



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE ENERGÍAS RENOVABLES

INSTITUTO DE INGENIERÍA

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES-JURIQUILLA

Codigestión de tilapia entera y lirio acuático de los canales de Xochimilco con hoja de maíz para la producción de biogás

TESIS

Que para obtener el título de
Ingeniera en Energías Renovables

P R E S E N T A

Natalia Correa Solis

TUTORA DE TESIS

Dra. Adriana Margarita Longoria Hernández

Temixco, Mor., a 22 de abril de 2024





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.

OF/IER/LIER/029/2024
ASUNTO: Notificación de jurado y
fecha para examen profesional.

LIC. IVONNE RAMÍREZ WENCE
DIRECTORA GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
Presente

Por medio de la presente le informo que el día lunes 22 de abril de 2024, a las 14:00 h, en el Instituto de Energías Renovables, la **C. NATALIA CORREA SOLIS**, con número de cuenta 313172715 de la Licenciatura de Ingeniería en Energías Renovables, llevará a cabo la presentación de su trabajo de titulación y examen profesional titulado:

“Codigestión de tilapia entera y lirio acuático de los canales de Xochimilco con hoja de maíz para la producción de biogás”

Debido a que la alumna ha cumplido con los requisitos que establece el Reglamento General de Exámenes, el Comité Académico de la Licenciatura de Ingeniería en Energías Renovables, le asigna el Jurado de Examen Profesional integrado por los siguientes académicos.

PRESIDENTE: DR. JORGE ALEJANDRO WONG LOYA
VOCAL: DRA. ESTEFANÍA SIERRA IBARRA
SECRETARIA: DRA. ADRIANA MARGARITA LONGORIA HERNÁNDEZ
SUPLENTE: DRA. ANABEL LÓPEZ ORTIZ
SUPLENTE: DRA. ALINA JUANTORENA UGÁS

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

Atentamente,
“Por mi raza hablará el espíritu”
Temixco, Mor., a 4 de abril de 2024



Dr. Jorge Alejandro Wong Loya
Coordinador de la LIER
IER-UNAM

JAWL´mfp.



“El cambio puede ser difícil, pero es a través de él que crecemos. Darse cuenta de que no puedes mantener algo por siempre puede ser lo más difícil. A veces, tienes que dejarlo ir; pero, de las cosas que dejas ir, te puede sorprender aquello que hace su camino de regreso a ti”.
-Matt Braly

A mamá Juanita y a mis gatos, que siempre me llenaron de amor y esperanza, especialmente a Camila que me acompañó en años muy duros y ahora me acompaña en memoria.

Reconocimientos

Han sido años por poco decir difíciles y extraños, pero si algo nos ha demostrado la situación es que no estamos solos. Les agradezco a todas las increíbles personas que he conocido a lo largo de mi carrera, formación estudiantil y espacios de trabajo, a mis amigos quienes no dejaron de creer en mí, me ayudaron a encontrar mi fuerza, me inspiraron a seguir y me apoyaron durante todo este proceso. Gracias realmente por su amistad, por escucharme y acompañarme, realmente les adoro.

Un especial reconocimiento y agradecimiento a la Dra. Adriana Longoria, ya que con su entusiasmo para compartir el conocimiento siempre me inspiraba y apoyaba a salir adelante. Gracias por la paciencia y el apoyo para poder realizar esta experimentación, más que nada creyendo en mí, se lo agradezco mucho.

A la Dra. Laura Vargas, que me enseñó muchísimo acerca de cómo preparar prácticamente una digestión anaerobia. Gracias por toda tu paciencia y tiempo Lau, realmente eres increíble.

También quisiera reconocer a la UNAM por la oportunidad de conocer a personas increíbles dentro de la investigación y permitirme ampliar mi visión acerca de la manera tanto de compartir conocimiento así como de poder ver de primera mano cómo se realiza la investigación en otros países.

Declaración de autenticidad

Por la presente declaro que, salvo cuando se haga referencia específica al trabajo de otras personas, el contenido de esta tesis es original y no se ha presentado total o parcialmente para su consideración para cualquier otro título o grado en esta o cualquier otra Universidad. Esta tesis es resultado de mi propio trabajo y no incluye nada que sea el resultado de algún trabajo realizado en colaboración, salvo que se indique específicamente en el texto.

Natalia Correa Solis. Temixco, Morelos, 20 de marzo de 2024

Resumen

La digestión anaerobia permite la utilización de biomasa considerada como desecho en una fuente para la generación de biogás. A lo largo de este trabajo se probaron 9 distintas cargas orgánicas en codigestión, elegidas a través de una caracterización de Sólidos Volátiles, dentro de los biodigestores cerrados y a una temperatura constante de 35 °C durante 60 días con el fin de conocer el impacto que la tilapia, el lirio acuático y la hoja de maíz pueden tener en la producción de biogás, dichas biomasas fueron seleccionadas debido al impacto que tienen en los canales de Xochimilco.

Se realizaron análisis a las biomasas a través de mediciones de Sólidos Totales, Sólidos Volátiles, mediciones de pH, fósforo y amonio a través de la colorimetría de Solorzano, además de llevarse a cabo pruebas de barrido de electrones y contenido de grasas y azúcares. La producción de biogás en los digestores fue medida a través de la diferencia de presión con el medio ambiente para así conocer el gas acumulado en su interior. Finalmente se caracterizaron los biodigestores en condiciones iniciales y finales para poder observar los cambios obtenidos y determinar aquel biodigestor con la materia orgánica que muestre mejor desempeño en la producción de biogás.

Índice general

Resumen	VII
Índice de figuras	XIII
Índice de tablas	XV
1. Introducción	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Hipótesis	2
1.3. Objetivo	2
1.3.1. General	2
1.3.2. Particulares	2
2. Fundamentos Teóricos	5
2.1. Bioenergía, biomasa y sus clasificaciones	5
2.1.1. Interés en la producción de biogás a través de residuos agrícolas	6
2.1.2. Potencial de la biomasa lignocelulósica	8
2.1.3. Potencial de uso del pescado como biomasa para una codigestión rica en proteínas	11
2.2. Digestión anaerobia	11
2.2.1. Etapas de la digestión anaerobia	13
2.3. Principios de funcionamiento de un biodigestor, parámetros de influencia en la producción de biogás.	15
2.3.1. Efecto de la temperatura sobre la digestión anaerobia de biomasa	17
2.3.2. Procesos de codigestión	18
2.3.3. Relación Carbono-Nitrógeno para la codigestión de biomasa . . .	19
2.3.4. Efecto de los carbohidratos, lípidos y proteínas en la fermentación anaerobia para la producción de biogás	20
2.3.5. Niveles de pH óptimos para la producción de biogás	20
2.4. Técnicas de preparación y caracterización para la digestión anaerobia .	22
2.4.1. Demanda química de oxígeno (DQO)	23
2.4.2. Cantidad de sólidos volátiles (SV) y sólidos totales (ST)	23
2.4.3. Potencial bioquímico de metano (PBM)	24

ÍNDICE GENERAL

2.4.4.	Mediciones de fósforo y amonio	25
2.4.5.	Procesos de medición de producción de biogás	26
2.4.6.	Diferencias entre la digestión anaerobia y la putrefacción.	28
3.	Desarrollo Histórico	29
3.1.	Aplicación de biomasa rica en proteínas y de biomasa lignocelulósicas	29
3.1.1.	Uso de desechos de enlatados de pescado como biomasa en la producción de biogás	29
3.1.2.	Uso del rastrojo de maíz como biomasa	30
3.1.3.	Estado actual del lirio acuático en Xochimilco	32
3.1.4.	Tilapias, un riesgo inminente en Xochimilco	33
3.1.5.	Implementación del jacinto acuático en la biodigestión anaerobia	33
4.	Situación en México de la producción de biogás	35
5.	Metodología	38
5.1.	Selección de las biomasa	38
5.2.	Obtención de la biomasa	40
5.3.	Caracterización de la biomasa	41
5.3.1.	Preparación de la biomasa animal	41
5.3.2.	Preparación de la biomasa vegetal	43
5.3.3.	Sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV)	44
5.4.	Pretratamiento: hidrólisis termoquímica	46
5.4.1.	Preparación del ácido	47
5.4.2.	Proceso termoquímico	49
5.4.3.	Neutralización del pH del hidrolizado	50
5.5.	Preparación de los biodigestores	52
5.5.1.	Armado de los biodigestores	54
5.6.	Caracterización de los biodigestores	55
5.6.1.	Mediciones de fósforo	56
5.6.2.	Mediciones de demanda química de oxígeno	59
5.6.3.	Mediciones de Amonio	62
5.6.4.	Medición de producción de gas en los biodigestores a través de la diferencia de presión	64
5.6.5.	Cálculo para conocer la producción de biogás	67
5.6.6.	Caracterización de los biodigestores resultantes	68
6.	Resultados y Discusión	70
6.1.	Contenido de biomasa colocada en cada biodigestor	71
6.2.	Resultados de ST y SV de los biodigestores	72
6.3.	Cambios de fósforo, amonio y DQO en los biodigestores. Comparaciones entre inicio y final del experimento.	76
6.3.1.	Fósforo	76
6.3.2.	Amonio	77

6.3.3. DQO	79
6.4. Rendimiento y producción de biogás en los biodigestores	80
7. Conclusiones	86
8. Recomendaciones y proyección a futuro	88
A. Apéndice: Anexos	89
A.1. Pruebas extras en las biomásas	89
A.1.1. Obtención de grasas en la tilapia	89
A.1.2. Búsqueda de metales pesados presentes en el lirio acuático y tilapia de Xochimilco.	93
A.2. Preparación del hidrolizado de las biomásas de origen vegetal	97
A.3. Gráficas de las concentraciones en el espectrofotómetro para las mediciones de amonio y fósforo.	98
A.4. Tabla de mediciones del experimento.	100
Bibliografía	104

Índice de figuras

2.1. Estructura de los tres componentes principales de la biomasa.	9
2.2. Proceso de la digestión anaerobia.	12
2.3. Esquema de reacciones de la digestión anaeróbica de materiales poliméricos.	15
2.4. Diagrama de un biodigestor de domo fijo, o también llamado, tipo chino.	16
2.5. Dependencia de la actividad metanogénica con respecto al pH.	21
2.6. Diagrama de funcionamiento del espectrofotómetro.	26
2.7. Diagrama de medición de biogás por desplazamiento de líquido.	27
3.1. Estructura del rastrojo de maíz.	31
5.1. Fotografía tomada en los canales de Xochimilco.	39
5.2. Captura de las coordenadas de los puntos de toma de la biomasa de lirio acuático y tilapia a través de la vista satelital de Google Maps.	41
5.3. Bolsa de tilapia licuada.	42
5.4. Proceso de licuado del lirio.	43
5.5. Hoja de maíz cortada y molida.	44
5.6. Crisoles en el horno a 105 °C.	45
5.7. Fotografía de la autoclave del laboratorio de Bioenergía.	50
5.8. Fotografía de los frascos de lirio acuático hidrolizado antes de neutralizar el pH.	51
5.9. Fotografía del lirio acuático hidrolizado tras neutralizar su pH a 6-7 con perlas de hidróxido de potasio.	51
5.10. Fotografías de la colocación de los biodigestores en el horno	55
5.11. Matraces para la prueba de fósforo dentro de la autoclave.	57
5.12. Muestras para la medición de fósforo listas para ser medidas en el espectrofotómetro.	58
5.13. Fotografía de los tubos de ensayo preparados para pruebas de DQO.	59
5.14. Fotografía del digestor de tubos para pruebas de DQO.	60
5.15. Tubos de ensayo de DQO enfriándose en una gradilla metálica.	61
5.16. Tubo de DQO listo para la medición.	61
5.17. Toma de medición de los tubos de DQO en el colorímetro portátil.	62

ÍNDICE DE FIGURAS

5.18. Preparación de las muestras de amonio, fotografía tras los 90 minutos de reposo con los reactivos.	63
5.19. Fotografía de las muestras listas para la medición de amonio.	64
5.20. Manómetro digital.	65
5.21. Introducción de la punta de la jeringa de 0.06 mm en la salida del manómetro designada para medir la presión del biodigestor.	65
5.22. Esquema para la toma de producción de gas.	67
6.1. Gráfica porcentual del nivel de degradación de la biomasa de cada biodigestor.	75
6.2. Gráfica del cambio de concentración de amonio en los biodigestores entre la fase inicial y fase final.	78
6.3. Gráfica comparativa del porcentaje de la disminución de la concentración de DQO medida en los biodigestores durante la fase inicial y la fase final.	80
6.4. Mediciones de diferencia de presión promedio de los biodigestores a lo largo del experimento.	81
6.5. Volumen normalizado de biogás promedio obtenido cada día de medición.	82
6.6. Volumen normalizado de biogás promedio obtenido cada día de medición, sin biodigestor H.	82
6.7. Volumen de biogás acumulado promedio a lo largo del experimento en cada biodigestor.	83
A.1. Montura del equipo para la obtención de grasas en la tilapia.	90
A.2. Proceso de obtención de grasas en la tilapia a través del método de Soxleth.	91
A.3. Grasa junto con disolvente tras el proceso de obtención de grasas.	92
A.4. Grasa final tras el procedimiento de extracción Soxleth.	92
A.5. Muestras introducidas al microscopio de escaneo de electrones.	94
A.6. Vista del escaneo del microscopio de electrones de las muestras.	95
A.7. Gráfica de concentración de amonio en las muestra de la fase inicial con su R^2	98
A.8. Gráfica de concentración de amonio en las muestras significativas de los biodigestores de la fase final con su R^2	98
A.9. Gráfica de concentración de fósforo en las muestra de la fase inicial con su R^2	99
A.10. Gráfica de concentración de fósforo en las muestras significativas de los biodigestores de la fase final con su R^2	99
A.11. Gráfica de concentración de fósforo en las muestras significativas de los biodigestores de la fase final con su R^2 , excluyendo la medición del biodigestor H.	100

Índice de tablas

2.1. Monosacáridos presentes en la hemicelulosa.	10
2.2. Rangos de temperatura y tiempo de fermentación anaeróbica.	18
5.1. Características iniciales de los biodigestores, contenido de biomasa elegido para cada biodigestor.	53
6.1. Sólidos volátiles por gramos de biomasa.	71
6.2. Biomasa colocada en cada biodigestor.	72
6.3. Porcentaje de ST y SV en las condiciones iniciales.	73
6.4. Porcentaje de ST y SV al finalizar el experimento de DA.	74
6.5. Biomasa degradada	74
6.6. Cambio de concentración de fósforo en los biodigestores.	77
6.7. Cambio de concentración de amonio en los biodigestor.	78
6.8. Comparación del DQO medido en los biodigestores durante la fase inicial y la fase final del experimento.	79
6.9. Producción volumétrica (mL) de biogás acumulada promedio en cada mezcla en los biodigestores.	84
A.1. Contenido de grasas en la tilapia de Xochimilco.	93
A.2. Contenidos elementales de las biomاسas.	96
A.3. Relación de contenidos para el proceso de hidrólisis térmica realizado a las biomاسas de origen vegetal.	97
A.4. Preparación de biomasa y agua para hidrolizar las biomاسas lignocelulósicas	97
A.5. Tabla de mediciones de presión en los biodigestores a los largo de los 60 días del experimento.	102
A.5. Tabla de mediciones de presión en los biodigestores a los largo de los 60 días del experimento, continuación.	103

Introducción

1.1. Planteamiento del problema

Con el paso de los años, el crecimiento exponencial de la población y la constante alza en la demanda alimenticia, la cantidad de desperdicios producidos por las diversas ramas de la industria alimentaria ha incrementado constantemente y junto con ella la cantidad de residuos no aptos para el consumo humano que requieren de un trato especial, lo cual ha llevado al desarrollo de nuevos modelos de aplicación para tratar dichos residuos. En el caso de la industria procesadora de productos marinos, todos los residuos no aptos para el consumo humano como efluentes de enlatados, vísceras, huesos, residuos oleaginosos y alcalinos obtenidos en la producción de aceites de pescado, así como residuos de las granjas acuícolas, como los restos digestivos de los organismos, actualmente suponen un grave problema ambiental debido a que la disposición de este tipo de residuos en un relleno sanitario trae consigo consecuencias como: olores desagradables, producción de lactatos con un alto potencial de contaminación hacia el suelo, además de la propia congestión del relleno sanitario (1). El uso tradicional de este tipo de residuos marinos consiste en servir de alimento para los animales de granjas acuícolas, su uso como fuente de biomasa para la producción de biogás es una rama aún joven que siempre depende de la caracterización de la biomasa para su aplicación óptima además de una necesaria codigestión debido al alto contenido de proteínas que este tipo de residuos contienen y que, bien calculada puede optimizar la producción de biogás, sin embargo, en cantidades excesivas desbalancea la relación carbono a nitrógeno causando así que las reacciones de fermentación anaerobia que llevan a la producción de metano se inhiban (2).

El uso de materia de alto contenido en proteínas para la producción de biogás suele ser llevado a través de la codigestión de desperdicios industriales y otra fuente de desperdicios agrícolas con el fin de obtener un balance en los contenidos de carbono y nitrógeno de la biomasa compuesta de manera que el inóculo pueda existir en ese medio y generar biogás. Actualmente, no se encuentran muchos registros acerca de realizar la

1. INTRODUCCIÓN

digestión con organismos enteros que a su vez no sean aptos para el consumo humano, ya que suelen utilizarse desperdicios industriales (3).

1.2. Hipótesis

El volumen de gas producido en la codigestión de tilapia entera, lirio acuático y hoja de maíz puede presentar una mayor producción de biogás que la codigestión puramente entre lirio acuático y hoja de maíz siempre y cuando el alto contenido de proteínas se encuentre equilibrado por las otras dos biomásas en cuanto a la relación carbono-nitrógeno que se añade en las cargas a los biodigestores para que la digestión anaerobia pueda llevarse a cabo. De lo contrario el alto contenido de proteínas y consecuente alto contenido de nitrógeno en los biodigestores pueden llevar a un punto de inhibición de la digestión.

1.3. Objetivo

1.3.1. General

Evaluar el efecto de la codigestión anaerobia de tilapia entera, lirio acuático y hoja de maíz para su uso potencial como productor de biogás a través de la caracterización de los ST y SV de las biomásas iniciales, una selección y preparación de biodigestores con mezclas específicas de las biomásas y evaluación de sus fases iniciales y finales en cuanto a los parámetros de ST, SV, amonio, fósforo, DQO y medición de producción de biogás en cada uno con el fin de encontrar la relación entre estos sustratos con el mejor desempeño en la producción de biogás y caracterizar el digestato resultante.

1.3.2. Particulares

- Caracterizar las tres fuentes de biomasa y determinar las concentraciones con las que serán mezcladas para poder realizar el proceso de digestión anaerobia.
- Obtener los contenidos de ST y SV en las muestras y sus mezclas a través de la obtención de ST y SV con horno y mufla para conocer la materia orgánica a degradar en cada biodigestor.
- Observar cómo la digestión anaerobia afecta los contenidos de ST y SV a través de la comparación del contenido de SV en la fase inicial con el contenido de SV en la fase final para conocer el desempeño en cuanto a la degradación de materia orgánica de cada biodigestor.

- Analizar los cambios en la concentración de fósforo en cada mezcla de los biodigestores tras el proceso de digestión anaerobia a través del método colorimétrico para observar si se encuentran en rangos óptimos.
- Analizar los cambios en la concentración de amonio en cada biodigestor antes y después del proceso de digestión anaerobia a través del método de Solórzano o colorimétrico de Indofenol para observar si se presenta un incremento o una saturación de amonio en los biodigestores.
- Obtener la concentración de DQO en las fases iniciales y finales de los biodigestores a través del método de Reflujo cerrado - Método colorimétrico para conocer la concentración de DQO en g/L y así conocer la materia orgánica disponible a degradar al inicio y al final para conocer cuánta materia se degradó para convertirse en biogás.
- Comparar los resultados de degradación de materia orgánica entre DQO y SV para observar coincidencias o discrepancias.
- Registrar el incremento de presión generada dentro de cada biodigestor a lo largo de toda la digestión anaerobia utilizando un manómetro para conocer cuándo se presentaron picos de producción y cuándo llegaron a su límite.
- Calcular el volumen normalizado de producción de biogás utilizando los valores de presión medida en los biodigestores, la temperatura del horno y la ley de los gases ideales para conocer la producción de biogás de cada biodigestor.
- Obtener el volumen normalizado de producción promedio acumulado de biogás de cada biodigestor al restar la producción por la propia degradación del inóculo para conocer cuál fue la aportación en la producción de biogás de la materia orgánica puesta en cada biodigestor.

Fundamentos Teóricos

2.1. Bioenergía, biomasa y sus clasificaciones

La bioenergía o energía a través del aprovechamiento de biomasa se trata de una energía renovable que utiliza materia orgánica proveniente de residuos de procesos naturales o industriales, generalmente de las sustancias que constituyen los seres vivos o sus restos y residuos, para la obtención de productos energéticos (4) (5). En un contexto energético y pocas palabras, la biomasa se define como materia orgánica que puede ser convertida en un combustible.

Siguiendo la definición del NREL (National Renewable Energy Laboratory), la biomasa se trata de la materia orgánica derivada de organismos vivos o que estuvieron vivos recientemente y que a diferencia de los combustibles fósiles que se forman a partir de la deposición de organismos por millones de años, por lo cual es considerada una fuente de energía renovable (6). La biomasa ha almacenado energía a través de un proceso conocido como fijación biológica de carbono, el cual se trata de un proceso químico en el que se convierten las moléculas de CO_2 en moléculas hidrocarbonadas (fuentes de energía aprovechables) la cual puede ser transferida a los cuerpos de animales a través de la cadena trófica, o aprovechada para generar energía a través de la combustión.

La biomasa como recurso energético se puede clasificar de diversas maneras según su origen, su estado o su composición. Siguiendo la clasificación según su origen, se denotan las siguientes tres categorías (7):

- **Biomasa Natural:** Aquella que se produce en la naturaleza sin intervención humana, véase por ejemplo la madera tirada en un bosque que puede ser utilizada como fuente de energía para una fogata.
- **Biomasa Residual:** Se trata de los residuos generados de la industria agroalimentaria y de la refinación de madera.
- **Cultivos energéticos:** Son aquellos cultivos que son producidos específicamente para la producción de biomasa.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Los cultivos energéticos tienen, a su vez una clasificación a través de generaciones dependiendo de la materia prima de la cual provengan estos biocombustibles (7). La primera generación usa materia prima que bien podría ser alimento para la población, la segunda generación utiliza materias primas sostenibles y la tercera generación se trata de la producción de biocombustibles a partir de microalgas (8) las que a través de la fotosíntesis transforman la energía radiante del sol en energía química (glucosa) a través de la siguiente reacción, presentando además rendimientos muy altos ante pocos recursos:



En el caso de los cultivos energéticos actualmente se encuentra en discusión un debate respecto a su uso, ya que al tratarse de un cultivo que bien podría servir de alimento para consumo humano pero no se encuentra siendo usado para dichos fines, se enfrenta a dilemas éticos (9) como: *“si las personas están sufriendo de hambre en el mundo, ¿por qué se utiliza estos cultivos con fines de producción energética en lugar de alimentaria?”*, o temas como la competencia con otros cultivos por uso de suelo y agua, todo esto además de requerimientos nutricionales complejos para su óptimo crecimiento.

Fue debido a esta discusión que comenzaron a surgir los parámetros que definirían a las biomásas de segunda generación: fuentes de biomasa que no compitieran con el uso de suelo ni con la producción de cultivos para la alimentación. Para poder ser considerada biomasa de segunda generación es necesario cumplir con disponibilidad, bajo impacto en cuanto a generación de gases de efecto invernadero y uso de tierra, asimismo de no amenazar el suministro de alimentos, además de esto no deben necesitar mucha agua o fertilizante y deben de crecer en tierras donde no compitan con cultivos destinados al consumo humano (10).

Existe a su vez cierto prejuicio denigrante hacia la bioenergía ya que hay quienes la catalogan como “fuente de energía de transición” o como una fuente de energía estancada en el pasado, ya que se piensa que la biomasa sólo consta de combustionar madera, sin embargo, su desarrollo y aplicación ha crecido significativamente en los últimos años, además de que la conversión de la biomasa en energía útil imita los procesos naturales, ya que en la naturaleza la biomasa terminaría degradándose tras un periodo de tiempo, lo que hace la bioenergía es liberar esa energía rápidamente, que llevando el proceso adecuadamente puede ser transformada en energía limpia y la producción de diversos combustibles. Además de que se realice una recuperación de energía útil, las tecnologías de bioenergía actuales permiten reducir las cantidades de residuos que requieren una disposición final a la vez que permite gestionar su eliminación de manera segura y controlada (11).

2.1.1. Interés en la producción de biogás a través de residuos agrícolas

La biomasa lignocelulósica, la cual deriva de actividades como silvicultura, agricultura y actividades agroindustriales se ha reconocido actualmente como una fuente con

un gran potencial (11), un bajo precio y que, obtenida de actividades reguladas, se considera una fuente renovable para la producción de energía, ya que puede ser utilizada directamente para la combustión, o a través de diversos tratamientos para obtener de ella combustibles más eficientes como bioetanol o biogás, los cuales pueden ser usados como una alternativa renovable de la gasolina y gas natural respectivamente.

Dentro del sector agrícola la implementación de tecnologías de digestión anaerobia permite obtener beneficios en los ámbitos económicos, ambientales y energéticos, además de que proporciona una gestión mejorada de nutrientes, reduce las emisiones de gases de efecto invernadero, además de ofrecer la captura y posterior uso del biogás (12). Respecto al aspecto ambiental, uno de los beneficios más fuertes que ofrece la integración de la digestión anaerobia se trata del alivio para los rellenos sanitarios, ya que no sólo se reducen significativamente los costos de deposición de residuos, sino que además se protegen las aguas subterráneas reduciendo el riesgo de lixiviación de nitratos (los cuales son filtrados de la biomasa al ser desechada sin ningún tratamiento en los rellenos sanitarios causando así envenenamiento del suelo) (1), elimina el problema de emisión de olores molestos y, por si fuera poco, tiene una generación de subproductos con valor agregado como, por ejemplo, al terminar la fermentación anaerobia, el contenido del biodigestor tras neutralizarse puede ser utilizado como fertilizante.

En la actualidad, el biogás mejorado a metano (CH_4) está siendo utilizado como una fuente energética renovable alternativa a las fuentes fósiles a lo largo del mundo, tanto en sectores industriales como domésticos, contribuyendo así al desarrollo económico sostenido, además de un alivio de carga para los rellenos sanitarios (1). La capacidad mundial de las plantas de biogás publicada por IRENA en su reporte “*Renewable Energy Statistics 2023*”, fue de 21,512 MW en 2022, mientras que la producción mundial fue de 91,688 GWh, ambas cifras mostrando aumento año tras año, teniendo como dato inicial las cifras reportadas en 2013 de una capacidad mundial de 14,173 MW y una producción de 73,646 GWh (13). Sin embargo, esto no siempre fue así, ya que fue hasta la década de los 80’s tras el alza de precios que tuvo el petróleo derivado de los embargos de envíos petrolíferos de los países árabes hacia Europa y América pasada la guerra de Yom Kipur (14), que se comenzó a prestar mayor atención al desarrollo de opciones energéticas renovables alternativas a los combustibles fósiles. En cuanto a la bioenergía, fue en este momento cuando comenzó a ampliarse la producción de biogás a partir de desechos orgánicos como un recurso energético y remediador del medio ambiente.

La bioenergía puede aprovechar los residuos rurales animales y vegetales de actividades rurales y/o industriales para su conversión en distintas formas de energía. En este caso, ya que nos concentraremos en la producción de biogás, podemos decir que a través de la digestión anaerobia ocurren una serie de reacciones bioquímicas y se genera biogás constituido principalmente por metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2), además de trazas de algunos otros elementos y es la fracción en que todos estos se encuentren lo que determina la calidad del biogás obtenido para ser usado como combustible. El biogás ha presentado un crecimiento en impacto como fuente de energía a

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

lo largo del mundo debido a la accesibilidad de materia prima y el gran rango potencial de aplicaciones, que van desde cocción de alimentos, generación eléctrica, iluminación y transporte, además de que los residuos de las plantas de producción de biogás pueden ser utilizados como fertilizante (15).

La generación de metano en la naturaleza suele presentarse mediante bacterias metanogénicas en un proceso de fermentación anaeróbica de carbohidratos solubles, a través de dos vías principales (16): $4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ y $\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$.

En el caso de la digestión anaerobia húmeda, esta puede ser llevada a cabo con uno o varios residuos simultáneamente mientras estos cumplan con que al momento de llevarlos al digester se encuentren en un estado líquido, contengan material fermentable y presenten una concentración y composición estable. Las codigestiones, son una alternativa que puede solucionar problemas o carencias de un residuo si se coloca en cantidades adecuadas para compensar dichas deficiencias (17). Por ejemplo, una materia con alto contenido de nitrógeno debe ser equilibrada con una biomasa rica en carbono y bajo o nulo contenido de nitrógeno para poder llevar a cabo la codigestión anaerobia (2), como es el caso en este trabajo. La relación carbono a nitrógeno es un factor importante para tener en cuenta a la hora de realizar una fermentación, ya que en caso de que los niveles de nitrógeno presentes sean muy altos, se provocará la muerte de las bacterias metanogénicas debido a la alta producción de amonio.

Desde una perspectiva mundial, la biotecnología anaeróbica contribuye a cumplir tres necesidades básicas: a) mejorar las condiciones sanitarias mediante el control de la contaminación; b) generar energías renovables para actividades domésticas; y c) suministrar materiales estabilizados como un biofertilizante para los cultivos. Por lo tanto, la biotecnología juega un importante papel en el control de la contaminación y para la obtención de valiosos recursos: energía y productos con valor agregado.

El reciclaje de materia orgánica ha recibido un fuerte impulso con el alto costo de los fertilizantes químicos, con la búsqueda de alternativas no tradicionales de energía, así como también con la creciente necesidad de vías de descontaminación y eliminación de residuos(15).

2.1.2. Potencial de la biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica está constituida principalmente por tres polímeros: celulosa, hemicelulosa y lignina 2.1, los cuales son los componentes principales de las paredes celulares de las plantas y que proveen de fuerza estructural, mientras que la lignina apoya esta función estructural de fortalecimiento, las hemicelulosas se unen con la pectina a la celulosa para formar una red de fibras reticuladas (18). La composición química de la biomasa lignocelulósica, que puede variar dependiendo de su fuente, suele presentarse con 38-50 % de celulosa, 23-32 % de hemicelulosa y un 15-25 % de lignina (19), además de pequeñas trazas de pectina, compuestos solubles y cenizas. La energía que puede ser recuperada de este tipo de biomasa dependerá de la proporción en que estos polímeros se encuentren en ella. Debido a la homogeneidad en la estructura de

la celulosa, la cantidad de energía recuperada de ella es directamente proporcional a su contenido (17MJ/kg) (20). Sin embargo, para la hemicelulosa, la lignina y demás extractos de composición heterogénea varían de acuerdo con la composición de cada una (21).

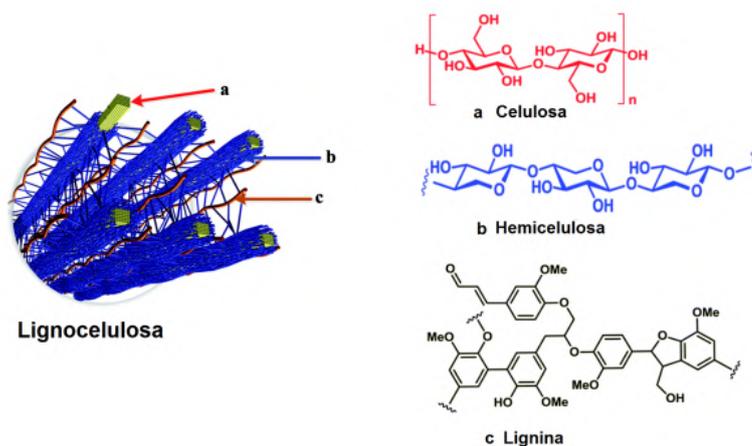


Figura 2.1: Estructura de los tres componentes principales de la biomasa.

Fuente: Emilio Lériida Martínez, Mejora de fermentabilidad de hidrolizados de hoja de olivo (2018).

La formación de la lignina en las plantas tiende a incrementar dependiendo de las condiciones en que estas crezcan, tales como si ésta se desarrolla en ambientes de alto estrés: como una accesibilidad limitada de agua, alta irradiación o carencia de fuentes de nutrientes (22).

Como se mencionó anteriormente, la biomasa lignocelulósica se compone de 3 polímeros, mientras que la celulosa y la hemicelulosa se encuentran compuestas por monosacáridos, la celulosa únicamente por cadenas de β -glucosa y la hemicelulosa por un conjunto heterogéneo de monosacáridos entre los que se encuentran la xilosa, arabinosa, galactosa, entre otros como se puede observar en la tabla 2.1. Cabe resaltar que mientras la celulosa tiene una estructura química similar en la mayoría de plantas superiores, la estructura y composición de la hemicelulosa suele presentar grandes variaciones en las proporciones de los monosacáridos que la componen en función de varios factores tales como la especie vegetal, el estado de madurez de la planta y las condiciones de crecimiento (18).

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Tabla 2.1: Monosacáridos presentes en la hemicelulosa.

Xilosa	
Arabinosa	 D-Arabinose L-Arabinose
Galactosa	
Manosa	
Glucosa	
Ácido Glucorónico	

Mientras, la lignina se encuentra compuesta por varios ácidos y alcoholes fenil-propílicos acoplados de manera aleatoria, en enlaces éter (23). Todos estos polímeros en su conjunto son las cadenas que se buscan romper para obtener monosacáridos que servirán como fuente de nutrientes para las bacterias metanogénicas o bien, transformadas en bioetanol. Al observar la figura 2.1 se pueden ver las estructuras de algunas de las cadenas de monosacáridos presentes en la hemicelulosa, cadenas que se buscan romper para poder sacar todo el provecho de una biomasa lignocelulósica, para lo cuál se suelen realizar procesos de pretratamiento físicos y químicos con el fin de romper dichas estructuras.

2.1.3. Potencial de uso del pescado como biomasa para una codigestión rica en proteínas

Los desechos de pescado representan una fuente de biomasa con gran potencial ya que es rica en proteínas y grasas, que al igual que los carbohidratos, son nutrientes vitales para el desarrollo de bacterias metanogénicas, pero que a su vez debe de manejarse con cuidado debido a que su implementación en cantidades elevadas incrementa el riesgo de inhibir la producción de metano consecuencia de la alta generación de amonio y ácidos grasos de cadena larga y, aunque la mayor parte de los estudios se ha enfocado a la codigestión usando sólo una pequeña porción de biomasa de pescado comparada con la cantidad de biomasa vegetal, se ha encontrado que el contenido de biogás generado por desecho de pescado puede alcanzar y superar el 70 % de lo producido únicamente por la parte vegetal (2). Dicho contenido de metano se atribuye a que la producción de metano a partir de proteínas y grasas es más alto que el generado a partir de carbohidratos, sin embargo la codigestión sigue siendo necesaria ya que ayuda a bajar los riesgos de inhibición por ácidos grasos volátiles y amonio (24).

2.2. Digestión anaerobia

Se trata de un proceso biológico degradativo complejo en el cual parte de los materiales orgánicos de la biomasa, es decir, de la materia orgánica elegida para degradar, son metabolizados por bacterias para la producción de gas metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2), un aproximado del 10 % de trazas de otros elementos y un efluente rico en amoniaco (NH_3), el cual puede ser neutralizado para ser utilizado como fertilizante agrícola (25) (26). En la figura 2.2 se observa el proceso de la digestión anaerobia, cada etapa se explica en la siguiente sección “Etapas de la digestión anaerobia”.

2.2.1. Etapas de la digestión anaerobia

Como se ha mencionado anteriormente, la fermentación anaerobia se trata de un proceso complejo, el cual se divide en etapas dependiendo de lo que esté sucediendo en la interacción entre el inóculo, las bacterias que metabolizan el sustrato y el sustrato mismo. A continuación se enumeran y describen cada una de las etapas de la fermentación anaerobia (29) y la figura 2.3 presenta un cuadro que sintetiza la información de este proceso.

1. Hidrólisis

Se trata de la descomposición de partículas y moléculas complejas, como lo son las proteínas, carbohidratos y lípidos, a través de enzimas extracelulares producidas por microorganismos acidogénicos produciendo así compuestos orgánicos solubles más sencillos, como aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga, que serán metabolizados por las bacterias acidogénicas produciendo ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, hidrógeno, dióxido de carbono y otros productos intermedios. De estos, los ácidos grasos de cadena corta serán transformados en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono mediante la acción de los microorganismos acetogénicos. De esta manera los organismos metanogénicos producen el metano a partir de ácido acético, H_2 y CO_2 , es decir, en esta etapa inicial en conceptos generales se realiza la siguiente reacción para formar moléculas más pequeñas, como monosacáridos, ácidos grasos y aminoácidos que servirán para las siguientes etapas de la digestión anaerobia:

Substrato orgánico complejo (por ejemplo, polisacárido) + H_2O → Productos orgánicos más simples (por ejemplo, monosacáridos, ácidos grasos, aminoácidos) + H_2O .

Esta reacción suele apoyarse a través de un pretratamiento fisicoquímico cuyo objetivo es el de reducir el tamaño de las partículas con el fin de aumentar la tasa de hidrólisis desestabilizando los enlaces de la estructura de las macromoléculas iniciales con las que se lleva a cabo el proceso.

2. Etapa acidogénica

También llamada etapa fermentativa, se encarga de la fermentación de las moléculas orgánicas solubles y compuestos orgánicos reducidos anteriormente “liberados” en el proceso de hidrólisis para que estos puedan ser oxidados por las bacterias acetogénicas en la siguiente etapa del proceso. Este grupo de bacterias, denominados “*bacterias formadoras de ácido*”, se componen de bacterias facultativas y anaeróbicas estrictas, las cuales son importantes no sólo porque son las encargadas de producir la fuente de nutrientes para el siguiente grupo de bacterias, sino porque además se encargan de eliminar cualquier traza de oxígeno que pueda haber quedado en el sistema y, como se debe recordar, al tratarse de un sistema

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

anaerobio la presencia de oxígeno provoca la inhibición del proceso, de ahí la remarcada importancia en la eliminación de éste.

3. Etapa acetogénica

Algunos de los subproductos de la fermentación hasta este punto ya pueden ser utilizados por las bacterias metanogénicas, pero aún quedan otros que deben de ser transformados en moléculas aún más sencillas para que el proceso se pueda completar. Aquí es donde entran las bacterias acetogénicas, las cuales se encargan de transformar etanol, ácidos grasos volátiles y algunos compuestos aromáticos en hidrógeno (H_2) y acetato (CH_3COO^-), como se ve a continuación:

Substrato (por ejemplo, etanol, ácidos grasos volátiles, compuestos aromáticos)
 $+ 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato} + \text{H}_2$.

Tras este proceso finalmente se logran extraer las moléculas fermentables de la biomasa y las bacterias acetogénicas excretan los productos de desecho de sus células y dichos productos, los cuales ahora son ácidos volátiles sencillos, son los que utilizarán las bacterias metanogénicas para la etapa final.

4. Etapa metanogénica

Los microorganismos metanogénicos actuarán sobre los productos resultantes de las etapas anteriores y serán los responsables de la formación de metano y de eliminar los productos resultantes de los grupos anteriores. Para producir el metano estas bacterias utilizan los sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente como: acetatos, H_2/CO_2 , entre otras con el fin de obtener moléculas con cadenas más simples de romper. De ahí la importancia de que el sustrato sea hidrolizado y procesado por las demás bacterias, pues de lo contrario las bacterias metanogénicas no dispondrán de sustratos metabolizables y no se presentaría la producción de metano esperada.

La metanogénesis hidrogenotrófica y acetoclástica son dos vías metabólicas diferentes utilizadas por los microorganismos metanogénicos para producir metano (CH_4) en ambientes anaeróbicos. La principal diferencia entre la metanogénesis hidrogenotrófica y acetoclástica radica en los sustratos utilizados y los productos finales resultantes de las reacciones metabólicas (30) (31).

2.3 Principios de funcionamiento de un biodigestor, parámetros de influencia en la producción de biogás.

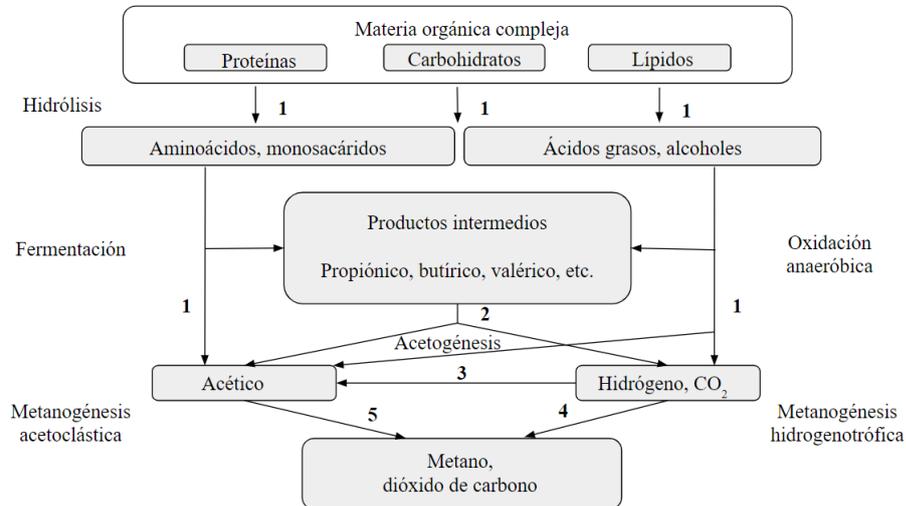


Figura 2.3: Esquema de reacciones de la digestión anaeróbica de materiales poliméricos.

Fuente: Pavlostathis y Giraldo-Gómez (1991)

Los números indican la bacteria que se encarga del proceso: 1) bacterias fermentativas; 2) bacterias acetogénicas que producen hidrógeno; 3) bacterias homoacetogénicas; 4) bacterias metanogénicas hidrogenotróficas; 5) bacterias metanogénicas acetoclásticas.

2.3. Principios de funcionamiento de un biodigestor, parámetros de influencia en la producción de biogás.

El biogás es un recurso ampliamente usado alrededor del mundo y actualmente se ha comenzado a enfocar su producción hacia el control de la contaminación, además de que se continúa ampliando el campo de investigación respecto a los recursos residuales que pueden ser explotados. Teniendo ésto en cuenta, el incremento de la eficiencia de los procesos de producción de biometano se mantienen como una meta de la industria del biogás, por lo que a lo largo de los años se han probado y desarrollado diferentes métodos para poder aprovechar el máximo potencial de las digestiones.

Un biodigestor se trata de un sistema cerrado o abierto, dependiendo de si se trata de un proceso aeróbico o anaeróbico, en el que se llevan a cabo los procesos de degradación de una biomasa elegida para la obtención de productos de valor agregado. En el caso de los biodigestores destinados a la digestión anaerobia estos suelen constar de las siguientes partes: biodigestor o contenedor de biomasa a digerir, contenedor de gas, accesorios de salida de biogás, compartimiento de entrada de la biomasa y salida

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

de materia orgánica estabilizada. Esto además de que, en sistemas más complejos, se debe contar con sistemas de válvulas y reguladores de presión, de almacenamiento, purgadores, apagallamas y sistemas de calentamiento (29).

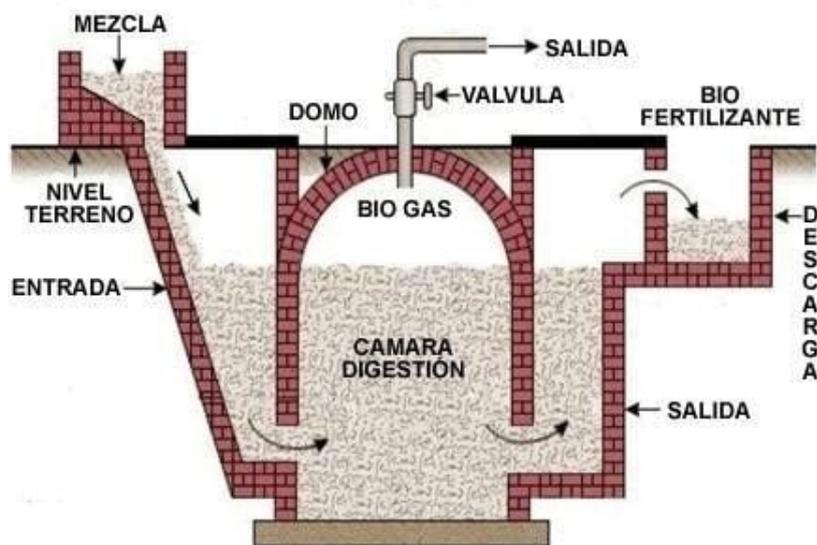


Figura 2.4: Diagrama de un biodigestor de domo fijo, o también llamado, tipo chino.

Fuente: Nelly Carreras. "Estrategias para el desarrollo de la Energía" (2017)

Sin embargo, para tener un biodigestor en el medio rural no es necesario la implementación de todos estos elementos, puede bastar con las partes básicas del digestor, los complementos pueden ayudar ampliamente a la monitorización constante de la digestión, pero es posible la construcción de sistemas más básicos que funcionen como es debido. Un biodigestor anaerobio debe ser un depósito cerrado donde se introduzcan los residuos mezclados con agua para poder ser digeridos por los microorganismos, deben estar aislados térmicamente para evitar cambios bruscos de temperatura y deben tener una manera de realizar las cargas y descargas y mantenimiento.

Los tipos de biodigestores se suelen clasificar dependiendo de su modo de operación respecto a la carga de biomasa con la que trabajan:

- **Discontinuos o de régimen estacionario:** La carga de biomasa a degradar se hace en un solo lote, es decir, se introduce la carga y pasado el tiempo de fermentación designado se vacía por completo y el proceso empieza nuevamente. Este tipo de digestores son conocidos como digestores Batch o discontinuo y son los que se ocuparán en este trabajo.
- **Continuos:** La alimentación del digestor se realiza en un proceso ininterrumpido donde la carga y descarga del material son constantes. Su implementación es amplia para el tratamiento de aguas negras.

- Semicontinuos: La primera carga que se introduce es la “carga pesada”, conforme se va degradando se van agregando porciones del volumen del biodigestor, es decir, se va sacando la parte más degradada y entra una parte nueva a degradar correspondiente al volumen de descarga. Su uso suele encontrarse más comúnmente en digestores domésticos (29).

Inóculo, ¿qué es y cuál es su papel fundamental en la digestión anaerobia?

Se trata del consorcio bacteriano que se encargará de degradar el residuo en el biodigestor, liberando así metano y dióxido de carbono principalmente, además de pequeñas cantidades de nitrógeno, oxígeno, hidrógeno y sulfuro de hidrógeno, como producto final. También suelen ser llamados “lodos de digestión”, tienen bacterias adaptadas a medios como aguas residuales, excreta animal o medios de composta, de manera que este tipo de bacterias crecen naturalmente consumiendo el tipo de biomasa que nosotros buscamos degradar (7).

2.3.1. Efecto de la temperatura sobre la digestión anaerobia de biomasa

La temperatura es uno de los parámetros fundamentales de diseño para los procesos anaerobios. Es necesario tener en cuenta que la temperatura tiene un impacto directo en la viabilidad y actividad de los microorganismos participantes en la digestión anaerobia. La velocidad de las reacciones bioquímicas y metabólicas de los microorganismos está influenciada por la temperatura. A temperaturas más altas, las tasas metabólicas suelen aumentar, lo que puede resultar en una mayor tasa de producción de biogás (metano y dióxido de carbono). Sin embargo, temperaturas extremadamente altas pueden tener efectos perjudiciales en las células, causando daño a las estructuras celulares y enzimas, lo que podría llevar a una disminución en la viabilidad celular y la eficiencia del proceso.

El tiempo de producción se ve afectado de manera directamente proporcional al régimen de temperatura, puesto que el incremento de temperatura aumenta la velocidad de crecimiento de los microorganismos, acelerando así el proceso de digestión, además de que la viscosidad de sólidos y semisólidos disminuye, lo que genera una necesidad menor de agitación. Sin embargo, se debe de tener cuidado ya que, en caso de que la biomasa utilizada contenga compuestos tóxicos, al aumentar la temperatura estos incrementan su solubilidad, por lo que podrían presentarse como un agente inhibidor (29). A temperaturas más altas, algunos tóxicos pueden volverse más solubles y afectar negativamente a los microorganismos. Por otro lado, temperaturas más bajas pueden disminuir la solubilidad de estos compuestos, reduciendo su efecto inhibitorio sobre la actividad microbiana.

Los rangos de temperatura más utilizados actualmente se dividen en 3: psicrófilicos, mesófilicos y termófilicos, como se muestra la tabla 2.2.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Tabla 2.2: Rangos de temperatura y tiempo de fermentación anaeróbica.

Fermentación	Mínimo	Óptimo	Máximo	Tiempo de fermentación
Psicrofílica	4 – 10°C	15 – 18°C	20 – 25°C	Sobre 100 días
Mesofílica	15 – 20°C	25 – 35°C	35 – 45°C	30 a 60 días
Termofílica	25 – 45°C	50 – 60°C	75 – 80°C	10 a 15 días

Fuente: Langrange, 1979

El rango psicrofílico es de los menos estudiados hasta ahora, aunque se ha encontrado que es el que presenta menores problemas de estabilidad (29), el más usado es el mesofílico, ya que opera en rangos de temperatura donde puede llegar a ocuparse casi a temperatura ambiente en ciertas zonas y, por lo general, no son rangos tan altos de temperatura que mantener, por lo que la energía requerida para mantener ésta condición es menor que en el rango termofílico, el cual ha comenzado a tener un auge en utilización debido a su velocidad y aumento de la eliminación de patógenos presentes en la biomasa utilizada, sin embargo este es el rango más inestable ante cualquier cambio de las condiciones de operación además de que, como se mencionó anteriormente, puede presentar problemas de inhibición por el incremento de la toxicidad de algunos compuestos a dicha temperatura, como el nitrógeno amoniacal, dado su efecto indirecto en la solubilidad de sustancias tóxicas o inhibitoras presentes en la materia orgánica o en el sustrato utilizado.

Una técnica interesante que está surgiendo es empezar una carga elevada de biomasa en el rango termofílico para una segunda fase en rango mesofílico, de manera que se puedan aprovechar las ventajas de ambos sistemas. Sin embargo, nunca hay que olvidar cómo es que la temperatura influye directamente en los equilibrios químicos de la biomasa (32).

2.3.2. Procesos de codigestión

Los procesos de codigestión surgen a partir de la necesidad de compensar y aprovechar las características de diferentes biomasas, complementando así fortalezas en elementos que presenten ambas biomasas a degradar otorgando así un equilibrio funcional para la digestión. Usualmente se ocupan codigestiones al tratar con una biomasa “problemática” que para un óptimo aprovechamiento necesita ser mezclada con otra biomasa “no problemática” para poder equilibrar la fuente de alimentación que se le proporcionará al sistema microbiano.

- Importancia de la codigestión al usar biomasa con alto contenido de proteínas

Debido a que una biomasa con alto contenido en proteínas significa una biomasa con una cantidad de nitrógeno desequilibrada, es necesario que se lleve a un equilibrio me-

dante una codigestión con otra biomasa rica en carbono y baja cantidad de nitrógeno, de lo contrario el sistema microbiano terminará generando un exceso de nitrógeno amoniacal a partir de la degradación de los aminoácidos o proteínas los cuales, a pesar de ser un nutriente importante para el crecimiento bacteriano, en un exceso llevará a la inhibición del proceso (33).

2.3.3. Relación Carbono-Nitrógeno para la codigestión de biomasa

La relación carbono/nitrógeno es un parámetro básico usado para la caracterización de materiales fermentables ya que funciona como un parámetro efectivo para la evaluación de desempeño y estabilidad de un proceso de digestión anaerobia. Además de que es un parámetro necesario en el proceso, puesto que permite el desarrollo óptimo de la actividad microbiana dentro del sistema anaeróbico que requiere de fuentes de carbono y nitrógeno en equilibrio para poder proporcionar una buena fuente de nutrientes, además de una cantidad equilibrada de minerales.

El carbono y nitrógeno constituyen la principal fuente de nutrientes de las bacterias metanogénicas encargadas de la producción del biogás, una cantidad excesiva de carbono conlleva a una descomposición más lenta, ya que la multiplicación y desarrollo de las bacterias es más bajo, por esto es que el tiempo de producción de biogás puede llegar a ser más prolongado. Por otro lado, un ambiente con excedente de nitrógeno provocará la inhibición bacteriana debido al excesivo contenido de amonio que se forma (34) (35).

Debido a que las bacterias metanogénicas consumen 30 veces más carbono que nitrógeno, se recomienda que la relación óptima en la que se deben encontrar el carbono y el nitrógeno debe de ser en el rango de 30:1 hasta 20:1 (29). Dicha relación puede calcularse utilizando la siguiente ecuación:

$$K = \frac{(C_1)(Q_1) + (C_2)(Q_2) + \dots(C_n)(Q_n)}{(N_1)(Q_1) + (N_2)(Q_2) + \dots(N_n)(Q_n)} \quad (2.1)$$

donde:

K = C/N de la mezcla de materias primas.

C = % de carbono orgánico contenido en cada materia prima.

N = % de nitrógeno orgánico contenido en cada materia prima.

Q = Peso fresco de cada materia, expresado en kilos o toneladas.

Sin embargo, desde el punto de vista práctico, ya que las biomazas suelen agregarse en solución acuosa a la digestión anaerobia, es recomendable que se maneje la ecuación anterior usando medidas volumétricas.

Tener un sistema de digestión anaerobia fuera de rango óptimo suele desembocar en un sistema desbalanceado que afecta negativamente la actividad microbiana lo cual lleva a un proceso de deterioro de las mismas en lugar de una producción de biogás.

2.3.4. Efecto de los carbohidratos, lípidos y proteínas en la fermentación anaerobia para la producción de biogás

La codigestión de residuos orgánicos puede producir un porcentaje variable de metano, principalmente debido a la variación de la relación carbono/nitrógeno, la proporción de lípidos, carbohidratos y proteínas que la biomasa contenga. Es debido a esto que de ser posible el conocer dichos parámetros puede llevar a optimizar la producción de metano. Como se ha mencionado anteriormente, la biomasa utilizada en una digestión anaerobia debe de mantener en equilibrio sus contenidos, inclusive en aquellas fuentes que son la fuente de nutrientes de las bacterias metanogénicas, ya que niveles de carbohidratos y proteínas desbalanceados llevarán a la inhibición de la digestión anaerobia. Por su parte, una biomasa rica en grasa dentro de una digestión anaerobia puede incrementar significativamente la producción de metano, debido a que las grasas pueden contener 1014 L CH₄/gSV, reportado en el trabajo de Shengrong Xue *et al.* (36), sin embargo la hidrólisis de lípidos forma ácidos grasos de cadena larga y volátiles de cadena corta, los cuales son inhibidores de la digestión en concentraciones altas.

Estudios previos han establecido que los niveles de lípidos, carbohidratos y proteínas (LCP) deben de mantenerse de la siguiente manera: carbohidratos mayor a 8.3 %, proteínas por debajo de 5.0 % y lípidos menor a 5.6 % (37). Sin embargo, debido a que en una codigestión anaerobia se suelen utilizar más de dos tipos de residuos estos parámetros pueden variar ya que se suele dar prioridad al mantener la relación carbono/nitrógeno dentro de su rango 20 ~ 30, por lo que se sugiere encontrar los rangos más óptimos de LCP mientras se respete el rango de la relación carbono/nitrógeno.

2.3.5. Niveles de pH óptimos para la producción de biogás

En una digestión anaerobia el pH se debe de neutralizar para que las bacterias puedan vivir en el entorno de lo contrario, al introducirse en un biodigestor con un pH muy ácido o muy básico, el proceso metanogénico no se podría llevar a cabo debido a que las bacterias no podrían ir realizando las etapas necesarias pues los microorganismos metanogénicos son más susceptibles a los cambios de pH que otros organismos de la comunidad microbiana anaeróbica. Por lo que para tener niveles de actividad óptimos por parte de las bacterias metanogénicas estas necesitan encontrarse en un entorno óptimo de pH, teniendo rangos de 5.5 ~ 6.5 para acidogénicos, 7.8 ~ 8.2 para metanogénicos y para cultivos mixtos un rango de 6.8 ~ 7.4, siendo éste el pH neutro ideal (38).

Además del rango neutro ideal se debe de tener en cuenta que el valor de pH incrementa al decaer el contenido de lípidos, como es observado en el trabajo de Shengrong Xue *et al.* (36) anteriormente mencionado, sin embargo esto no sólo se debe a cambios en la relación LCP sino a cómo se va modulando la relación carbono/nitrógeno. Se debe de tener cuidado que el pH no baje más allá de < 5.2, lo cual suele suceder a partir de que la concentración de lípidos exceda el 65 %, porque si esto pasa el biodigestor se acidificará y tendremos una inhibición microbiana, debido a la naturaleza hidrofóbica

de los lípidos que tienden a acumularse en la superficie, a envolver y adsorber microorganismos bloqueando así las actividades microbianas (36).

Como se puede ver en la figura 2.5 la actividad metanogénica se inhibe a pH menor a 5.2 y cuando supera 8.3 teniendo a partir de este último una drástica caída que se puede originar debido a los cambios de NH_4^+ a formas más tóxicas no iónicas de NH_3 .

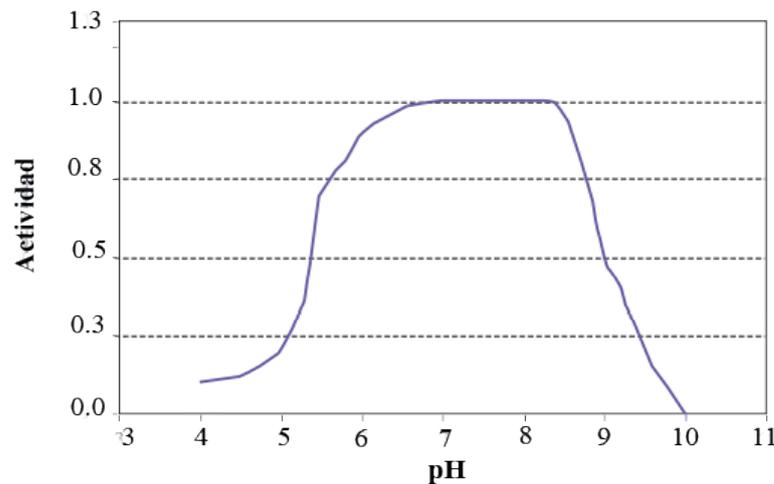


Figura 2.5: Dependencia de la actividad metanogénica con respecto al pH.

Fuente: Speece (1996)

Se debe de tener en cuenta que a pesar de que uno intente dar inicio a la digestión anaerobia con un pH ideal se puede dar una caída de pH debido a la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) y por la excesiva acumulación de dióxido de carbono. Una de las soluciones para evitar este problema es reducir la carga orgánica volumétrica hasta que los AGV se consuman más rápido de lo que se generan. Otra manera de combatir esta caída de pH sería suplementar algún químico base en el biodigestor para ajustar el pH.

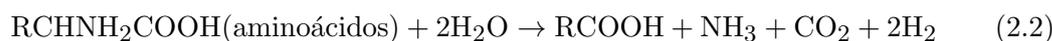
Un sistema con rangos de pH óptimos se encuentra controlado gracias a la alcalinidad natural del sistema de la siguiente manera:

1. La degradación de la materia orgánica, principalmente proteínas, libera amoníaco.
2. Cada mol de nitrógeno orgánico teóricamente genera un equivalente de alcalinidad.
3. El amoníaco reacciona con dióxido de carbono mediante una reacción bioquímica para producir bicarbonato de amonio, el cual también contribuye a la alcalinidad del sistema.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

4. De esta manera se mantiene en equilibrio el pH del sistema ya que se encuentra en un constante balance de generación de acidez y producción de alcalinidad para equilibrarla.

Lo anteriormente mencionado se describe con las siguientes ecuaciones



siendo $\text{NH}_4^+ + \text{HCO}_3^-$ la alcalinidad obtenida (29).

Residuos como la melaza, papa, u otros residuos altos en carbohidratos requieren de un equilibrio de alcalinidad debido a que carecen de nitrógeno orgánico, por lo que los residuos de alto contenido en nitrógeno orgánico como las proteínas pueden contribuir la suplementación necesaria para obtener el nivel necesario de alcalinidad. Sin embargo, siempre se deben de tener en cuenta en qué otros aspectos afectan las inclusiones de una biomasa, de lo contrario se podría elegir una que apoye en una fase de la digestión pero desequilibre totalmente en otra.

2.4. Técnicas de preparación y caracterización para la digestión anaerobia

Al usar biomasa lignocelulósica uno se enfrentará a la tarea de romper la estructura de los polímeros principales que la componen, celulosa, hemicelulosa y lignina, puesto que el rendimiento del biogás se ve afectado en presencia de lignina y celulosa cristalina pues éstas restringen el acceso de los microorganismos o enzimas hidrolizantes a la celulosa y hemicelulosa (39), por lo que las materias primas sean llevadas a través de diversos tipos de pretratamientos, ya sean termoquímicos, de presión o mecánicos.

Debido a que la biomasa lignocelulósica suele presentarse como materia seca con un alto contenido orgánico (usualmente entre 92-98% (40)), y para poder obtenerlo es necesario realizar diversos pretratamientos. Los pretratamientos permiten incrementar la digestibilidad de la biomasa lignocelulósica y mejora la producción de biogás a través de la supresión de la lignina y la ruptura de las estructuras complejas presentes en la biomasa (41), obteniendo así carbohidratos de cadena corta a partir de cadenas más complejas, carbohidratos que forman parte vital en el ciclo trófico del sistema bacteriano que conforma el inóculo. Es decir, entre mejor se haya llevado a cabo el rompimiento de estructuras complejas mayor será la disposición del sustento de carbono para las bacterias, por lo cual se presenta una mayor producción de biogás. Algunos de estos pretratamientos para las biomásas lignocelulósicas son:

- Molienda: Antes del propio tratamiento de hidrólisis se recomienda que la biomasa se encuentre bien molida para que el ácido pueda entrar de la manera más homogénea a través de la estructura de la biomasa a utilizar.
- Hidrólisis con ácido: La hidrólisis se realiza debido a que la materia orgánica polimérica no puede ser usada directamente por las bacterias metanogénicas puesto que es probable que no puedan atravesar la pared celular. Es por esto que se suelen realizar pretratamientos fisicoquímicos que se encarguen de hidrolizar en sus componentes monoméricos a los polímeros del sustrato de manera que se reduzcan los tiempos de retención y tamaño de los biodigestores. Esto es, llevar la biomasa molida a un volumen en agua y ácido definido a realizar una hidrólisis en una autoclave para que la temperatura pueda actuar como catalizador y que el ácido pueda romper las estructuras más complejas presentes, o en dado caso, facilitarle la ruptura de estas a los microorganismos a utilizar en la fermentación.

2.4.1. Demanda química de oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno (DQO) es un parámetro ampliamente usado para conocer la contaminación en el agua potable ya que uno busca que dentro de ésta no se encuentre una carga orgánica. Los resultados de esta prueba suelen arrojar resultados bajos, pero sin llegar a cero absoluto, puesto que en el agua potable se encuentran minerales y otras sustancias inorgánicas que tienden a oxidarse y, por ende, serán marcadas por el parámetro. Los resultados de la medición de DQO son expresados en mg de oxígeno (O_2) por litro.

En cuestión de la bioenergía y la digestión anaerobia, la DQO se trata de un parámetro que nos permite conocer la concentración de materia orgánica oxidable presente y que se puede asociar al contenido de sólidos volátiles de una muestra (42), lo cual en conjunto proporciona información acerca del potencial de materia biodegradable para el sistema microbiano de la digestión anaerobia.

2.4.2. Cantidad de sólidos volátiles (SV) y sólidos totales (ST)

Una muestra contiene agua, materia orgánica y materia inorgánica, para conocer la cantidad de cada una de estas partes que contiene la muestra se llevan a cabo pruebas de determinación de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV).

Para obtener los ST y SV siguiendo los procedimientos estándar (43) primeramente se seca la muestra en un horno a una temperatura constante de $105^{\circ}C$ por un mínimo de 24 horas, para asegurar la pérdida de agua de la muestra, y obtener los ST, es decir, la muestra sin agua, posteriormente ésta muestra seca es llevada a una mufla donde será expuesta a temperaturas entre $550^{\circ}C$ y $600^{\circ}C$ por un mínimo de 20 minutos para que al salir de la mufla esta haya perdido toda su materia orgánica a modo de SV, de manera que lo que queda en los crisoles al finalizar sea ceniza, es decir, materia inorgánica.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Estos parámetros nos sirven para conocer la cantidad de materia orgánica útil que se encuentra en nuestras muestras, además de que para algunos procedimientos que incluyan una proporción de agua-sólidos establecida se tenga en cuenta la cantidad de humedad que la muestra ya trae consigo y no se termine añadiendo agua de más.

Para calcular los ST y SV (44), se utilizan las ecuaciones 2.4 y 2.5, las cuales se muestran a continuación:

- Para los ST:

$$ST(\text{gL}^{-1}) = \frac{PS(\text{g}) - T(\text{g})}{V_{\text{muestra}}(\text{mL})} \times 1000 \quad (2.4)$$

Donde:

T: Peso del crisol tarado después de 20 minutos en el horno a 105°C, antes de colocar cualquier muestra dentro, así conocemos la masa neta del crisol.

PS: Peso seco de la muestra en el crisol tras un mínimo de 24 horas en un horno a 105°C.

V_{muestra} : Volumen de la muestra utilizada, usualmente en mL, aunque también puede realizarse con g dependiendo de la consistencia de la muestra.

- Mientras que para los SV, el proceso continúa de la siguiente manera:

$$SV(\text{gL}^{-1}) = \frac{PS(\text{g}) - PC(\text{g})}{V_{\text{muestra}}(\text{mL})} \times 1000 \quad (2.5)$$

Donde:

PS: Peso seco de la muestra en el crisol tras un mínimo de 24 horas en un horno a 105°C.

V_{muestra} : Volumen de la muestra que usamos, es el mismo valor usado en el cálculo de ST, en mL o g.

PC: Se trata del peso de la muestra calcinada después de encontrarse en la mufia a 550°C por 20 minutos.

2.4.3. Potencial bioquímico de metano (PBM)

La prueba de Potencial bioquímico de metano (PBM) sirve para evaluar rápidamente si un residuo puede ser degradado y de esta manera pueda ser viable la producción de gas metano (CH_4).

Consiste en la producción de metano de un sustrato de control positivo, en cantidad previamente calculada y caracterizada, en un tiempo definido al degradarse anaeróbicamente (42). Esto se hace básicamente porque no existe un inóculo comercial estandarizado, puede provenir de alguna planta tratadora de aguas residuales, de una industria

que trata residuos alimenticios, etc. De esta manera es posible conocer el ritmo con el que el inóculo degrada la materia orgánica, por lo que con esta prueba se puede realizar un estimado respecto a la biomasa a degradar en el experimento, además de comprobar que el sistema microbiano del inóculo se encuentra sano y disponible para la digestión anaerobia.

2.4.4. Mediciones de fósforo y amonio

Como se ha mencionado anteriormente, las bacterias metanogénicas necesitan de varios nutrientes para poder desarrollarse y llevar a cabo la producción de biogás, entre estos nutrientes esenciales se encuentran el fósforo y el nitrógeno, dado que en las etapas metanogénicas se tiene producción de amoníaco en la fase acidogénica es recomendable conocer las concentraciones de fósforo y amonio presentes en la muestra para evitar que el amonio se acumule sobre los límites que soporten las bacterias y termine matándolas. Por esto es que se deben de llevar a cabo mediciones del amonio y fósforo presentes en la biomasa a utilizar para poder equilibrar su concentración.

Utilizando el espectrofotómetro es posible cuantificar la cantidad de algún elemento en específico que se encuentra en una muestra a través de métodos colorimétricos como el de Solórzano (45). Para este experimento se prepararon muestras para ser medidas en longitudes de onda (λ) de 470 nm para medir el fósforo (P) y 640 nm para la medición de amonio (NH_4).

Para llevar a cabo la medición se necesita preparar la muestra mediante algún método colorimétrico que aumente su intensidad dependiendo de la concentración de la sustancia a buscar, por ejemplo, el método colorimétrico del indofenol de Solórzano (45), el cual trata la muestra en cuestión con una solución de hipoclorito sódico en un medio alcalino, nitroprusiato de sodio como catalizador y fenol que reaccionará para formar azul de indofenol resultando en una coloración azul de intensidad proporcional a la concentración de amonio presente, sin embargo, se debe de evitar la saturación de lo contrario no podrá ser medida. Gracias a esta coloración es posible cuantificar el amonio utilizando la longitud de onda de 640 nm.

Un espectrofotómetro es un instrumento utilizado para medir la intensidad de la luz absorbida por un objeto al pasar un haz de luz con una longitud de onda determinada a través de él, de ésta manera se puede conocer la concentración de una sustancia química en la muestra. Para poder realizar dicha medición un espectrofotómetro se compone de dos partes principales: un espectrómetro, encargado de emitir el haz de luz en la longitud de onda (λ) especificada, que pasará a través de los prismas que contienen la sustancia generando así el haz de luz transmitido por la muestra, donde es detectado por el segundo componente principal, el fotómetro, el cual cuantifica la cantidad de fotones absorbidos y procede a enviarlo como dato a la pantalla digital (46).

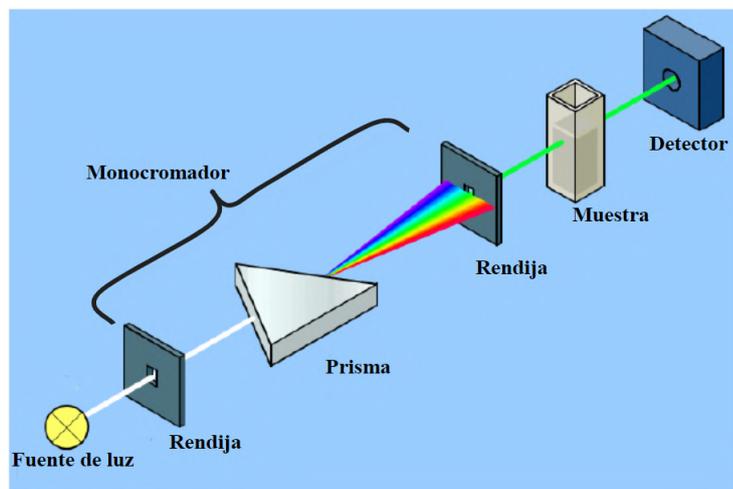


Figura 2.6: Diagrama de funcionamiento del espectrofotómetro.

2.4.5. Procesos de medición de producción de biogás

A continuación se describirán de manera sencilla dos metodologías usuales para la cuantificación del biogás en un biodigestor a nivel laboratorio.

- Medición de producción a través del lavado de biogás para pruebas de concentración de fuentes de biomasa

Este método de cuantificación volumétrica a partir del desplazamiento de líquidos es uno de los métodos más viables dado su bajo costo de inversión y gran adaptabilidad para pequeñas escalas de medición (47).

Realiza la cuantificación de la producción de biogás a través del desplazamiento de líquido, como una solución de NaOH, a través de un mecanismo como el mostrado en el diagrama de la figura 2.7, donde las mangueras deben permitir el flujo de gas o líquido únicamente en una dirección para que la solución no se introduzca al lado incorrecto.

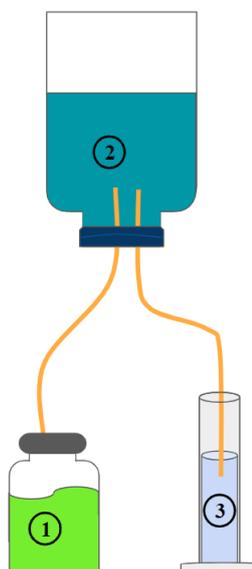


Figura 2.7: Diagrama de medición de biogás por desplazamiento de líquido.

El proceso de purificación del gas sigue los siguientes pasos:

1. Entrada de biogás
2. Purificación con el líquido
3. Cuantificación en volumen de metano calculado por el volumen desplazado.

Para que esta se pueda realizar se debe observar primeramente el nivel del líquido que se encuentra en la probeta, levantando levemente la manguera de salida del gas para que no marque un error en la medición de su volumen. Después se conectan las mangueras del biodigestor con las del contenedor de líquido, el cual debe de tener una trampa de aire para que sólo pueda circular en una sola dirección. La liberación del gas del biodigestor pasa hacia el contenedor con el líquido y crea una diferencia de presión que termina desplazando el líquido de la probeta obteniendo así una estimación del gas producido en mL.

- Medición de producción de biogás a través de diferencia de presión

Otra manera de realizar la medición de la producción del biogás es a través de la diferencia de presión (48) directa entre el interior del biodigestor y el ambiente donde se encuentra encerrado. Para esto es necesario que el biodigestor en cuestión cuente con un sistema de sellado especial cuyo centro pueda ser perforado sin alterar el sello al vacío.

Para esto se ocupan tapones de goma y un sistema de sellado a través de un anillo de aluminio a su alrededor para un cerrado hermético. El material de goma permite que

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

se le pueda introducir una jeringa delgada, de 0.6 mm para la medición de la presión interna usando un manómetro en modo diferencia de presión con su otra salida puesta al ambiente, posteriormente, utilizando una aguja de 1 mm se pincha nuevamente el tapón de goma para la liberación del gas en su interior, permitiendo así la formación de más gas en su interior para la siguiente medición. La diferencia de presión medida será el indicador de producción de biogás en el biodigestor y se calculará su volumen de producción utilizando la ley de los gases ideales.

2.4.6. Diferencias entre la digestión anaerobia y la putrefacción.

Si bien ambos procesos se tratan de procesos fermentativos de la materia orgánica, la digestión anaerobia se trata de un proceso controlado en el que se produce CH_4 y CO_2 , mientras que en los procesos de putrefacción, la descomposición se realiza por microorganismos presentes en el propio ser, usualmente en sus intestinos, y que a través de procesos de oxidación-reducción y fermentativos se alimentan de moléculas como carbohidratos, lípidos y proteínas, y generan un fuerte olor a podrido producto del ácido sulfhídrico, mercaptanos, indol escatol, amoníaco y aminas de tipo cadaverina y putrescina (49) (50).

Se podría decir que tanto los microorganismos descomponedores y sintetizadores fermentativos se dividen en dos: fermentación útil y fermentación dañina o putrefacción. Donde los microorganismos facultativos encargados de la fermentación útil transforman moléculas complejas en moléculas más simples para así permitir su absorción por las plantas; mientras que los microorganismos heterótrofos facultativos de la putrefacción descomponen las proteínas anaeróbicamente produciendo malos olores y metabolitos (como el amonio) que suelen ser tóxicos para plantas y animales (51).

Capítulo 3

Desarrollo Histórico

3.1. Aplicación de biomasa rica en proteínas y de biomasa lignocelulósicas

La digestión anaerobia ha tenido un largo camino en el estudio de la aplicación de distintas biomasa, para este caso se han revisado principalmente aquellas enfocadas en el uso de biomasa proveniente de desechos de pescado, lirio acuático y rastrojo de maíz.

3.1.1. Uso de desechos de enlatados de pescado como biomasa en la producción de biogás

Uno de los primeros registros acerca del uso de los desperdicios acuícolas para la producción de biogás data del año 1996, donde Francisco Omil *et al.* (52) comenzó un experimento para tratar el desperdicio de una fábrica productora de alimentos marinos enlatados tras detectar problemas ambientales causados debido a la alta tasa de desperdicios descargados en las aguas. Se diseñó un biodigestor que fuese alimentado a través de lodos proporcionados por dos industrias de digestión anaerobia: una de ellas siendo una planta de agua residual urbana y la otra proviniendo del agua residual de una fábrica de papel, dichos desechos se encontraban en el digestor girando a una velocidad de 65 rpm con el fin de prevenir la disgregación de los flóculos del lodo además de permitir la homogeneización de estos. Desde el inicio de la fase experimental se tuvieron en cuenta problemáticas observadas y consideradas por pequeños experimentos y análisis anteriores, tales como el hecho de que la implementación de los desechos acuícolas dentro de un proceso de digestión anaerobia traía consigo problemáticas respecto a la alta salinidad presente en el agua y una alta presencia de amonio obtenida tras la degradación de las proteínas.

Tras dos años de experimentación en diferentes etapas operacionales en las que se trató con efluentes de atún, almeja, harina de pescado y combinaciones de estas, se

3. DESARROLLO HISTÓRICO

pudo concluir que el tratamiento de estos desechos puede ser alcanzado después de un corto periodo de tiempo, 29 días en promedio, usando una mezcla de lodos de dos diferentes fuentes de aguas de tratamiento residual sirviendo como inóculo. También se encontró que: un cambio repentino en las características del influente no presentaba efectos importantes en el proceso, a excepción de que dichos cambios trajeran consigo altas cantidades de sólidos; que era posible realizar el proceso sin alimentar, girar o calentar los biodigestores por periodos de un mes y al retomarlo era posible volver a su estado operacional tras 5 a 10 días. La producción de biogás se mantenía entre 60 % y 65 % y entre un 1 % y 4 % de ácido sulfídrico. La biodegradabilidad de la biomasa fue de 84.9 % para el atún, 92.7 % para las almejas, 79.4 % para mezclas de atún, almeja y aguas residuales y 71.4 % para la mezcla de atún, almeja y harina de pescado (52).

Por un lado más reciente, en un estudio realizado por J. Xu *et al.* en 2016 (2), se encontró que el contenido de metano del biogás producido a partir de una digestión anaeróbica de desechos de pescado puede incrementar hasta en un 70 %, lo cual se atribuye a la rica cantidad de grasas y proteínas de la biomasa ya que la concentración de biogás obtenido de estas es más alto que el encontrado generado por biombras únicamente ricas en carbohidratos. Aún se presentan los problemas de inhibición causadas por un exceso de amonio, por lo que para encontrar el equilibrio entre estos niveles se ha estudiado, además, el efecto de la variación de la relación inóculo/sustrato o I/S basado en la cantidad de SV además de una producción en codigestión con una biomasa con bajo contenido proteínico para nivelar la relación C/N, es decir, codigestión para balancear las biombras.

3.1.2. Uso del rastrojo de maíz como biomasa

Teniendo en cuenta que dentro de los residuos agroindustriales el rastrojo de maíz y la paja de arroz son de los más abundantes en el mundo, se pueden considerar a estas como una de las fuentes renovables de lignocelulosa más abundantes del mundo (53). Por lo que, aún a pesar de la compleja variedad que implica esta biomasa, (pues puede presentar cambios en su constitución dependiendo del sitio, la disponibilidad de agua y clima donde creció, etc), se han realizado diferentes estudios para conocer más acerca de sus propiedades generales, principalmente para estudiar el efecto de las propiedades estructurales en la bioconversión de las diferentes secciones que componen a los residuos de rastrojo antes de su uso industrial como biomasa. Actualmente, este tipo de biomasa ha presentado un rápido incremento en cuanto su uso para generación de bioetanol, principalmente en Brasil y Alemania (21).

Con el fin de remarcar la importancia sobre las partes o secciones del rastrojo utilizados en estudios bioenergéticos C. Hongzhang *et al.* realizó un estudio en 2011 (54) en el que analizaron las diferentes partes que componen el rastrojo de maíz para evaluar parte por parte su potencial para la bioconversión. Para esto el rastrojo de maíz fue dividido en: hoja de la milpa, tallo de la mazorca, hoja de maíz y el centro desgranado de la mazorca. Estas partes anteriormente nombradas se pueden apreciar

en la figura 3.1.

Una vez se dividieron las partes correspondientes del rastrojo de maíz se llevó a cabo un pretratamiento de molienda para homogeneizar cada uno de los residuos. Posteriormente se examinaron sus células de composición, su composición química para conocer sus propiedades estructurales, además de que se les realizó una hidrólisis enzimática con celulasas y una fermentación para evaluar su desempeño en la bioconversión.

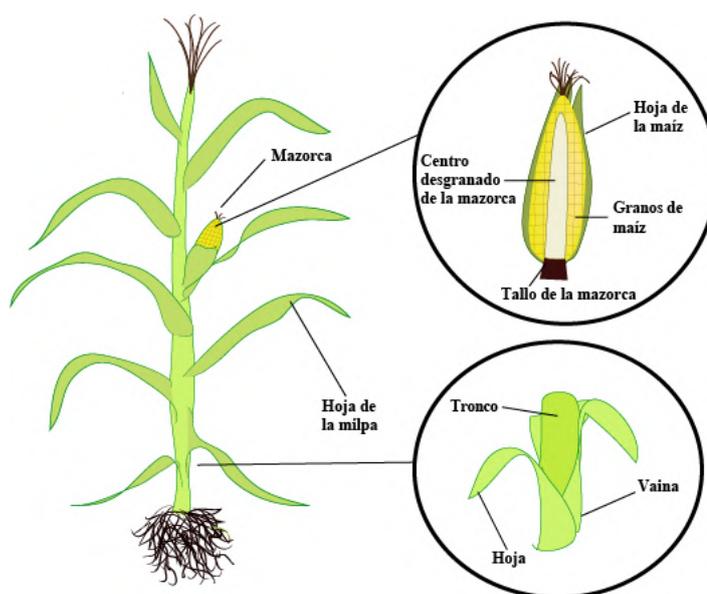


Figura 3.1: Estructura del rastrojo de maíz.

Adaptado de S.A. Sanchez-Vazquez *et al.* (2013)

Lo que se encontró en este estudio fue que los componentes y estructuras varían significativamente dependiendo de la parte elegida del rastrojo de maíz, en el caso de la biomasa antes del hidrolizado fue la hoja de maíz la que mostró el mayor contenido de celulosa, con un máximo de 36.66 % y un promedio de $27.45 \% \pm 3.19$, la hemicelulosa un máximo de 27.45 % y 14.23 % como máximo en el caso de lignina. Sin embargo, al momento de realizarles una hidrólisis enzimática por 24 horas la hoja de maíz resultó ser la penúltima en cuanto a rendimiento, con un 28.33 % en su valor máximo encontrado.

Dentro de este mismo caso de estudio se nombran los 7 factores que afectan la reactividad enzimática de la biomasa descrita por Chang y Holtzaple (55):

1. Contenido de lignina.
2. Cristalinidad.
3. Contenido acético.
4. Grado de polimerización.

3. DESARROLLO HISTÓRICO

5. Área superficial accesible.
6. Volumen poroso.
7. Tamaño de las partículas.

En el mismo estudio de C. Hongzhang *et al.* del 2011 se concluye que es debido a los cambios en sus estructuras que algunas partes del rastrojo de maíz presentan un mayor contenido de celulosa o hemicelulosa, pero a la hora de realizar la hidrólisis enzimática su porcentaje de hidrolizado puede variar drásticamente. Por ejemplo, la hoja de la milpa y el centro desgranado de la mazorca presentaron contenidos de celulosa y hemicelulosa casi idénticos (rondando ambos el 65 % en ambas categorías) y al momento de hidrolizar los resultados variaron de manera significativa: la hoja tuvo un rendimiento máximo del 39.13 % mientras que el centro desgranado un máximo de 90.45 %. Esta variación tras el hidrolizado se podría explicar debido a que la estructura más porosa del centro desgranado permitió un mejor ataque enzimático y por tanto una mayor ruptura de las estructuras complejas, liberando así mayor cantidad de carbohidratos de cadena más simple. Por lo que la falta de homogeneidad resulta visible en la diferencia de comportamiento y aprovechamiento de cada parte del rastrojo.

3.1.3. Estado actual del lirio acuático en Xochimilco

El lirio acuático se trata de una especie originaria del río Amazonas, la cual ha sido introducida a casi todas las áreas tropicales y subtropicales del mundo. Actualmente, debido a su rápida velocidad de reproducción, su capacidad de regenerarse a partir de pequeñas porciones del talo vegetativo, la ausencia de depredadores naturales en los lugares donde es introducida y su alta tolerancia a condiciones poco favorables de agua, ha sido capaz de establecerse en sitios con bajos niveles de nutrientes además de poder crecer ante la presencia de metales y esto sin presentar algún daño severo en sus hojas, lo cual la convierte en una de las plantas acuáticas más invasoras del mundo y que pone en peligro diversos ecosistemas (56).

En el caso de los canales de Xochimilco sus aguas presentan elementos metálicos procedentes de plaguicidas, la quema de combustibles fósiles, desemboque de aguas negras que han sido conectadas a los canales, filtración de lixiviados de los tiraderos de residuos urbanos, además de la gran cantidad de basura, inclusive electrónicos de línea blanca que han sido depositados en su interior, lo cual influye en un nivel de contaminación crítico en sus aguas, llevando a la presencia en el lirio de metales pesados como el zinc, el plomo, y el cadmio (57), entre otros, sin embargo, el lirio sigue siendo capaz de crecer en este ambiente tan hostil.

Desde un punto de vista ecológico, el lirio acuático afecta directamente la cadena trófica de los sitios donde es introducida ya que altera el balance hídrico, impide el paso de luz hacia el fondo del canal, lo cual mata a los organismos fotosintéticos que se encuentren allí, como las microalgas, además de que afecta económicamente la pesca y la propia navegación a través de los canales.

El lirio acuático es, a su vez, considerado como una planta fitorremediadora debido a que, como la mayoría de las plantas, se ve afectada por los factores del sitio donde crece, siendo el caso de la presencia de metales lo que termina haciendo que esta los absorba. En el caso de estudio del biólogo Carrión C. (58) se encontró la presencia de metales en los lirios de 3 zonas principalmente, Ampampilco, Cuemanco y El Potrero, donde sólo la última presentaba niveles de concentración lo suficientemente altos como para que el uso del lirio no se recomendara para su implementación como abono para cultivos de fines comestibles, sino que se usase con fines floricultivistas.

3.1.4. Tilapias, un riesgo inminente en Xochimilco

Las tilapias, además de ser una especie introducida entre 1978 y finales de los 80's a la zona lacustre de Xochimilco (59) como parte de un programa de apoyo a la alimentación que perdió el control sobre la cría de la especie, terminando en la invasión de la tilapia a lo largo de todos los canales y convirtiéndose, a su vez, en un peligro para las especies endémicas.

La tilapia que habita libremente los canales de Xochimilco actualmente no se reconoce apta para su consumo por los altos niveles de contaminación en el agua, lo cual a su vez genera un ambiente de alto estrés (60); altas cargas de desechos de aguas residenciales y conexiones de descarga de aguas negras externas, cuyos desechos tienden a mantenerse en nivel del agua debido a que el constante movimiento de las pértigas para trasladar las trajineras provoca que este tipo de bacterias nunca lleguen a sedimentarse al fondo de los canales, por lo que no es sorpresa que en ellas se encuentren un 50 % de bacterias coliformes y fecales. De hecho, el estudio de la bióloga Mancilla J. (61) llevado a cabo en el 2015 concluyó que las tilapias del canal de Xochimilco son reservorios de cepas que deben de ser consideradas como posiblemente patógenas, por lo que su consumo no es recomendado debido a que el número de concentración de coliformes totales y fecales encontraba un valor máximo de 11000 (NMP)/ 100 mL cuando la NOM-003-ECOL-1997 indica que el valor no debería de superar los 1000 (NMP)/ 100 mL.

3.1.5. Implementación del jacinto acuático en la biodigestión anaerobia

En el año 2021 se llevó a cabo un experimento por L. Romero de León *et al.* (32), en el que se buscó averiguar el potencial para la producción del metano del jacinto acuático, comúnmente llamado solamente "lirio", de los canales de Xochimilco junto con la fracción orgánica de residuos sólidos municipales usando como inóculo el lixiviado de la planta compostera del Bordo Poniente de la Ciudad de México. Los resultados destacaron, entre otras cosas, la importancia de realizar pruebas de calidad sobre el inóculo, ya que debe de encontrarse en condiciones óptimas para poder degradar la materia orgánica del digestor y así tener un buen potencial bioquímico de metano.

3. DESARROLLO HISTÓRICO

Lo que se encontró al final del experimento fue que si bien el jacinto acuático es un material abundante que puede ser usado en la producción de energía renovable su propia estructura es la que pone ciertas trabas en esto, debido a que contiene lignina, lo cual dificulta su biodegradabilidad y disminuye la producción de biogás, pues como se ha mencionado antes, las biomásas lignocelulósicas constan de estructuras complejas difíciles de romper. En este caso de estudio, el lirio fue utilizado sin ningún pretratamiento, ya que se pensó que no tendría una variación significativa a la hora de la producción del metano.

Capítulo 4

Situación en México de la producción de biogás

Dados los incrementos en cuestiones de concentración poblacional, parque vehicular, sistemas de transporte, pérdidas de áreas verdes y generación de residuos, México se ha visto en la búsqueda de alternativas para solucionar estos problemas e incrementar la calidad de vida de sus habitantes, a través de un enfoque de desarrollo sostenible que haga frente a la demanda energética, el cambio climático y el manejo de residuos, como es establecido en el Estatuto Orgánico de ProMéxico 2014.

En esta cuestión los residuos generados de las cadenas de producción de actividades agrícolas representan una alternativa como biomasa lignocelulósica y lipídica para poder convertirse en materia prima en una producción bioenergética de valor agregado. Sin embargo, el desarrollo de las tecnologías sigue siendo aún precario en muchas localidades del país, donde se continúan llevando los residuos orgánicos a vertederos de cielo abierto, sumado a que la mayor parte de los estudios para el aprovechamiento de residuos agroindustriales suele quedarse a nivel laboratorio (62).

En México se encuentra definido por la Ley de promoción y desarrollo de los bioenergéticos (63) como bioenergético a los *“Combustibles obtenidos de la biomasa provenientes de materia orgánica de las actividades agrícola, pecuaria, silvícola, acuacultura, algacultura, residuos de la pesca, de microorganismos y de enzimas, así como sus derivados, producidos por procesos tecnológicos sustentables que cumplan con las especificaciones y normas de calidad establecidas por la autoridad competente en términos de esta Ley (Ley de promoción y Desarrollo de los Bioenergéticos), atendiendo a lo dispuesto en el Artículo 1 Fracción I de este ordenamiento”*. A partir de esta definición son 5 los bioenergéticos identificados utilizados para la generación eléctrica en el país: biogás, licor negro, biomasa, relleno sanitario y bagazo de caña, siendo este último el representante del 86.12% de la generación eléctrica por bioenergía en el país. La generación total de electricidad a partir de bioenergía durante 2019, 2020, 2021 fue de

4. SITUACIÓN EN MÉXICO DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS

1,866.49 GWh, 2,206.51 GWh y 1,595.58 GWh, equivalentes al 0.58 %, 0.70 % y 0.49 % de la generación total de energía eléctrica respectivamente, mientras que, a su vez, en 2021 representó el 2% de la generación de energía renovable (64). Por su parte, en los escenarios propuestos por CENACE (65) para el 2050 se prevé que la bioenergía represente el 0.9 % de la energía eléctrica total generada en el país.

El uso de la biomasa en México como una fuente primaria de energía ha ido en decremento, representando un 15.3 % en 1965 a representar el 5.3 % en el 2005. Si bien se entiende que antiguamente el uso de biomasa se limitaba, casi en su totalidad, a la quema de biomasa como fuente de calor y por ende se llegó a generar cierta desestima hacia la bioenergía por ser considerada “*una energía primitiva*” o “*del pasado*”, actualmente la biomasa puede proveer de combustibles sólidos, líquidos y gaseosos de modo que estos residuos pueden ser transformados en energía limpia y eficiente mediante el uso de tecnologías bio y termoquímicas, por lo que esta visión de “*energía primitiva*” poco a poco va desapareciendo.

Sin embargo, el uso de los biocombustibles en el país sigue siendo delegado por los combustibles fósiles derivado del alto enfoque al uso de hidrocarburos como fuente primaria que aún mantiene el país. Debido a esta alta dependencia en los combustibles fósiles es que actualmente la implementación de energías renovables se ha levantado como una pieza fundamental para la construcción de un sistema sustentable que no sólo ayude a la diversificación energética del país sino también a la apropiación de tecnologías de energía emergentes, además de promover la reducción de gases de efecto invernadero, generación de nuevos trabajos en áreas rurales, una mejora en la distribución de los recursos y ganancias, además de bajar la dependencia de la importación de energía del extranjero (66).

México cuenta con grandes fuentes bioenergéticas tales como: derivados de las actividades rurales como la silvicultura, agricultura y actividades agroindustriales, los cuales se han reconocido actualmente como una fuente de gran potencial, bajo precio, cuya disposición proviene de actividades reguladas y se les considera una fuente renovable para la producción de energía. Al tratarse de un país con un bioma megadiverso, la variedad de biomasa que puede ser aprovechada es amplia y para poder ocuparla, además de para poder saber qué tipo de proceso debe de llevar cada una, es necesario tener en cuenta factores tales como: porcentaje de humedad, lignocelulosa, azúcares, lípidos y proteínas. Actualmente existen una gran variedad de reportes científicos respecto al aprovechamiento de residuos agroindustriales en México, como: el uso de las hojas, fibras, pencas y cutículas del agave en la industria tequilera para la producción de resinas termoplásticas y extracción de ligninas, celulosa, glucósidos y etanol; uso de bagazos de cebada, caña, avena y trigo para la elaboración de pastas y alimentos para aves de corral; producción de bioplásticos y elastómeros a partir de la fermentación de suero de queso, entre muchos otros ejemplos (62).

Además de las biomásas de desecho agroindustrial, también se cuenta con derivados de los residuos orgánicos encontrados en los desperdicios municipales. En el caso de la Ciudad de México, un aproximado de 46.95 % del desperdicio municipal (67) está compuesto de desperdicios de comida y desechos por actividades de jardinería, los cuales suelen ser llevados a un relleno sanitario donde, además de producir lixiviados que afectan la calidad del suelo, generan grandes cantidades de gas metano que simplemente es liberado al ambiente, contribuyendo al efecto invernadero.

Es debido a esta problemática que se han realizado diversos estudios de digestión y de codigestión anaerobia con este tipo de residuos orgánicos, pues su implementación puede ayudar a la mitigación tanto de las emisiones del metano al ambiente como de los impactos negativos de los residuos orgánicos en el suelo (68), ya que convierten los residuos orgánicos en biogás (40 ~ 70 %CH₄, 25 ~ 55 %CO₂, 0 ~ 1 %H₂S, 0 ~ 3 %N₂) que puede ser utilizado como fuente para la producción de energía eléctrica, calefacción, e inclusive, después de ser pasado por un proceso de mejoramiento, usado como combustible para vehículos (32), además de presentar la posibilidad de obtener abonos orgánicos como subproducto de la producción de biogás.

Sin embargo, no hay que olvidar que para determinar si un proyecto de producción de un biocombustible es viable se necesita identificar su sustentabilidad real, considerando todas las etapas involucradas en su producción. De lo contrario se pueden provocar daños severos al medio ambiente y a la balanza energética, por lo que para realizar un proyecto a gran escala es necesario que sea técnica, ambiental, energética y socialmente viable.

Metodología

5.1. Selección de las biomásas

Este proyecto tuvo como finalidad el encontrar utilidad y valor agregado en biomasa que originalmente sea considerada como desperdicio que no sea considerada como una materia que debería ser utilizada para consumo humano y cuya presencia constituya una problemática ambiental. De esta manera considerándose biomasa de segunda generación de la que se pueda disponer para la producción de biogás a través de un proceso de codigestión anaerobia.

La idea sobre utilizar la tilapia y el lirio acuático que se encuentran en abundancia en los canales de Xochimilco surgió de una visita como apoyo a la limpieza de los canales donde fue posible apreciar la problemática donde, además de la obvia presencia de basura inorgánica producto de la contaminación y del mal manejo de los residuos sobre las aguas del canal, se encontró una saturación de lirio acuático hasta el punto de dificultar el paso de las personas en sus trajineras, sumado a que obstruyen el paso de luz para los organismos endémicos del ecosistema.

Por su parte, la tilapia, además de alimentarse de las especies endémicas del sitio y reproducirse sin control por la falta de depredadores naturales, ha desequilibrado el ecosistema natural de la zona, ha afectado físicamente la estructura de la zona. Pues durante su ciclo de apareamiento la tilapia escarba cuevas y, estando en los canales de Xochimilco, dichas cuevas llegan hasta las raíces que sustentan las chinampas, debilitando así la fuerza estructural del suelo en la chinampa y generando inestabilidad en el terreno por la cantidad de socavones en las áreas cercanas a la orilla, una gran cantidad de árboles vencidos, que pueden caer en cualquier momento debido a la pérdida del suelo y sus raíces y finalmente la destrucción de las propias chinampas si se permite que el deterioro de su base continúe a pasos tan acelerados.

Los residentes de la zona me expresaron su preocupación, “si no se hace nada, Xochimilco podría desaparecer en 50 AÑOS”, expresó Dionisio Eslava, miembro fundador de la Asociación Axochiatl en Xochimilco, mientras platicábamos sobre la situación de Xochimilco y las tilapias. Me explicaron también que todos esos árboles que se pueden

ver hundidos, doblados y caídos, véase la figura 5.1, además de lo peligroso que se ha vuelto caminar por las orillas de las chinampas, son resultado de los socavones que se están creando a consecuencia de las cavernas subterráneas que han hecho las tilapias y que, a pesar de los esfuerzos hechos, la problemática de la tilapia sigue siendo un elemento en total descontrol en la zona.



Figura 5.1: Fotografía tomada en los canales de Xochimilco.

Se puede observar como los árboles están siendo vencidos por su peso al perder sus raíces por las excavaciones hechas por las tilapias.

Otro punto en contra de las tilapias introducidas es que, a través de estudios de J.V. Mancilla publicados en 2015 (61), se demostró que el consumo de las tilapias del canal no es recomendado debido a la presencia de patógenos. Lo cual, a su vez, es entendible ya que las tilapias se encuentran viviendo básicamente en aguas negras, por lo que a pesar de sobrevivir al ambiente tan hostil, la presencia de bacterias, metales pesados y demás contaminantes en su interior no es sorpresa.

Es por esto que en este proyecto se decidió ocupar una combinación de biomasa de origen animal y vegetal, haciendo uso de: la tilapia, el lirio acuático y la hoja de maíz, esta última como apoyo de fuentes de carbono, como base de una producción energética de biogás cuyo subproducto pudiese ser utilizado como fertilizante.

La tilapia fue molida entera, ya que uno de los objetivos es poder deshacerse del desperdicio que supone en sí la tilapia, además de que esta se contempló como la principal fuente de biomasa de alto contenido en proteínas. Por su parte, el lirio acuático se trata de una fuente de biomasa fibrosa que implica un alto contenido lignocelulósico,

sin embargo, debido a su carácter fitorremediador puede encontrarse con contenidos contaminantes no deseados, principalmente metales pesados absorbidos por el tallo y la base de las hojas del lirio (58), que en una concentración elevada pueden llegar a diluir sustancias tóxicas en el conjunto bacteriano, por lo cual se implementó de una tercera biomasa de apoyo para la proporción de carbohidratos, en este caso se optó por la utilización de las hojas de maíz esperando que proporcionara una cantidad más homogénea de elementos tomando de base a la cantidad de celulosa encontrada en estudios anteriores (54) sobre el contenido de carbono en las hojas de maíz, se puede esperar un apoyo de carbono por parte de su contenido aproximado de 36.66% de celulosa a la relación C/N para reducir el riesgo de inhibición del proceso de producción del biogás a causa de un exceso de proteínas en los biodigestores.

5.2. Obtención de la biomasa

Ya que se buscó realizar un análisis experimental con las biomásas del sitio, fue necesario dirigirse hacia los canales de Xochimilco para obtener las materias primas para el proyecto. Para esto se entró en contacto con la Asociación Axochiatl para poder llevar a cabo la extracción y recolección del lirio acuático y la tilapia directamente de los canales.

La tilapia y el lirio acuático fueron obtenidos del canal de Xochimilco en la zona de Santa Rosa Chichilico, Barrio la Santísima, CDMX. El lirio acuático fue tomado en las coordenadas $19^{\circ}15'57.5611''$ Norte y $99^{\circ}5'19.8067''$ Oeste de un canal aledaño a un canal principal, por lo que su tránsito no tan concurrido como los canales principales había propiciado el crecimiento y acumulación del lirio en la superficie del agua. Mientras que las tilapias fueron pescadas con una red en los puntos $19^{\circ}15'52.042''$ Norte y $99^{\circ}5'21.6478''$ Oeste en el canal principal de la zona (ya que es en estos sitios donde se pueden observar bancos de pescados tomando el sol) y la cantidad de estos bancos es tal que básicamente con tirar la red en cualquier punto y recogerla da por seguro la captura de algunos peces. Ambas posiciones se pueden observar en la figura 5.2.

Una vez la biomasa fue extraída del sitio se colocó en bolsas de plástico, para evitar que se mezclaran entre sí la biomasa vegetal y la animal, e inmediatamente fueron colocadas dentro de una hielera para ser trasladadas al laboratorio de Bioenergía en el Instituto de Energías Renovables de la UNAM ubicado en Temixco, Morelos, en donde se almacenaron en un congelador a -30°C hasta su uso en la experimentación.



Figura 5.2: Captura de las coordenadas de los puntos de toma de la biomasa de lirio acuático y tilapia a través de la vista satelital de Google Maps.

Respecto a las hojas de maíz, entendidas como las hojas que cubren la mazorca de maíz, no las hojas de la milpa, fueron compradas en un molino de Cuernavaca, Morelos. Finalmente, el inóculo fue proporcionado por personal del laboratorio quien lo consiguió de una planta de tratamiento de aguas residuales en Jiutepec, Morelos.

5.3. Caracterización de la biomasa

Para poder llevar a cabo la caracterización de la biomasa es necesario que las muestras se encontraran lo más homogéneas posibles, por lo que cada una de ellas fue triturada y guardada en bolsas correctamente etiquetadas hasta su uso en la experimentación. A continuación se describe el proceso de homogeneización de cada una de ellas.

5.3.1. Preparación de la biomasa animal

En el caso de las tilapias pescadas, estas fueron tratadas sin ningún proceso de limpieza como el que llevan los alimentos, esto es: sin lavar o enjuagar, sin tirar la cabeza, las tripas ni los huesos ya que, como se mencionó en la problemática, se busca el uso completo de las tilapias. Por lo tanto, fueron cortadas en trozos de aproximadamente $2\text{cm} \times 2\text{cm}$ para poder ser licuadas.

Para este proceso se destinó un cuchillo liso, uno con dientes de sierra y una tabla de picar, los cuales siempre deben de ser llevados por un proceso de esterilización antes

5. METODOLOGÍA

y después de su uso, así como todos los materiales de laboratorio con el fin de no contaminar las muestras ni los equipos, dicho proceso es el siguiente:

Proceso de limpieza de los materiales:

- 1. Enjuagar con agua limpia
- 2. Lavar con jabón libre de fosfatos
- 3. Enjuagar con agua destilada
- 4. Aplicar directamente alcohol etílico (etanol), para así desinfectar y permitir un secado más rápido
- 5. Dejar secar

Una vez fueron cortadas en trozos, se guardaron en bolsas que antes fueron pesadas y marcadas, con el fin de obtener el peso de masa neta de la biomasa que se le introdujo. De estas bolsas se procedió a tomar su contenido para poder licuarlas, fue necesario agregar 100 mL de agua por cada 300 mL de biomasa de Tilapia para evitar que la licuadora de laboratorio, *Laboratory Blender*, se pudiese atascar o dañar. Tras este proceso fueron colocadas en un par de bolsas para que una de ellas fuera usada para los experimentos mientras la otra permanecería guardada en el congelador en caso de que fuese necesario realizar alguna réplica adicional.



Figura 5.3: Bolsa de tilapia licuada.

5.3.2. Preparación de la biomasa vegetal

- Lirio acuático

De manera similar al tratamiento de la tilapia, para el lirio acuático fue necesario cortar el lirio en trozos más pequeños y añadir agua a la licuadora para la obtención de una muestra homogénea, en este caso se agregaron 100 mL de agua por cada 100 g de lirio, ya que de lo contrario no se lograba licuar homogéneamente.



Figura 5.4: Proceso de licuado del lirio.

- Hoja de maíz

Para el caso de las hojas de maíz, debido a su consistencia y alto promedio de sólidos totales, de 91.93 % ST, a continuación se explica cómo se obtuvieron los resultados de ST, fue necesario un proceso de homogeneización que consistió en el corte de las hojas a un área aproximada de 2 cm², seguido de un proceso de trituración con un molino de café para reducir su tamaño de partícula y facilitar los procesos de hidrólisis que le continuaron.



Figura 5.5: Hoja de maíz cortada y molida.

5.3.3. Sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV)

Para realizar las pruebas de ST se utilizaron crisoles de porcelana que fueron marcados individualmente en la parte exterior de su base usando lápiz de grafito, esto no sólo para poder identificarlos, sino porque al ser un proceso donde estos son expuestos a altas temperaturas el marcarlos con plumón o tinta termina siendo inadecuado puesto que este tipo de tintas tienden a borrarse por las altas temperaturas manejadas durante los procesos de obtención de ST y SV. Una vez marcados los crisoles, fueron llevados a una estufa donde se mantuvieron a 105 °C por un tiempo mínimo de 2 horas para poder obtener el peso constante del material. Transcurrido este tiempo se extrajeron los crisoles de la estufa usando pinzas de metal y fueron colocados en un desecador, el cual es una cápsula con piedras de sílice en su parte inferior y que cuenta con una rendija de plástico o porcelana donde se colocan los crisoles o el material seco para que pudiesen ser transportados evitando ganar humedad del ambiente. Tras una espera aproximada de 10 minutos en lo que se enfriaron los crisoles en el desecador, estos se extrajeron y colocaron uno por uno en la balanza analítica para realizar el registro del peso de cada uno, esto manteniendo las precauciones de manipulación con pinzas metálicas y guantes para que se evitara, en lo mayor posible, la ganancia de humedad. La medición del peso fue repetida en un promedio de 4 veces por cada crisol para obtener un promedio de medición. Este proceso se realizó en todas las mediciones al salir de los hornos y estufas en el experimento.

Una vez se contó con el material seco se colocaron 10 g de biomasa en cada uno de los crisoles secos. En el caso del inóculo y el lirio acuático se utilizó una jeringa gruesa de 25 mL, sin su aguja, para poder colocar la masa correspondiente. Para la tilapia se utilizó una espátula pequeña, debido a que su consistencia de alta viscosidad y el hecho de que en la mezcla a veces aparecían pequeños trozos sólidos, la jeringa gruesa de 25 mL no era capaz de tomar o expulsar la muestra puesto que se atascaba. Finalmente, la hoja de maíz fue puesta igualmente usando una espátula debido a que se encontraba seca y debido a su baja densidad se utilizaron solamente 2 g de biomasa de hoja de maíz en lugar de los 10 g para las pruebas de ST y SV, pues el volumen que ocupaban 10 g de biomasa de hoja de maíz era mayor que lo que podían contener los crisoles utilizados. Una vez colocada la biomasa en los crisoles se volvieron a colocar dentro de la estufa a 105 °C pero ahora por un periodo de 24 horas. Transcurrido este tiempo, los crisoles fueron extraídos nuevamente de la estufa y colocados en el desecador usando las pinzas de metal. Se dejaron enfriar, se pesaron en una balanza analítica y se registró su peso, siendo este peso el peso de la muestra sin humedad, por lo que al restarle el peso sin humedad a el peso inicial del material y hacer una relación a 100 % se obtuvo el porcentaje de ST.

$$ST = \frac{\text{Peso seco de la muestra} - \text{Peso del crisol seco}}{\text{Volumen de la muestra}} \times 100 = \%ST \quad (5.1)$$



Figura 5.6: Crisoles en el horno a 105 °C.

Se debe de tener cuidado al momento de estar manipulando los crisoles, no sólo porque se pueden romper, sino porque es importante no contaminar la biomasa que llevan dentro, pues estos mismos crisoles con muestra seca fueron llevados a la mufla donde estuvieron a 550 °C por 20 minutos para obtener los SV. Esta vez, tras sacarlos de la mufla y pasarlos a pesar a la balanza analítica fue necesario tener en cuenta que el tiempo de enfriado es mayor, ya que por las altas temperaturas con las que se trabajó

5. METODOLOGÍA

puede ser peligroso tanto para la persona como para el equipo no llevar a cabo una manipulación correcta, por lo que es importante tener esto presente tanto al momento de retirar los crisoles de la mufla como para colocarlos en el desecador, ya que de hacerlo demasiado rápido se podría provocar un choque de temperatura y quebrar el crisol, (además de que si la base para crisoles del desecador no es de porcelana o algún material resistente al calor, como plástico, esta podría llegar a derretirse), podría causar daños a la balanza analítica o, en el caso más leve, mostrar una lectura inestable, pues debido a la aún alta temperatura presente en los crisoles y su contenido estos podrían condensar humedad del ambiente y terminar adquiriendo masa de este, igualmente es probable que tomen algo de humedad, pero de esta manera se evita que el error se extienda innecesariamente. Una vez obtenida y registrada la medición se completó el proceso: las cenizas que quedaron en los crisoles se trata de los minerales de las muestras, es decir, la materia inorgánica. Para conocer los SV se obtuvo el dato de la muestra que se volatilizó: aquella masa que se perdió entre los ST y la obtención de cenizas, es decir, la diferencia entre el peso del crisol con la muestra tras las 24 horas en el horno a 105 °C y el peso del crisol con la muestra tras los 20 minutos a 550 °C en la mufla.

$$SV = \frac{\text{Peso seco de la muestra} - \text{Peso de la muestra calcinada}}{\text{Volumen de la muestra}} \times 100 = \%SV \quad (5.2)$$

5.4. Pretratamiento: hidrólisis termoquímica

Para la realización de la hidrólisis termoquímica en la biomasa vegetal seleccionada se utilizó la siguiente metodología del NREL (69) para colocar ácido al 4 % del volumen total en la hidrólisis:

$$\left| \begin{array}{l} 300 \text{ mg de ST} \\ 3 \text{ mL de H}_2\text{SO}_4 \text{ al } 72 \% \\ 84 \text{ mL de agua} \end{array} \right.$$

Debido a la cantidad que se preparó, en cada frasco de vidrio borosilicato con tapa rosca de 250 mL, se colocó la cantidad descrita anteriormente por duplicado, es decir, 600 mg de ST, 6 mL de H₂SO₄ al 72 % y 168 mL de agua. Las cantidades fueron las correspondientes para mantener la relación de la solución en la que el valor final de la concentración del ácido sea de 4 % al volumen total.

Para conocer la cantidad de biomasa a colocar para tener 600 mg de ST se utilizó el valor obtenido de ST de la siguiente manera:

$$x = \frac{(6g)(100\%)}{\%ST_{\text{promedio}}} \quad (5.3)$$

Se tomó en cuenta la cantidad de agua, o humedad, que contiene cada biomasa. Dependiendo de cuanta biomasa se agregue para cumplir el valor de los 600 mg de ST se tuvo presente que también se estaba agregando agua a nuestro volumen final. Para esto se calculó la cantidad de agua que se agregó por la propia biomasa y posteriormente se restó esa cantidad a los 168 mL de agua por agregar de la metodología. Es decir, si nuestra muestra A tiene una cantidad de humedad X_{humedad} el proceso se realiza de la siguiente manera:

Siendo B la cantidad necesaria requerida para que de la muestra A se obtengan 600 mg de ST, entonces,

$$BA = 6gA_{ST}, \quad (5.4)$$

pero puesto que A contiene X de humedad entonces se tiene que

$$B(A + X_{\text{humedad}}) = BA + BX_{\text{humedad}} \quad (5.5)$$

por lo que a la cantidad de agua necesaria se le debe restar la cantidad BX_{humedad} , en este caso:

$$168g - BX_{\text{humedad}} = C \quad (5.6)$$

siendo C la cantidad de agua que se debe de agregar.

La tabla A.3 del anexo A.2 muestra la relación que se calculó para la preparación de los hidrolizados de lirio acuático y hoja de maíz tras realizar los cálculos correspondientes para el lirio acuático y la hoja de maíz. La tilapia no requiere un proceso de hidrólisis termoquímica al no ser una biomasa lignocelulósica.

5.4.1. Preparación del ácido

Para llevar a cabo la hidrólisis se llevó a cabo una adaptación de la metodología propuesta por el NREL para la obtención de azúcares libres (69) donde para preparar el H_2SO_4 al 4% del volumen total, primero se preparó una solución al 72%.

Para su preparación también se tuvo en cuenta la pureza del ácido H_2SO_4 utilizado.

El primer paso para la preparación del ácido fue calcular el 72% de acuerdo al volumen de trabajo (los 168 mL). El 72% fueron 120.96 mL de ácido y el resto, hasta los 168 mL, se completó con agua. Se utilizó la densidad del H_2SO_4 , $\rho_{H_2SO_4} = 1.83g/vol$ y la relación entre volumen, densidad y masa, con lo cual se obtuvo:

$$v = \frac{m}{\rho_{H_2SO_4}} = \frac{120.96 \text{ g}}{1.83 \text{ g/volumen}} = 66.0983 \text{ mL de } H_2SO_4 \quad (5.7)$$

Sin embargo, a pesar de ser ácido de alta pureza este tiene un cierto grado de dilución, por lo que fue necesario realizar una corrección a los cálculos anteriores. El

5. METODOLOGÍA

grado de pureza del ácido ocupado fue de 98.3 %, por lo que en este cálculo es expresado de la siguiente manera: $\eta_{\text{H}_2\text{SO}_4} = 0.983$, con esto fue posible calcular exactamente la cantidad de H_2SO_4 para obtener el 72 %:

$$v_{\text{real}} = \frac{\text{volumen mL}}{\eta_{\text{H}_2\text{SO}_4}} = \frac{66.0983 \text{ mL}}{0.983} = 67.2414 \text{ mL de H}_2\text{SO}_4 \quad (5.8)$$

Por lo cual la cantidad a agregar de ácido fue 67.2414 mL. Después se calculó la cantidad exacta de agua a colocar y debido a que el agua y el ácido tienen una densidad distinta fue necesario conocer la cantidad de masa que se había colocado con la cantidad de ácido agregada, por lo cual se volvió a utilizar la relación de masa, volumen y densidad para calcular la cantidad equivalente en gramos de H_2SO_4 , que se colocaron;

$$m = (v_{\text{real}})(\rho_{\text{H}_2\text{SO}_4}) = (67.2414 \text{ mL})(1.83 \text{ g/mL}) = 129.0518 \text{ g de H}_2\text{SO}_4 \quad (5.9)$$

mientras que el resto de masa debía ser de agua, por lo que simplemente se restó la masa de ácido total necesario, obteniendo así la masa de agua que se tuvo que agregar

$$v = 168 \text{ g} - 129.0518 \text{ g} = 38.9482 \text{ g de agua} \quad (5.10)$$

donde se toma la equivalencia $1\text{mL} = 1\text{g}$ de agua.

Con los cálculos listos se procedió a la preparación del ácido, teniendo en cuenta todas las medidas de seguridad necesarias; empezando por el hecho de que este tipo de procesos son reacciones exotérmicas, por lo que deben realizarse en una campana de extracción y con el equipo de protección adecuado. Una vez allí, se colocó primeramente el agua en los frascos, ya que colocar primero el ácido y luego el agua provoca que la solución reaccione inmediatamente expulsando vapor, además de que el ácido empiece a “saltar”. Después de que se colocó el agua se utilizó una pipeta de vidrio para agregar lentamente la cantidad de ácido calculada, ya que en caso de realizarlo demasiado rápido el calor de la reacción se produce de manera casi instantánea generando así ácido volátil en el aire, además de que el incremento brusco de la temperatura podría dañar el matraz de vidrio donde se esté haciendo la dilución.

Una vez se preparó el ácido al 72 % y se calculó cuánto había que poner de cada biomasa para tener los 6 g de ST de cada una para realizar la hidrólisis: se agregó dicha cantidad en el frasco, los 6 mL ácido sulfúrico al 72 % y los 168 mL de agua destilada. Este proceso se realizó la cantidad de veces necesaria para tener biomasa hidrolizada suficiente para los experimentos y en caso de requerir un mayor volumen se puede seguir la relación de las cantidades para mantener el ácido en una concentración total al 4 % del volumen total. Las cantidades necesarias de biomasa en g calculadas para el hidrolizado se muestran en la tabla A.4 del anexo A.2.

5.4.2. Proceso termoquímico

Para usar la autoclave portátil eléctrica (ALL AMERICAN Cap. 24 Lts) para la hidrólisis térmica se siguió el siguiente proceso:

1. Se revisó que el nivel del agua destilada que tenía la autoclave llegara a la marca de metal que tiene en la parte interior. Se añadió o sustrajo agua, en caso de ser necesario, para que el nivel de agua alcanzara esa marca. Una vez el agua destilada alcanzó el nivel correcto, se introdujo la rejilla y el recipiente interno de la autoclave.
2. Se colocaron los frascos con la biomasa y el ácido sulfúrico para la hidrólisis termoquímica dentro de la autoclave. Se tuvo cuidado de distribuir el peso para evitar que se desbalanceara la base y se revisó que los frascos se encontraran bien cerrados.
3. Se colocó la tapa de la autoclave siguiendo estos pasos: 3.a) la manguera de la tapa se insertó en la pequeña ranura del recipiente interior de la autoclave, 3.b) se colocó la tapa de la autoclave en la posición correcta usando la flecha guía haciéndola coincidir con la marca en la parte externa del autoclave, 3.c) antes de ajustar los tornillos se revisó que los 3 ganchos de seguridad de la tapa se encontraran en su sitio al mismo tiempo, 3.d) finalmente se ajustaron los tornillos de manera simétrica y simultánea, es decir, ajustando uno y su correspondiente al lado contrario simultáneamente para lograr el sellado correcto.
4. Se encendió el interruptor y se colocó la perilla de control entre los números 7 y 8, se levantó la válvula para expulsar el aire atrapado y se regresó a su posición tras 5 minutos, por precaución se realizó esto con un guante resistente al calor.
5. El proceso de hidrólisis se realizó a una temperatura promedio de 121°C y 15 psi, para esto fue necesario esperar a que la aguja del barómetro llegara a la zona verde y ahí empezar a girar la perilla a un número más bajo, en el caso de la autoclave utilizada se tuvo que estar moviendo la perilla entre los números 4 y 6, vigilando que el medidor de presión y temperatura se mantuviera en la zona verde. La metodología utilizada requiere de una hora de hidrolizado. La hora comienza a contar a partir de que se alcanza la zona verde del medidor.
6. Pasada la hora se bajó la perilla al mínimo. Tras un par de minutos se apagó y se desconectó el autoclave. Enseguida se realizó una espera de 30 minutos para asegurar que era seguro abrir la autoclave.
7. Con ayuda del guante resistente al calor y una espátula metálica, cuidadosamente se abrió la válvula para expulsar el vapor y romper el vacío (teniendo la debida precaución y colocándose al lado opuesto de la válvula para evitar recibir el vapor expulsado). Utilizando la misma espátula metálica se hizo palanca para separar la tapa luego de aflojar los tornillos. Se tuvo mucho cuidado en todo momento

5. METODOLOGÍA

de no tocar directamente con las manos el exterior de la autoclave mientras se encontraba a altas temperaturas.

8. Se retiró la tapa y con ayuda de guantes resistentes al calor, se sacaron los frascos con el contenido hidrolizado.



Figura 5.7: Fotografía de la autoclave del laboratorio de Bioenergía.

Una vez fuera de la autoclave, los frascos se dejaron reposar hasta temperatura ambiente para continuar con su manipulación, ya que con temperaturas altas aún puede haber expulsión de vapores nocivos al respirarlos.

5.4.3. Neutralización del pH del hidrolizado

Debido al proceso de la hidrólisis termoquímica el pH de las biomásas se encontraba en el rango 0 de la escala de pH, por lo que para ser utilizada para la digestión anaeróbica y evitar la inactivación del inóculo a pH ácido, se neutralizó hasta encontrarse en un valor de pH entre 6 y 7. Para lograrlo, se utilizaron perlas de hidróxido de potasio que se fueron depositando en la solución con la biomasa y se revolvieron con una varilla de vidrio para que se disolvieran. Las perlas fueron sacadas de su bote contenedor usando una espátula pequeña de metal y pesándolas en charolas de plástico, para así conocer la cantidad que se fue agregando. Es recomendable que se agreguen de poco a poco las perlas, además de revisar constantemente el pH con las con tiras indicadoras de pH ya que, aunque no parezca cambiar de rango de pH, la reacción de cambio puede darse de golpe y subir el pH de un momento a otro sobrepasando el rango buscado. Una de las características a las que se debe prestar atención, ya que nos puede servir de referente, es el cambio de color de la mezcla, que tiende a oscurecerse cuando deja de estar en

rango ácido, además de que la temperatura del hidrolizado comienza a aumentar. Se debe tener cuidado con el incremento de temperatura dado sus contenidos de ácido y el peligro de inhalar los vapores que desprenda. En las fotografías 5.8 y 5.9 se puede observar el cambio de color de los hidrolizados de lirio acuático antes de ser neutralizado, se puede observar que aún después de pasar una hora en el autoclave se conserva el color verde del lirio con unos atisbes de amarillo quemado cerca de sus bases, sin embargo una vez neutralizado ese color verde ha pasado por completo a marrón.



Figura 5.8: Fotografía de los frascos de lirio acuático hidrolizado antes de neutralizar el pH.



Figura 5.9: Fotografía del lirio acuático hidrolizado tras neutralizar su pH a 6-7 con perlas de hidróxido de potasio.

5.5. Preparación de los biodigestores

Para el armado de los biodigestores primeramente se realizaron nuevamente los experimentos de obtención de ST y SV de las muestras que fueron hidrolizadas, ya que a lo largo de este proceso se les terminó agregando agua, ácido y sales para la neutralización de pH, por lo que el nivel de humedad en las muestras había cambiado, así que para conocer los SV del lirio hidrolizado y la hoja de maíz hidrolizada se juntaron los frascos de 300 mL de cada una de estas biomasa en un vaso de precipitados de 1 L para cada una y así homogeneizar lo más posible cada hidrolizado. De estos vasos de precipitado se extrajeron 4 muestras de 10 mL para realizar la obtención de ST y SV de cada biomasa.

En el caso de este experimento se siguió la relación de 0.5 entre el inóculo y la biomasa. Al contar con biodigestores con un volumen líquido de 80 mL se siguió la metodología de colocar en cada biodigestor 0.8 g de SV de inóculo y 0.4 g de SV de biomasa a degradar, pudiendo ser esta última la mezcla de una o más biomasa de las elegidas, es decir:

$$\frac{X \text{ g de SV de biomasa a degradar}}{Y \text{ g de SV de inóculo}} = 0.5 \quad (5.11)$$

Una vez obtenidos los datos actualizados de los SV de las biomasa que se utilizaron se realizó una conversión para poder conocer los g de SV por cada g de biomasa, esto con el fin de facilitar el armado de los biodigestores dado que, debido a la alta densidad y presencia de segmentos sólidos en biomasa como el inóculo, la hoja de maíz y la tilapia, colocarlos en el biodigestor únicamente con jeringas terminaría siendo complicado y tardado, ya que a pesar de utilizar jeringas gruesas estas se terminan obstruyendo, por lo que fue mejor conocer la cantidad en gramos que se debía agregar de cada una. Tras obtener la equivalencia de g de SV por g de biomasa se utilizó este dato para hacer los cálculos necesarios para agregar las cantidades de materia orgánica en cada biodigestor.

- *Elección de las concentraciones para los biodigestores*

Debido a las limitaciones del laboratorio se presentaron complicaciones para la obtención de los contenidos de C, N y grasas. En la sección de anexos [A](#), [A.1.2](#) y [A.1.1](#) se detallan distintas metodologías llevadas a cabo para analizar la biomasa. Para continuar con el experimento a pesar de las complicaciones mencionadas se corrió el experimento eligiendo 9 variaciones de concentración de las diferentes biomasa elegidas: comprendiendo desde el uso del inóculo sólo como biodigestor testigo, el uso de una sola biomasa y el inóculo, hasta diferentes mezclas entre las biomasa disponibles con su inóculo correspondiente. Esto con la intención de observar el comportamiento de la producción de biogás ante las variaciones de cantidad de la biomasa que sirvió de alimento al inóculo.

En la siguiente tabla se muestran las condiciones elegidas con las que dichos biodigestores se armaron, cabe destacar que cada biodigestor contenía 0.8 g de SV de inóculo.

Tabla 5.1: Características iniciales de los biodigestores, contenido de biomasa elegido para cada biodigestor.

Nombre clave del biodigestor	% Lirio acuático hidrolizado (LAH)	% Hoja de maíz hidrolizada (HMH)	% Tilapia (T)
A	100	0	0
B	75	25	0
C	75	12.5	12.5
D	50	50	0
E	12.5	75	12.5
F	25	75	0
G	0	100	0
H	0	0	100
I	0	0	0

Con las concentraciones definidas en la tabla 5.1 y los SV por gramo de biomasa, se pueden observar en la tabla 6.1, se realizaron los cálculos necesarios para cumplir con las concentraciones elegidas, de manera que cada biodigestor contenía los gramos de biomasa necesarios para tener los 0.4 g de SV de materia orgánica dividido en las proporciones correctas de las diferentes mezclas elegidas para el experimento cumpliendo así con las proporciones de SV de la tabla 5.1. A su vez, cada biodigestor contenía 17.81 g de inóculo para poder tener los 0.8 g de SV.

Durante la elaboración de la tabla y los biodigestores se tuvo en cuenta la cantidad de humedad y minerales agregados por las propias biomásas en cada caso.

Una vez que se calculó la cantidad de biomasa que se debía colocar en cada biodigestor para cumplir con los requisitos de la tabla 5.1 se multiplicó dicho resultado por 5.25 veces aproximadamente, para tener 5 réplicas en cada condición inicial: 4 que correrían el experimento simultáneamente a lo largo de los días que este duró y la última replica para la realización un análisis completo de condición inicial a cada una de las 9 concentraciones elegidas, mientras que el 0.25 extra fue para que no quedara muy justo a la hora de preparar la biomasa y que esta no fuera a faltar por quedarse pegada en las paredes de algún recipiente o material a la hora de ser manipulados.

5.5.1. Armado de los biodigestores

Para poder situar los 0.8 g de SV de inóculo en los biodigestores se colocó el biodigestor sin tapa en la báscula y utilizando una jeringa gruesa de 12 mL, sin su aguja, se tomó el inóculo de su recipiente y se agregó la cantidad adecuada, en este caso los 17.81 g. Realizando lo anterior como primer paso para todos los biodigestores, puesto que todos contenían la misma cantidad de inóculo. Después, se agregaron las demás biomásas en su cantidad calculada. Para las concentraciones combinadas entre LAH y HMH lo que se hizo fue tomar el cálculo completo de sus biomásas (el multiplicado por 5.25) y fueron mezclados dentro de un vaso de precipitados agitando vigorosamente con una varilla de vidrio para asegurar que la mezcla de biomásas siguiera la relación de mezcla correspondiente de la manera más homogénea posible entre los duplicados que se hicieron, esto con el fin de evitar variaciones críticas entre ellas. Por su parte, debido a la cantidad tan pequeña de tilapia que se ocupó, esta se agregó cuidadosamente usando una pequeña espátula de metal, sirviendo la cantidad necesaria en una charola de pesaje de plástico y pesándola en la balanza analítica. Finalmente, tras realizar las mezclas se colocó el peso correspondiente a la cantidad de biomasa que se le debía de agregar a cada biodigestor y finalmente se les colocó una etiqueta, para identificar a cada uno de ellos. Una vez todos los biodigestores fueron llenados, con 0.8 g de SV de inóculo y 0.4 g de SV de su biomasa a degradar correspondiente, se aforaron a la marca de 80 mL cada uno.

Cuando todos los biodigestores estuvieron listos, fue necesario introducir un gas noble para poder desplazar fuera el oxígeno presente en el espacio libre del biodigestor y que se alcanzase la condición anaerobia rápidamente. Para este proceso se utilizó el tanque de nitrógeno (N_2), se bajó y se comprobó la presión de salida del gas poniendo la manguera dentro de un vaso con agua y apuntando verticalmente, cuando se observó que la presión de salida era la adecuada, pues ya no salpicaba agua fuera del vaso, se procedió a gasificar cada biodigestor durante un minuto y colocando inmediatamente un tapón de goma mientras se gasificaba el siguiente biodigestor. Cada tapón de goma fue sellado con una argolla de aluminio con el centro hueco para poder realizar la medida de presión con un manómetro con sus puntas adaptadas mediante agujas delgadas.

Terminado el proceso se llevaron todos los biodigestores (excepto aquellos elegidos como muestra testigo del estado inicial) a la estufa donde se ajustó una temperatura constante de 35 °C, la cual se comprobó con un termómetro de mercurio. Los biodigestores se mantuvieron dentro de la estufa a temperatura constante a lo largo de los 60 días del experimento de digestión anaerobia (DA) que duró el experimento. Una DA suele tener una duración mínima recomendada de 40 días y máxima de 3 meses.

Los biodigestores se colocaron como se muestra en la figura 5.10 y, tras agitarlo manualmente cada uno de ellos, se cerró la puerta del horno y se consideró como iniciado el proceso de DA.



Figura 5.10: Fotografías de la colocación de los biodigestores en el horno

5.6. Caracterización de los biodigestores

Mientras que los biodigestores destinados a continuar su proceso de producción de biogás se encontraban en el horno, los biodigestores de condiciones iniciales habían sido colocados en el refrigerador de manera que no se alterase esta condición inicial y se les realizó su caracterización lo antes posible.

Primero que nada se revisó que el pH se mantuviera en el rango óptimo de 6.5 ~ 7, todos presentaron un rango dentro del óptimo. Después, se procedió a realizarles las pruebas de fósforo, DQO, amonio y nuevamente pruebas de ST y SV, para tener una comparativa sobre los cambios al final del experimento.

La obtención de los ST y SV se realizó agitando las muestras y tomando 10 mL de cada biodigestor, y posteriormente siguiendo la metodología descrita anteriormente. Por su parte, para las demás pruebas, fue necesario realizar diluciones debido a la alta concentración que tienen las biomasas utilizadas, utilizando agua destilada hasta que la muestra se viese transparente, de lo contrario la muestra se presentaría tan saturada

5. METODOLOGÍA

que los reactivos a utilizar marcarían colores tan fuertes que se encontrarían fuera del rango de medición del espectrofotómetro y por lo tanto no podrían ser medidos. Gracias a la dilución de la muestra se pudo medir correctamente con el espectrofotómetro y el valor real se obtuvo al realizar el ajuste de dilución correspondiente.

Para calcular el factor de dilución correspondiente se tiene que llevar un buen control sobre las cantidades de activo y agua destilada que se está agregando. De manera que las diluciones realizadas tomando una cantidad X de muestra utilizando alguna jeringa o probeta, dependiendo de la cantidad de muestra a utilizar, posteriormente se colocan en un matraz aforado de volumen Y que después es aforado con agua destilada, se coloca el tapón, se agita la mezcla y se vacía en otro matraz, correspondiendo así a una solución con dilución:

$$Y \div X = C \quad (5.12)$$

en caso de necesitar más diluciones después de la primera se prosigue tomando D de la muestra C y se lleva a un matraz nuevamente, supongamos que este matraz es para aforar a un Volumen E, entonces

$$E \div D = F \quad (5.13)$$

Y para obtener la dilución resultante es necesario multiplicar las diluciones entre ellas, es decir:

$$CF = G \quad (5.14)$$

donde G es la dilución resultante.

Por ejemplo, si se toman 5 mL de muestra original y se diluyen en un matraz de 50 mL la dilución resultante será: $50 \div 5 = 10$.

5.6.1. Mediciones de fósforo

Para el caso de la medición de fósforo se siguieron los pasos de determinación de fósforo total presentado en el trabajo de L. Vargas (44) en el que se ocupa el método de colorimetría de Solórzano (45). Para iniciar se realizó una dilución de 1:250, para lo cual primero se aforaron 5 mL de muestra en un matraz aforado de 50 mL, tras esa dilución 1:10 se tomaron 2 mL con una micropipeta, con las que se debe tener su respectivo cuidado respecto a las puntas utilizadas y designar una para cada muestra ya que de lo contrario se podrían contaminar y alterar la medición, después de esto se aforó nuevamente el matraz de 50 mL, obteniendo así la dilución 1:250.

Una vez que la muestra diluida estuvo lista, se usó una micropipeta de 5 mL para depositar 30 mL de la solución diluida en un matraz Erlenmeyer de 200 mL para cada dilución de las muestras, se les agregó 0.4 g de persulfato de amonio y 1 mL de solución de H₂SO₄ a cada uno, se taparon con un tapón de algodón y se llevaron a la autoclave, acomodándolos de manera balanceada, como se muestra en la figura 5.11. Una vez

encendida la autoclave se contaron 25 min a partir de que el indicador marcó 121 °C y 15psi.

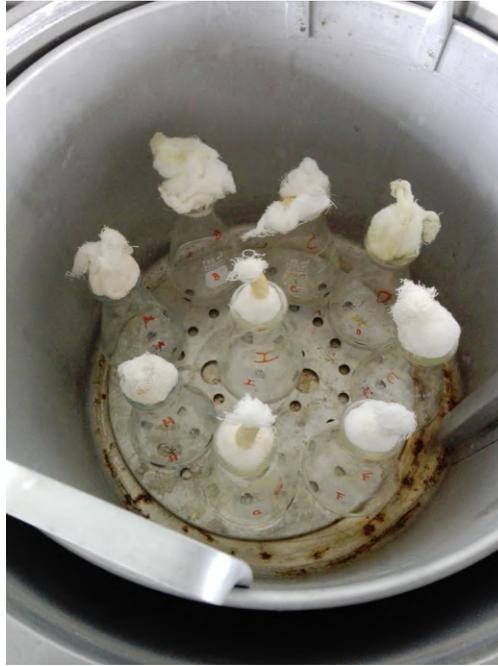


Figura 5.11: Matrices para la prueba de fósforo dentro de la autoclave.

Para medirlas en el espectrofotómetro fue necesario utilizar vanadato-molibdato, por lo que se preparó el reactivo de la siguiente manera:

1. Para la solución A: en 300 mL de agua destilada se pesan 25 g de molibdato de amonio ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), se agita hasta disolver.
2. Para la solución B: se colocan en otros 300 mL de agua destilada, 1.25 g de metavanadato de amonio (NH_4VO_3), se disuelven y se lleva a ebullición la solución. Una vez llegada al punto de ebullición se apaga la parrilla para dejar enfriar.
3. Una vez se enfrió la solución B se vierte dentro de un matraz de 1 L, se le agregan poco a poco, dentro de la campana de extracción, 330 mL de ácido clorhídrico (HCl) y después se le comienza a vertir la solución A.
4. Se afora con agua destilada hasta la medida de 1 L para diluir la solución.

Como dato adicional, cabe destacar que es posible utilizar H_2SO_4 , HClO_4 o HNO_3 en lugar de HCl ya que el tipo de ácido utilizado no es crítico para la medición.

5. METODOLOGÍA

Tras haber sacado las muestras de la autoclave y dejarlas enfriar, se tomaron 20 mL que se colocaron en matraces de 50 mL donde se les agregó 10 mL de vanadato-molibdato. El blanco para el espectrofotómetro se preparó colocando únicamente 10 mL de vanadato-molibdato en el matraz de 50 mL. Finalmente se aforaron todas las muestras y el blanco utilizando agua destilada.



Figura 5.12: Muestras para la medición de fósforo listas para ser medidas en el espectrofotómetro.

Las muestras se tornaron de un color amarillento pálido entre mayor concentración de fósforo contuviesen. En caso de que la muestra resultase saturada el color se mostraría intenso y es muy probable que dicha muestra no entre en el rango de medición, el espectrofotómetro marcará error y será necesario repetir todo el proceso con una mayor dilución inicial para la muestra en cuestión.

Para el uso del espectrofotómetro fue necesario ponerlo en modo de cuantificación y ajustarlo en modo de lectura a 400 nm. Se usaron dos celdas de cuarzo, sujetándolas del modo correcto: por los lados donde cuentan con una superficie rugosa que indica que esos son los lados de sujeción. Para la lectura del blanco, se necesitó de aclimatar la celda, esto es: lavar cada celda 3 veces con la solución blanco, en cada ocasión se descartaba la solución usada para aclimatar en los desechos para sustituirla por solución nueva. Una vez aclimatada la celda se tomó la medición del blanco en el espectrofotómetro y se continuó con las siguientes muestras. Para la lectura de las muestras, se tomó la celda de lectura, se lavó con agua destilada y se aclimató con la muestra a leer 3 veces antes de medirla.

Una vez tomada la medición se repite el proceso para cada muestra que tengamos, anotamos la absorbancia obtenida que después ajustaremos con el factor de dilución.

Finalmente y con cuidado se limpiaron las celdas y los desechos, junto con lo que

llegó a quedar de las muestras. Las cuales fueron desechadas en el contenedor adecuado en el laboratorio.

5.6.2. Mediciones de demanda química de oxígeno

Para poder realizar las mediciones de DQO por Método de reflujo cerrado y medición colorimétrica (70) se utilizaron: tubos de ensayo preparados especialmente para esta medición *Solución de digestión para COD 20-1500 mg/l* (en la figura 5.13 se puede observar una fotografía de estos tubos de ensayo), el digestor *HATCH DRB200* para realización del proceso térmico de estos tubos de ensayo para pruebas de DQO y el fotómetro lector de DQO *HATCH DRB900*, el cual debido a las características de las biomazas a medir fue usado en modo de lectura de DQO de rango alto.



Figura 5.13: Fotografía de los tubos de ensayo preparados para pruebas de DQO.

Se comenzó con la medición tomando 2 mL de muestra adecuadamente diluida, en el caso de la toma de la medición de las biomazas en su estado base, es decir, sin ningún hidrolizado, se utilizaron diluciones 1:250, la medición de las muestras provenientes de los biodigestores se utilizó una dilución 1:100, debido a que se esperaba que estos valores fuesen menores por el proceso de DA. Se empleó la micropipeta con el debido cuidado de no mezclar las puntas entre las distintas muestras, y se colocaron 2 mL de muestra en cada frasco de solución de DQO, mientras que el blanco se realizó colocando 2 mL de agua destilada en la solución de DQO. Se taparon y marcaron las tapas de cada frasco y se les dio una ligera agitación manual. Se tuvo cuidado de tomar los tubos de la parte inferior puesto que la reacción que ocurre es exotérmica y los calienta rápidamente. Se colocaron en el digestor de DQO modelo *HATCH DRB200*, durante 2 horas, en la figura 5.14 se puede ver una fotografía del digestor de DQO con algunos tubos de ensayo en él.

5. METODOLOGÍA



Figura 5.14: Fotografía del digestor de tubos para pruebas de DQO.

Una vez pasado ese tiempo, fueron extraídos con cuidado y se colocaron en gradillas de metal para su enfriamiento, como se observa en la figura 5.15. Cuando se enfriaron se utilizó el colorímetro portátil *HATCH DR900* en el modo DQO de alto rango. Se dio una ligera agitación manual a cada tubo antes de realizar la medición, teniendo cuidado de que no se levantara el material precipitado al fondo. Se registró primero el blanco y luego se fueron midiendo y registrando los demás tubos para cada muestra, en las figuras 5.16 y 5.17 se muestran los tubos de ensayo y como son insertados en el medidor del colorímetro.



Figura 5.15: Tubos de ensayo de DQO enfriándose en una gradilla metálica.



Figura 5.16: Tubo de DQO listo para la medición.

5. METODOLOGÍA



Figura 5.17: Toma de medición de los tubos de DQO en el colorímetro portátil.

Finalmente, para obtener el valor de DQO de las muestras se corrigió el valor medido utilizando el factor de dilución correspondiente a la muestra.

5.6.3. Mediciones de Amonio

Siguiendo la metodología colorimétrica del Indofenol o metodología de Solórzano (45), para esta medición se utilizaron matraces Erlenmeyer de 125 mL donde se colocaron 50 mL de muestra, recordando que para que las muestras no se encuentren saturadas es necesario que estas se encuentren casi cristalinas, por lo que, si se requiere, se deben de realizar diluciones correspondientes, en este caso se utilizaron diluciones de 1:250 hasta 1:1000, el blanco de esta prueba se realizó utilizando 50 mL de agua destilada.

Para esta reacción se requirió una solución oxidante preparada al momento, la cual se preparó de la siguiente manera utilizando la micropipeta para poder ser lo más exacto posible en cuanto a la proporción de sus componentes:

1. Poner en un vaso de precipitado 20 mL de solución alcalina
2. 5 mL de cloro comercial (hipoclorito de sodio).

Ésta solución se preparó teniendo en cuenta la cantidad que se utilizaría, en caso de requerir más de 20 mL se debe de seguir la proporción de sus reactivos hasta obtener

la cantidad necesaria, (tener en cuenta que prácticamente es necesario un sobrante de mínimo unos 5 mL de lo que se ocupará, pues hacerlo exacto podría presentar problemas para tomar los últimos mL de solución del recipiente).

Después de esto se colocaron los siguientes reactivos teniendo especial cuidado de seguir el orden a continuación:

1. 2 mL de nitroprusiato de sodio ($\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (50 %)), preparado en el laboratorio, a cada frasco para intensificar el color azul de la reacción buscada.
2. Después, 2 mL de fenol al 10 %, el cual se preparó en un frasco de vidrio diluyendo fenol con etanol.
3. Finalmente, 5 mL de la solución oxidante preparada anteriormente.
4. Ya con todos los reactivos, las soluciones fueron llevadas a reposar por 90 minutos en la campana de extracción, debido a que el fenol es un solvente orgánico volátil, por lo que se debe de tener cuidado de no aspirar los vapores expulsados.

Tras el reposo de 90 minutos se hizo notable la ganancia de color azul en cada muestra, apreciable en las figuras 5.18 y 5.19, también se pudo notar que a los frascos se les colocó su tapón para cerrarlos y evitar que hubiese vapores siendo expulsados al aire fuera de la campana de extracción.



Figura 5.18: Preparación de las muestras de amonio, fotografía tras los 90 minutos de reposo con los reactivos.

5. METODOLOGÍA

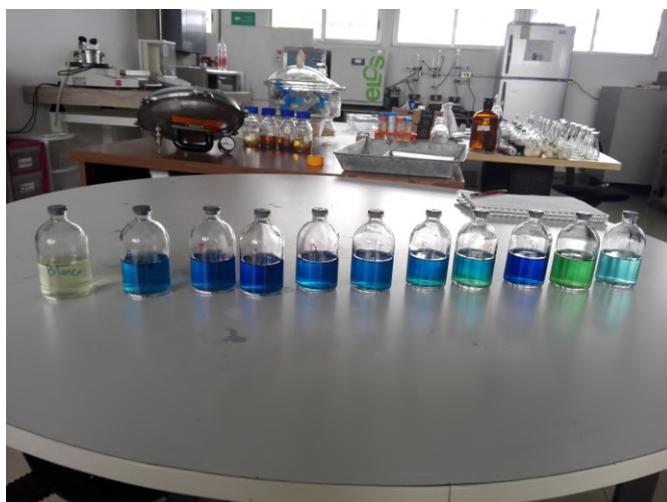


Figura 5.19: Fotografía de las muestras listas para la medición de amonio.

Se procedió a llevar las muestras al espectrofotómetro donde fueron leídas a 640 nm. El espectrofotómetro se colocó en el modo de cuantificación y se utilizó una curva estándar establecida previamente en el laboratorio de Bioenergía por la Dra. Laura Vargas. Para la obtención del valor correcto se realizó la corrección respecto al factor de dilución de cada una de las muestras.

El proceso de medición de las muestras en el espectrofotómetro, fue básicamente el mismo descrito en la parte de las mediciones de fósforo: se tomó primero el blanco para señalarlo en la medición y posteriormente se fueron midiendo las demás muestras, cada una de ellas teniendo en cuenta el lavado, enjuagado y aclimatación de la celda de cuarzo en cada muestra.

5.6.4. Medición de producción de gas en los biodigestores a través de la diferencia de presión

Para realizar las mediciones de producción de gas de cada biodigestor que fue colocado en el horno a 35°C, se utilizó un manómetro digital como el que se muestra en la figura 5.20, se seleccionó el modo “DIF” para que midiera la diferencia en kPa entre los dos medios a medir, siendo en este caso la diferencia de presión entre la presión atmosférica y la presión ejercida por la acumulación de gas dentro de cada biodigestor.



Figura 5.20: Manómetro digital.

Para realizar la medición, una de las dos mangueras de salida se dejó abierta directamente al medio ambiente, mientras que la punta de la otra salida se adaptó su punta, utilizando una punta de jeringa para insulina ultra fina de 0.06 mm, la cual fue cortada aproximadamente a 0.5 cm del inicio del tubo y luego introducida al extremo de la otra salida del manómetro digital, esto empujándola lo más posible para que no hubiese fugas, como se observa en el diagrama de la figura 5.21. De manera que la salida sin adaptar midió la presión atmosférica y la otra pudo ser introducida por la goma del tapón de cada biodigestor para conocer así la diferencia de presión entre ambos medios.

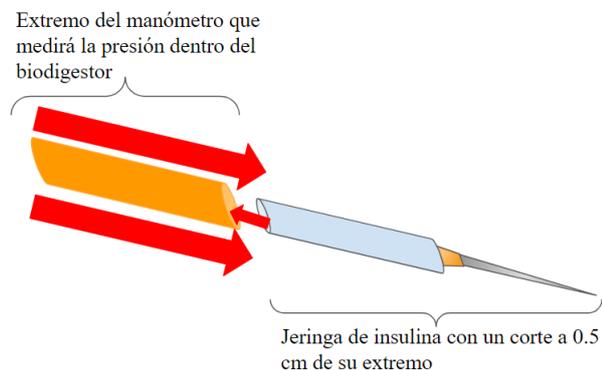


Figura 5.21: Introducción de la punta de la jeringa de 0.06 mm en la salida del manómetro designada para medir la presión del biodigestor.

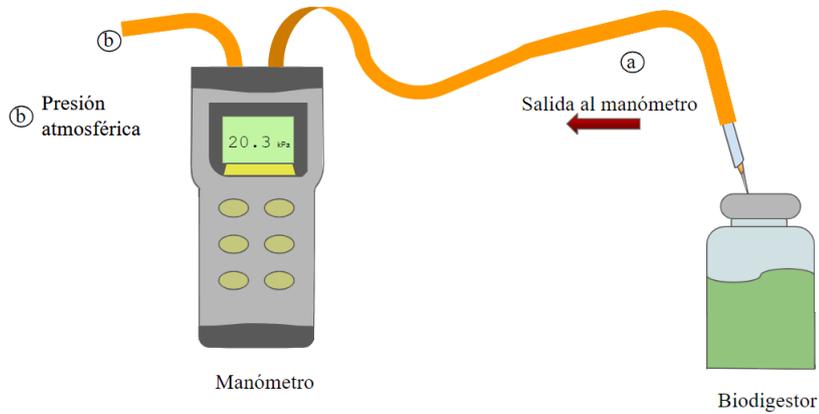
5. METODOLOGÍA

Una vez armada, se insertó cuidadosamente la punta de la jeringa sobre la goma que sella el biodigestor y se obtuvo la diferencia de presión, primera parte del diagrama de la primera parte de la figura 5.22, dicha presión medida es lo que hubo de producción de biogás dentro del biodigestor durante ese tiempo.

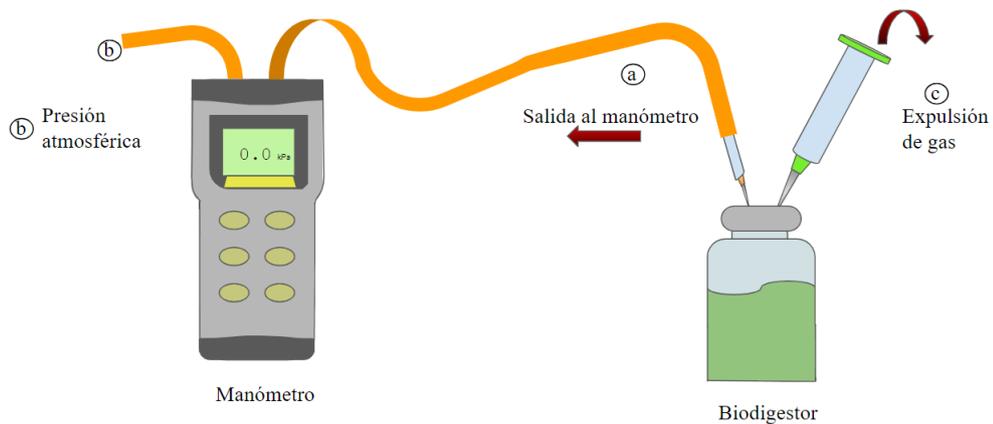
Después de medir la presión obtenida en el biodigestor, fue necesario expulsar el gas producido, de manera que en 24 horas se obtenía una nueva medición de producción de biogás. Es importante realizar las mediciones cada 24 horas principalmente en los primeros días, ya que no sólo suele obtenerse una mayor cantidad de gas, sino que es importante para poder realizar la gráfica de volumen de biogás acumulado.

Para el proceso de liberar la presión se ocupó una jeringa de 1 mm sin su émbolo, aunque también puede hacerse utilizando sólo la aguja. Tras tomar la medida de diferencia de presión no se sacaba inmediatamente la aguja de 0.06mm, se introducía la aguja de 1 mm y no se sacaba ninguna de las dos hasta que la diferencia de presión obtenida fuera de 0.0 kPa. Esta posición se puede observar en el diagrama de la segunda parte de la figura 5.22 donde se pueden ver ambas puntas insertadas.

Una vez terminada la medición se les daba una agitación manual vigorosa a cada biodigestor y se regresaban a su sitio. Este proceso se repitió con cada uno de los biodigestores cada 24 horas a lo largo de los 60 días que duró el experimento. La medición cada 24 horas fue necesaria durante el primer mes y posteriormente cada 48 o 72 horas dependiendo de como se observó la curva de la producción del volumen de gas acumulado y si en esta se apreciaba que la producción de gas se encontrase en su estado estacionario.



Primera parte: Obtención de la diferencia de presión entre el interior del biodigestor y la presión atmosférica.



Segunda parte: Liberación al ambiente del biogás acumulado hasta que la diferencia de presión sea 0.0 KPa.

Figura 5.22: Esquema para la toma de producción de gas.

5.6.5. Cálculo para conocer la producción de biogás

Para conocer la producción de biogás se utilizó la ley de gases ideales:

$$Pv = nRT \quad (5.15)$$

donde el primer paso es conocer la cantidad de moles formados en el volumen de gas

5. METODOLOGÍA

que queda en el biodigestor, por lo cual fue necesario despejar n de la ecuación utilizando los siguientes valores para las variables: la presión P siendo la tomada por el manómetro al hacer la medición y expresada en kPa, T corresponde a la temperatura constante a la que se encontraban los biodigestores en Kelvin, es decir $T = 35^{\circ}\text{C} = 308.15\text{ K}$ y el volumen v serán los 40 mL que quedan en los biodigestores de 120 mL que puede ocupar el biogás producido, ya que de esa capacidad se han ocupado 80 mL en el llenado del biodigestor con el inóculo y la biomasa a degradar, finalmente, la R se refiere a la constante de los gases ideales $R = 8.314\text{ kPa/molK}$ y n son el número de moles de biogás, por lo cual fue necesario despejar esta última para poder conocer así la producción que se fue generando, a continuación se muestra el resultado de este despeje:

$$n = \frac{Pv}{RT} = \frac{P_{\text{manómetro}} v_{\text{espacio para gas}}}{(8.314\text{ kPa/molK})(308.15\text{ K})} \quad (5.16)$$

Una vez conocido el número de moles de biogás es posible calcular el volumen en mL de biogás producido e ir haciendo la gráfica del biogás acumulado a lo largo del experimento. Lo que se necesitó fue despejar de la siguiente manera la ecuación de los gases ideales normalizando a condiciones estándares de presión y temperatura:

$$v = \frac{nRT}{P} \quad (5.17)$$

tomando ahora el valor P como la presión a 1 atmósfera y la temperatura T a 0°C , es decir, el valor de $P = 101.325\text{ kPa}$ y $T = 273.15\text{ K}$, siendo n el número de moles calculados anteriormente y R manteniendo su valor, pues es la constante de los gases ideales.

De esta manera se pudo conocer la producción de volumen normalizado de biogás en cada biodigestor cada día de medición, por lo que al ir sumando las producciones diarias en orden se realiza la gráfica de producción de biogás acumulado.

Sin embargo, para conocer el rendimiento de cada mezcla y su aportación a la generación de biogás, sin el biogás producido por la propia degradación del inóculo, se realizó la resta del volumen normalizado promedio generado en los biodigestores testigo, los cuales contenían únicamente inóculo en su interior, a cada producción del día. Por lo que al sumar, ahora sí, cada una de estas mediciones ajustadas se pudo conocer la producción de biogás acumulado de cada biodigestor aportada por cada mezcla de biomasa generando una gráfica en la que en el eje X tenemos el tiempo en días transcurridos y en el eje Y el volumen de biogás acumulado en mL.

5.6.6. Caracterización de los biodigestores resultantes

Una vez terminados los experimentos, en este caso 60 días, se llevaron los biodigestores al refrigerador y se fueron realizando nuevamente las pruebas de caracterización de:

- Calidad de pH, para revisar que se haya mantenido de manera óptima.

- ST y SV, para conocer la cantidad de materia degradada en promedio a lo largo del proceso.
- Fósforo, amonio y DQO, para comparar los valores iniciales y los finales del proceso.

todos siguiendo los mismos procesos descritos anteriormente para la caracterización de los biodigestores iniciales.

Para esto fue necesario tener mayor organización acerca de la capacidad que los equipos podrían ofrecer y del tiempo que tomaban realizar las pruebas del laboratorio, utilizándolos de la manera más eficiente y, con todo lo aprendido, aprovechando el tiempo. Por ejemplo, iniciar con las mediciones de ST y SV y en las 24 horas que se toman las muestras en el horno ir haciendo también las pruebas de fósforo, amonio y DQO, utilizando las diluciones adecuadas y en cantidades suficientes para llevar a cabo los procesos casi de manera simultánea, aprovechando los “tiempos muertos” de un proceso para llevar a cabo otros. De esta manera los biodigestores fueron medidos con la menor alteración de sus características provocadas por el tiempo. Al dejarlos en el refrigerador se evita que las bacterias metanogénicas que hubiesen llegado a quedar continuaran con su proceso de degradación. El proceso de medir todos los biodigestores es pesado y son muchos días, pero con una organización adecuada se puede realizar en corto tiempo.

Resultados y Discusión

Como se mencionó en la metodología, debido a diversas dificultades no fue posible caracterizar la biomasa de acuerdo al contenido exacto de C y N, sin embargo la caracterización de la biomasa se llevó a cabo con pruebas de ST, SV y de determinación de concentración de DQO, amonio y fósforo.

El contenido exacto de carbono y nitrógeno no pudo ser obtenido debido a problemas técnicos con los equipos para su análisis. Primeramente se intentó realizar un barrido de electrones, el proceso es descrito en el anexo [A.1.2](#), sin embargo el área de análisis abarcaba únicamente una superficie entre 600 μm y 1 mm por lo cual no podía ser considerada como muestra representativa, principalmente debido a que las biomásas a pesar de encontrarse licuadas y secas no tenían un comportamiento homogéneo, por lo que, usando de ejemplo la tilapia, se podía estar midiendo en dicha área una parte de estructura ósea y en otra víscera, por lo que los elementos y su concentración presente variaba en cada medición. Sin embargo, de esta medición por barrido de electrones se pudieron encontrar algunos datos interesantes, como la presencia de metales en las biomásas extraídas directamente del canal de Xochimilco (la tilapia y el lirio acuático), lo cual pudo haber influido en la rapidez en la que se presentó la inhibición de la producción de los biodigestores, pues elementos como el Na, Mg, Cl, pueden afectar la eficiencia de producción de biogás (71), sumado a que la presencia de estos elementos junto a un incremento de temperatura aumentan el nivel de toxicidad en el sistema de DA, pues al tratar con compuestos que pueden considerarse como tóxicos estos aumentan su solubilidad al incrementar la temperatura volviéndose potencialmente más tóxicos para el sistema (29).

Otra de las mediciones realizadas con resultados a destacar se encuentra la obtención de grasas en la tilapia, presentada en el anexo [A.1.1](#), la cual presentó un promedio de 10% de contenido graso en la biomasa de tilapia licuada, lo cual es un índice alto comparado con la tilapia comercial que oscila en el 4% de contenido graso, este elevado contenido de grasas puede abrir nuevas puertas en cuanto a la investigación para el uso de la tilapia de Xochimilco con el fin de aprovechar estas grasas. El alto contenido de

grasa se teorizó como el resultado de la acumulación de grasa de la tilapia al vivir en un estilo de vida hostil y estresante, como se observaba en la investigación de Valenzuela Velazquez Y. (2016) respecto a la evaluación del estrés en las tilapias de la zona lacustre de Xochimilco (60).

Las mediciones de ST, SV, DQO, amonio y fósforo fueron realizadas para caracterizar la mezcla en cada biodigestor antes de ser introducidas al horno a comenzar su degradación y a su vez se realizó esta misma caracterización de todas las mezclas en su forma de digestato de cada biodigestor al terminar el experimento de DA.

6.1. Contenido de biomasa colocada en cada biodigestor

La tabla 6.1 muestra los SV de cada biomasa y sus datos fueron utilizados al momento de calcular la cantidad de biomasa que se colocó en cada muestra.

Es posible ver como es que el lirio acuático, por su alto contenido de agua, fue la biomasa con menor porcentaje de g de SV por g de biomasa mientras que la tilapia fue la biomasa con mayor cantidad de g de SV por gramos de biomasa, por lo que al momento de realizar el armado de los biodigestores y colocar la tilapia, llegando esta a ser una cantidad realmente pequeña, se tuvo que pesar con mayor cuidado.

Tabla 6.1: Sólidos volátiles por gramos de biomasa.

Biomasa	g de SV por g de biomasa
Inóculo	0.44
Lirio acuático hidrolizado	0.11
Hoja de maíz hidrolizada	0.42
Tilapia	0.69

A partir de la selección características iniciales para el experimento definidas en la tabla 5.1 y los SV por g de las biomosas, tabla 6.1, se realizaron los cálculos necesarios para obtener la tabla 6.2, donde se utilizan las abreviaturas LAH, HMH y T, como abreviaturas a: lirio acuático hidrolizado, hoja de maíz hidrolizada y tilapia, respectivamente. Estas cantidades fueron colocadas en cada biodigestor del experimento, teniendo un total de 4 muestras por cada mezcla, siendo un triplicado los que corrieron el experimentos lo largo de los 60 días y un cuarto como testigo de cada una para realizar los experimentos de la caracterización inicial.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 6.2: Biomasa colocada en cada biodigestor.

Biodigestor	Biomosas		
A	LAH 100 % (0.4 g SV)	HMH 0 %	T 0 %
	19.06 g	0.00 g	0.00 g
B	LAH 75 % (0.3 g SV)	HMH 25 % (0.1g SV)	T 0 %
	14.30 g	2.77 g	0.00 g
C	LAH 75 % (0.1 g SV)	HMH 12.5 % (0.3g SV)	T 12.5 % (0.05g SV)
	14.30 g	1.39 g	0.36 g
D	LAH 50 % (0.2 g SV)	HMH 50 % (0.2g SV)	T 0 %
	9.53 g	5.54 g	0.00 g
E	LAH 12.5 % (0.05 g SV)	HMH 75 % (0.3g SV)	T 12.5 % (0.05g SV)
	2.38 g	8.31 g	0.36 g
F	LAH 25 % (0.1 g SV)	HMH 75 % (0.3g SV)	T 0 %
	4.77 g	8.31 g	0.00 g
G	LAH 0 %	HMH 100 % (0.4g SV)	T 0 %
	0.00 g	11.08 g	0.00 g
H	LAH 0 %	HMH 0 %	T 100 % (0.4g SV)
	0.00 g	0.00 g	2.92 g
I	LAH 0 %	HMH 0 %	T 0 %
	0.00 g	0.00 g	0.00 g

6.2. Resultados de ST y SV de los biodigestores

Se realizaron pruebas de ST y SV a los biodigestores seleccionados y apartados al momento inicial del experimento, en la tabla 6.3 se observan los porcentajes promedio de 3 tomas de muestra en cada uno de estos biodigestores. Siendo los SV la cantidad de materia orgánica disponible, es posible ver como el biodigestor con la mezcla F (con la relación de biomasa utilizada de LAH25 %, HMH75 % y T0 %) fue el que contaba con el mayor porcentaje de biomasa para degradar, sin embargo, puede deberse a que al momento de preparar los biodigestores se agregase mayor cantidad de trozos de hoja de maíz hidrolizada que líquido en algunas ocasiones, pues entre más hoja de maíz hidrolizada se agrega se incrementa la probabilidad de pérdida de homogeneidad en las mezclas ya que, a pesar del proceso de hidrólisis termoquímica no se había logrado una solución homogénea.

El porcentaje de SV son los representativos encontrados en 10 mL de muestra de los biodigestores. Cabe recordar que cada biodigestor contenía un volumen de 120 mL, donde 80 mL se encontraban ocupados por líquido y los 40 mL restantes daban espacio para la acumulación de gas.

Tabla 6.3: Porcentaje de ST y SV en las condiciones iniciales.

ST y SV encontradas en los biodigestores al inicio del proceso de DA				
Biodigestor	ST _{prom}	SV _{prom}	σ	C.V.
A	3.71	1.25	0.00	2.17
B	3.40	1.18	0.00	3.79
C	3.15	1.12	0.00	2.03
D	3.00	1.03	0.02	16.84
E	2.59	1.09	0.00	0.20
F	4.09	2.33	0.01	2.45
G	3.39	1.81	0.03	16.10
H	1.49	1.00	0.00	1.41
I	1.08	0.64	0.00	2.10

En el caso de la tabla 6.4 es posible observar los resultados de ST y SV en cada uno de los biodigestores al finalizar los 60 días del experimento de DA. ¹

Se promediaron los resultados de cada mezcla de biomasa para obtener así los resultados ST y SV de la situación final de los experimentos y utilizando los resultados de la tabla 6.3 se realizó la tabla 6.5, donde se expresa el promedio porcentual de biomasa degradada en cada biodigestor. Por su parte, la figura 6.1 muestra una gráfica comparativa de los resultados finales del porcentaje degradado de la biomasa disponible en cada biodigestor.

La tabla 6.5 utilizó únicamente los resultados de SV de los biodigestores iniciales y los SV promedio de los biodigestores al finalizar el experimento para obtener así la diferencia entre la fase inicial y la fase final, pues esta diferencia significa la biomasa que se logró degradar ya que los SV son básicamente la materia orgánica que podrá ser degradada en el proceso, (puesto que aunque los ST ya no contienen agua aún contienen materia inorgánica).

¹En la tabla 5.1 se describen los contenidos de biomasa de cada biodigestor

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 6.4: Porcentaje de ST y SV al finalizar el experimento de DA.

ST y SV encontradas en los biodigestores al final del proceso de DA				
Biodigestor	ST _{prom}	SV _{prom}	σ	C.V.
A _{prom}	3.06	0.88	0.04	4.22
B _{prom}	2.81	0.88	0.04	4.31
C _{prom}	3.01	1.01	0.02	2.10
D _{prom}	2.76	0.94	0.02	2.44
E _{prom}	2.26	0.83	0.07	8.72
F _{prom}	2.62	0.93	0.08	8.71
G _{prom}	2.38	0.94	0.05	5.33
H _{prom}	1.39	0.85	0.03	3.29
I _{prom}	0.99	0.61	0.03	5.23

Tabla 6.5: Biomasa degradada

Biomasa degradada				
Biodigestor	% SV _i	% SV _f (prom)	δ SV	% de biomasa degradada
A	1.25	0.88	0.37	29.35
B	1.18	0.88	0.30	25.73
C	1.12	1.01	0.11	9.55
D	1.03	0.94	0.09	8.47
E	1.09	0.83	0.26	23.54
F	2.33	0.93	1.41	60.31
G	1.81	0.94	0.88	48.40
H	1.00	0.85	0.16	15.55
I	0.64	0.61	0.03	4.13

Promedio de porcentaje (%) de biomasa degradada de cada biodigestor

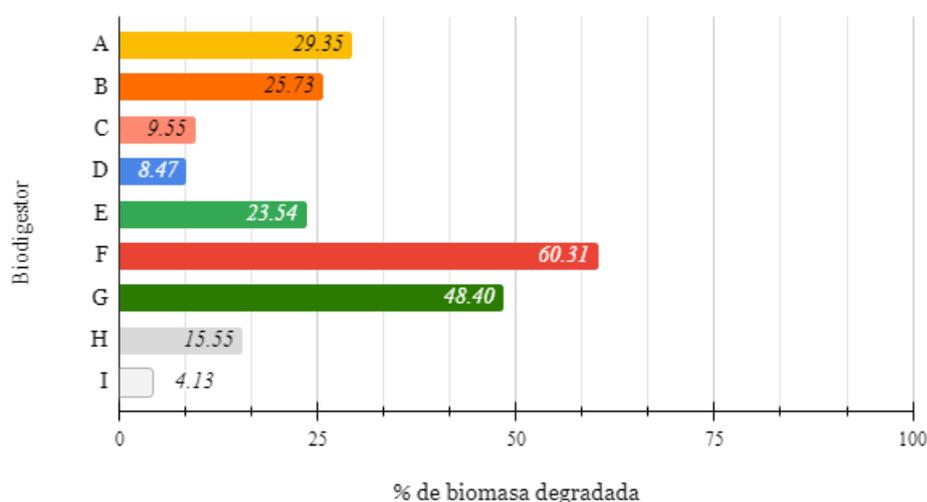


Figura 6.1: Gráfica porcentual del nivel de degradación de la biomasa de cada biodigestor.

Observando la tabla 6.5 y la gráfica de la figura 6.1 podemos notar que el biodigestor F fue el que tuvo mayor eficiencia de materia orgánica degradada, seguido del biodigestor G, siendo, además, de los biodigestores con mayor carga de hoja de maíz hidrolizada. Después los biodigestores A, B, E se mantienen tras ellos con resultados alrededor del 29 ~ 23 %. El biodigestor H que contenía únicamente tilapia como materia orgánica a degradar se queda con una degradación del 15 % de su materia orgánica disponible, seguidos de C y D con 9.54 y 8.47 % respectivamente y finalmente tenemos al testigo, el propio inóculo que degradó un promedio de 4.13 % de su masa. El hecho de que el propio inóculo haya presentado una degradación en su masa se puede deber a que al no tener presente una fuente de nutrientes pudo haber presentado un canibalismo entre los microorganismos del inóculo reduciendo su propia colonia.

La mayor cantidad de biomasa degradada se presentó en aquellos biodigestores que contenían mayor cantidad de HMH, por lo que se supone que la hidrólisis termo-química llevada a cabo cumplió con su función al permitir que las fibras de esta biomasa pudiesen ser degradadas por el inóculo.

6.3. Cambios de fósforo, amonio y DQO en los biodigestores. Comparaciones entre inicio y final del experimento.

En el anexo [A.3](#) se puede observar la regresión lineal para la obtención de las R^2 de las mediciones realizadas con el espectrofotómetro.

6.3.1. Fósforo

Mientras que un rango óptimo de fósforo en la biomasa para la DA fue descrito en el trabajo de Vargas, 2018 ([44](#)), como 25mg/L para que las bacterias encargadas de la DA puedan remover los nutrientes disponibles, los resultados obtenidos presentan una concentración de fósforo extremadamente baja, mostrando un promedio de 0.75 mg/L en todos los biodigestores al inicio de la DA, por lo que, junto con la realización de pruebas de contenido de azúcar en las biomásas, descrito brevemente en el anexo *Obtención de grasas en la tilapia* [A](#) donde se encontró que las biomásas antes de la DA contaban con una cantidad de azúcar menor al 1%, el inóculo no contaba con una cantidad adecuada de algunos de los macronutrientes más importantes para una degradación eficiente, (los cuales son: carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, azufre y micronutrientes como Fe, Ni, Zn y Co en pequeñas cantidades), ya que este conjunto de nutrientes son requeridos para el crecimiento de las bacterias anaeróbicas ([3](#)).

Debido a esto se sugiere utilizar un co-sustrato que presente un mayor nivel de fósforo para apoyar a la nutrición de las bacterias metanogénicas y se logre así un mayor equilibrio en la DA.

Cabe resaltar que durante la medición en el espectrofotómetro, aún al hacer primeramente la dilución 1:500 e inclusive 1:1000 para el biodigestor H, al observar la regresión lineal de la concentración la medición de la concentración en H aparece como un outlier (como se puede ver en las gráficas [A.10](#) y [A.11](#) del anexo [A.3](#) y su color se presentaba aún con tonalidad naranja, por lo que puede que haya sido necesaria una dilución mayor, o un análisis más profundo acerca de los elementos que contenía la biomasa molida de tilapia que pudo haber reaccionado con los reactivos utilizados, pues al ver los elementos encontrados en la tilapia en el barrido de electrones del anexo [A.1.2](#) se pudo observar la presencia de Na, P, S, Cl, K y Mg en cantidades muy bajas, pero que pudieron haber influido en la medición.

6.3 Cambios de fósforo, amonio y DQO en los biodigestores. Comparaciones entre inicio y final del experimento.

Tabla 6.6: Cambio de concentración de fósforo en los biodigestores.

Biodigestor	Concentración inicial de fósforo [mg/l]	Concentración final de fósforo [mg/l]
A	0.75	0.75
B	0.75	0.75
C	0.75	0.75
D	0.75	0.75
E	0.75	0.75
F	0.75	0.75
G	0.75	0.75
H	0.75	1.50
I	0.75	0.75

6.3.2. Amonio

Los contenidos de amonio se mantuvieron relativamente estables entre el inicio y el final de la experimentación, sin embargo, la saturación de amonio en la mayoría de los casos sobrepasó el nivel límite de 200 mg/l de concentración de amonio para las condiciones del proceso anaerobio descrita en el trabajo de Florez L. 2022 (71), en este trabajo se describe como los niveles de amoniaco-N en los rangos 50-100 mg/L son beneficiosos para el proceso de digestión anaerobia, de 200-1000 mg/L presenta sin efectos adversos, de 1500-3000 mg/L presenta efectos inhibitorios a niveles de pH altos, y a mayores concentraciones el efecto es directamente tóxico para los microorganismos metanogénicos. Los biodigestores A, C e I de inicio ya se encontraban sobre el nivel de 200 mg/L.

Siendo los biodigestores H, los que contenían únicamente tilapia e inóculo, los casos con el incremento más abrupto: una presencia de 287.37% mayor concentración de amonio al finalizar la experimentación respecto a la presencia encontrada al inicio del experimento. Lo cual puede indicar que las proteínas presentes en la biomasa de tilapia se degradaron hasta el punto de generar amonio, dado que la liberación de amonio puede ser atribuida a la descomposición de la proteína intracelular presente en la biomasa (72), por lo que a pesar de que las proteínas generan una capacidad amortiguadora y provee de nutrientes a la DA también contribuye sustancias que la inhiben (36).

A partir de los datos anteriores, se teoriza que fue debido a esta alta concentración

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

inicial de amonio y bajo contenido de fósforo que se propició la inhibición de la digestión en los biodigestores.

Tabla 6.7: Cambio de concentración de amonio en los biodigestor.

Biodigestor	Concentración inicial de amonio [mg N – NH ₃ /l]	Concentración final de amonio [mg N – NH ₃ /l]
A	239.50	207.00
B	162.50	229.00
C	228.50	335.00
D	183.00	198.50
E	181.00	251.00
F	119.00	153.00
G	115.00	147.50
H	198.00	767.00
I	271.00	151.00

Cambio porcentual de concentración de amonio en cada biodigestor

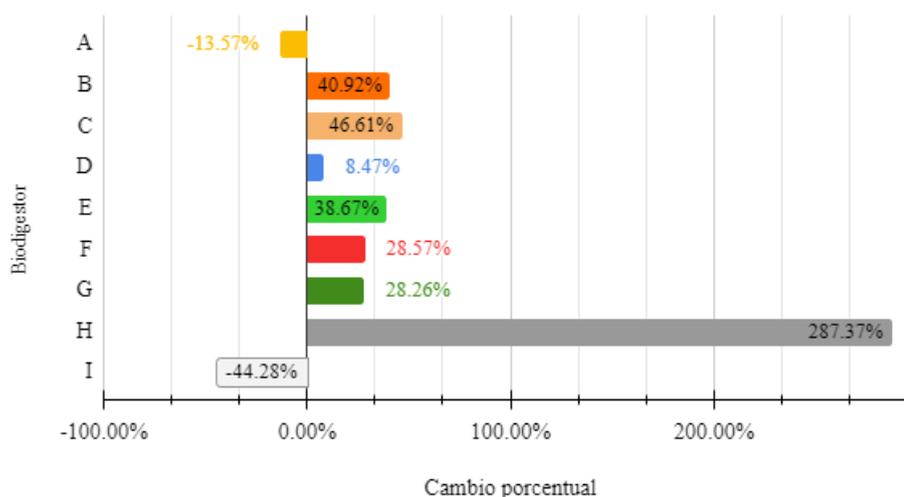


Figura 6.2: Gráfica del cambio de concentración de amonio en los biodigestores entre la fase inicial y fase final.

6.3.3. DQO

La DQO es un indicador de cuánta materia orgánica está siendo degradada para convertirse en biogás, por lo que al tener una DQO que disminuyó considerablemente en todos los biodigestores, un promedio general de 91.39 % de su concentración inicial, se puede entender que la biomasa disponible para degradar se degradó, sin embargo, la degradación de materia también depende de los resultados de SV, pues ambos son indicadores de la disolución de la materia orgánica (28) y dado que estos aspectos no coincidieron en las proporciones de degradación, a la alta cantidad de amonio presente y el bajo nivel de fósforo, podemos suponer que la biodigestión se llevó a cabo, pues al analizar su producción de biogás se observó que todos los biodigestores tuvieron producción, hasta el punto en que comenzó su inhibición y ya no permitió la degradación de biomasa y en cambio se convirtió en un digestato no consumible para el inóculo.

Tabla 6.8: Comparación del DQO medido en los biodigestores durante la fase inicial y la fase final del experimento.

Biodigestor	Concentración inicial de DQO [g/l]	Concentración final de DQO [g/l]
A	55.00	3.50
B	28.90	3.10
C	75.80	4.50
D	39.60	5.20
E	26.40	2.80
F	40.00	2.70
G	16.50	2.00
H	43.30	3.30
I	32.80	1.40

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Disminución de concentración de DQO en cada Biodigestor

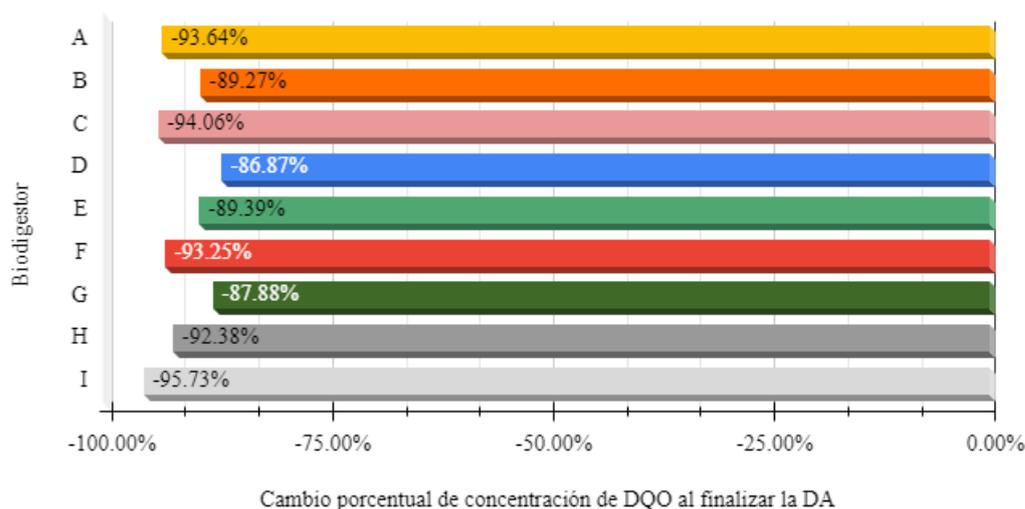


Figura 6.3: Gráfica comparativa del porcentaje de la disminución de la concentración de DQO medida en los biodigestores durante la fase inicial y la fase final.

6.4. Rendimiento y producción de biogás en los biodigestores

En la figura 6.4 se observan las mediciones de presión en kPa tomadas a los biodigestores a lo largo del experimento, en el anexo A.4 se encuentran las tablas con todas las mediciones realizadas para cada biodigestor. Durante las primeras 24 horas todos los biodigestores mostraron un nivel alto de presión que posteriormente disminuyó de manera drástica hasta llegar a mediciones oscilantes entre los 2 y 0.5 kPa en promedio aproximadamente. Las únicas excepciones fueron los biodigestores con las mezclas E y H.

Los demás biodigestores parecieron inhibirse alrededor de los 8 y los 13 días, sin embargo, en el caso del biodigestor E (LAH 12.5 %, HMH 75 % y T 12.5 %) este presentó un periodo, entre los 15 y 21 días del experimento, en que registró presiones desde los 3.1 kPa hasta 5.7 kPa. Por su parte, los biodigestores con la mezcla H (LAH 0 %, HMH 0 % y T 100 %) fueron los que presentaron los niveles más altos de presión durante el experimento y por mayores periodos de tiempo, sus primeros puntos altos de: 21.8 kPa al inicio de la cresta, 24 kPa en la cresta y 18.8 kPa al final de esa primera cresta ubicada lo largo del día 10 a los 18 días del experimento y teniendo una segunda gran cresta, y la mayor de todas, durante el día 19 con 30.2 kPa la cual terminó por disminuir hasta los 18.5 kPa el día 27, de ahí hasta el final del experimento continuó disminuyendo

lentamente hasta llegar a los 6.5 kPa para la medición final el día 60.

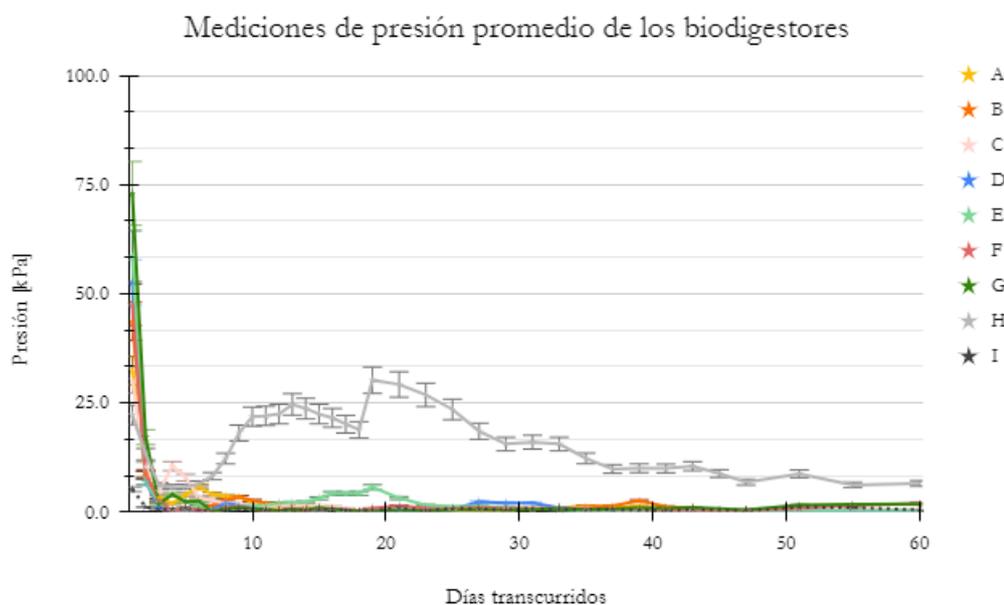


Figura 6.4: Mediciones de diferencia de presión promedio de los biodigestores a lo largo del experimento.

Las gráficas del volumen normalizado de biogás 6.5 y 6.6, se obtuvieron calculando el número de moles de biogás de cada medición y posteriormente sumando la cantidad obtenida anteriormente con el fin de presentar la producción total de biogás. En las gráficas se puede observar como es que el biodigestor H fue el que presentó la mayor producción acumulada, con una producción cercana a los 200 mL de biogás en todos los biodigestores, mientras que los biodigestores G y E fueron los siguientes con mayor producción, acercándose a los 40 mL de biogás respectivamente.

En la gráfica 6.6 se puede observar como la mayoría de biodigestores, exceptuando los H e I, alcanzaron en los primeros 4 días de experimento su producción límite, mientras que los biodigestores E, como se comentó al analizar las mediciones de presión promedio en los digestores, tuvo un repunte de producción entre el lapso entre los 15 a 21 días, lo cual también es posible de visualizar en esta gráfica.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Volumen de Biogás promedio producido en los biodigestores antes de restar la producción del inóculo propio

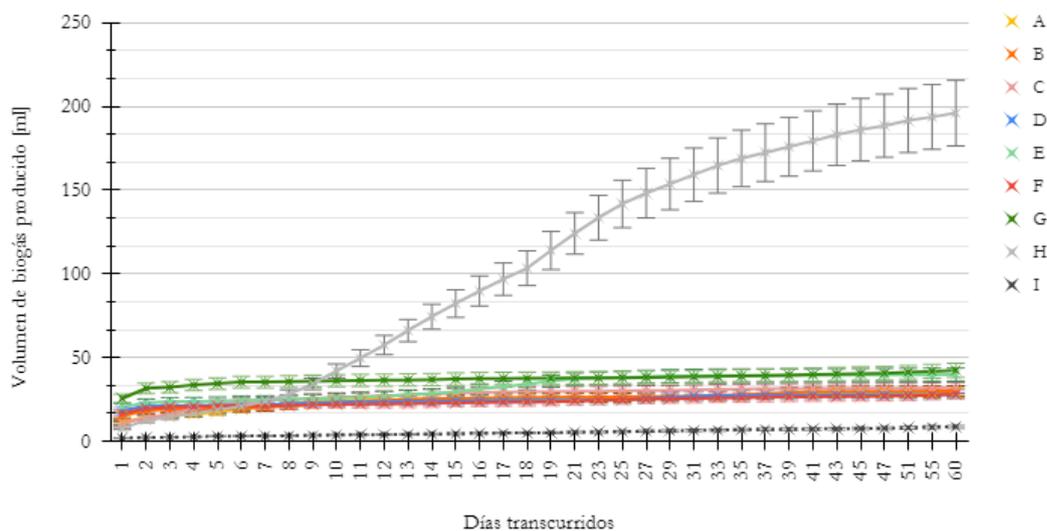


Figura 6.5: Volumen normalizado de biogás promedio obtenido cada día de medición.

Volumen de Biogás promedio producido en los biodigestores antes de restar la producción del inóculo propio, sin los biodigestores H

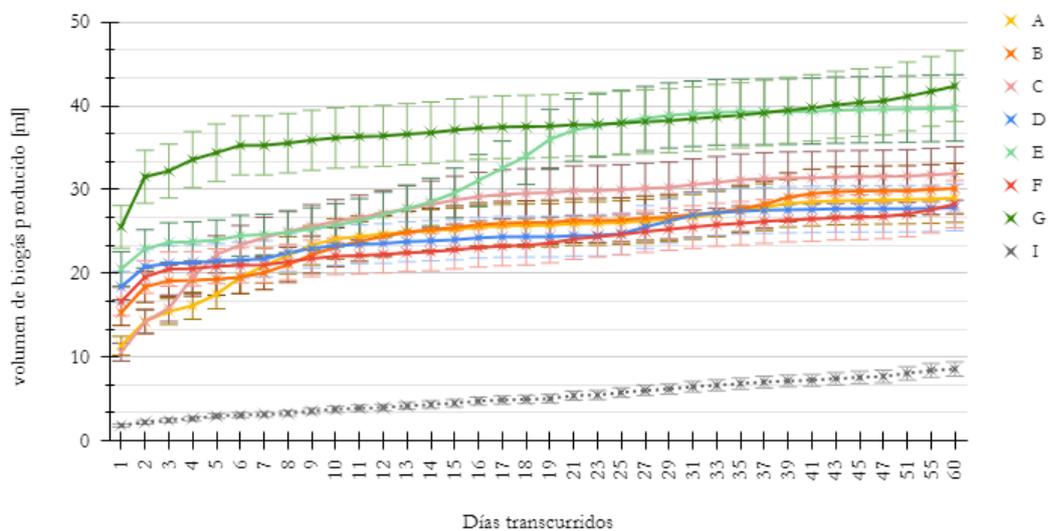


Figura 6.6: Volumen normalizado de biogás promedio obtenido cada día de medición, sin biodigestor H.

Restando el volumen de biogás normalizado producido por la propia degradación del inóculo se obtuvo el biogás acumulado en cada biodigestor a partir de su biomasa a degradar. El biogás acumulado promedio en los biodigestores I fue de 8.55 mL, por lo que las gráficas anteriores tienen un ligero ajuste, como se puede ver en la figura 6.7, con lo que podemos teorizar que, junto con los demás datos de caracterización realizados con las condiciones iniciales y finales, que el proceso de producción llegaron a su producción límite en la mayoría de los biodigestores dentro de los primeros 10 días, probablemente debido al alto contenido de amonio y bajo contenido de fósforo como factores principales de la inhibición de los biodigestores (29).

Mostrando con mayor detalle las cifras promedio de producción de biogás acumulado en cada mezcla en la tabla 6.9 se puede observar como es que los biodigestores H, con la mezcla LAH0 %, HMH0 % y T100 %, fueron los que presentaron la mayor producción de biogás acumulado con 187.46 mL, seguido de la mezcla G con LAH0 %, HMH100 % y T0 % presentando una producción de 33.81 mL de biogás y en tercer lugar los biodigestores E con LAH12.25 %, HMH75 % y T0 % y una producción de 31.20 mL. Mientras que los biodigestores que presentaron el menor desempeño de producción fueron los F y D con las mezclas LAH25 %, HMH75 % y T0 % y LAH50 %, HMH50 % y T0 % con producciones totales promedio de 19.70 mL y 19.31 mL respectivamente.

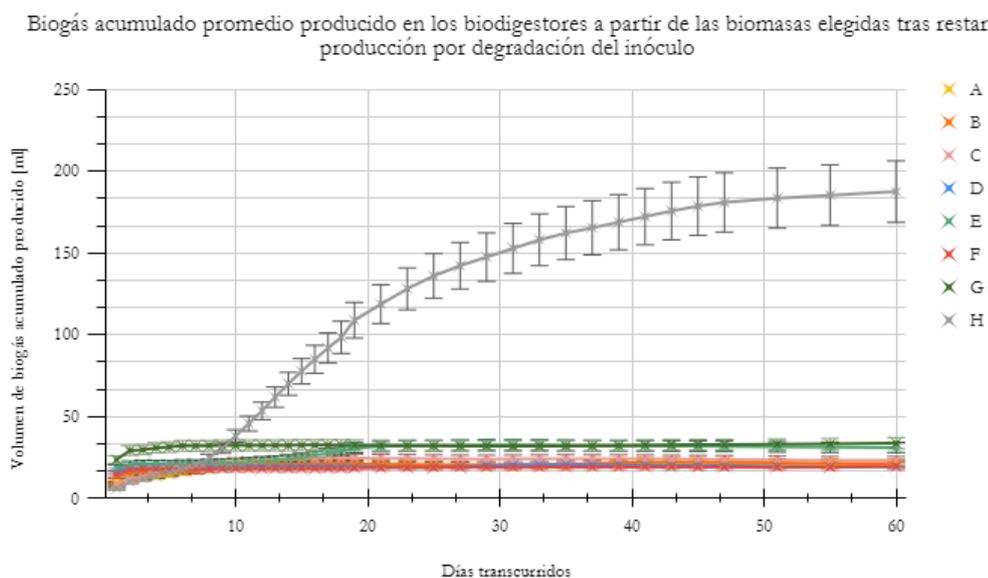


Figura 6.7: Volumen de biogás acumulado promedio a lo largo del experimento en cada biodigestor.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 6.9: Producción volumétrica (mL) de biogás acumulada promedio en cada mezcla en los biodigestores.

Biodigestor	Biogás acumulado [mL]	Biogás acumulado (Restando inóculo) [mL]
A	28.97	20.42
B	30.11	21.56
C	31.92	23.37
D	27.86	19.31
E	39.75	31.20
F	28.25	19.70
G	42.36	33.81
H	196.01	187.46
I	8.55	0.00

Gracias a las mediciones para la caracterización de los biodigestores fue posible formular diversas teorías acerca de la causa que generó la inhibición de los biodigestores: una de ellas fue la alta concentración de amonio en los biodigestores desde el inicio de la experimentación de DA, el bajo contenido de fósforo que provocó un déficit de nutrientes para el inóculo, la presencia de metales en la biomasa y la imposibilidad de medir la condición óptima del inóculo para asegurar la adecuada degradación de la biomasa. A su vez, también se puede observar, gracias a dichos resultados, como es que los biodigestores H pudieron mantenerse en producción y se puede atribuir a que ante la falta de fósforo el inóculo llegó a un punto en que comenzó a degradar la tilapia hasta la formación de amonio (33), lo cual podría explicar el hecho de que únicamente estos biodigestores presentaron un incremento de amonio significativo entre la condición inicial y la condición final. De igual manera al no poder monitorear todo el tiempo estas características en los biodigestores no se pudo conocer el momento exacto en que estos se inhibieron, por lo que es necesario un mayor monitoreo a diferentes características de los biodigestores, como lo son: el nivel de amonio, el pH y una caracterización de los gases resultantes, para verificar que se obtienen los gases esperados de una digestión anaerobia.

Otra de las teorías exploradas tras los resultados fue la posibilidad de que los gases generados en los biodigestores H se debieran más a los propios procesos de putrefacción de la tilapia. Todos los biodigestores comenzaron un nivel alto de amonio cercano o inclusive sobre los 200 mg/L, la mayoría presentando, inclusive, un incremento al final

del experimento posiblemente a través de la generación de los procesos de las fases de la digestión anaerobia, principalmente en las etapas iniciales como la hidrólisis y la acidogénesis. Sin embargo los biodigestores H, que contenían únicamente tilapia e inóculo presentaron el mayor crecimiento pasando de 198 mgN – NH₃/L a 767 mgN – NH₃/L. Por lo que con su alta concentración de amonio y bajo nivel de fósforo debió de inhibir al inóculo en las primeras semanas del experimento como a los demás biodigestores, pues como denota Garnica D. en su estudio *“GÉNEROS DE ARCHAEAS METANOGENICAS PRESENTES EN BIODIGESTORES ANAEROBIOS Y SU RENDIMIENTO EN LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS; REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA ENTRE LOS AÑOS 2000 A 2020”* (73) el amoniaco de alta potencia se considera como una de las principales causas en el fracaso de las biodigestiones, sin embargo, respecto a la producción de gas fueron los biodigestores con la mayor producción de acuerdo a la medición de la diferencia de presión generada en su interior. El caso del reactor H, podría verse como un outlayer pero también como un caso en que las proteínas de la tilapia terminaron formando amoniaco tanto por el exceso de proteínas en el medio como por la posibilidad de que interviniera un proceso de putrefacción por los propios microorganismos que albergaban las tilapias en su interior. Dichos organismos pudieron haberse alimentado de carbohidratos, lípidos y proteínas y generado, a través de procesos de oxido-reducción y fermentativos, ácido sulfúrico, mercaptanos, indol escatol, amoniaco y poliaminas (74) (49). Por lo que para corroborar que la obtención de la diferencia de presión era por CH₄ y CO₂, los productos esperados de una biodigestión anaerobia debía de realizarse un análisis a los gases de salida, pues podrían haber dado indicio acerca de que más que un proceso de degradación anaeróbica controlada se estuviera teniendo un proceso degradativo por putrefacción (que no presenta un control como lo es en la digestión anaerobia (50)).

Conclusiones

La producción más alta de biogás fue producida por los biodigestores que contenían únicamente inóculo y tilapia, estos llegaron a alcanzar una media de 187 mL de biogás producido a lo largo de los 60 días del experimento. Las dos mezclas que le siguen en cuanto a mayor producción son aquellas con mayor cantidad de hoja de maíz hidrolizada, por lo que se puede asumir que, pese a la inhibición del sistema, las hojas de maíz hidrolizadas fueron de la biomasa más aprovechada por el inóculo.

Las 9 mezclas de biomásas, entre lirio acuático, tilapia y hoja de maíz, elegidas mediante los contenidos de SV permitieron observar el comportamiento entre las diferentes cargas porcentuales de dichas biomásas en los biodigestores.

Tras la caracterización de SV entre las condiciones iniciales y finales se demostró como todas las mezclas tuvieron un porcentaje de biomasa degradada. Aquellos biodigestores que contaban con mayor cantidad de hoja de maíz hidrolizada en su carga orgánica presentaron una degradación entre el 48 y el 60 % de la biomasa disponible, por lo que el pretratamiento termo-químico permitió la degradación de la materia orgánica de mejor manera en esta biomasa. Se encontró también que la relación de biomásas con mayor SV fue de los biodigestores con lirio acuático y hoja de maíz.

La baja concentración de azúcares, menor a 1 %, y los bajos niveles de fósforo en las biomásas concluye la necesidad de implementar un sustrato que otorgue los macro nutrientes necesarios para poder presentar una digestión anaerobia en mejores condiciones, pues las condiciones iniciales requieren de una mayor fuente de nutrientes para los microorganismos metanogénicos.

Los altos niveles de amonio presentados desde el inicio de las mediciones apuntan a ser un elemento clave respecto a la pronta inhibición de los biodigestores, por lo que es necesario contrarrestar estos niveles desde el inicio de una DA. Específicamente respecto a los biodigestores de tilapia estos conllevan a la teoría de que debido a los altos niveles de proteína y por descomposición intracelular el inóculo degradó las proteínas hasta la formación de amoniaco, lo cual se corrobora con el súbito incremento de amonio en

los biodigestores con únicamente tilapia al finalizar el experimento y por lo cual era necesario llevar a cabo una mayor dilución en su medición de amonio.

El decremento de la medición de DQO al final de la experimentación muestra como las biomásas fueron degradadas hasta que debido a la inhibición del sistema hizo inconsumible el digestato para el inóculo.

Las mediciones de producción de gas a través de la diferencia de presión únicamente nos proporciona la información sobre si dentro del biodigestor se está dando algún proceso en el que se libere gas dentro de los 40 mL libres, sin embargo no nos permite analizar la naturaleza de dichos gases, por lo que es necesario complementar las mediciones de presión con un análisis por cromatografía de gases para poder realizar un análisis cualitativo del gas generado en los biodigestores.

El cálculo del volumen de biogás producido permitió conocer la cantidad de biogás acumulado que se había obtenido en cada biodigestor, lo cual permitió observar si se había alcanzado la producción límite. En el caso de los biodigestores cuya carga orgánica a degradar contenía únicamente biomasa de tilapia se presentó una baja pero continua producción de biogás a lo largo de los 60 días de experimentación, por lo que el uso de la tilapia como fuente de biogás puede ser viable siempre y cuando se controle los niveles de amonio. Sin embargo, se recomienda hacer una caracterización de los gases resultantes, pues pueden provenir de un proceso degradativo derivado de la putrefacción más que de un sistema controlado como lo es la DA.

La diferencia de presión presentada en el propio inóculo, debido a un posible canibalismo celular o a su propia descomposición, como se ve en los resultados de SV y DQO donde presenta un decremento. Sumado a la pronta inhibición de los biodigestores llevó a que dicha diferencia llegara al punto de ser significativa en los días en que los biodigestores ya habían alcanzado su producción límite.

Recomendaciones y proyección a futuro

Es necesaria la realización de un estudio previo al inóculo para corroborar que se encuentre en un estado óptimo, mantener el mayor monitoreo posible a las diferentes características del proceso; como las variaciones de pH y DQO durante el experimento, ya que al incrementar la monitorización del experimento se puede atender las problemáticas más rápidamente con lo que se suele incrementar la eficiencia del proceso de DA (75), implementar un sustrato rico en fósforo y sustratos que liberen más componentes biodegradables para que bajen las probabilidades de inhibición (3), además de que es necesario analizar las concentraciones de algunos de los elementos presentes en la tilapia y lirio acuático como Na, K, Ca, Mg, Cl, P y S que pueden afectar la eficiencia en la producción de biogás (71).

Mi recomendación para alguien que quiera continuar o hacer algo parecido a este experimento es tomar en cuenta que realmente lleva tiempo y se necesitan de una gran cantidad de equipos para poder tener una caracterización realmente buena de biombras específicas que no son tan comunes o no se encuentran ampliamente documentadas.

Sin embargo, la verdad se aprendió muchísimo en cuanto a nivel práctico en el laboratorio: manejo de equipo, preparaciones de soluciones, optimización de tiempo para las mediciones y la ganancia de mucha práctica en todos estos procesos. Finalmente quisiera cerrar con algo que me parece importante de recordar: las cosas no siempre saldrán como en la teoría, pero está bien, es el camino de la ciencia el cuestionar, intentar, fallar, aprender y seguir.

Apéndice: Anexos

A.1. Pruebas extras en las biomosas

A.1.1. Obtención de grasas en la tilapia

Para poder conocer los elementos disponibles en la biomasa se llevaron a cabo también algunos métodos para la obtención de diferentes nutrientes presentes en las muestras, principalmente para conocer los azúcares y las proteínas, sin embargo la cantidad de azúcar presente en ellas era menor al 1 % antes de la DA, mientras que por un imprevisto con el equipo para realizar la medición de las proteínas éste estudio no se pudo terminar. Pero uno de los estudios realizados presentó resultados bastante interesantes: la medición de grasas en las muestras, específicamente el resultado obtenido tras analizar la tilapia molida, a continuación se resume brevemente el procedimiento con el que fue realizado y los resultados encontrados.

Método Soxhlet

Se trata de una prueba en la que se usa una cantidad específica de muestra, usualmente de 2 a 5 g, dependiendo del método y el alimento a analizar. La muestra debe ser secada previamente para evitar que el agua interfiera con los disolventes utilizados para la separación de la grasa de la muestra. Lo que se hace en esta prueba es colocar la muestra seca en un papel filtro especial, el cual es cerrado como si fuera un pequeño sobre, evitando fugas teniendo especial cuidado de que los extremos no se fuesen a abrir, este sobre se coloca en el sifón Soxhlet, el cual se conecta por la parte inferior a un matraz de bola, se le coloca el disolvente que recirculará el sistema y finalmente se conecta a la parte superior del sifón al condensador donde se encuentra el refrigerante que, en conjunto con la parrilla donde se pone a calentar el matraz, ayuda a que el disolvente se encuentre en un constante ciclo de evaporación y condensación entre todo el sistema.

A. APÉNDICE: ANEXOS

Gracias a este ciclo es que, cuando el disolvente se condensa tras evaporarse en el matraz y subir hacia el refrigerante, entra en contacto con la muestra en el sifón y va separando poco a poco las grasas de la muestra, de manera que estas se acumulan en el fondo del matraz, ya que, por su diferencia en grado de ebullición el disolvente continuará evaporándose pero las grasas obtenidas no, por lo que a lo largo de 3 horas se observaba como el fondo del matraz fue tomando un color amarillo consecuencia de la presencia de las grasas, y será la diferencia entre el peso seco del material y el peso tras éste proceso la cantidad de grasas obtenidas a través de la prueba.

En el caso de las pruebas realizadas a las tilapias lo que se necesitó fue tener los matraces, sifones, condensadores y muestras en peso seco, sin humedad, es decir la tilapia en ST. Se tomaron 5 g de ST de tilapia para cada triplicado del experimento, se pesaron en una balanza granataria usando una charolita de plástico y después se colocaron cada una en un sobre de papel filtro para ser cerrados de sus extremos usando una grapa, se colocaron dentro de su Soxleth y una vez conectado al matraz se le añadieron 200 mL de Hexanos ACS como disolvente. Se cierra el sistema conectando el sifón al condensador y finalmente se enciende la parrilla, en la figura A.1 se puede observar el equipo tras ser montado.

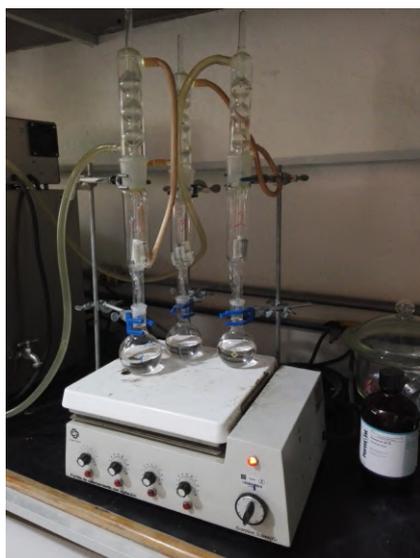


Figura A.1: Montura del equipo para la obtención de grasas en la tilapia.

El proceso se debe dejar por un mínimo de 3 horas, a lo largo de las cuales en el caso de la tilapia se presentó no sólo la tonalidad amarilla, en la figura A.2 se observa como es que la condensación de la grasa en el fondo del matraz estaba formando algunos grumos blancos que flotaban sobre la mezcla de disolvente y grasa, en ese momento se pensó sobre alguna posible fuga de la muestra, pero al comprobar en uno de los sifones que los sobres no estaban teniendo ninguna fuga se entendió que en realidad eran grumos de grasa más densa, por lo que inclusive visualmente era posible observar

algunas de las diferentes grasas presentes en la tilapia.



Figura A.2: Proceso de obtención de grasas en la tilapia a través del método de Soxleth.

Una vez transcurrido el mínimo de 3 horas y se observó que ya no se continuaban condensando grasas en el matraz se desconectó el sistema con cuidado. En el matraz a pesar de observarse con un firme tono amarillo como se ve en la figura [A.3](#), todavía debemos de separar el disolvente de los lípidos obtenidos, por lo cual fue necesario calentar en la campana los matraces y que de esta manera se evaporaran los disolventes. Después de esto es necesario llevarlos al desecador donde se terminarán de enfriar y así nos quedará únicamente las grasas de la muestra.

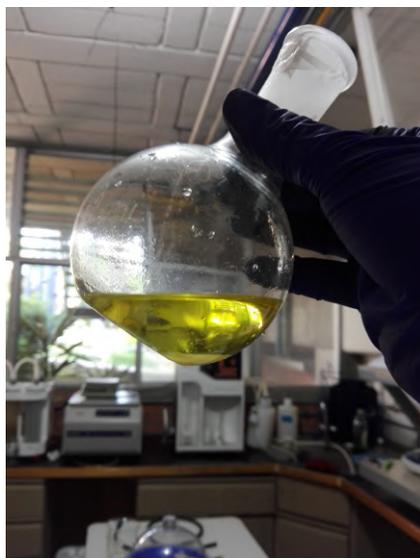


Figura A.3: Grasa junto con disolvente tras el proceso de obtención de grasas.

Tras dejar los matraces enfriar en el desecador, se puede observar como ahora lo que quedaba en el fondo del matraz era grasa sólida, como se observa en la figura [A.4](#).

El último paso consiste en pesar nuevamente los matraces para obtener así la cantidad de lípidos de la muestra a partir de la diferencia entre el peso seco del crisol y el final de la prueba.



Figura A.4: Grasa final tras el procedimiento de extracción Soxhlet.

Los resultados obtenidos se pueden observar en la tabla [A.1](#)

No. de muestra	Masa en g de la muestra	Masa en g del matraz s/grasa	Masa en g del matraz c/grasa	% de extracto etéreo
1A	5.0558	112.1827	112.6825	9.8857
2A	5.0600	101.5819	102.0974	10.1877
3A	5.0143	103.4825	103.8815	7.9572
% Promedio de grasas en la tilapia: 10.0367				
STDEV.S: ± 2.1360				

Tabla A.1: Contenido de grasas en la tilapia de Xochimilco.

Buscando en diversas fuentes acerca del contenido nutrimental de las tilapias se encontró que las tilapias tienen un promedio de 4% de grasas (76), pero la mayoría de estos estudios se trataron con tilapias de criadero por lo que tienen un ambiente con alimento asegurado, sin embargo al buscar acerca de la influencia de un ambiente estresante en su desarrollo se encontró que las tilapias tienen la tendencia a acumular grasas en su cuerpo (60), con lo cual podemos asumir que la presencia de 10% de grasa en las tilapias se debe al estresante medio donde crecen en las aguas de Xochimilco.

Fue debido a esta alta tasa porcentual de grasas en la tilapia que al finalizar los experimentos de biogás se tiene como idea también en algún momento analizar las grasas obtenidas de las tilapias para una posible utilización de estas en la producción de biodiésel.

A.1.2. Búsqueda de metales pesados presentes en el lirio acuático y tilapia de Xochimilco.

Debido a la alta contaminación presente en el agua de los canales de Xochimilco se utilizó un microscopio electrónico para observar la presencia de metales pesados en las muestras recolectadas. La idea inicial consistía en poder utilizar el barrido de electrones para conocer el contenido elemental de las biomosas para así calcular la relación C/N, la estimación de carbono disponible y por tanto una cantidad estimada de carbono a degradar, además de evitar la saturación de nitrógeno en las muestras con alto contenido proteico para de esta manera evitar la inhibición de los procesos metanogénicos. Sin embargo, al tener que tomar sólo una fracción de biomasa tras ser llevada a ST para perder su humedad, se terminó concluyendo que las fracciones analizadas no podían considerarse significativas debido a que, dependiendo de la fracción a analizar, la concentración de los elementos presentes podía variar, pues al escanear sólo se seleccionaba

una fracción de entre 600 nm a 1200 nm \times 400 nm a 800 nm, como se ve en la figura A.6, por lo que, en el caso de la tilapia, el área escaneada daba resultados muy distintos dependiendo de si lo que entraba en el espacio de análisis contenía partes de cartílago, ojo, piel o simplemente eran vísceras de tilapia. Por lo tanto, aunque se realizaron varias mediciones, el hecho de tomar de esas muestras secas sólo una fracción de alrededor de 1 cm \times 1 cm como se puede apreciar en la fotografía de la figura A.5. También limitaba el escaneo de aluminio debido a que las muestras debían de ser colocadas en una pequeña base de papel aluminio para poder ser analizadas.

La toma de los escaneos se realizó usando 20 kV de potencia en el microscopio, y se elegían alrededor de 3 zonas aleatorias de cada muestra para realizar el escaneo.



Figura A.5: Muestras introducidas al microscopio de escaneo de electrones.

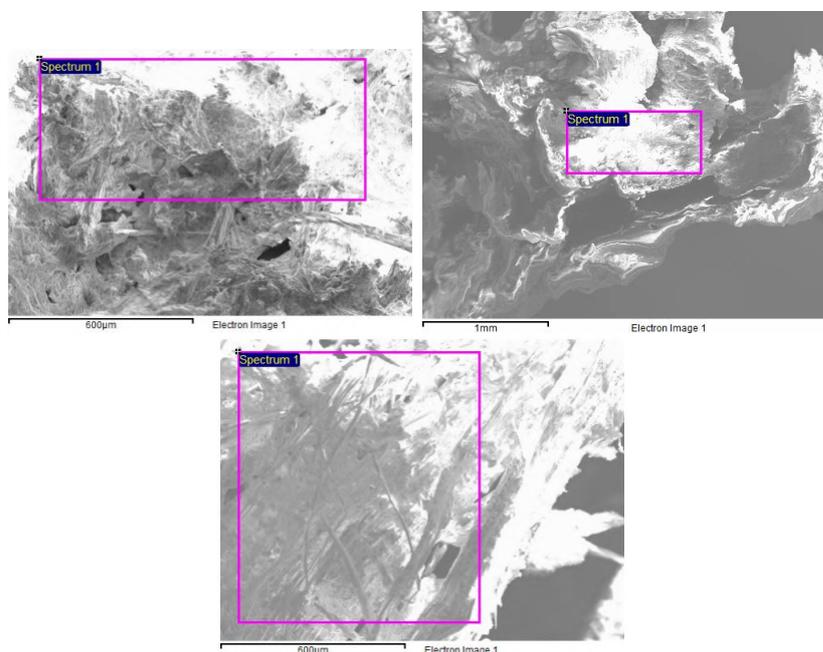


Figura A.6: Vista del escaneo del microscopio de electrones de las muestras.

En este caso se enfocó el análisis en los elementos C, N y O, sin embargo por la presencia de otros metales en la tilapia se amplió el espectro de escaneo para su análisis, lo cual resultó en encontrar la presencia de elementos como el mercurio, el cual debido a su alta toxicidad pudo haber incrementado el propio nivel de toxicidad presente al realizar la digestión anaerobia.

Sin embargo, las cantidades en que se presentaban los elementos en las lecturas de las muestras los resultados sirvieron para observar la presencia de diferentes elementos, sobretodo aquellos que pudiesen explicar la inhibición de la producción metanogénica, ya que como se explicó en la parte de fundamentos teóricos, la presencia de sustancias tóxicas en la biomasa a degradar podrían influir en la inhibición del inóculo o inclusive verse incrementados ante el aumento de temperatura.

Lirio acuático hidrolizado		
Elemento	weight %	Atomic %
C	42.9500	49.56500
N	8.2450	8.1600
O	48.8100	42.2850
Hoja de maíz hidrolizado		
Elemento	weight %	Atomic %
C	39.0600	46.4866
N	2.7400	2.6950
O	51.3033	47.9900
S	9.8300	5.2000
K	12.4300	5.3900
Si	1.1800	0.5800
Tilapia		
Elemento	weight %	Atomic %
C	43.0350	48.8500
N	23.7150	23.0800
O	32.5550	27.7400
Na	0.3600	0.2100
P	0.2200	0.1000
S	0.2700	0.1100
Cl	0.2300	0.0900
K	0.2100	0.0700
Mg	0.100	0.0500

Tabla A.2: Contenidos elementales de las biomosas.

A.2. Preparación del hidrolizado de las biomásas de origen vegetal

Tabla A.3: Relación de contenidos para el proceso de hidrólisis térmica realizado a las biomásas de origen vegetal.

Biomasa	Cantidad [g] a agregar para 6 de ST	Agua contenida [g]	Agua por agregar [g]	H ₂ SO ₄ al 72 % [g]
Lirio acuático	149.29	143.29	24.70	123.05
Hoja de maíz	6.53	0.53	167.47	123.05

Tabla A.4: Preparación de biomasa y agua para hidrolizar las biomásas lignocelulósicas

Biomasa	Biomasa [g] para alcanzar los 600 mg de ST	Agua contenida en dicha cantidad de biomasa [g]	Agua por agregar [g]
Lirio acuático	149.29	143.29	24.7
Hoja de maíz	6.52	0.52	167.47

A.3. Gráficas de las concentraciones en el espectrofotómetro para las mediciones de amonio y fósforo.

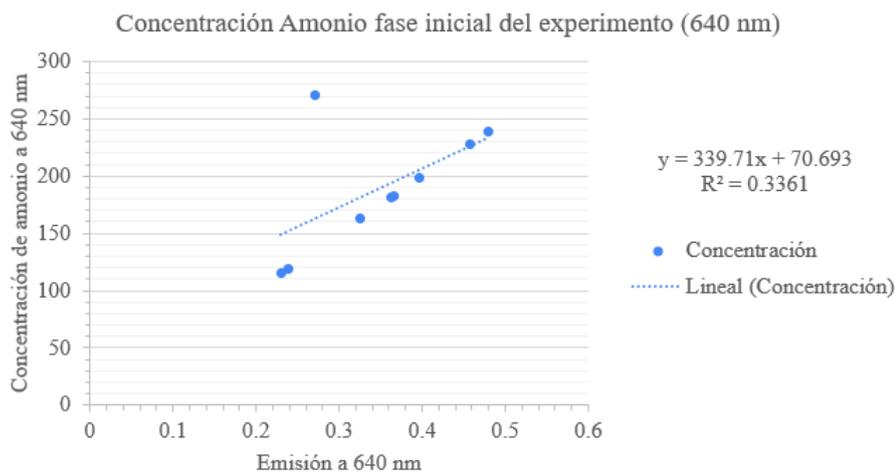


Figura A.7: Gráfica de concentración de amonio en las muestra de la fase inicial con su R^2 .

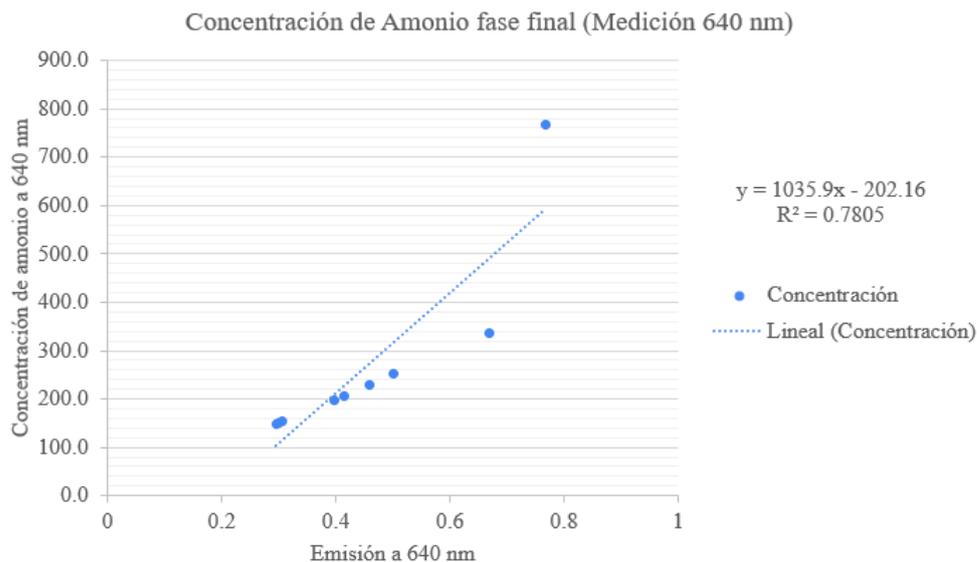


Figura A.8: Gráfica de concentración de amonio en las muestras significativas de los biodigestores de la fase final con su R^2 .

A.3 Gráficas de las concentraciones en el espectrofotómetro para las mediciones de amonio y fósforo.

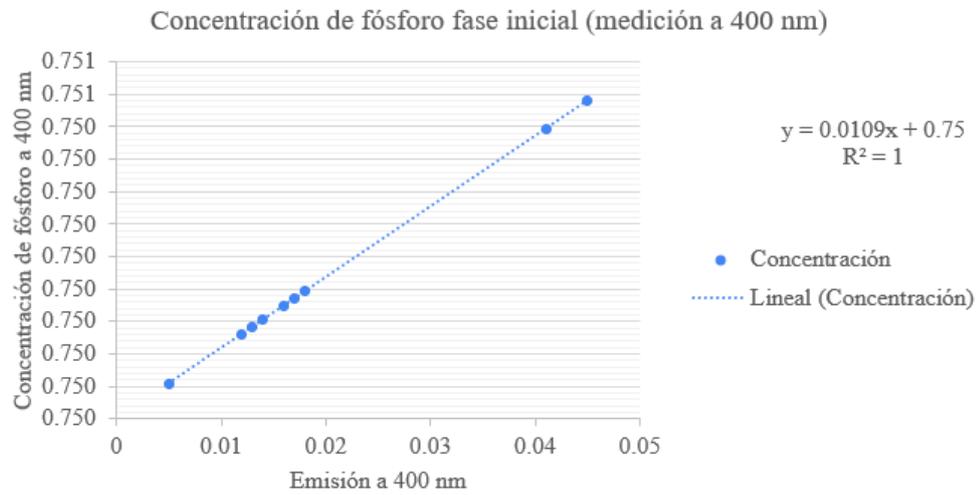


Figura A.9: Gráfica de concentración de fósforo en las muestra de la fase inicial con su R^2 .

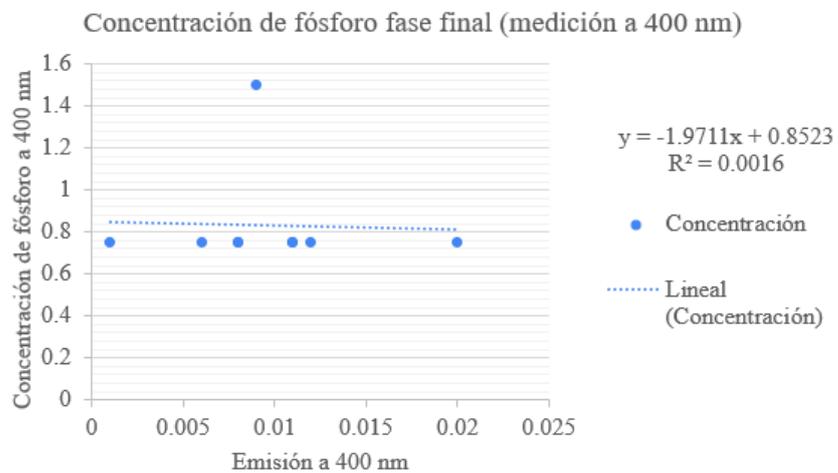


Figura A.10: Gráfica de concentración de fósforo en las muestras significativas de los biodigestores de la fase final con su R^2 .

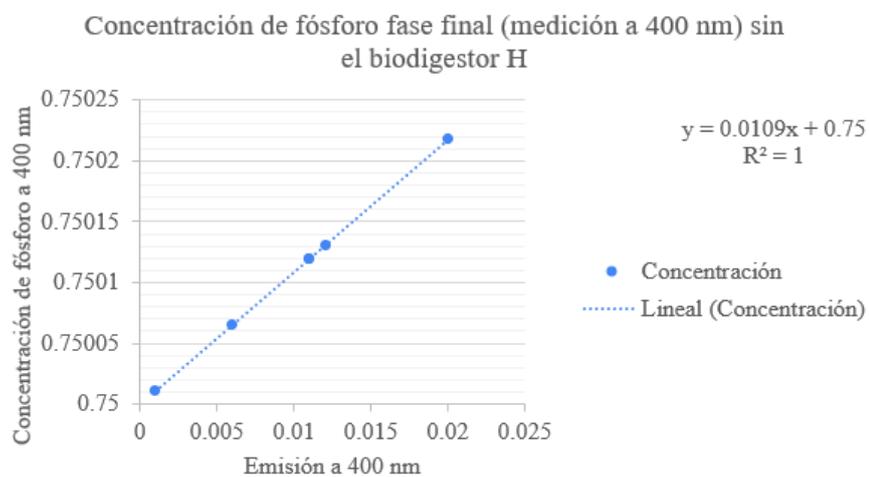


Figura A.11: Gráfica de concentración de fósforo en las muestras significativas de los biodigestores de la fase final con su R^2 , excluyendo la medición del biodigestor H.

A.4. Tabla de mediciones del experimento.

A continuación se mostrará el anexo con las diferencias de presión medidas a lo largo del experimento en cada uno de los biodigestores.

A. APÉNDICE: ANEXOS

Reactor	Horas	Presión [KPa]																	
		24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264	288	312	336	360	384	408	432
LAH 100 %	1	31.9	9.0	3.2	1.9	4.0	6.0	4.0	3.5	3.6	2.4	1.1	0.9	0.9	0.5	0.4	0.8	0.4	0.1
	2	30.0	8.9	2.8	2.8	4.9	5.8	3.6	2.9	3.4	2.3	1.0	0.7	0.8	0.5	0.4	0.8	0.4	0.0
	3	31.7	7.2	4.0	2.1	3.8	5.5	4.6	4.4	2.8	1.9	0.7	0.7	0.7	0.5	0.5	0.8	0.5	0.1
T 0 %	M	35.9	8.6	3.2	1.0	3.1	5.5	3.9	3.4	3.9	2.1	0.8	0.5	0.8	0.4	0.4	0.6	0.4	0.1
	1	39.9	8.9	2.9	0.0	0.3	0.4	0.8	1.6	2.5	2.1	2.3	2.5	2.0	1.3	1.2	1.1	0.6	0.3
	2	48.6	9.2	2.0	0.9	0.1	1.1	2.8	4.0	3.8	2.4	1.4	1.0	0.9	0.5	0.5	0.8	0.4	0.1
HMH 25 %	3	43.7	8.3	1.6	0.1	0.8	0.3	0.8	2.0	3.8	3.1	2.3	2.0	1.4	1.0	0.8	0.9	0.4	0.2
	M	42.5	8.8	1.8	0.0	0.4	0.7	1.5	3.5	3.5	2.7	1.9	1.4	1.3	0.9	0.6	0.8	0.4	0.2
	1	25.4	11.4	4.8	9.8	8.1	3.0	2.6	1.9	1.6	1.3	1.0	1.0	0.8	0.5	0.5	0.6	0.4	0.1
HMH 12.5 %	2	30.1	10.4	5.2	9.3	8.2	3.3	2.3	2.0	1.5	1.1	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.5	0.1
	3	30.6	10.5	4.4	11.5	7.6	3.4	3.0	1.7	2.2	2.6	2.4	2.8	3.4	3.1	3.1	1.7	1.0	0.4
	M	34.7	9.1	4.3	11.3	7.6	3.1	2.3	2.6	2.1	1.4	1.2	1.2	1.3	1.4	1.4	1.7	1.3	0.6
LAH 50 %	1	52.6	7.9	1.2	0.4	0.2	0.3	1.0	1.6	1.5	1.3	0.7	0.4	0.6	0.3	0.4	0.6	0.3	0.1
	2	52.7	7.2	0.0	0.2	0.3	0.6	0.8	1.4	1.3	1.0	0.5	0.2	0.5	0.3	0.4	0.6	0.2	0.1
	3	55.1	6.2	1.3	0.2	0.4	0.4	0.1	2.5	1.5	0.9	0.4	0.4	0.8	0.4	0.4	0.6	0.3	0.1
T 0 %	M	49.7	6.1	2.0	0.5	0.7	0.3	0.0	2.5	1.6	0.7	0.3	0.1	0.5	0.3	0.3	0.8	0.4	0.0
	1	51.2	6.8	2.8	0.2	1.3	0.3	0.9	1.2	1.4	1.5	1.2	1.5	2.4	2.8	3.5	4.2	3.9	6.7
	2	62.9	5.9	2.3	0.5	0.8	4.5	0.0	0.3	0.8	0.8	0.8	0.8	1.2	1.3	1.8	2.8	2.9	3.8
HMH 75 %	3	65.1	7.2	1.2	0.4	0.3	1.1	0.1	0.9	1.4	1.2	1.4	1.6	2.9	4.0	6.5	9.4	9.5	6.4
	M	55.2	7.6	2.3	0.0	0.0	0.1	0.2	0.7	1.2	1.6	2.8	4.1	2.1	0.8	0.6	0.5	0.4	0.0
	1	50.1	7.8	1.4	0.0	1.4	0.3	0.1	1.0	1.3	1.0	0.4	0.5	0.6	0.3	0.6	0.6	0.3	0.0
LAH 25 %	2	44.3	9.2	3.4	0.3	0.4	0.3	0.1	1.1	1.4	0.8	0.3	0.3	0.5	0.3	0.6	0.5	0.3	0.0
	3	46.7	8.7	2.8	0.0	0.3	0.6	0.0	1.0	0.9	0.4	0.2	0.3	0.5	0.3	0.8	0.6	0.4	0.0
	M	48.8	8.0	3.1	0.1	1.4	0.2	0.0	1.0	1.4	0.7	0.3	0.3	0.5	0.3	0.9	1.0	1.1	1.1
T 0 %	1	75.4	17.2	5.1	3.8	2.9	1.2	0.0	1.1	1.4	1.0	0.4	0.2	0.5	0.8	1.0	0.6	0.3	0.1
	2	76.0	13.5	0.7	5.0	2.1	2.6	0.0	1.0	1.0	0.8	0.5	0.2	0.5	0.4	1.0	0.8	0.4	0.3
	3	69.3	20.2	1.1	4.4	1.4	1.9	0.0	0.9	1.0	0.7	0.4	0.1	0.4	0.5	0.9	0.6	0.3	0.1
LAH 0 %	M	71.2	17.6	0.8	2.6	2.9	4.3	0.0	0.0	0.7	0.4	0.7	0.5	0.9	0.3	0.8	0.6	0.4	0.1
	1	20.3	12.9	6.2	5.7	6.6	7.0	8.7	16.9	23.4	23.8	19.7	19.4	22.6	22.2	22.3	22.8	20.8	19.2
	2	21.7	13.3	6.1	5.6	6.3	6.7	8.5	11.8	18.1	23.2	24.1	24.1	25.5	24.1	22.0	22.1	21.5	19.9
HMH 0 %	3	23.2	14.0	6.5	5.9	5.3	5.9	7.7	10.2	15.4	20.1	21.9	23.0	25.4	24.5	23.4	20.8	18.8	18.0
	M	23.7	12.7	5.7	5.7	4.8	6.0	7.9	10.0	15.4	20.2	22.3	23.2	25.0	23.9	22.0	20.5	19.3	18.1
	1	4.8	1.5	0.7	0.6	0.8	0.3	0.3	0.4	0.7	0.7	0.5	0.1	0.6	0.5	0.4	0.6	0.4	0.3
LAH 0 %	2	6.4	1.5	0.6	0.6	0.8	0.3	0.2	0.4	0.7	0.7	0.4	0.2	0.6	0.4	0.5	0.6	0.4	0.2
	3	3.5	1.3	0.6	0.6	0.9	0.3	0.2	0.4	0.7	0.4	0.4	0.3	0.6	0.4	0.5	0.8	0.3	0.2
	M	6.0	0.1	0.6	0.8	0.9	0.3	0.3	0.5	0.7	0.4	0.4	0.3	0.6	0.4	0.5	0.8	0.4	0.2

Tabla A.5: Tabla de mediciones de presión en los biodigestores a los largo de los 60 días del experimento.

A.4 Tabla de mediciones del experimento.

Reactor	Horas	456	504	552	600	648	696	744	792	840	888	936	984	1032	1080	1128	1224	1320	1440	
LAH 100 %	1	0.1	0.4	0.0	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.7	1.2	2.1	0.9	0.6	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3
	2	0.1	0.4	0.1	0.2	0.2	0.6	0.6	0.7	0.6	0.8	1.6	0.8	0.6	0.1	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3
	3	0.2	0.8	0.1	0.5	0.8	1.1	1.2	1.3	2.4	1.1	0.5	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2
T 0 %	A	0.1	0.5	0.2	0.2	0.4	0.4	1.0	1.1	1.6	1.1	0.8	0.1	0.3	0.1	0.1	0.0	0.2	0.2	0.4
	1	0.3	0.6	0.1	0.3	0.6	0.4	0.6	0.9	0.6	1.8	3.5	1.6	1.0	0.3	0.2	0.1	0.3	0.2	0.4
	2	0.1	0.4	0.1	0.2	0.4	0.3	0.6	0.6	0.9	1.3	2.7	1.3	0.6	0.2	0.1	0.1	0.1	0.3	0.4
T 0 %	B	0.2	0.5	0.0	0.2	0.4	0.3	0.6	0.6	0.7	0.8	3.1	1.7	1.0	0.2	0.1	0.1	0.5	0.4	
	M	0.2	0.5	0.0	0.3	0.8	0.9	0.9	1.1	3.1	1.5	0.8	0.1	0.2	0.1	0.0	0.0	0.3	0.4	
	1	0.1	0.4	0.0	0.3	0.6	0.2	0.6	0.6	1.1	0.6	0.4	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.3	0.6	
LAH 75 %	1	0.1	0.5	0.0	0.2	0.5	0.2	0.9	0.7	1.0	0.6	0.4	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	0.4	0.5	
	2	0.1	0.5	0.0	0.2	0.3	0.8	0.4	1.1	0.7	0.5	0.1	0.0	0.2	0.0	0.1	0.2	0.4	0.5	
	3	0.4	0.8	0.2	0.3	0.0	0.5	1.3	1.0	0.6	0.3	0.1	0.1	0.3	0.0	0.0	0.2	0.4	0.5	
T 12.5 %	C	0.5	0.8	0.2	0.3	0.0	0.5	1.3	1.0	0.6	0.3	0.1	0.1	0.3	0.0	0.0	0.2	0.4	0.5	
	1	0.0	0.3	0.1	1.2	5.7	2.9	2.3	1.2	0.6	0.3	0.2	0.0	0.3	0.0	0.0	0.1	0.0	0.1	
	2	0.0	0.4	0.1	0.4	1.5	4.4	4.5	1.9	1.2	0.6	0.3	0.1	0.2	0.0	0.0	0.0	0.1	0.3	
LAH 50 %	3	0.1	0.4	0.0	0.3	1.0	0.4	0.6	0.3	0.0	0.0	0.1	0.2	0.2	0.0	0.0	0.1	0.3	0.3	
	M	0.0	0.4	0.0	0.3	1.0	0.3	0.7	0.3	0.1	0.3	0.0	0.2	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.5	
	1	13.9	5.7	1.8	1.0	0.9	0.5	0.4	0.3	0.0	0.1	0.0	0.2	0.3	0.0	0.0	0.1	0.2	0.2	
LAH 12.5 %	2	4.8	3.4	1.3	0.8	0.8	0.5	0.4	0.3	0.1	0.1	0.0	0.2	0.2	0.1	0.0	0.0	0.1	0.2	
	3	3.7	3.0	2.9	2.7	3.0	2.9	1.3	0.9	0.2	0.0	0.3	0.2	0.6	0.3	0.2	0.5	0.4	0.0	
	M	0.2	0.5	0.2	0.1	0.4	0.3	0.3	0.4	0.1	0.0	0.0	0.1	0.3	0.1	0.1	0.0	0.1	0.4	
T 12.5 %	E	0.1	0.5	0.3	0.5	0.9	0.8	0.7	1.4	1.7	2.2	2.1	1.0	1.0	0.2	0.2	0.2	0.0	0.4	
	1	0.1	0.5	0.3	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.1	0.1	0.0	0.1	0.1	0.2	0.1	0.3	0.2	0.3	
	3	0.1	0.5	0.2	0.3	0.8	0.6	0.6	0.5	0.4	0.1	0.0	0.1	0.2	0.1	0.1	0.3	0.8	0.5	
LAH 25 %	3	2.9	4.0	2.6	1.8	1.8	1.3	1.1	0.9	0.1	0.1	0.1	0.0	0.4	0.3	0.7	2.5	4.8	6.4	
	M	0.0	0.4	0.2	0.3	0.4	0.3	0.3	0.4	0.1	0.1	0.1	0.0	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	
	1	0.0	0.4	0.2	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.1	0.1	0.1	0.0	0.2	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	
T 0 %	F	0.5	1.1	0.4	0.7	0.8	0.4	0.4	0.4	0.0	0.0	0.0	0.1	0.2	0.0	0.1	0.5	1.4	2.7	
	3	0.1	0.1	0.0	0.3	0.6	0.6	1.1	1.6	1.9	2.7	3.1	2.8	2.8	1.7	1.7	2.3	1.8	0.3	
	M	0.1	0.4	0.0	0.2	0.3	0.0	0.5	0.5	0.2	0.3	0.4	0.4	1.0	1.2	0.1	3.5	3.8	4.1	
LAH 0 %	1	31.1	29.4	25.7	23.4	19.4	18.5	21.8	24.9	18.4	11.2	9.1	8.6	7.0	4.6	3.8	6.2	6.0	7.2	
	2	30.9	30.0	27.2	23.5	18.1	14.6	14.1	13.4	11.0	10.1	11.7	12.9	14.4	11.5	6.3	6.1	5.2	5.5	
	3	30.4	29.7	28.6	25.4	19.6	14.9	13.6	13.0	11.4	9.8	10.9	13.4	15.8	14.2	9.2	7.4	5.6	5.3	
T 100 %	H	28.3	27.7	25.7	21.6	16.8	14.2	14.4	10.9	8.2	8.2	8.3	4.9	4.7	4.9	8.0	15.2	7.9	8.1	
	1	0.2	1.0	0.3	0.9	0.8	0.5	0.7	0.6	0.6	0.5	0.4	0.3	0.1	0.4	0.4	1.0	1.1	0.6	
	2	0.2	1.0	0.3	0.9	0.8	0.3	0.3	0.7	0.4	0.6	0.5	0.4	0.2	0.7	0.4	0.3	1.1	0.9	
T 0 %	I	0.2	1.0	0.3	0.9	0.8	0.4	0.9	0.5	0.5	0.6	0.3	0.2	0.7	0.3	0.4	1.0	1.1	0.3	
	3	0.2	1.0	0.3	0.9	0.8	0.4	0.9	0.5	0.5	0.6	0.3	0.2	0.7	0.3	0.4	1.0	1.1	0.3	
	M	0.4	1.0	0.1	0.6	0.5	0.6	1.0	0.5	0.5	0.5	0.4	0.3	0.7	0.6	0.1	1.2	1.0	0.5	

Tabla A.5: Tabla de mediciones de presión en los biodigestores a los largo de los 60 días del experimento, continuación.

Bibliografía

- [1] M. Shechter, O. Ayalon, and Y. Avnimelech, “Solid Waste Treatment as a High-Priority and Low- Cost Alternative for Greenhouse Gas Mitigation,” *Environmental Management*, vol. 27, no. 5, pp. 697–704, 2001. [1](#), [7](#)
- [2] J. Xu, A. M. Mustafa, and K. Sheng, “Effects of inoculum to substrate ratio and co-digestion with bagasse on biogas production of fish waste,” *Environmental Technology (United Kingdom)*, vol. 38, no. 20, pp. 2517–2522, 2017. [1](#), [8](#), [11](#), [30](#)
- [3] C. Fang, *Biogas production from food-processing industrial wastes by anaerobic digestion*. Tesis de phd, Technical University of Denmark, 2010. [2](#), [76](#), [88](#)
- [4] E. E. S.-L. J. M. Rincón-Martínez, *Bioenergía: Fuentes, conversión y sustentabilidad*. Bogotá-Colombia: La Red Iberoamericana de Aprovechamiento de Residuos Orgánicos en Producción de Energía, 2020. [5](#)
- [5] J. Pablo and P. Sánchez, “Investigación en materia de bioenergía para la industria energética Research Regarding Bioenergy for Energy Industry,” 2015. [5](#)
- [6] R. P. Overend, M. Davis, and R. P. Ornl, “Biomass Feedstocks,” tech. rep., 2004. [5](#)
- [7] E. Rodríguez Garcia, A. I. de Lucas Herguedas, C. del Peso Taranco, P. Prieto Paniagua, E. Sanz González, and M. Sánchez Martín, *Biomasa, biocombustibles y sostenibilidad*. Madrid: Gobierno de España, 2012. [5](#), [6](#), [17](#)
- [8] M. D. Cortés-sánchez, E. M. Gata-montero, A. Pipió-ternero, Á. Rodríguez-rivas, and J. Manuel, “Biocombustibles: tipos y estrategias de producción,.” 2018. [6](#)
- [9] Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía., *Cultivos energéticos*. Madrid: Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía, 2007. [6](#)
- [10] Centro Mario Molina, “Análisis de la cadena de suministros de los biocombustibles líquidos,” 2016. [6](#)

-
- [11] B. M. Junginger, A. Faaij, F. Rosillo-calle, and J. Wood, “The growing role of biofuels - opportunities , challenges and pitfalls,” *International Sugar Journal*, pp. 618–629, 2006. [6](#), [7](#)
- [12] M. B. Perdices, “El papel de la bioenergía en la nueva bioeconomía,” *Meditarraneo Económico*, pp. 353–370, 2018. [7](#)
- [13] IRENA, *RENEWABLE ENERGY STATISTICS 2023*. Abu Dhabi: International Renewable Energy Agency, 2023. [7](#)
- [14] R. D. d. R. N. e. I. Ariela, *Tendencias recientes del mercado internacional del petróleo*. Naciones Unidas, 2003. [7](#)
- [15] IRENA, “Testing IRENA’s biogas survey guidelines: Lessons learned in six countries,” tech. rep., International Renewable Energy Agency, Abu Dhabi, 2019. [8](#)
- [16] J. C. Carmona, Z. Esp, D. M. Bolívar, and L. A. Giraldo, “El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo,” *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, vol. 18, pp. 49–63, 2005. [8](#)
- [17] D. Totzke, “Tapping The Potential Of Codigestion,” *BioCycle*, vol. 50, pp. 32–35, 2009. [8](#)
- [18] Z. Sárossy, D. Plackett, and H. Egsgaard, “Carbohydrate analysis of hemicelluloses by gas chromatography – mass spectrometry of acetylated methyl glycosides,” pp. 1923–1930, 2012. [8](#), [9](#)
- [19] G. P. Romanelli, D. Manuel, and G. A. Pasquale, *Química de la biomasa y los biocombustibles*. Buenos Aires: Editorial de la Universidad de La Plata, 2015. [8](#)
- [20] B. R. S. Jessup and E. Prosen, “Heats of combustion and formation of cellulose and nitrocellulose (cellulose nitrate),” vol. 44, no. April, 1950. [9](#)
- [21] C. Hernández, C. Escamilla-Alvarado, A. Sánchez, E. Alarcón, F. Ziarelli, R. Musule, and I. Valdez-Vazquez, “Wheat straw, corn stover, sugarcane, and Agave biomasses: chemical properties, availability, and cellulosic-bioethanol production potential in Mexico,” *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, vol. 13, no. 5, pp. 1143–1159, 2019. [9](#), [30](#)
- [22] Y. Osakabe and A. Kawaoka, “Responses to environmental stresses in woody plants : key to survive and longevity,” *The Botanical Society of Japan and Springer 2011*, pp. 1–10, 2012. [9](#)
- [23] E. Lerida Martinez, “Mejora De Fermentabilidad De Hidrolizados De Hoja De Olivo,” tesis de grado, Universidad de Jaén, 2018. [10](#)

BIBLIOGRAFÍA

- [24] P. Latifi, M. Karrabi, and S. Danesh, “Anaerobic co-digestion of poultry slaughterhouse wastes with sewage sludge in batch-mode bioreactors (effect of inoculum-substrate ratio and total solids),” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 107, no. October 2018, pp. 288–296, 2019. [11](#)
- [25] G. A. Iocoli, M. C. Zabaloy, G. Pasdevicelli, and M. A. Gómez, “Use of biogas digestates obtained by anaerobic digestion and co-digestion as fertilizers: Characterization, soil biological activity and growth dynamic of *Lactuca sativa* L.,” *Science of the Total Environment*, vol. 647, pp. 11–19, 2019. [11](#)
- [26] A. J. Ward and A. K. Løes, “The potential of fish and fish oil waste for bioenergy generation: Norway and beyond,” *Biofuels*, vol. 2, no. 4, pp. 375–387, 2011. [11](#)
- [27] L. Corrales, D. M. Antolinez Romero, J. A. Bohórquez Macías, and A. M. Corredor Vargas, “Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta,” *NOVA*, vol. 13, no. 24, pp. 55–82, 2015. [12](#)
- [28] C. Sánchez-Reyes, M. E. Patiño-Iglesias, J. L. Alcántara-Flores, Y. Reyes-Ortega, M. A. Pérez-Cruz, and E. Ortíz-Muñoz, “Determinación del potencial bioquímico de metano (PBM) de residuos de frutas y verduras en hogares,” *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, vol. 32, no. 2, pp. 191–198, 2016. [12](#), [79](#)
- [29] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, *Manual de Biogas*. 2011. [12](#), [13](#), [16](#), [17](#), [18](#), [19](#), [22](#), [70](#), [83](#)
- [30] M. Cortés-Castillo, *Purificación biológica de biogás por microorganismos metanógenos hidrogenotróficos*. PhD thesis, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C., 2019. [14](#)
- [31] D. Alves-Menoni, “Efectos del cambio climático en comunidades metanogénicas de lagos en Alaska,” tech. rep., Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay. [14](#)
- [32] L. A. Romero De León, P. Quinto Diez, L. R. Tovar Gálvez, L. Alvarado Perea, C. A. López Barragán, C. A. García Rodríguez, and A. Reyes León, “Biochemical methane potential of water hyacinth and the organic fraction of municipal solid waste using leachate from Mexico City’s Bordo Poniente composting plant as inoculum,” *Fuel*, vol. 285, no. 2020, 2021. [18](#), [33](#), [37](#)
- [33] M. M. Estevez, Z. Sapci, R. Linjordet, and J. Morken, “Incorporation of fish by-product into the semi-continuous anaerobic co-digestion of pre-treated lignocellulose and cow manure, with recovery of digestate’s nutrients,” *Renewable Energy*, vol. 66, pp. 550–558, 2014. [19](#), [84](#)
- [34] R. Adolfo and P. Huertas, “Digestión anaeróbica : mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria *,” vol. 10, no. 2, pp. 142–159, 2015. [19](#)

-
- [35] H. A. M. Sanabria, *DIGESTIÓN ANAEROBIA EN DOS FASES DE LOS RESIDUOS DE CEBOLLA BLANCA (Allium cepa) Y DESARROLLO DE UN MODELO LINEAL ADAPTATIVO PREDICTIVO Tesis que presenta M . I . HARVEY ANDRÉS MILQUEZ SANABRIA En.* PhD thesis, Centro de Investigación Científica de Yucatán, 2017. [19](#)
- [36] S. Xue, Y. Wang, X. Lyu, N. Zhao, J. Song, X. Wang, and G. Yang, “Interactive effects of carbohydrate, lipid, protein composition and carbon/nitrogen ratio on biogas production of different food wastes,” *Bioresource Technology*, vol. 312, no. April, p. 123566, 2020. [20](#), [21](#), [77](#)
- [37] W. Li, K.-C. Loh, J. Zhang, Y. W. Tong, and Y. Dai, “Two-stage anaerobic digestion of food waste and horticultural waste in high-solid system,” *Applied Energy*, vol. 209, pp. 400–408, 2017. [20](#)
- [38] C. H. Camargos, R. A. Silva, Y. Csordas, L. L. Silva, and C. A. Rezende, “Experimentally designed corn biomass fractionation to obtain lignin nanoparticles and fermentable sugars,” *Industrial Crops and Products*, vol. 140, no. April, p. 111649, 2019. [20](#)
- [39] V. A. Online, J. Tomaszewska, M. Binczarski, J. Berlowska, J. Piotrowski, A. Stanishevsky, and P. Dziugan, “RSC Advances for chemicals and biodegradable polymers,” pp. 3161–3177, 2018. [22](#)
- [40] E. Science, “The Influence of Straw Treatment by Acid Hydrolysis on Methane Production Efficiency of Agricultural Biogas Plant The Influence of Straw Treatment by Acid Hydrolysis on Methane Production Efficiency of Agricultural Biogas Plant,” [22](#)
- [41] A. Abraham, A. K. Mathew, H. Park, O. Choi, and R. Sindhu, “Bioresource Technology Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass,” *Bioresource Technology*, vol. 301, no. December 2019, p. 122725, 2020. [22](#)
- [42] U. González Miranda, “Determinación de las sustancias que permiten la producción de biogás a partir de residuos sólidos orgánicos municipales,” tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, 2017. [23](#), [24](#)
- [43] P. Taylor, M. Peces, and S. Astals, “Assessing total and volatile solids in municipal solid waste samples,” no. October 2014, pp. 37–41. [23](#)
- [44] L. G. Gabriela Vargas, “Seguimiento de la Digestión Anaerobia de Biomasa Algal en un Demo-Site: Evaluación del Pretratamiento Térmico y Cosustratos,” tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, 2018. [24](#), [56](#), [76](#)
- [45] L. Solorzano, “Solorzano, L. (1969) Determination of Ammonia in Natural Waters by the Phenolhypochlorite Method. *Limnology and Oceanography*,” pp. 799–801, 1969. [25](#), [56](#), [62](#)
-

BIBLIOGRAFÍA

- [46] R. D. García, “Instrumentos que revolucionaron la química : la historia del espectrofotómetro,” vol. 13, pp. 79–82, 2018. [25](#)
- [47] K. Romero and R. Alvarado, “RECUPERACIÓN DE BICARBONATO DE SODIO Y REAJUSTE DE SOLUCIÓN ALCALINA UTILIZADA PARA MEDICIÓN DEL BIOGÁS POR MÉTODO DE DESPLAZAMIENTO DE LÍQUIDOS,” 2022. [26](#)
- [48] D. J. Alonso, Z. Edgar, S. C. Lizeth, N. O. Martin, and P. Alejandro, “Monitoreo y registro en tiempo real de parámetros de un proceso a baja escala de producción de biogás mediante un sistema mecatrónico simple,” *Innovación y Desarrollo tecnológico Revista Digital*, vol. 12, pp. 413–424, 2020. [27](#)
- [49] R. G. A and S. J. J. Biological, “Biological and Chemical Hazards of Forensic Skeletal Analysis,” *Social Science One*, vol. 43, no. 5, pp. 940–948, 1998. [28](#), [85](#)
- [50] J. C. Ortigoza-Guerrero, “Bioquímica en la descomposición cadavérica (putrescina y cadaverina).,” *Red Internacional de Divulgación Científica Forense*, 2019. [28](#), [85](#)
- [51] T. Higa and F. P. James, “MICROORGANISMOS BENÉFICOS Y EFECTIVOS PARA UNA AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE SOSTENIBLE,” tech. rep., Centro Internacional de Investigación de Agricultura Natural, Maryland, 1993. [28](#)
- [52] J. M. L. Francisco Omil, Ramón Méndez, “1995 - Anaerobic treatment of seafood processing waste waters in an industrial anaerobic pilot plant,” 1996. [29](#), [30](#)
- [53] S. Kim and B. E. Dale, “Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 26, no. 4, pp. 361–375, 2004. [30](#)
- [54] C. Hongzhang, L. Hongqiang, and L. Liying, “The inhomogeneity of corn stover and its effects on bioconversion,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 35, no. 5, pp. 1940–1945, 2011. [30](#), [40](#)
- [55] F. Affecting, “Affecting Biomass Enzymatic Reactivity,” *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 84, 2000. [31](#)
- [56] J. W. Rodríguez-lara, F. Cervantes-ortiz, G. Arámbula-villa, L. A. Mariscal-amaro, C. L. Aguirre-mancilla, and E. Andrio-enríquez, “Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*): una revisión,” *Agronomía Mesoamericana*, vol. 33, no. 1, 2022. [32](#)
- [57] A. R. Raúl, D. R. Gerardo, and D. R. Alejandra, “MACROFITAS ACUÁTICAS : ¿CONTAMINANTES O SOLUCIONES DE LA CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS?,” tech. rep., Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, 2002. [32](#)
- [58] C. C. Carrión Hernández, “Evaluación del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) como remediador de agua y mejorador de suelo en el ANP de Xochimilco.,” tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de México, 2010. [33](#), [40](#)

-
- [59] E. Bustamante Castellanos, “Evaluación del potencial pesquero de la tilapia (*Oreochromis niloticus*), en la zona lacustre de Xochimilco, México, D.F.,” tesis de grado, 2013. [33](#)
- [60] Y. Valenzuela Velazquez, “Evaluación del estrés oxidante en la tilapia *Oreochromis niloticus* de la zona lacustre urbano-agrícola de Xochimilco, D.F.,” tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de México, 2016. [33](#), [71](#), [93](#)
- [61] J. V. Mancilla Rojano, “Estudio de la tilapia (*Oreochromis niloticus*) como reservorio de *Aeromonas* potencialmente patógenas, en los canales de Xochimilco, D.F., México,” tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de México, 2015. [33](#), [39](#)
- [62] N. Mejías-Brizuela, E. Orozco-Guillen, and N. Galáan-Hernández, “Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México,” *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, vol. 2, no. 6, pp. 27–41, 2016. [35](#), [36](#)
- [63] Secretaría de Servicios Parlamentarios, “Ley de promoción y desarrollo de los bioenergéticos,” 2008. [35](#)
- [64] SENER, “Programa de Desarrollo del Sistema Eléctrico Nacional 2022-2036,” reporte técnico, 2022. [36](#)
- [65] CENACE, “Programas de Ampliación y Modernización de la Red Nacional de Transmisión y de los elementos de las Redes Generales de Distribución que correspondan al Mercado Eléctrico Mayorista. PAMRNT 2022-2033,” 2022. [36](#)
- [66] G. S. Alemán-Nava, V. H. Casiano-Flores, D. L. Cárdenas-Chávez, R. Díaz-Chavez, N. Scarlat, J. Mahlkecht, J. F. Dallemand, and R. Parra, “Renewable energy research progress in Mexico: A review,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 32, pp. 140–153, 2014. [36](#)
- [67] Secretaría de Medio Ambiente, “Programa de Gestión Integral de Residuos Sólidos,” reporte técnico, 2020. [37](#)
- [68] A. Serrano, J. A. Siles, M. C. Gutiérrez, and M. Á. Martín, “Optimization of anaerobic co-digestion of strawberry and fish waste,” *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 173, no. 6, pp. 1391–1404, 2014. [37](#)
- [69] A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, and D. C. Nrel, “Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass,” no. April 2008, 2012. [46](#), [47](#)
- [70] R. B. Baird, A. D. Eaton, and W. E. Federation, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater , 23rd Edition Item Details .:* American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2017. [59](#)
-

BIBLIOGRAFÍA

- [71] L. X. Tova Bermúdez, L. K. Florez Galvis, and L. L. Gaitan Triana, *Diseño de biodigestores para la optimización de procesos de producción de biogás a partir de residuos orgánicos en granjas porcícolas*. PhD thesis, Universidad EAN Bogotá, 2022. [70](#), [77](#), [88](#)
- [72] González-Fernández C. , Sialve B. , Bernet N., Steyer J.P., “Thermal pretreatment to improve methane production of *Scenedesmus* biomass,” vol. 0, 2012. [77](#)
- [73] D. G. GARNICA JIMÉNEZ and L. M. RIVERA BURGOS, *GÉNEROS DE ARCHAEAS METANOGENICAS PRESENTES EN BIODIGESTORES ANAEROBIOS Y SU RENDIMIENTO EN LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS; REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA ENTRE LOS AÑOS 2000 A 2020*. PhD thesis, UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS, 2022. [85](#)
- [74] M. Serrano-Valenciano, “La química de los fenómenos cadavéricos.,” *Gaceta Internacional de Ciencias Forenses*, no. 1, pp. 57–70, 2018. [85](#)
- [75] K. Boe, *Online monitoring and control of the biogas process*. Tesis de phd, Technical University of Denmark, 2006. [88](#)
- [76] M. Hernández-Martínez, T. Gallardo-Velázquez, G. Osorio-Revilla, E. Castañeda-Pérez, and K. Uribe-Hernández, “Characterization of Mexican Fishes According to Fatty Acid Profile and Fat Nutritional Indices,” *International Journal of Food Properties*, vol. 19, no. 6, pp. 1401–1412, 2016. [93](#)