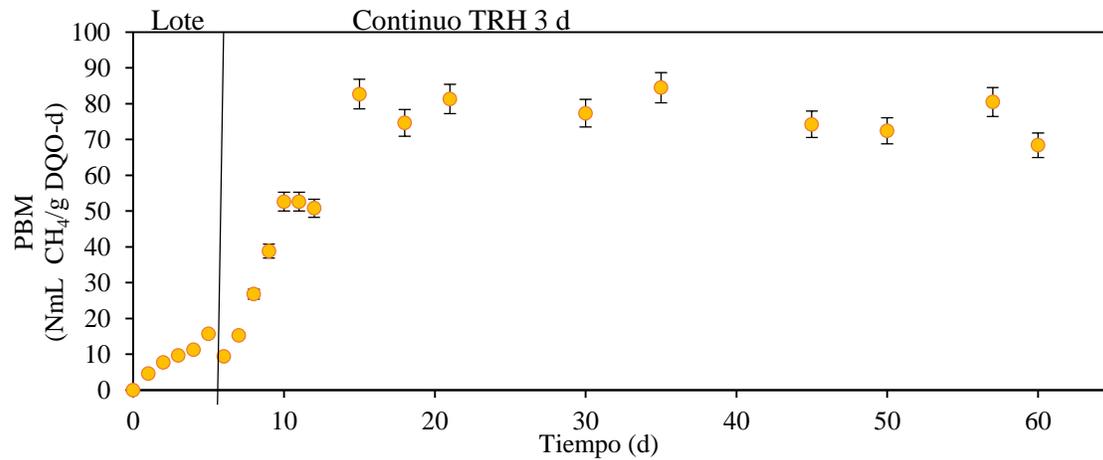


Figura 6.6 PBM del reactor piloto

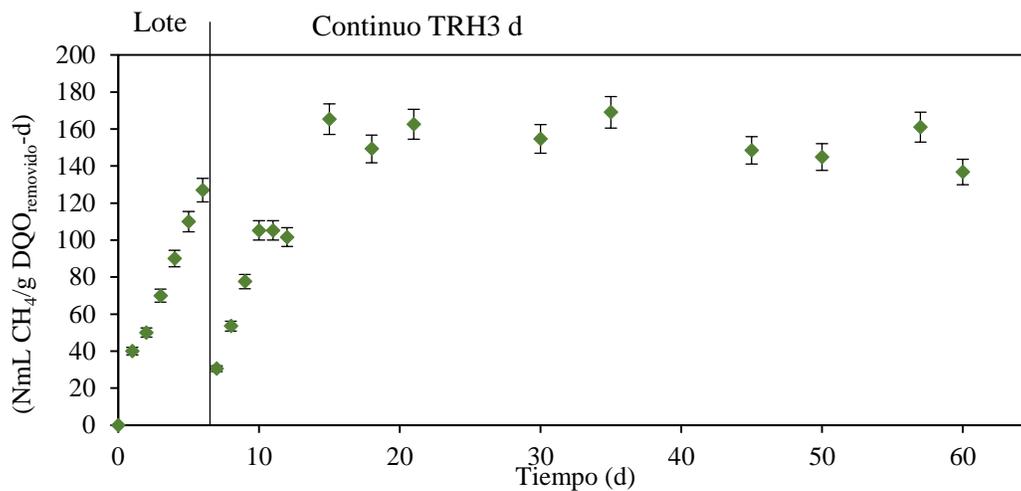


Figura 6.7 Rendimiento del reactor piloto.

Otro de los parámetros evaluados fue el parámetro alfa y el pH, para el parámetro alfa se logró observar que este se conservó en valores de 0.25 del cual el ideal era de 0.2, esto favorecía a la estabilidad del reactor además que el pH del reactor no requirió un controlador pues este oscilaba en valores de 7.5 (Figura 6.8).

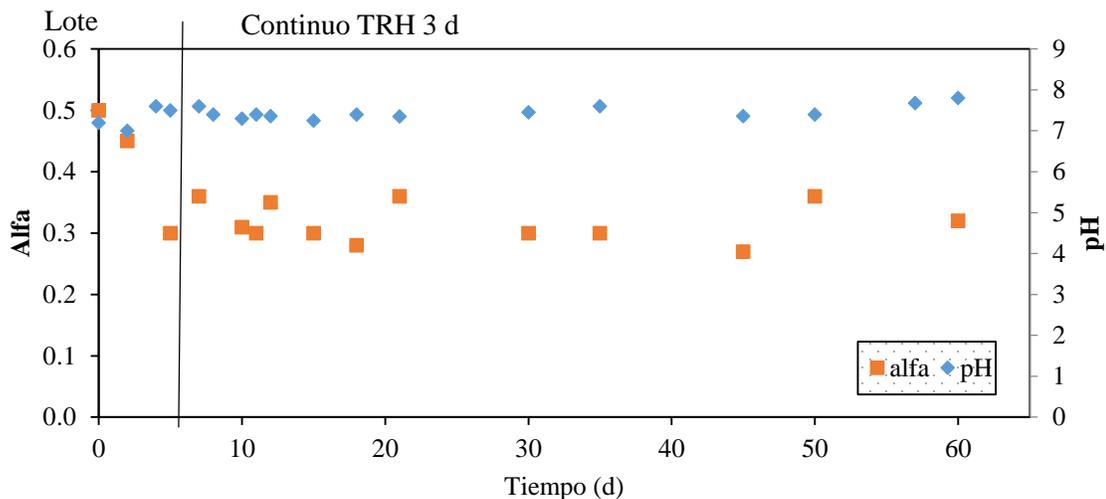


Figura 6.8 Parámetro alfa y pH de la etapa metanogénica

Estudios a escala piloto con hidrolizados de paja de trigo, reportan productividades de más de 350 mL de CH₄/gDQO-d, con un tiempo de retención hidráulica de 4 d (Huang *et al.*, 2017-b), uno de los factores que se observa es la cantidad de inóculo agregado al reactor pues en su estudio revelan que agregaban un 50% de lodo granular.

Chen *et al.* (2015) reportaron productividades de 450 mL de CH₄/g DQO-d, con hidrolizado de residuos sólidos de alimentos, teniendo un porcentaje de inóculo en relación al reactor de 50% en reactores escala piloto.

Otro factor considerado fue la presencia de compuestos fenólicos derivados de la lignina, Barakat *et al.*, (2012), reportaron que los compuestos furánicos (derivados de la deshidratación de pentosas y hexosas) no afectan la producción de metano, pero los compuestos fenólicos en especial la vainillina, pueden reducir un 27% el PBM a una concentración de 1 g/L en 5 g/L de SV de inóculo.

Para ello se realizó una determinación de los compuestos fenólicos presentes en los lixiviados de MRT, la cual reveló una concentración de fenoles totales de 1.8 ±0.5 g/L, los cuales al relacionar con la concentración de inóculo presente en el reactor este tuvo una relación de 1 g/L de fenol en 5.5 g/L de SV de inóculo el cual, es una concentración inhibitoria.

En la Tabla 6.2, es posible observar algunos de los trabajos realizados en reactores de escala piloto, donde se trabaja con hidrolizados de diferentes residuos lignocelulósicos, pero no se tiene un pretratamiento establecido, con ello es posible identificar que en cada uno de los proyectos se obtienen resultados diferentes.

Por otra parte, es posible observar que los resultados obtenidos en este trabajo se encuentran por debajo de los reportados, a diferencia que se tienen tiempos de retención hidráulica en el reactor de etapa metanogénica más cortos en comparación con los demás lo cual significa que en procesos de operación industrial se requerirá de un reactor de menor tamaño al TRH en el que nosotros trabajamos, y con ello tratar ms cantidad de agua en relación a los otros reactores los cuales podrán la misma cantidad pero en reactores de mayor tamaño.

Tabla 6.2 Comparación de algunos trabajos en co-digestión y escalamiento piloto de reactores anaerobios

Sustrato	Co-sustrato	Pre-tratamiento al sustrato	Volumen reactor	T	% inóculo	Relación	Productividad	TRH	Referencia
			L	°C	% X /V reactor	C/N	mL CH ₄ /g SV-d	d	
Bagazo de agave/ Caña	N/A	Termo-químico	100	35	50	N/R	360	4	Huang <i>et al.</i> , 2017b
Residuos frijol	N/A	Químico	35	35	N/R	N/R	284	25	Salem <i>et al.</i> , 2018
Paja de trigo	Residuos alimentos	N/A	5	35	20	30	582	10	Chen <i>et al.</i> , 2015
Hidrolizado de residuos de alimentos		Químico	100	35	50	N/R	450	5	Huang <i>et al.</i> , 2017a
Residuos biorrefinerías	Estiércol	Hidrotérmico	30	35	15% lodo granular	19	185	3	este trabajo

6.3.4. Limitantes del sistema

Algunos de los problemas que se lograron identificar durante el proceso de operación fue el ingreso de sólidos procedentes del estiércol vacuno, pues este aportaba al sistema una concentración de 25 g/L de sólidos suspendidos totales, lo cual afecta algunas líneas de operación lo que conllevó a una serie de taponamientos en las líneas de recirculación y de alimentación (Figura 6.9), la problemática fue resuelta con un lavado previo del estiércol que permitiera remover los sólidos de mayor tamaño que afectaban al sistema, estos problemas lograron resolverse para antes de obtener los resultados de experimentación.

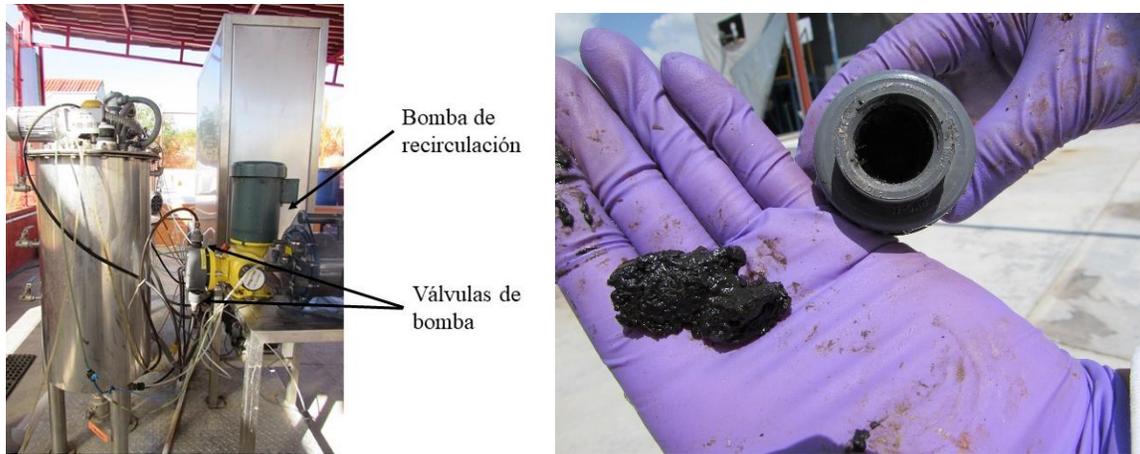


Figura 6.9 Saturación de sólidos en válvula de la bomba de recirculación.

6.4. Conclusiones parciales

En la etapa acidogénica el incremento de volumen de operación de 4 a 20 L, manteniendo las mismas condiciones de operación, mostró resultados similares con respecto a la obtención de AGVs con una producción promedio de 8 g/L de AGVs para ambos casos. En esta misma etapa, la degradación de los residuos de termohidrólisis produjo además de AGVs hidrógeno a una velocidad de 271 NmL/L_{reactor}-día, en una concentración en el biogás de hasta el 30%, lo que evidencia el potencial de este sustrato para la obtención de energía en forma de hidrógeno, bajo las condiciones usadas en este estudio.

En la etapa metanogénica el incremento del volumen de operación de 4 a 30 L, también se presentaron valores similares en la velocidad específica de producción de metano, porcentaje de metano y el rendimiento. Sin embargo, tuvo un efecto negativo en el potencial bioquímico de metano, de 95 a 80 NmL de CH₄/g DQO_{alimentado}-d, respectivamente. Esto pudo deberse a que con el reactor de 4 L la alimentación fue únicamente el lixiviado de los residuos de termohidrólisis mientras que, en el reactor de 30 L, los residuos se mezclaron con estiércol para mejorar la relación C/N, el cual aportaba sólidos difícilmente biodegradables a un TRH de 3 d.

7. Arranque condiciones termófilas

7.1. Introducción

Como parte del tratamiento de los residuos procedentes de las diferentes etapas se consideró la presencia de sólidos como levaduras y algunos productos derivados de la fermentación y destilación, los cuales deberían ser tratados mediante un proceso biológico.

Como solución se planteó realizar una digestión anaerobia en condiciones termófilas, la cual se ha demostrado que favorece la solubilidad del sustrato, reduce el volumen del reactor e incrementa la velocidad de degradación de la materia (Camacho *et al.*, 2017).

Una de las variables fue el TRH el cual proporcionó información que permitió conocer bajo qué TRH la productividad volumétrica y la remoción de materia orgánica se ve favorecida, con el objetivo de poder probar tal TRH en reactores de mayor volumen de operación.

7.2. Metodología

El sustrato utilizado en esta etapa de experimentación provino de cada una de las etapas del proceso de producción de etanol los cuales fueron: residuos de fermentación, residuos de destilación y residuos de termohidrólisis. Cada uno de los residuos fueron caracterizados para su uso previo, en la Tabla 7.1 se muestran los valores obtenidos de algunos de los parámetros evaluados.

Tabla 7.1 Caracterización de los diferentes residuos procedentes del proceso de producción de etanol de segunda generación

Origen	Sustrato	Carbohidratos (g/L)	Etanol (g/L)	Furfural (g/L)	HMF (g/L)	DQO (g/L)	Acetato (g/L)	SSV (g/L)
Fermentación	Paja de trigo	12.6±0.3	0.32±0.1	0.45±0.1	0.3±0.1	47.8±1	5.8±0.5	18.9±0.1
	Bagazo de agave	12.6±0.5	0	0.34±0.1	0.3±0.1	29.6±2	1.4±0.2	19.6±0.1
Termohidrólisis	Rastrojo de maíz	12.5±1	0.8±0.2	0.5±0.1	0.4±0.1	24.5±0.5	2.4±0.1	24.7±0.1
Destilación	Vinaza bagazo de agave	6.4±0.3	2.6±0.5	0.28±0.1	0.2±0.1	120.6±6	3.3±0.3	35.4±0.2
	Vinaza paja de trigo	4.6±0.3	2.7±0.3	0.34±0.1	0.3±0.1	37.4±	1.8±0.1	39.4±0.2

Como estrategia de experimentación se propuso realizar una mezcla de todos los sustratos los cuales presentaron una DQO de 105 g/L, la cual fue diluida para obtener una concentración de aproximadamente 20 g/L, y así poder ser alimentada a los reactores.

La operación en condiciones termófilas se realizó en reactores escala laboratorio, los cuales fueron reactores Infors Labfors 5, con una capacidad de 7 y 13 L, con control de pH, temperatura y agitación (Figura 7.1).

7.2.1. Reactor acidogénico

Para realizar una adaptación del inóculo al sustrato y a la temperatura, se procedió a realizar lotes en los cuales se incrementó gradualmente la temperatura, de 35 a 45 y 55 °C, y así ser alimentado de manera continua, el inóculo provino del reactor de etapa acidogénica.

Las condiciones de operación se presentan en la Tabla 7.2, especificando algunos de los parámetros establecidos en la operación, los TRH experimentados en el proceso. Del efluente y alimentación se tomaron muestras las cuales serían analizadas en el desempeño del reactor. El reactor acidogénico fue operado en lotes secuenciados, con el fin de retener la biomasa presente en el sistema, se dejó sedimentar por 30 min y la alimentación que ingresaba estaba a 40 °C.

Tabla 7.2 Condiciones de operación del reactor acidogénico

Parámetro	Valor
Volumen de operación	4 L
Temperatura	55°C
pH	5.5
Inóculo	Lodo granular anaerobio triturado 17 g/L de SV
Agitación	120 rpm
Influente	20g/L
TRH	2 d y 1 d

7.2.2. Reactor metanogénico

Para el arranque previo del reactor metanogénico en termófila se propuso realizar lotes secuenciados que permitieran dar una adaptación al sustrato, el inóculo fue lodo granular que se tenía en laboratorio

en un proceso de adaptación de aproximadamente más de un año, a 55 °C. Para el control de pH se agregó bicarbonato de sodio para incrementar la capacidad buffer del sistema, las condiciones a las que se operó el reactor se muestran en la Tabla 7.3.

Tabla 7.3 Condiciones de operación de la etapa metanogénica

Parámetro	Valor
Volumen de operación	10L
Temperatura	55°C
pH	7.5
Inóculo	Lodo granular anaerobio 12 g/L de SV
Agitación	120 rpm
Influyente	Efluente de etapa acidogénico
TRH	3 y 2 días

Como control de la relación C/N fue agregada urea soluble con el objetivo de tener una relación de 35, la cual favorece la digestión anaerobia termófila (Wang *et al.*, 2014b). La carga orgánica posterior a la alimentación en continuo fue de 6.6 g/L-d y 10 g/L-d, para el TRH de 3 y 2 d, respectivamente.

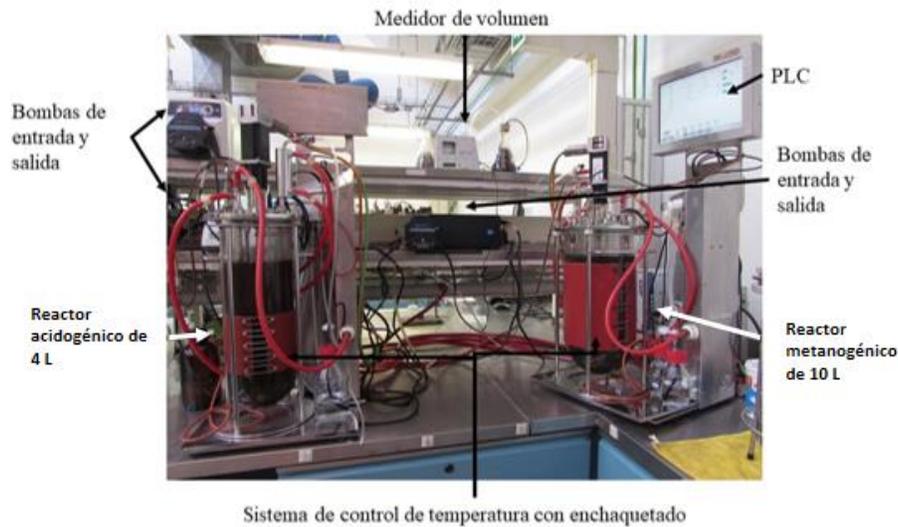


Figura 7.1 Diagrama real de los reactores en dos etapas en termofilia

7.3. Resultados y discusión

7.3.1. Reactor acidogénico

Fue posible observar que durante todo el proceso de fermentación ácida los AGVs que predominaron fueron acetato y butirato, los cuales indican que al igual que los procesos mesófilos estudiados anteriormente, se llevó a cabo una fermentación vía butirato (Ciani *et al.*, 2013).

En la experimentación de TRH de 2 d se identificó una producción de aproximadamente 1.3 g DQO/L tanto para acetato como para butirato (Figura 7.2). Además de identificar la presencia de caproato un AGV resultante del metabolismo de bacterias del género *Clostridium* las cuales metabolizan acetato y etanol para llevar a cabo una β -oxidación inversa (Yin *et al.*, 2017,) se debe resaltar que la alimentación del reactor tenía como sustrato etanol proveniente de los residuos de destilación, la cual estaba a una concentración de 0.5 g/L.

Para la experimentación de 1 día de TRH, la producción de butirato decreció un 23% y de acetato un 20%, lo cual se asocia con el tiempo de contacto que se tiene con el sustrato. Estudios revelan que un incremento de la carga orgánica reduce la producción de AGVs además de la proporción de los mismos (Lim *et al.*, 2008).

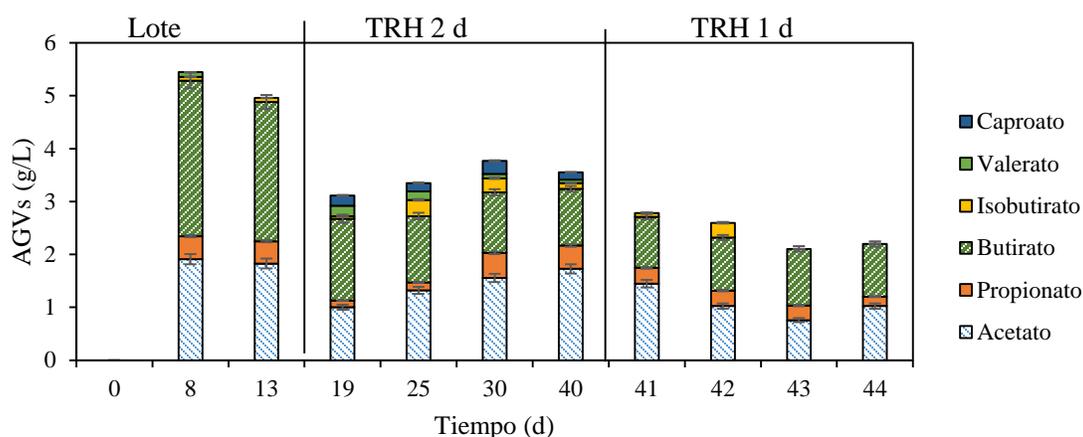


Figura 7.2 Producción los diferentes ácidos grasos en reactor ácido termófilo

Otro factor que se ha estudiado que afecta la fermentación oscura es la presencia de inhibidores procedentes de la degradación de la lignina, al realizar un análisis de los fenoles totales en la alimentación de la etapa acidogénica se logró identificar que estaban presentes a una concentración de 1.8 g/L (Datar *et al.*, 2007; de Vrije *et al.*, 2009; Kaparaju *et al.*, 2009).

Por otra parte, fue posible identificar una reducción en la producción de los AGVs en relación a lo obtenido en mesófila, trabajos reportan que una variación en la temperatura puede afectar la estabilidad de la etapa acidogénica siendo como variable más delicada en el proceso de operación (Zhou *et al.*, 2018).

Durante la alimentación del reactor era removido el 60% del volumen de operación y el mismo volumen era alimentado, pero a 40 °C, lo cual, provocó que la temperatura del reactor descendiera a 45 °C, por ello se asocia la baja producción de ácidos grasos volátiles con la temperatura.

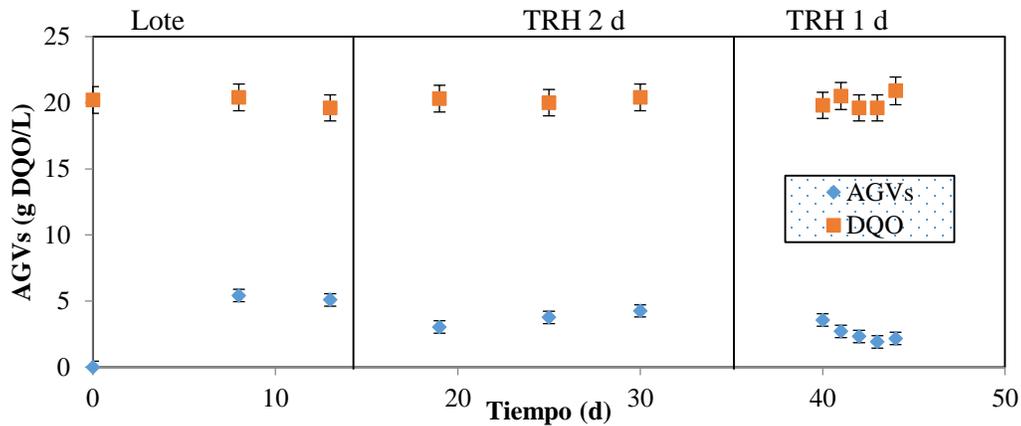


Figura 7.3 Relación de la DQO soluble y los AGVs producidos durante el proceso acidogénico

Para elegir el TRH que fue utilizado en el reactor piloto, se realizó un análisis estadístico con el objetivo de conocer la diferencia entre ambos TRH en la producción de AGVs, los resultados de las pruebas son mostrados en la Tabla 7.4, donde fue posible observar la variación entre cada uno de los TRH, por ello se realizó una prueba post hoc la cual indicó la media de cada TRH.

Tabla 7.4 Valores obtenidos en el análisis estadístico de ANOVA

Fuente	G. L.	SC	CM	Valor F	Valor P
TRH	1	6.381	6.3807	16.63	0.005
Error	7	2.686	0.3837		
Total	8	9.067			

Fue posible observar que el TRH de 2 días presenta una media de 3.9 g/L, y la media de TRH de 1 día fue de 2.2 lo que indicó que el TRH que favorece la producción de AGVs es de 2 d (Tabla 7.5).

Tabla 7.5 Valores obtenidos de la prueba post hoc Tukey-Kramer

TRH	n	Media	Grupo
2	5	3.982	A
1	4	2.288	B

7.3.2. Reactor metanogénico

Posterior a los lotes realizados en la experimentación, fue posible observar que en el TRH de 3 d tuvo valores de 160 NmL de $\text{CH}_4/\text{g DQO}_{\text{removido-d}}$, el cual al realizar el cambio de TRH a 2 d este decreció un 15% teniendo valores de 143 NmL de $\text{CH}_4/\text{g DQO}_{\text{removido-d}}$ (Figura 7.4).

Por otra parte, la velocidad específica de producción a TRH de 3 d fue de 664 NmL de $\text{CH}_4/\text{L}_{\text{reactor-d}}$, la cual, al reducir el TRH a 2 d incrementó un 27% (Figura 7.5). Kongjan *et al.* (2010b), reportan que la carga orgánica es un factor que favorece la velocidad específica de metano, cargas orgánicas de 2.7 a 4.5 g/L-d favorecen la velocidad específica de producción de metano.

Además, al tener una carga de 8.2 g/L-d el rendimiento comienza a decrecer a valores de 170 NmL de $\text{CH}_4/\text{g DQO}_{\text{removido-d}}$. En este trabajo las cargas orgánicas fueron de 6.6 y 10 g/L-d para los TRH de 3 y 2 d, respectivamente.

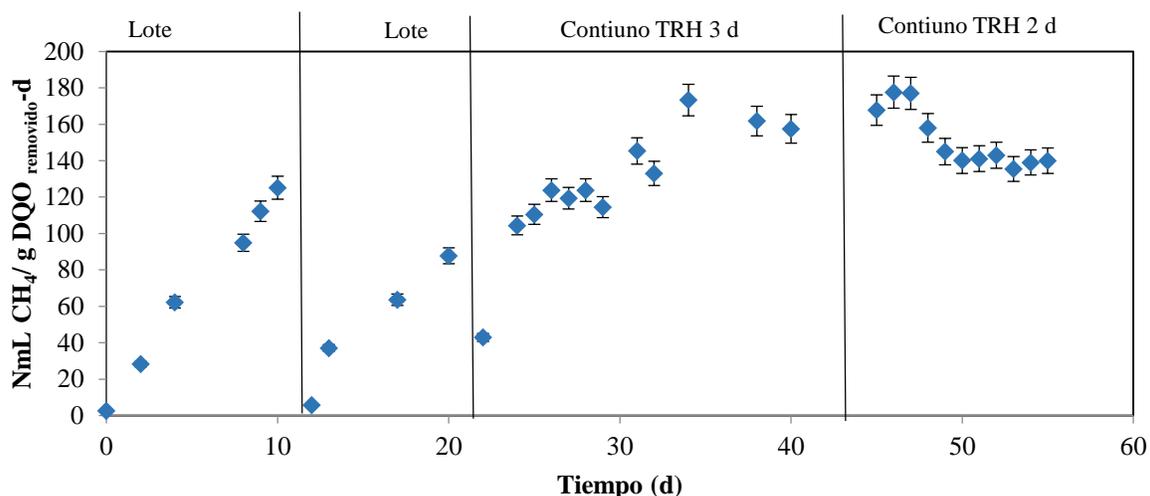


Figura 7.4 Rendimiento en la producción de metano en el reactor termófilo.

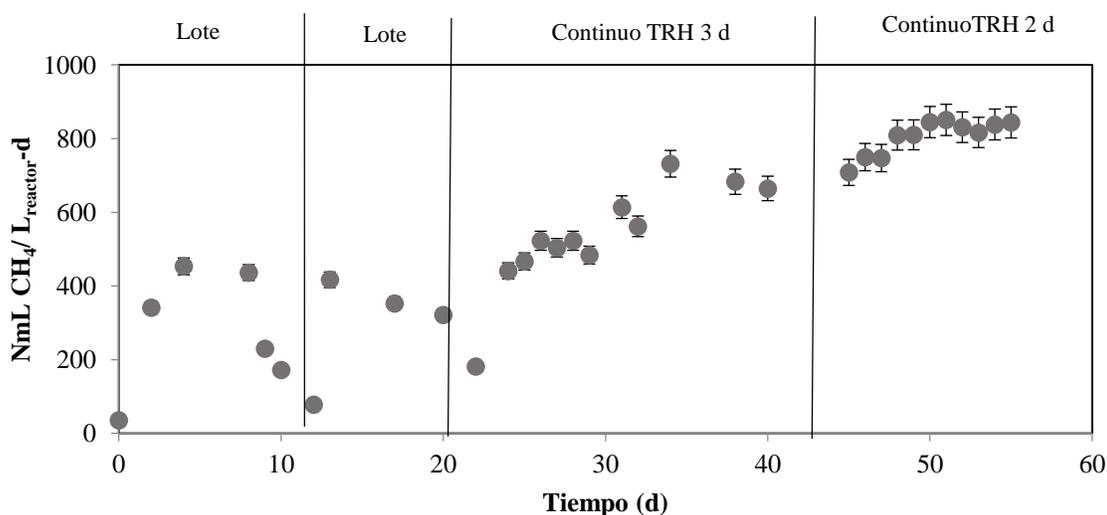


Figura 7.5. Velocidad específica de producción de metano del reactor termófilo.

Al realizar el análisis de la remoción de DQO se logró observar que durante los periodos lote se removía aproximadamente el 70% de la DQO, al realizar la alimentación en continuo a TRH de 3 d la remoción fue de 68%, pero al realizar el cambio de TRH a 2 d este presentó remociones del 55% (Figura 7.6).

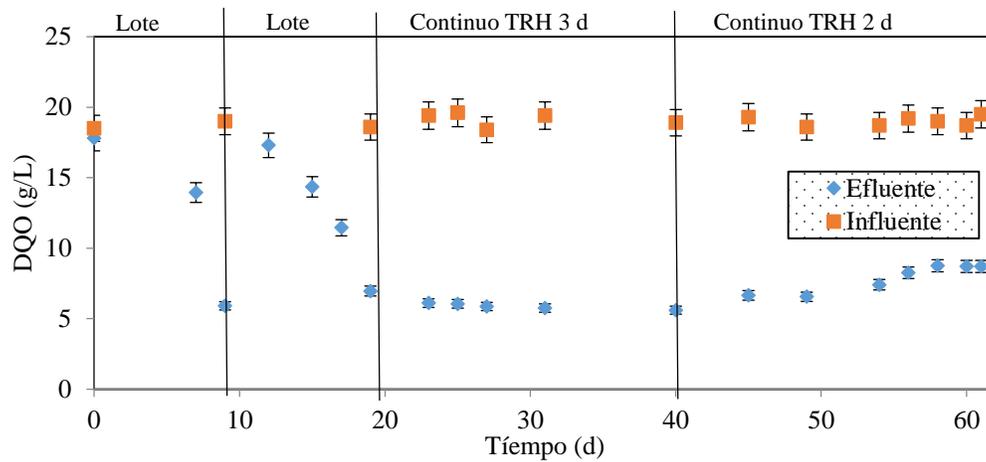


Figura 7.6 Gráfica de la evolución de la DQO en etapa metanogénica en termofilia

Al comparar los valores obtenidos con la etapa mesofílica se puede observar que los valores oscilan en un porcentaje de remoción del 70 y 60%, la diferencia marcada es el periodo en el que se tratan los residuos, teniendo como referencia que la temperatura permite incrementar la velocidad de degradación de la materia orgánica.

Kongjan *et al.* (2010b), reportan que un proceso en dos etapas con TRH de 1 d para la etapa acidogénica y un TRH de 3 días en la etapa metanogénica, permite remover un 81% de la materia orgánica a una carga de 4.5 g/L-d.

Otro factor que fue controlado fue el parámetro alfa, en el tanque de alimentación para la etapa metanogénica fue agregado bicarbonato de sodio a una concentración de 3 g/L esto permitió que el parámetro alfa se mantuviera estable sin ser afectado el pH del sistema (Figura 7.7).

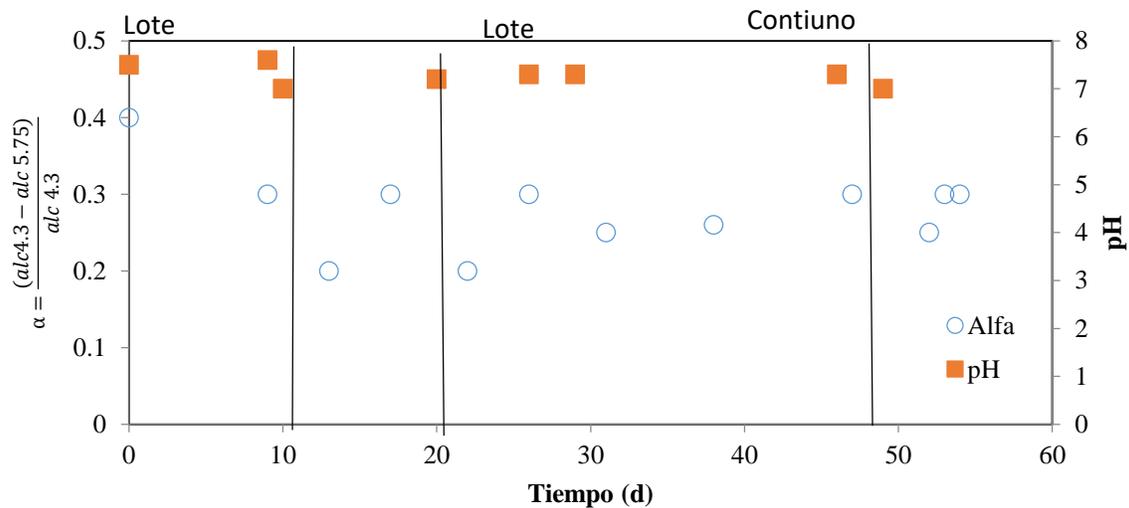


Figura 7.7 Parámetro alfa y pH del reactor termófilo de la etapa metanogénica.

Para realizar un análisis estadístico fue aplicada un análisis ANOVA, donde se consideraron diferentes parámetros de desempeño del reactor los cuales permitieron conocer si había diferencia significativa entre los dos TRH y cuál de los dos presenta mejores valores con una prueba post hoc Tukey-Kramer.

Gracias a esta prueba estadística se consideró que el TRH de 3 d favorecía la remoción de materia orgánica y permitiría obtener más metano por gramo de DQO (Tabla 7.6).

Tabla 7.6 Comparación de las medias de los diferentes parámetros analizados

TRH	Velocidad volumétrica	Rendimiento	% de metano	Alfa	Remoción
d	NmL CH ₄ /L _{reactor} -d	NmL CH ₄ /g DQO _{removido} -d	%		%
2	884	132	57	0.27	57
3	701	162	60	0.3	71
Presenta variación	Sí	Si	Sí	No	Sí

7.4. Conclusiones parciales

Es factible el tratamiento termófilo de residuos de biorrefinería que produce etanol, en los que se incluyen además de los de pretratamiento, los provenientes de las etapas de fermentación y destilación.

Se observó que en la etapa acidogénica un TRH de 2 d favorece la producción de AGVs en comparación del TRH de 1 d, los cuales produjeron 3.9 y 2.2 g DQO/ L, respectivamente.

Se observó que a TRH de 3 d se favorece la remoción de materia orgánica y el rendimiento, mientras que a TRH de 2 d favorece la velocidad específica de producción de metano. Esto se debe a que a TRH de 2 se tuvo una carga orgánica de 10 g/L-d, el cual se ha reportado que en termofilia cargas orgánicas iguales o superiores a la mencionada, afectan de manera negativa los parámetros de desempeño del reactor.

8. Operación en reactores pilotos

8.1. Introducción

Para poder evaluar el efecto de la temperatura de 55 °C, en un sistema en dos etapas se debía corroborar el efecto de la misma en un incremento del volumen de operación, esta estrategia se adoptó con el objetivo de poder compararla a 35 °C cual la eficiencia del sistema en dos etapas y a 55 °C.

En esta etapa se tenía como reto el poder trabajar con los sólidos derivados de las operaciones unitarias de fermentación y destilación del proceso de producción de bioetanol, los cuales habían sido caracterizados en la etapa previa al aumento de volumen de operación.

Se consideraba que el incremento de volumen de operación mostraría resultados similares a lo obtenido en la escala laboratorio aplicando un TRH de 3 d.

8.2. Metodología

8.2.1. Reactor etapa acidogénica

Para la operación del reactor de la etapa acidogénica se propuso como estrategia de experimentación realizar lotes secuenciados que permitieran la adaptación del inóculo al cambio de temperatura, para ello se puso en marcha el reactor a 40 °C en un lote de 7 días, se realizó un cambio del sustrato para posteriormente elevar a 55 °C en un lote de 4 días. Posterior al lote en 55 °C sería alimentado continuamente bajo las condiciones establecidas en la Tabla 8.1.

Tabla 8.1 Condiciones de operación del reactor acidogénico

Parámetro	Valor
Volumen de operación	30 L
Temperatura	55°C
pH	5.5
Inóculo	Lodo granular anaerobio triturado (18.7 g de SV/L)
Agitación	60 rpm
Influente	20 g DQO/L
TRH	d

8.2.2. Reactor etapa metanogénica

Al igual que el reactor de la etapa acidogénica se propuso una estrategia experimental la cual permitiera la adaptación del inóculo al cambio de temperatura: se realizó un lote a 40 °C en 7 días, se hizo un recambio del sustrato y se elevó la temperatura a 55 °C en un lote de 7 días, posterior a esto se comenzó a alimentar de manera continua. En la Tabla 8.2 se muestran algunos de los parámetros de operación.

Tabla 8.2. Condiciones de operación de la etapa metanogénica

Parámetro	Valor
Volumen de operación	30 L
Temperatura	55°C
pH	7.5
Inóculo	Lodo granular anaerobio (8.7 g de SV /L)
Agitación	60 rpm
Influente	Efluente de la etapa acidogénica
TRH	3 d

8.3. Resultado y discusión

8.3.1. Etapa acidogénica

Se logró observar que en la primera etapa se tuvo una fermentación acidogénica vía butirato, el cual tuvo una producción que oscilaba (Figura 8.1), para el día 36 la producción de acetato oscilaba de 1.2 a 1.4 g/L de acetato, por otra parte, la máxima producción de butirato fue en el día 15 presentando concentraciones de 1.5 g/L de butirato.

Además, fue posible detectar la presencia de hidrógeno en el biogás, el cual se presentó en un 52%, y con una velocidad específica de producción de 616 NmL H₂/L_{reactor}-d (Figura 8.2). Estudios revelan que un pH de 5.1 a 5.5 favorece la producción de H₂ en condiciones termófilas (Kotsopoulos *et al.*, 2006), la operación del reactor fue de 5.5 ±0.3.

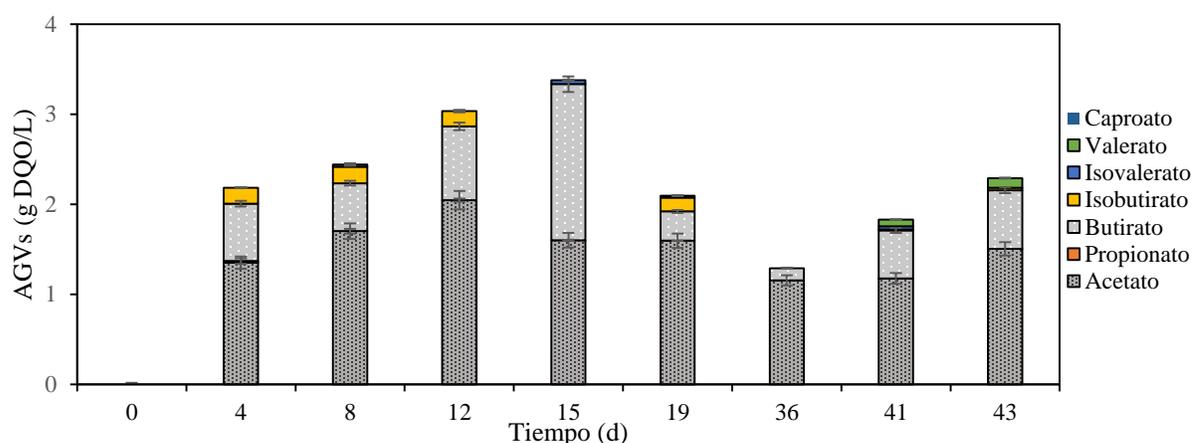


Figura 8.1 Producción de los diferentes AGVs; b relación de la DQO y los AGVs producidos

Algunos trabajos reportan que bacterias del género *Clostridium* y *Thermoanaerobacter* permiten obtener H₂ a partir de hidrolizados de bagazo de agave a pH 5.5 y a temperatura de 55 °C, lo cual indica que el inóculo podría presentar microorganismos de tal género (Kongjan *et al.*, 2010a; Kongjan *et al.*, 2010b).

En cuanto a la degradación de sólidos se pudo observar que, en el efluente del reactor, la DQO soluble incrementaba un 30% en relación a la DQO soluble de alimentación, y gracias a ello se facilita la degradación en la siguiente etapa (Figura 8.3).

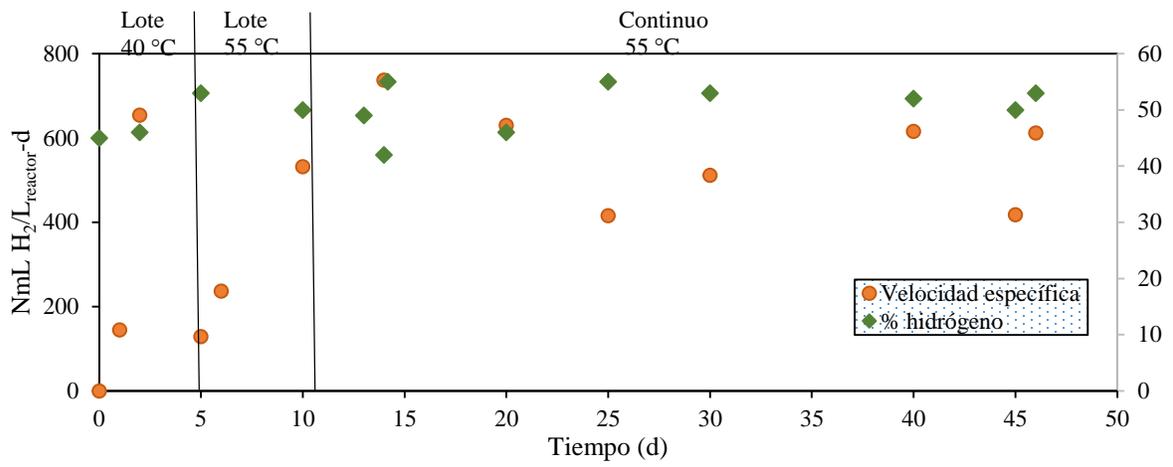


Figura 8.2 Porcentaje de H₂ y velocidad específica de producción de H₂.

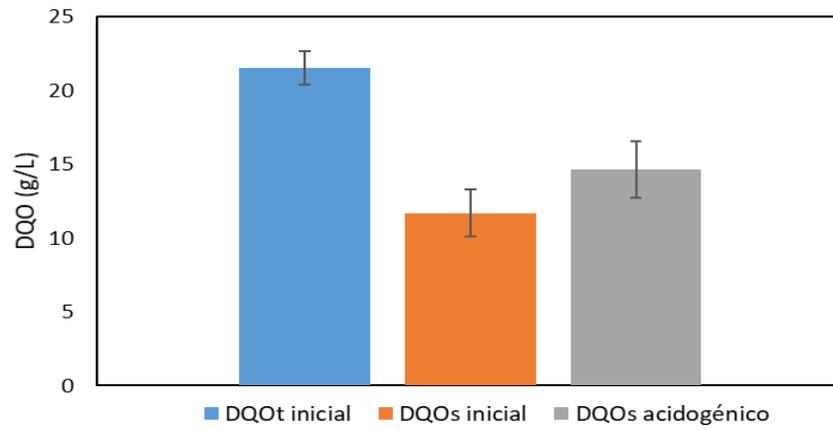


Figura 8.3 DQO en la etapa acidogénica.

8.3.2. Etapa metanogénica

En la experimentación en los reactores piloto se tuvieron rendimientos de 167 NmL CH₄/g DQO_{removido}-d (Figura 8.4), el cual fue similar a lo obtenido en el reactor de 10 L. Por otra parte, la máxima velocidad específica de producción de metano se observó a partir del día 25, la cual fue de 501 NmL CH₄/L_{reactor}-d (Figura 8.5).

Kongjan *et al.* (2010b), reportaron que tener cargas orgánicas de 8.2 g/L-d presenta rendimientos de 178 NmL CH₄/g DQO_{removido}-d, en este trabajo se trabajó con una carga orgánica de 9.3 g/L-d y un rendimiento de 167 NmL CH₄/g DQO_{removido}-d.

Por otra parte, es posible identificar que al comenzar a trabajar en continuo se presentó una fase de adaptación o una fase lag de aproximadamente 8 d, la cual se asocia a la baja cantidad de inóculo (8.5 g/L), por ello se considera la fase de adaptación, posteriormente al día 15 la producción de metano se ve favorecida, con ello se consideró que se había superado la fase de adaptación del inóculo al sustrato.

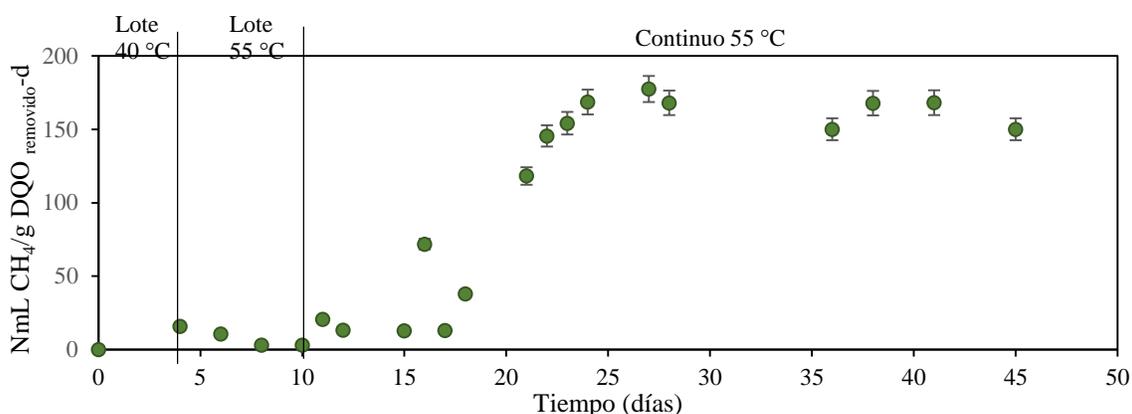


Figura 8.4 Rendimiento de la etapa metanogénica piloto.

Por otra parte, también se detectó la concentración de compuestos fenólicos derivados de la lignina los cuales estaban en una concentración de 1.2 g/L \pm 0.3, los cuales estaban en una concentración tóxica para el inóculo presente (Barakat *et al.*, 2012), la cual fue 1 g /6.42 g SV inóculo.

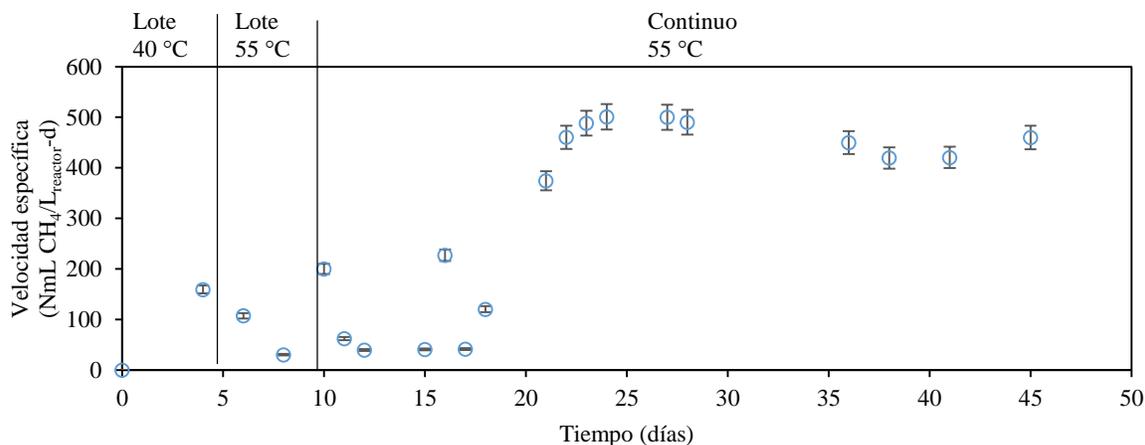


Figura 8.5 Velocidad específica de producción de metano del reactor piloto

Cabe resaltar que la calidad del biogás presentó un 64% de metano lo cual (Figura 8.6), coincide con algunos estudios que reportan que en condiciones termófilas se mejora la calidad del biogás (Gebreyessus y Jenicek, 2016). Tal porcentaje de metano se conservó en gran parte del experimento.

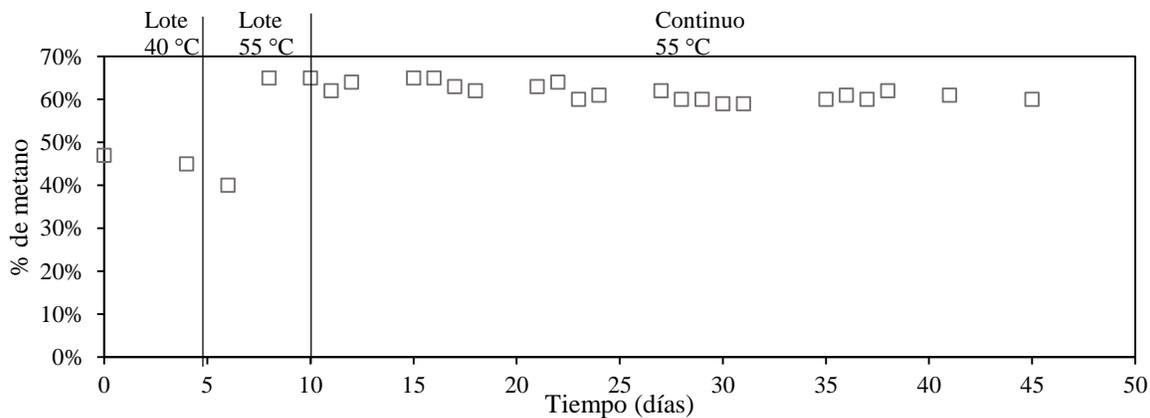


Figura 8.6 Porcentaje de metano en el biogás del reactor metanogénico

Además, otro factor que se favoreció fue el pH y el parámetro alfa (Figura 8.7) pues este último logró mantenerse en valores de 0.26 siendo el óptimo 0.2, lo que indica que el consumo de AGVs procedentes de la etapa acidogénica favorece la operación de la etapa metanogénica aportando alcalinidad procedente de los AGVs, y con ello manteniendo los valores de pH cercanos a 7.5.

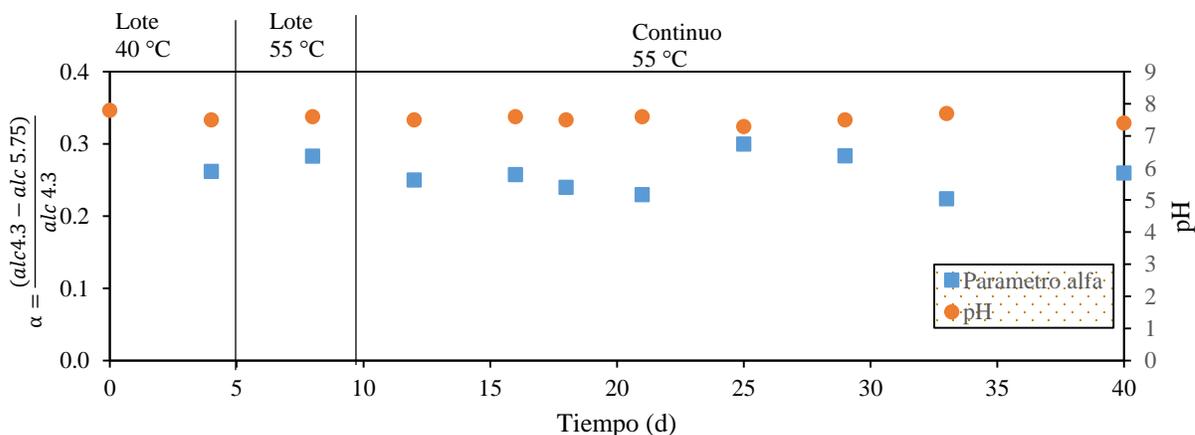


Figura 8.7 Parámetro alfa y pH del reactor piloto termófilo

8.3.2.1. Limitantes del sistema

Además, se debe resaltar que el reactor piloto tenía una la velocidad de agitación fija la cual era de 60 rpm, por ello se considera una limitante en la experimentación, dado que en los reactores escala laboratorio la velocidad de agitación con la que se trabajo fue de 120 rpm. El realizar modificaciones en la agitación implicaría invertir en los costos de operación por modificar el motor del impulsor.

8.4. Conclusiones parciales

En la etapa acidogénica se presentó el incremento de la DQO soluble en el efluente lo que indicó que bajo el TRH de 2 d es posible llevar a cabo la hidrólisis de la fracción particulada de la alimentación siendo un 26%, mayor que la DQO soluble de la alimentación. En este sentido es factible el tratamiento de estos residuos a 55 °C.

La mezcla de residuos de biorrefinería se presentó como un sustrato con potencial para la obtención de hidrógeno, con un porcentaje del 42% presente en el biogás, y una velocidad específica de producción de 737 NmL H₂/L_{reactor}-d. Una explicación para los elevados porcentajes de hidrógeno se asocia a la DQO particulada que fue solubilizada.

En la etapa metanogénica se observó la presencia de una fase lag que duró 8 días, la cual podría deberse a la baja concentración de lodos 8.7 g/L con la que se operó el reactor. Adicionalmente se identificó una concentración de fenoles de 1.3 g/L, que se reportan como inhibitorios cuando su concentración alcanza 1 g/5 g SV inóculo. Valor cercano a lo observado en este trabajo. Una vez superada esta etapa de aclimatación el único parámetro que se vio afectado fue la velocidad específica de producción de metano con un valor de 490 NmL CH₄/L_{reactor}-d en relación a 731 NmL CH₄/L_{reactor}-d en comparación del reactor en laboratorio.

9. Conclusiones

Para todas las fracciones de los residuos de termohidrólisis (sólido lixiviado, sólidos sin lixiviar y el lixiviado), el lixiviado presentó el mayor potencial bioquímico de metano, lo que indicó que es mejor trabajar con la mezcla de lixiviados la cual presentó un potencial bioquímico de metano de 252 ± 12 NmL CH₄/gSV.

Se determinó que la co-digestión de residuos de termohidrólisis y estiércol vacuno incrementa el contenido de nitrógeno valores que favorecen la metanogénesis además de incrementar un 20% el potencial bioquímico de metano, de 250 a 301 NmL CH₄/g DQO.

En la etapa acidogénica el TRH de 2 d favorece la producción de AGVs, al compararlo con el TRH de 1 d con una producción de 8.2 y 4.63 g DQO/L, respectivamente. Además, el TRH de 2 d favorece la conversión de los carbohidratos a AGVs impidiendo el ingreso al reactor metanogénico evitando su eventual acidificación.

El TRH de 3 d favorece la velocidad específica de producción de metano y el rendimiento con 638 NmL CH₄/L_{reactor}-d y 237 NmL CH₄/g DQO_{removido}-d, respectivamente. Con el TRH de 3 d se manejó una carga orgánica de 6.6 g/L-d, con una eficiencia de eliminación de materia orgánica de 62%.

El TRH de 2 d en la etapa acidogénica favoreció la hidrólisis de la fracción particulada de la alimentación siendo un 26%, mayor que la DQO soluble de la alimentación. En este sentido es factible el tratamiento de estos residuos a 55 °C.

La mezcla de residuos de biorrefinería se presentó como un sustrato con potencial para la obtención de hidrógeno, con un porcentaje del 52% presente en el biogás, y una velocidad específica de producción de 737 mL H₂/L_{reactor}-d, operado bajo las condiciones establecidas en este trabajo.

El incremento en el volumen de operación de 30 L, permitió reproducir algunos resultados obtenidos en los reactores laboratorio de 4 L, no obstante, se ve limitado por la mezcla en el sistema la cual puede afectar algunos parámetros en la etapa metanogénica como velocidad de producción de metano y remoción de materia orgánica.

Se considera que un sistema en dos etapas a 55°C (para ambas etapas) favorece la producción de hidrógeno, AGVs y metano, para el tratamiento de residuos de biorrefinería.

Referencias

- Aslanzadeh, S., Rajendran, K., & Taherzadeh, M. J. (2014). A comparative study between single-and two-stage anaerobic digestion processes: Effects of organic loading rate and hydraulic retention time. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95, 181-188.
- Andri, I., Pina, A., Ferrão, P., Fournier, J., Lacarrière, B., y Corre, O. L. (2017). Methane production potential from anaerobic different animal dungs and sweet corn residuals Assessing the feasibility of using the heat demand-outdoor temperature function for a long-term district heat demand forecast. *Energy Procedia*, 138, 943–948. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.10.062>
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J. L., Guwy, A. J. y Van Lier, J. B. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology*, 59(5), 927–934.
- APHA. (1999). *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environmental Federation: Washington, DC, USA. <https://doi.org/ISBN 9780875532356>
- Arreola-Vargas, J., Ojeda-Castillo, V., Snell-Castro, R., Corona-González, R. I., Alatríste-Mondragón, F., y Méndez-Acosta, H. O. (2015). Methane production from acid hydrolysates of Agave tequilana bagasse: evaluation of hydrolysis conditions and methane yield. *Bioresource technology*, 181, 191-199.
- Ballesteros, I., Negro, M. J., Oliva, J. M., Cabañas, A., Manzanares, P., & Ballesteros, M. (2006). Ethanol production from steam-explosion pretreated wheat straw. In *Twenty-seventh symposium on biotechnology for fuels and chemicals* (pp. 496-508). Humana Press.
- Baird, H. R., y Kramer, C. Y. (1960). Analysis of variance of a balanced incomplete block design with missing observations. *Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)*, 9(3), 189-198.
- Barakat, A., Monlau, F., Steyer, J. P., y Carrere, H. (2012). Effect of lignin-derived and furan compounds found in lignocellulosic hydrolysates on biomethane production. *Bioresource technology*, 104, 90-99.
- Becerra Pérez, L. A. (2009). La industria del etanol en México. *Economía Unam*, 6(16), 82-98.
- Bengtsson, S., Hallquist, J., Werker, A. y Welander, T., (2008). Acidogenic fermentation of industrial wastewaters: effects of chemostat retention time and pH on volatile fatty acids production. *Biochemical Eng. Journal* 40 (3), 492–499.
- Borowski, S., y Weatherley, L. (2013). Co-digestion of solid poultry manure with municipal sewage sludge. *Bioresource technology*, 142, 345-352.
- Botero Botero, R., y Preston, T. R. (1987). *Biodigestores de bajo costo para la producción de combustible y fertilizante a partir de excretas: manual para su instalación, operación y utilización* (No. 665.776/B748).
- Buitrón, G., Kumar, G., Martínez-Arce, A., y Moreno, G. (2014). Hydrogen and methane production via a two-stage processes (H₂-SBR + CH₄-UASB) using tequila vinasses. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(33), 19249–19255.
- Buitrón, G., y Carvajal, C. (2010). Biohydrogen production from Tequila vinasses in an anaerobic sequencing batch reactor: Effect of initial substrate concentration, temperature and hydraulic retention time. *Bioresource Technology*, 101, 9071–9077.

Caballero-Barragán, H., Osuna-Ibarra, L., Sanchez, A., y Loukianov, A. G. (2018). Semi-empirical modelling of the mass flow in a pilot-scale tubular reactor and tracking control. *Journal of Process Control*, 69, 79-85.

Camacho, R., Villada, H. S., y Hoyos, J. L. (2017). Evaluación del Estiércol de Vaca como Inóculo en la Digestión Anaerobia Termófila de Residuos Sólidos Urbanos. *Información tecnológica*, 28(3), 29-36.

Carrasco, M., y Guevara, E. (2001). Efectos ambientales del uso del Metil Terc Butil Eter (MTBE) como oxigenante en la formulación de gasolinas. *Revista INGENIERÍA UC*, 8(1).

Castells, X. E., Canales, M., y Herrero, M. (2012). *Aprovechamiento de residuos agrícolas y forestales: Reciclaje de residuos industriales*. Ediciones Díaz de Santos.

CEMIE-BIO. (2019). Centro Mexicano de Invocación en Bioenergía. Retrieved from <https://cemiebioalcoholes.org/proyecto/>

Chen, X., Yuan, H., Zou, D., Liu, Y., Zhu, B., Chufo, A., y Li, X. (2015). Improving biomethane yield by controlling fermentation type of acidogenic phase in two-phase anaerobic co-digestion of food waste and rice straw. *Chemical Engineering Journal*, 273, 254-260.

Ciani M., Comitini F. y Mannazzu I. (2013). Fermentation, *Encyclopedia of Ecology*. (2) 310-321.

CNIT, Cámara Nacional de la Industria Tequilera, (2008). [tequileros.org](http://www.tequileros.org/stuff/file_boletin/1249672216.pdf). Retrieved from http://www.tequileros.org/stuff/file_boletin/1249672216.pdf

Corona, V. M., y Razo-Flores, E. (2018). Continuous hydrogen and methane production from Agave tequilana bagasse hydrolysate by sequential process to maximize energy recovery efficiency. *Bioresource technology*, 249, 334-341.

Datar, R., Huang, J., Maness, P. C., Mohagheghi, A., Czernik, S. y Chornet, E. (2007). Hydrogen production from the fermentation of corn stover biomass pretreated with a steam-explosion process. *International journal of hydrogen energy*, 32(8), 932-939.

Daud, M. K., Rizvi H., Akram F. M., Ali Sh., Rizwan M., Nafees M. y Jin Z. S. (2018). Review of Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor Technology: Effect of Different Parameters and Developments for Domestic Wastewater Treatment, *Hindawi Journal of Chemistry* Volume 2018, Article ID 1596319, 13 pages

De Vrije T., Bakker R., Budde M., Lai M., Mars A. y Claassen P. (2009). Efficient hydrogen production from the lignocellulosic energy crop *Miscanthus* by the extreme thermophilic bacteria *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* and *Thermotoga neapolitana*. *Biotechnol Biofuels* 12(2) 1754-6834.

De Wit, J., Van Keulen, H., Van Der Meer, H. G., & Nell, A. J. (1997). Animal manure: asset or liability?. *World Animal Review*, 88(1), 30-37.

Demetrio, S., Jiménez, P., Alfredo, L., Ma, A., Alberto, R., García, Q. y Sandoval, E. (2017). Producción de bioetanol en México: implicaciones socio-económicas. *Revista Internacional Administracion y Finanzas*, 10(1), 13-24.

Demirel, B., y Yenigün, O. (2002). Two-phase anaerobic digestion processes: a review. *Journal of Chemical Technolgy & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 77(7), 743-755.

Dinsdale, R. M., Premier, G. C., Hawkes, F. R., y Hawkes, D. L. (2000). Two-stage anaerobic co-digestion of waste activated sludge and fruit/vegetable waste using inclined tubular digesters. *Bioresource technology*, 72(2), 159-168.

Domínguez-Fernández, R.N.; Arzate-Vázquez, I.; Chanona-Pérez, J. J.; Welti-Chanes, J. S.; Alvarado-González, J. S.; Calderón-Domínguez, G.; Garibay-Febles, V. y Gutiérrez-López, G. F. (2012). El gel de Aloe vera: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 11(1) 23-43.

Doran, P. M. (1995). *Bioprocess engineering principles*. Elsevier science y Technology Books (Vol. 9).

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.

Erazo-Erazo, R., Cardenas-Ruiz y Woolcott, H. (2004). Integración de los sistemas de fermentación de residuos sólidos orgánicos. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 2(7), 31–34.

FAO, MINENERGIA, PNUD, y GEF. (2011). *Manual del Biogás*. Proyecto CHI/00/G32. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>

Fernández, A. P., y Venegas, J. A. V. (2017). Producción de bioetanol en México: implicaciones socio-económicas. *Revista Internacional Administracion y Finanzas*, 10(1), 13-24.

Fernandez, R. A., Viviescas, P., Sandoval, M., y Nabarlantz, D. (2018). Autohydrolysis of Sugarcane Bagasse and Empty Fruit Bunch from Oil Palm: Kinetics Model and Analysis of Xylo-Oligosaccharides Yield. *Chemical Engineering Transactions*, 65, 307-312.

Fernández-Rodríguez, J., Pérez, M., y Romero, L. I. (2013). Comparison of mesophilic and thermophilic dry anaerobic digestion of OFMSW: kinetic analysis. *Chemical engineering journal*, 232, 59-64.

Ferreira, L. C., Donoso-Bravo, A., Nilsen, P. J., Fdz-Polanco, F., y Pérez-Elvira, S. I. (2013). Influence of thermal pretreatment on the biochemical methane potential of wheat straw. *Bioresource technology*, 143, 251-257.

Ferry, J. G. (2011). Fundamentals of methanogenic pathways that are key to the biomethanation of complex biomass. *Current opinion in biotechnology*, 22(3), 351-357.

García, Y. G., Y Reynoso, O. G. (2005). Potencial del bagazo de agave tequilero para la producción de biopolímeros y carbohidrasas por bacterias celulolíticas y para la obtención de compuestos fenólicos. *e-Gnosis*, 3.

Garcia-Aguirre, J., Aymerich, E., Goñi, J. G. De, y Esteban-Gutiérrez, M. (2017). Selective VFA production potential from organic waste streams: Assessing temperature and pH influence. *Bioresource Technology*, 244, 1081–1088.

García-García, L., Bordallo-López, E., Dopico-Ramírez, D., y Cordero-Fernández, D. (2013). Obtención de celulosa microcristalina a partir del bagazo de la caña de azúcar. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 47(1).

Gebreyessus G. D. y Jenicek P. (2016). Thermophilic versus Mesophilic Anaerobic Digestion of Sewage Sludge: A Comparative Review. *Bioengineering*. 3-15.

Ghosh, S., Ombregt, J. P., y Pipyn, P. (1985). Methane production from industrial wastes by two-phase anaerobic digestion. *Water research*, 19(9), 1083-1088.

Guarino G., Carotenuto C., di Cristofaro F., Papa E., Morrone B. y Minale M. (2016). Does the C/N ratio really affect the biomethane yield. *Chemical Engineering transactions*. 49:463-468.

Guerrero, J., Consuelo, I., Peláez Jaramillo, C. A., y Molina Perez, F. J. (2016). Evaluación de la co-digestión anaerobia de lodos de aguas residuales municipales con residuos de alimentos. *Revista Ion*, 29(1), 63-70.

Gujer, W., y Zehnder, A. J. (1983). Conversion processes in anaerobic digestion. *Water science and technology*, 15(8-9), 127-167.

Halalsheh, M., Sawajneh, Z., Zu'bi, M., Zeeman, G., Lier, J., Fayyad, M., Y Lettinga, G. (2005). Treatment of strong domestic sewage in a 96 m³ UASB reactor operated at ambient temperatures: two-stage versus single-stage reactor. *Bioresource Technology*, 96(5), 577-585.

Han, W., Yan, Y., Shi, Y., Gu, J., Tang, J., y Zhao, H. (2016). Biohydrogen production from enzymatic hydrolysis of food waste in batch and continuous systems. *Scientific reports*, 6, 38395.

He, M., Sun, Y., Zou, D., Yuan, H., Zhu, B., Li, X. y Pang, Y., 2012. Influence of temperature on hydrolysis acidification of food waste. *Procedia Environment Scientific* 16, 85–94.

Hernández C., Escamilla-Alvarado C., Sánchez A., Alarcón E., Ziarelli F., Musule R. y Valdez-Vazquez I. (2019) Wheat straw, corn stover, sugarcane and agave biomasses: chemical properties, availability, and cellulosic-bioethanol production potential in Mexico. *Biofuels, bioproducts and biorefining*. 1-17.

Hernández-Ramírez M. D. (2019). Tratamiento de aguas residuales provenientes de un proceso de biorrefinería. Universidad Nacional Autónoma de México. Juriquilla Querétaro.

Hincapié, G., Soto, A., y López, A. (2016), Pre-tratamiento ácido y básico de bagazo de caña y de compuestos modelo para la producción de bioaceite vía licuefacción hidrotérmica. *Energética, Colombia*, 47, 23-30.

Horiuchi J., Shimizu T., Kanno T. y Kobayashi M. (1999). Dynamic behaviour in response to pH shift during anaerobic acidogenesis with a chemostat culture. *Biothenology Techniques* 13:155-157.

Hsu, T., Ladisch, R., y Tsao, G. (1980). Alcohol from cellulose. *Chem. Intermed*, 1203(3), 3.

Huang, C., Zhao, C., Guo, H. J., Wang, C., Luo, M. T., Xiong, L. y Chen, X. D. (2017a). Fast Startup of Semi-Pilot-Scale Anaerobic Digestion of Food Waste Acid Hydrolysate for Biogas Production. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(51), 11237-11242.

Huang, C., Guo, H. J., Wang, C., Xiong, L., Luo, M. T., Chen, X. F., y Chen, X. D. (2017b). Efficient continuous biogas production using lignocellulosic hydrolysates as substrate: A semi-pilot scale long-term study. *Energy conversion and management*, 151, 53-62.

Huang, X., Yun, S., Zhu, J., Du, T., Zhang C., y Li, X. (2016), Mesophilic anaerobic co-digestion of aloe peel waste with dairy manure in the batch digester: Focusing on mixing ratios and digestate stability. *Bioresource Technology*. 218:62-68.

IEA, 2009. IEA Bioenergy Annual Report 2009. Available at: www.ieabioenergy.com/DocSet.aspx?id=6506&ret=lib (accessed 6 October 2013).

INEGI. (2010). Economía. Retrieved January 2, 2019, from <http://cuentame.inegi.org.mx/economia/primarias/agri/default.aspx?tema=E>

- Jaramillo, I., y Sanchez, A. (2018). Mass Flow Dynamic Modeling and Residence Time Control of a Continuous Tubular Reactor for Biomass Pretreatment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(7), 8570-8577.
- Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., Wang, Q., Gong, C., y Li, M. (2013). Volatile fatty acids production from food waste: effects of pH, temperature, and organic loading rate. *Bioresource technology*, 143, 525-530.
- Jorgensen, S. E., y Fath, B. D. (2014). *Encyclopedia of ecology*. Newnes. Fermentation 1548-1557.
- Kamm, B., & Kamm, M. (2004). Principles of biorefineries. *Applied microbiology and biotechnology*, 64(2), 137-145.
- Kaparaju, P., Serrano, M., Thomsen, A. B., Kongjan, P., y Angelidaki, I. (2009). Bioethanol, biohydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept. *Bioresource technology*, 100(9), 2562-2568.
- Khongkliang, P., Kongjan, P., y Sompong, O. (2015). Hydrogen and methane production from starch processing wastewater by thermophilic two-stage anaerobic digestion. *energy Procedia*, 79, 827-832.
- Kongjan, P., O-Thong, S., Kotay, M., Min, B., y Angelidaki, I. (2010a). Biohydrogen production from wheat straw hydrolysate by dark fermentation using extreme thermophilic mixed culture. *Biotechnology and bioengineering*, 105(5), 899-908.
- Kongjan P., Sompong O-Thong S. y Angelidaki I. (2010b), Performance and microbial community analysis of two-stage process with extreme thermophilic hydrogen and thermophilic methane production from hydrolysate in UASB reactors. *Bioresource Technology* 102, 4028–4035.
- Kotsopoulos, T. A., Zeng, R. J., y Angelidaki, I. (2006). Biohydrogen production in granular up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors with mixed cultures under hyper-thermophilic temperature (70° C). *Biotechnology and Bioengineering*, 94(2), 296-302.
- Koupaie, E. H., Azizi, A., Lakeh, A. B., Hafez, H., y Elbeshbishy, E. (2019). Comparison of liquid and dewatered digestate as inoculum for anaerobic digestion of organic solid wastes. *Waste Management*, 87, 228-236.
- Labatut, R. A., Angenent, L. T., y Scott, N. R. (2011). Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. *Bioresource technology*, 102(3), 2255-2264.
- Labib, F., Ferguson, J. F., Benjamin, M. M., Merigh, M., y Ricker, N. L. (1992). Anaerobic butyrate degradation in a fluidized-bed reactor: effects of increased concentrations of hydrogen and acetate. *Environmental science & technology*, 26(2), 369-376.
- Lim, S. J., Kim, B. J., Jeong, C. M., Ahn, Y. H., y Chang, H. N. (2008). Anaerobic organic acid production of food waste in once-a-day feeding and drawing-off bioreactor. *Bioresource Technology*, 99(16), 7866-7874.
- Lin, H. Y., y Ouyang, C. F. (1993). Upflow anaerobic sludge digestion in a phase separation system. *Water Science and Technology*, 28(7), 133-138.
- Menardo, S., Airoidi, G., Cacciatore, V., y Balsari, P. (2015). Potential biogas and methane yield of maize stover fractions and evaluation of some possible stover harvest chains. *Biosystems engineering*, 129, 352-359.

- Mulat, D. G., Huerta, S. G., Kalyani, D., y Horn, S. J. (2018). Enhancing methane production from lignocellulosic biomass by combined steam-explosion pretreatment and bioaugmentation with cellulolytic bacterium *Caldicellulosiruptor bescii*. *Biotechnology for biofuels*, 11(1), 19.
- Neshat, S. A., Mohammadi, M., Najafpour, G. D., y Lahijani, P. (2017). Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 308-322.
- Oh, Y. K., Park, C. H., y Han, G. B. (2017). Enhancement of anaerobic co-digestion in acidogenic (ACIDO-DR) and methanogenic (METHA-DR) digester system. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 72, 149-156.
- Pattra, S., Sangyoka, S., Boonmee, M., y Reungsang, A. (2008). Bio-hydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse hydrolysate by *Clostridium butyricum*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(19), 5256-5265.
- Phillips, S. D. (2007). Technoeconomic analysis of a lignocellulosic biomass indirect gasification process to make ethanol via mixed alcohols synthesis. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 46(26), 8887-8897.
- Pinos-Rodríguez, J. M., García-López, J. C., Peña-Avelino, L. Y., Rendón-Huerta, J. A., González-González, C., y Tristán-Patiño, F. (2012). Impactos y regulaciones ambientales del estiércol generado por los sistemas ganaderos de algunos países de América. *Agrociencia*, 46(4), 359-370.
- Pogribna, M., Freeman, J. P., Paine, D., y Boudreau, M. D. (2008). Effect of Aloe vera whole leaf extract on short chain fatty acids production by *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium infantis* and *Eubacterium limosum*. *Letters in applied microbiology*, 46(5), 575-580.
- Rabelo, S. C., Carrere, H., Maciel Filho, R., y Costa, A. C. (2011). Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. *Bioresource technology*, 102(17), 7887-7895.
- Ramos, C., Buitrón, G., Moreno-Andrade, I., & Chamy, R. (2012). Effect of the initial total solids concentration and initial pH on the bio-hydrogen production from cafeteria food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(18), 13288-13295.
- Raposo, F., Fernández-Cegrí, V., De la Rubia, M. A., Borja, R., Béline, F., Cavinato, C., y Ganesh, R. (2011). Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 86(8), 1088-1098.
- Rodríguez, F., Sanchez, A., y Parra, C. (2017). Role of steam explosion on enzymatic digestibility, xylan extraction, and lignin release of lignocellulosic biomass. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(6), 5234-5240.
- Saady, N. M. C. (2013). Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation: unresolved challenge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(30), 13172-13191.
- Salem, A. H., Mietzel, T., Brunstermann, R., & Widmann, R. (2018). Two-stage anaerobic fermentation process for bio-hydrogen and bio-methane production from pre-treated organic wastes. *Bioresource technology*, 265, 399-406.
- Sanchez, A., Sevilla-Güitrón, V., Magaña, G., & Gutierrez, L. (2013). Parametric analysis of total costs and energy efficiency of 2G enzymatic ethanol production. *Fuel*, 113, 165-179.

- Sarabia Méndez, M. A., Laines Canepa, J. R., Olivier, S., Aurelio, J., y Escalante Espinosa, E. (2017). Producción de biogás mediante co-digestión anaerobia de excretas de borrego y rumen adicionadas con lodos procedentes de una planta de aguas residuales. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 33(1), 109-116.
- SENER. (2018). Boletín Energías limpias, dirección general de energías limpias. Subsecretaría de Planeación y Transición Energética.
- Shi, E., Li, J., Leu, S. Y., y Antwi, P. (2016). Modeling the dynamic volatile fatty acids profiles with pH and hydraulic retention time in an anaerobic baffled reactor during the startup period. *Bioresour. Technol.*, 222, 49-58.
- Speece, R. E. 1996. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatments. *Archae Press Environmental science & technology*, 17(9), 416A-427A.,
- Stamatelatou, K., Antonopoulou, G., y Michailides, P. (2014). Biomethane and biohydrogen production via anaerobic digestion/fermentation. In *Advances in Biorefineries* (pp. 476-524). Woodhead Publishing.
- Uemura, S., y Harada, H. (2000). Treatment of sewage by a UASB reactor under moderate to low temperature conditions. *Bioresour. Technol.*, 72(3), 275-282.
- Valdez-Vazquez, I., y Sanchez, A. (2018). Proposal for biorefineries based on mixed cultures for lignocellulosic biofuel production: a techno-economic analysis. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 12(1), 56-67.
- Vinas, M., Martínez, J., y Baselli, B. (1993). Advantages of an anaerobic reactor for TMP wastewater with separated acidogenic and methanogenic stages. *Environmental technology*, 14(10), 995-1000.
- Vindis, P., Mursec, B., Janzekovic, M., y Cus, F. (2009). The impact of mesophilic and thermophilic anaerobic digestion on biogas production. *Journal of achievements in materials and manufacturing Engineering*, 36(2), 192-198.
- Wang, K., Yin, J., Shen, D. y Li, N. (2014a). Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids (VFAs) production with different types of inoculum: effect of pH. *Bioresour. Technol.* 161, 395-401.
- Wang, L. Littlewood, J.; Murphy, R. J. (2013). Environmental sustainability of bioethanol production from wheat straw in the UK. *Renewable Sustainable Energy Rev.* 28:715-72
- Wang, X., Lu, X., Li, F., y Yang, G. (2014b). Effects of temperature and Carbon-Nitrogen (C/N) ratio on the performance of anaerobic co-digestion of dairy manure, chicken manure and rice straw: Focusing on ammonia inhibition. *PLoS ONE*, 9(5), 1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097265>
- Wang, Y., Li, G., Chi, M., Sun, Y., Zhang, J., Jiang, X. y Cui Z., (2018). Effects of co-digestion of cucumber residues to corn stover and pig manure ratio on methane production in solid state anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 250 328-336.
- Willey, J. M., Sherwood, L., y Woolverton, C. J. (2008). *Prescott, Harley, and Klein's microbiology*. McGraw-Hill Higher Education.
- Yeoh BG, (1997) Two-phase anaerobic treatment of cane-molasses alcohol stillage. *Wat Sci Tech* 36:441-448.

Yin, Y., Zhang, Y., Karakashev, D. B., Wang, J. y Angelidaki I. (2017). Biological caproate production by *Clostridium kluyveri* from ethanol and acetate as carbon sources. *Bioresource Technology*. 241, 638-644.

Zhang, B., Zhang, L. L., Zhang, S. C., Shi, H. Z. y Cai, W.M., (2005). The influence of pH hydrolysis and acidogenesis of kitchen wastes in two-phase anaerobic digestion. *Environ. Technol.* 26 (3), 329–339.

Zhang, N., Penga, H., Lia, Y., Yanga, W., Zoua, Y., y Duan, H. (2018)., Ammonia determines transcriptional profile of microorganisms in anaerobic digestion. *Brazilian Journal of Microbiology*.

Zhang, S., Liu, M., Chen, Y., y Pan, Y. T., (2017). Achieving ethanol-type fermentation for hydrogen production in a granular sludge system by aeration. *Bioresourse Technology*. 224, 349–357.

Zhou, M., Yan, B., Wong, J. W., y Zhang, Y. (2018). Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: a mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. *Bioresource technology*, 248, 68-78.

Productos académicos generados

Participación en diversos congresos:

Hernández-Juárez A., Hernández-Ramírez M. D., Corre-González J. C., Buitrón G., y Sánchez A., (Agosto 2018). Producción de metano a partir de residuos de la industria del bioetanol. 1^{er} simposio: Tendencias de la bioenergía en México. Simposio llevado a cabo en Zapopan Jalisco.

Buitrón G., Hernández-Juárez A., Hernández-Ramírez M. D., y Correa-Gonzalález J. C. (Octubre 2018). Short-chain and medium-chain fatty acids production using wine wastewater. 4th Iberoamerican congress on biorerinerries. Congreso llevado a cabo en Jaén España.

Hernández-Juárez A., Hernández-Ramírez, M., D., Correa-González J. C., García-Tellez Y., Buitrón G., y Sánchez A. (Octubre 2018). Production of biomethane from lignocelulosic waste of bioethanol industry. 4th Iberoamerican congress on biorerinerries, Congreso llevado a cabo en Jaén, España.

Hernández-Juárez A., Buitrón M., Cuervo F. M. y Sánchez A. (Noviembre 2018), Production of volatile fatty acids from lignocellulosic waste of biorrefinerries. 1st Latin American Young Water Professionals conference. Congreso llevado a cabo en Santiago de Querétaro, Querétaro.

Buitrón G., Hernández-Juárez A., Hernández-Ramírez M. y Sánchez A. (2019). Biochemical methane potential from lignocellulosic wastes hydrothermally pretreated. *Industrial Crops & Products* 139, 111555.