

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

**“EVALUACIÓN DE MECANISMOS DE TRANSFORMACIÓN
BIOQUÍMICA DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES
PARA LA OBTENCIÓN DE BIOENERGÉTICOS”.**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS
DE LA INGENIERÍA**

PRESENTA:

M.C.I.Q. Noemí Nava Valente

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

CODIRECTOR DE TESIS:

Dr. Alejandro Alvarado Lassman



"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

FECHA: 10/02/2017
DEPENDENCIA: POSGRADO
ASUNTO: Autorización de Impresión
OPCIÓN: I


C. NOEMI NAVA VALENTE
CANDIDATO A GRADO DE DOCTOR EN:
CIENCIAS DE LA INGENIERIA

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

"EVALUACION DE MECANISMOS DE TRANSFORMACION BIOQUIMICA DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES PARA LA OBTENCION DE BIOENERGETICOS".

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

A T E N T A M E N T E


M.C. MA. EDENA GARCÍA REYES
JEFE DE LA DIV. DE ESTUDIOS DE POSGRADO



ggc





FECHA : 23/01/2017

ASUNTO: Revisión de Trabajo Escrito

C. M.C. MA. ELENA GARCÍA REYES
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACION.
P R E S E N T E

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C. :

NOEMI NAVA VALENTE

la cual lleva el título de:

"EVALUACION DE MECANISMOS DE TRANSFORMACION BIOQUIMICA DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES PARA LA OBTENCION DE BIOENERGETICOS".

Y concluyen que se acepta.

A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : DR. JUAN MANUEL MENDEZ CONTRERAS
SECRETARIO : DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN
PRIMER VOCAL : DR. ALBERTO ALFONSO AGUILAR LASSERRE
SEGUNDO VOCAL : DR. EUSEBIO BOLAÑOS REYNOSO
TERCER VOCAL : DR. ANGEL GUILLERMO ZITLALPOPOCA
VOCAL SUP. : DRA. GUADALUPE LUNA SOLANO

FIRMA

FIRMA

FIRMA

FIRMA

FIRMA

FIRMA

EGRESADO(A) DEL DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA INGENIERIA

OPCION: I Tesis



AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Dr. Juan Manuel Méndez Contreras por todo su apoyo y orientación en la realización de este trabajo de tesis. Agradezco el tiempo que trabajé con usted en el cual no solo me guio en el aspecto profesional, sino también en el moral y espiritual. Gracias por la confianza y amistad.

A mi co-asesor de tesis, Dr. Alejandro Alvarado Lassman, por la formación académica y científica para la culminación del presente trabajo.

A los miembros de mí jurado doctoral:

Dr. Alberto A. Aguilar Laserre

Dr. Eusebio Bolaños Reynoso

Dr. Ángel G. Zitlalpopoca Soriano

Dra. Guadalupe Luna Solano

Gracias por su tiempo y sus valiosas aportaciones para la culminación del presente trabajo.

Al Instituto Tecnológico de Orizaba, por permitirme desarrollar el presente trabajo de tesis.

A la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada con número de registro 332980 que me permitió realizar estudios de Doctorado en Ciencias en Ingeniería en la ciudad de Orizaba Veracruz

DEDICATORIAS

A Dios, por permitirme la vida, fuerza, salud y capacidad para lograr esta meta en mi vida, por poner en mi camino personas que me apoyan y guían, porque sin Él nada es posible.

A mi esposo Israel, por alentarme, escucharme, creer en mí y animarme a seguir, gracias por estar a mi lado en cada paso que he dado, sin duda alguna este logro es de ambos. Te amo.

A mis padres Nicolás y Cecilia, por su amor incondicional, sacrificios y apoyo, los amo.

A mis hermanos, Ingrid, Esdras, Nehemías y Getsemaní por compartir momentos alegres y alentarme a seguir adelante.

A mis amigas Margarita, Maricruz, Gloria, Betzabé y Paulina, gracias por hacer de mi estancia en el doctorado increíble, alegre y por brindarme su amistad. No me olvido de Lily, aparte de agradecerte tu amistad, te agradezco la colaboración, empeño y dedicación que tuviste al trabajar directamente con el presente proyecto, sin tu ayuda esto no hubiese sido posible. Ateno, Luis y Lalo gracias por su amistad y consejos.

Agradezco a todos mis compañeros que forman parte del equipo de trabajo del laboratorio de ambiental II y que colaboraron directa o indirectamente en este proyecto de investigación, gracias por su apoyo y compañerismo.



RESUMEN

EVALUACIÓN DE MECANISMOS DE TRANSFORMACIÓN BIOQUÍMICA DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES PARA LA OBTENCIÓN DE BIOENERGÉTICOS

Elaborada por: M.C.I.Q. Noemí Nava Valente

Dirigida por: Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

Co dirigida por: Dr. Alejandro Alvarado Lassman

El objetivo de este estudio fue evaluar diferentes mecanismos de transformación bioquímica de dos mezclas de residuos agroindustriales (Lodos residuales, pollinaza y RAC) para la generación de bioenergéticos. La caracterización de las mezclas de residuos agroindustriales (A y B) muestran que son ricas en compuestos como carbohidratos, lípidos y especialmente proteínas. Al someter las mezclas al pre-tratamiento térmico, se obtuvieron porcentajes de tasa de hidrólisis entre 0.85%-6.56%, incrementándose el porcentaje de tasa de hidrólisis conforme se incrementó la temperatura y tiempo de exposición. Al aplicar al pre-tratamiento ácido se obtuvieron tasas de hidrólisis entre 3.7%-15.3% y porcentajes de tasa de hidrólisis entre 0.7%-23.8%, al aplicar el pre-tratamiento enzimático. Los pre-tratamientos evaluados aportaron de manera significativa al proceso de digestión anaerobia disminuyendo el TRH, y aumentando la producción de biogás. La mezcla B pre-tratada con un pre-tratamiento térmico a 90°C y 90 min fue la mezcla seleccionada para llevar a operación planta piloto, ya que fue la que mejor rendimiento de metano obtuvo con respecto a los demás pre-tratamiento y con respecto a la mezcla A. Esta investigación contribuye a mejorar la viabilidad de la digestión anaerobia mediante la estrategia utilizada (pre-tratamiento térmico) aumentando la capacidad del proceso, la eficacia del tratamiento, la conversión de biogás, y reduce la cantidad de desechos y consumo de energía. De igual manera, se definió teóricamente los posibles mecanismos que llevan a la transformación bioquímica de compuestos no biodegradables a compuestos solubles biodegradables.

**ABSTRACT****EVALUATION OF BIOCHEMICAL TRANSFORMATION MECHANISMS OF AGRO-INDUSTRIAL WASTES FOR OBTAINING BIOENERGETICS****Elaborated by: M.C.I.Q. Noemí Nava Valente****Advisor: Dr. Juan Manuel Méndez Contreras****Co advisor: Dr. Alejandro Alvarado Lassman**

The aim of this study was to evaluate different biochemical transformation mechanisms of two mixtures of agro-industrial wastes (waste sludge, broiler excreta and SCW) for bioenergy generation. Characterization of mixtures of agro-industrial wastes (A and B) show that they are rich in compounds such as carbohydrates, lipids and especially proteins. To submit mixtures to pre-treatment heat, is obtained organic matter solubilization degree between 0.85%-6.56%, increasing the percentage of rate of hydrolysis as is increased the temperature and time of exposure. When applying acid pretreatment, hydrolysis rates were obtained between 3.7% -15.3% and percent hydrolysis rates between 0.7% - 23.8%, when applying the enzymatic pretreatment. Pre-treatments contributed significantly to the anaerobic digestion process by decreasing HRT and increasing biogas production. Mixture B with a heat pre-treatment at 90 °C and 90 min was the mixture selected to carry out pilot plant operation, since it was the one with the best methane yield obtained with respect to the other pre-treatment and with respect to blend A. This research contributes to improve the viability of anaerobic digestion through the strategy used (pre-heat treatment) by increasing process capacity, treatment efficiency, biogas conversion, and reduces the amount of waste and energy consumption. Similarly defined theoretically possible mechanisms that lead to the biochemical transformation of non-biodegradable compounds to soluble biodegradable compounds.



INDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	4
CAPÍTULO I FUNDAMENTOS TEÓRICOS	6
1.1 Contexto energético mundial.....	6
1.1.1 Producción nacional de energía primaria.....	7
1.2.1 Generación y aprovechamiento de lodos residuales.....	10
1.2.1 Generación y aprovechamiento de la pollinaza.....	11
1.2.3 Generación y aprovechamiento del Residuo Agrícola Cañero (RAC)	12
1.3 Procesos de conversión de la biomasa en energía.....	13
1.3.1 Digestión anaerobia	14
1.4 Ecuación de Michaelis-Menten	19
1.4.1 Determinación de los parámetros Km y Vmax: la representación de Lineweaver-Burk.....	20
1.5 Co-digestión anaerobia.....	21
1.6 Mejoramiento de la digestión anaerobia.....	22
1.6.1 Pre-tratamiento térmico	24
1.6.2 Pre-tratamiento ácido.....	25
1.6.3 Pre-tratamiento enzimático	26
1.7 Antecedentes	27
CAPÍTULO II METODOLOGÍA	29
2.1 Obtención y caracterización de sustratos	29
2.1.1 Obtención de lodos residuales	29
2.1.2 Obtención de pollinaza	31
2.1.3 Obtención del Residuo Agrícola Cañero (RAC).....	32



2.1.4 Obtención de mezclas de residuos	33
2.2 Caracterización de residuos agroindustriales y mezclas	34
2.2.1 pH.....	34
2.2.2 Sólidos totales	35
2.2.3 Sólidos volátiles	35
2.2.4 Nitrógeno total.....	36
2.2.5 Carbohidratos	36
2.2.6 Lípidos	36
2.2.7 Proteínas	36
2.2.8 Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	37
2.3 Pre-tratamiento térmico para mezclas de residuos agroindustriales	37
2.4 Pre-tratamiento ácido de mezclas de residuos agroindustriales.....	38
2.5 Pre-hidrólisis enzimática de residuos agroindustriales	41
2.6 Digestión anaerobia de residuos agroindustriales para determinar su máximo potencial energético (Cinéticas).....	42
2.6.1 Determinación de alcalinidad	43
2.6.2 Determinación de Ácidos Grasos Volátiles (AGV's)	43
2.6.3 Composición de biogás.....	44
2.7 Operación a nivel piloto para la generación de bioenergéticos y su reincorporación al sistema productivo	44
CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
3.1 Caracterización de sustratos	44
3.2 Evaluación de pre-tratamientos en las mezclas de residuos agroindustriales A y B	46
3.2.1 Pre-tratamiento Térmico (PTT)	46
3.2.2 Pre-tratamiento Ácido (PTA)	51



3.2.3 Pre-tratamiento Enzimático (PTE).....	55
3.3.1 Pruebas de biodegradabilidad en mezclas A y B con pre-tratamiento térmico.....	59
3.3.2 Pruebas de biodegradabilidad en mezclas A y B con pre-tratamiento ácido	65
3.3.1 Pruebas de biodegradabilidad en mezclas A y B con pre-tratamiento enzimático	72
3.4.1 Operación semi-continua de las mezclas de residuos orgánicos pre-tratadas térmicamente .	78
3.4.2 Operación semi-continua de las mezclas de residuos orgánicos pre-tratadas con ácido.....	81
3.5.3 Operación semi-continua de las mezclas de residuos orgánicos pre-tratadas con enzima proteasa Fungal	84
3.6 Comparación de parámetros obtenidos en la digestión anaerobia de las mezclas Ay B de residuos agroindustriales operación semi-continua	87
3.7 Análisis de la cinética de biodegradabilidad de las mezclas de residuos agroindustriales mediante el modelo de Michaelis-Menten	89
3.8 Operación semi-continua de digester anaerobio nivel piloto alimentado con de residuos orgánicos pre-tratadas térmicamente	95
CAPÍTULO IV PRODUCTOS ACADÉMICOS	97
CONCLUSIONES.....	109
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	112
ANEXO A ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS	126
5.1 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla A pre-tratamiento Térmico (PTT)	126
5.2 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla B pre-tratamiento Térmico (PTT).	128
5.3 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla A pre-tratamiento ácido (PTA).....	130
5.4 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla B pre-tratamiento ácido (PTA).....	131
5.5 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla A pre-tratamiento enzimático (PTE)	133
5.6 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla B pre-tratamiento enzimático (PTE)	135



5.7 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla A pre-tratada térmicamente.....	137
5.8 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla B pre-tratada térmicamente.....	138
5.9 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla A PTA.....	139
5.10 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTA.....	141
5.11 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla A PTE.....	142
5.12 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTE.....	143



INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Producción de energía 2013 (World Energy Balance, 2015).....	7
Figura 1.2 Procesos de conversión de la biomasa a energía (Secretaría de energía, 2008).....	14
Figura 1.3 Reacciones de la digestión anaerobia (adaptada por Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).....	15
Figura 1.4 Representación de K en función de S	21
Figura 1.5 Clasificación de los pre-tratamientos (Müller, 2001)	23
Figura 2.1 Metodología experimental	29
Figura 2.2 Punto de muestreo	30
Figura 2.3 Acondicionamiento de pollinaza.....	32
Figura 2.4 Acondicionamiento RAC	33
Figura 2.5 Hidrólisis ácida de residuos agroindustriales	40
Figura 3.1 Tasa de hidrólisis mezcla A PTT	47
Figura 3.2 Tasa de hidrólisis mezcla B PTT	48
Figura 3.3 Tasa de hidrólisis mezcla A PTA.....	51
Figura 3.4 Tasa de hidrólisis mezcla B PTA	52
Figura 3.5 Tasa de hidrólisis mezcla A PTE	56
Figura 3.6 Tasa de hidrólisis mezcla B PTE	57
Figura 3.7 Remoción de SV en pruebas de biodegradabilidad PTT, mezcla A	60
Figura 3.8 Producción de biogás acumulado, pruebas de biodegradabilidad PTT mezcla A ...	61
Figura 3.9 Remoción de SV en pruebas de biodegradabilidad PTT, mezcla B	63
Figura 3.10 Producción de biogás acumulado, pruebas de biodegradabilidad PTT mezcla B..	64
Figura 3.11 Remoción de SV pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTA.....	66
Figura 3.12 Producción de biogás, pruebas de biodegradabilidad mezcla A PTA	67
Figura 3.13 Remoción de SV pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTA.....	70
Figura 3.14 Producción de biogás, pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTA.....	71
Figura 3.15 Remoción de SV pruebas de biodegradabilidad mezcla A PTE	73



Figura 3.16 Producción de biogás, pruebas de biodegradabilidad mezcla A PTE.....	74
Figura 3.17 Remoción de SV pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTE	76
Figura 3.18 Producción de biogás pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTE	76
Figura 3.19 Remoción de SV operación semi-continua mezclas pre-tratadas térmicamente ...	79
Figura 3.20 Producción de biogás operación semi-continua mezclas pre-tratadas térmicamente	80
Figura 3.21 Rendimiento de biogás y de metano, semicontinuo, PTT.....	81
Figura 3.22 Remoción SV operación semi-continua PTA	82
Figura 3.23 Producción de biogás, semicontinuo PTA	83
Figura 3.24 Rendimiento de biogás y de metano, semicontinuo PTA	84
Figura 3.25 Remoción SV semicontinuo PTE.....	85
Figura 3.26 Producción de biogás semicontinuo PTE.....	86
Figura 3.27 Rendimiento de biogás y de metano semicontinuo PTE.....	86
Figura 3.33 Remoción SV operación nivel piloto	96
Figura 3.34 Producción de biogás operación nivel piloto	97
Figura 3.35 Rendimiento de biogás y de metano operación nivel piloto	97



INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Producción de energía primaria (pentajoules) (Balance nacional de energía, 2015) ..8	
Tabla 1.2 Estado del arte	28
Tabla 2.1 Condiciones de operación PTAR	30
Tabla 2.2 Muestras de residuos de cosechas	32
Tabla 2.3 Caracterización de sustratos	34
Tabla 2.4 Diseño experimental pre-tratamiento térmico	38
Tabla 2.5 Diseño experimental pre-tratamiento ácido.....	40
Tabla 2.6 Diseño experimental pre-tratamiento enzimático.....	41
Tabla 2.7 Parámetros de monitoreo operación semi-continua	42
Tabla 3.1 Caracterización de residuos agroindustriales	45
Tabla 3.2 Resumen % tasa de hidrólisis PTT.....	49
Tabla 3.3 Resumen % tasa de hidrólisis PTA	53
Tabla 3.4 Resumen % tasa de hidrólisis PTE.....	58
Tabla 3.5 Resumen parámetros pruebas de biodegradabilidad PTT mezcla A	62
Tabla 3.6 Resumen parámetros pruebas de biodegradabilidad PTT mezcla B	65
Tabla 3.7 Resumen de parámetros prueba de biodegradabilidad PTA mezcla A	68
Tabla 3.8 Resumen de parámetros pruebas de biodegradabilidad PTA mezcla B	71
Tabla 3.9 Resumen de parámetros pruebas de biodegradabilidad PTE mezcla A	75
Tabla 3.10 Resumen de parámetros pruebas de biodegradabilidad PTE mezcla B	77
Tabla 3.11 Comparación de pre-tratamientos, operación semi-continua	87
Tabla 3.12 Ecuaciones modelo exponencial mezcla B.....	90
Tabla 3.13 Parámetros cinéticos Michaelis-Menten mezcla B.....	91
Tabla 3.14 Resumen de parámetros operación nivel piloto.....	98
Tabla 5.1 Análisis de varianza mezcla A, tasa de hidrólisis PTT	127
Tabla 5.2 Análisis de varianza mezcla B tasa de hidrólisis PTT	129
Tabla 5.3 ANOVA tasa de hidrólisis mezcla A PTA.....	131



Tabla 5.4 ANOVA tasa de hidrólisis mezcla B PTA	133
Tabla 5.5 ANOVA tasa de hidrólisis mezcla A PTE	134
Tabla 5.6 ANOVA tasa de hidrólisis mezcla B PTE.....	136
Tabla 5.7 ANOVA mezcla A PTT, rendimiento de metano	137
Tabla 5.8 ANOVA mezcla B PTT rendimiento de metano.....	139
Tabla 5.9 ANOVA mezcla A PTA rendimiento de metano	140
Tabla 5.10 ANOVA mezcla B PTA rendimiento de metano	141



INTRODUCCIÓN

En años recientes, el uso de fuentes renovables de energía ha obtenido una gran importancia como alternativa a los combustibles fósiles. Hoy en día, el uso de combustibles fósiles ya no es sustentable debido a que este recurso está limitado y no es amigable con el medio ambiente. Es por ello, que los recursos energéticos renovables han generado un gran interés en la comunidad internacional durante las últimas décadas.

La biomasa es una fuente de energía prometedora, la cual incluye desechos orgánicos, desechos animales, desechos de plantas de tratamiento de aguas, residuos industriales y agrícolas, así como cultivos energéticos los cuales pueden ser usados como para la producción de biocombustibles.

Las actividades agropecuarias y agroindustriales dan origen a una amplia gama de residuos y subproductos, los cuales son dispuestos de diversas maneras, principalmente como alimento para ganado, quemados in situ o generalmente considerados por el generador como aspectos negativos y periféricos de sus actividades y no como una posible fuente de ingresos.

En las granjas avícolas se origina un residuo orgánico en grandes cantidades llamado pollinaza, que es una mezcla del material que se utiliza como cama para los pollos (aserrín de madera, cascarilla de arroz o de soya, olote de maíz molido, etc.) y las heces fecales de las aves. Los residuos de la agroindustria azucarera y sus posibles aprovechamientos es un tema de suma importancia en las regiones cañeras. Una de las ventajas de los desechos del sector azucarero es su naturaleza orgánica, biodegradabilidad y potencial de reutilización, ventajas que abren la oportunidad de generar estudios que proporcionen información acerca de posibles opciones de aprovechamiento.

Los lodos residuales generados en las plantas de tratamiento de aguas residuales, representan un problema debido al alto contenido de microorganismos patógenos, elevada concentración de materia orgánica y la presencia de metales pesados en algunos casos, lo que refleja una baja calidad en dicho lodos.



Una alternativa de tratamiento es la digestión anaerobia, que puede describirse como un proceso de múltiples etapas mediante la cual se degrada la materia orgánica por la acción de una serie de microorganismos, transformándola en una mezcla gaseosa constituida principalmente de CH_4 y CO_2 , y que se conoce como biogás. Sin embargo, para mejorar la viabilidad de la digestión anaerobia deben implementarse estrategias que aumenten la capacidad y la eficacia del tratamiento, la conversión de biogás y la reducción de la cantidad de los residuos.

El pre-tratamiento térmico es uno de los más empleados para el mejoramiento del proceso de digestión anaerobia porque logra una alta solubilidad y un alto porcentaje de reducción de materia orgánica al final de tratamiento, además de favorecer la inactivación de las concentraciones de microorganismos patógenos presentes en lodos. La hidrólisis química (ácida) y enzimática son dos pre-tratamientos comunes para convertir la fracción lignocelulósica de azúcares solubles (sacarificación). La sacarificación por hidrólisis ácida es un proceso simple y directo, se ha utilizado durante mucho tiempo, pero requiere energía (calor) para llevarse a cabo. En contraste la sacarificación enzimática requiere menos energía y no se ha reportado producción de algún sub-producto tóxico.

Esta investigación brinda una alternativa de solución a la generación de residuos orgánicos y/o agroindustriales generados en los procesos de producción que integran empresas agroindustriales del sector avícola y el sector azucarero, además de evaluar distintos mecanismos de transformación bioquímica de estos sustratos para la generación de bioenergéticos.

El capítulo uno de esta tesis presenta los antecedentes. En él se menciona el contexto energético mundial, y por supuesto en México. Se presenta la biomasa como fuente alterna de energía renovable, así como la generación, y aprovechamiento de diferentes tipos de biomasa. Además, se comparan tecnologías empleadas para el tratamiento de residuos orgánicos. Se exponen los aspectos más importantes del proceso de digestión anaerobia y los pre-tratamientos para mejorar la digestión anaerobia.



Por otra parte, en el segundo capítulo se presenta la metodología experimental utilizada para la realización de los estudios de pre-tratamientos térmico, ácido y enzimático. Se presenta con detalle cuatro etapas de experimentación diseñadas para alcanzar los objetivos planteados.

El capítulo tres presenta los resultados obtenidos para cada una de las etapas de experimentación. El capítulo cuatro muestra los productos académicos obtenidos a lo largo de esta investigación. Finalmente en los anexos se incluye el análisis estadístico de los resultados obtenidos.



OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar diferentes condiciones de pre-tratamientos térmicos, ácidos y enzimáticos para el mejoramiento del proceso de digestión anaerobia de dos mezclas de residuos agroindustriales (Lodos residuales, pollinaza y RAC) y la generación de bioenergéticos.

Objetivos específicos

- Caracterizar en términos fisicoquímicos los sustratos agroindustriales.
- Establecer las condiciones recomendables de operación para la pre-hidrólisis térmica, ácida y enzimática de dos mezclas diferentes de sustratos agroindustriales (lodos/pollinaza/RAC) en términos de la tasas de hidrólisis de compuestos orgánicos.
- Determinar los parámetros cinéticos de remoción de compuestos orgánicos en los sustratos pre-hidrolizados durante el proceso de digestión anaerobia para la máxima generación de metano.
- Determinar los máximos rendimientos energéticos de los residuos agroindustriales.



HIPOTESIS

Hipótesis general

La evaluación analítica y matemática de mecanismos de transformación térmicos, ácidos y enzimáticos de diferentes mezclas de residuos orgánicos definirán las condiciones de operación de un proceso mejorado de digestión anaerobia con alta eficiencia de remoción de compuestos orgánicos y producción de bioenergéticos.

CAPÍTULO I

FUNDAMENTOS TEÓRICOS



CAPÍTULO I FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Contexto energético mundial

En 2013, la producción mundial de energía primaria totalizó 13 611.87 millones de toneladas equivalente de petróleo, 2.3% mayor que en 2012. Los países con mayor producción primaria fueron China, Estados Unidos, Rusia, Arabia Saudita e India, con participaciones de 19.2%, 13.2%, 9.8%, 4.5% y 3.8%, respectivamente. México se situó en el decimotercer lugar, con 1.6% de la energía total producida en el mundo.

Dentro de los cambios en la canasta de producción primaria, destacó el incremento de la participación del carbón y sus derivados, que ganaron 0.7 puntos porcentuales de 2012 a 2013. Por su parte, la producción de petróleo perdió 0.8 puntos porcentuales (figura 1.1).

Ligado a lo anterior, el principal incremento se observó en la producción del carbón y sus derivados, con 5.0% respecto al año anterior. La producción mundial de energías renovables incrementó 3.8%, la de gas natural 2.2% y la núcleo energía 0.7%; mientras que la producción de petróleo disminuyó 0.2% (World Energy Balances, 2015).

En años recientes, el uso de fuentes renovables de energía ha obtenido una gran importancia como alternativa a los combustibles fósiles (Karakashev *et al.*, 2007). Hoy en día, el uso de combustibles fósiles ya no es sustentable debido a que este recurso está limitado y no es amigable con el medio ambiente (Kamm y Kamm, 2006). Es por ello, que los recursos energéticos renovables han generado un gran interés en la comunidad internacional durante las últimas décadas.

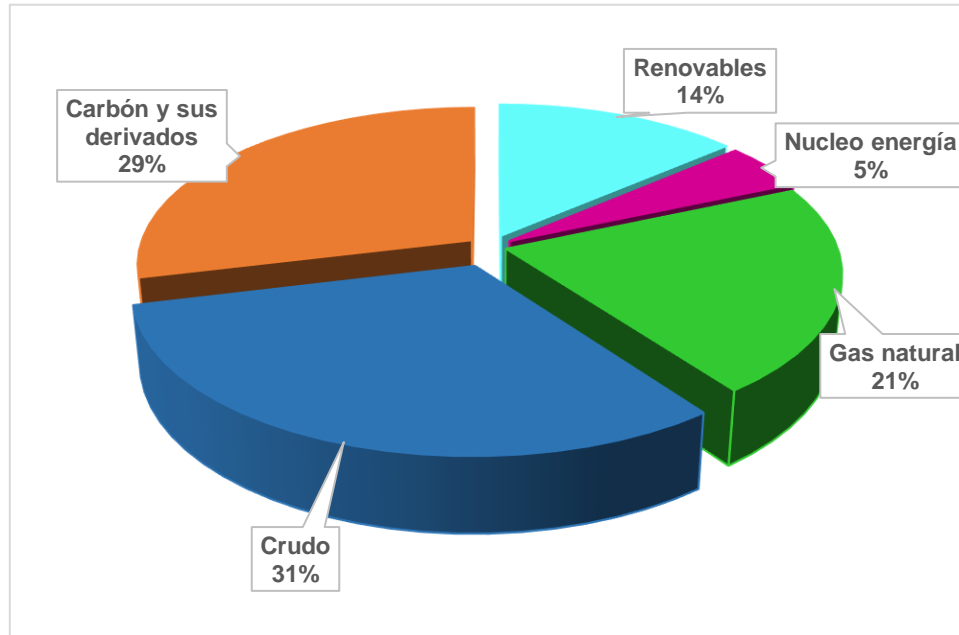


Figura 1.1 Producción de energía 2013 (World Energy Balance, 2015)

1.1.1 Producción nacional de energía primaria

En 2014, la producción nacional de energía primaria totalizó en 8826.15 PJ, un 2.1% menor respecto a 2013. La producción de petróleo, principal energético primario, disminuyó 3.7% comparado con 2013. En lo que respecta a la producción por tipo de petróleo, el pesado aportó 52.1%, con un decrecimiento de 2.0% comparado con 2013. La producción de petróleo ligero incrementó su participación en 2.0%, pasando de 33.6% en 2013 a un total de 35.6% en 2014. Mientras que la producción de petróleo súper ligero representa el 12.3% de la producción, sin mostrar algún cambio con el año anterior (Tabla 1.1).

En cuanto a la producción bruta de gas natural, se observó un incremento de 1.7%. En 2014, el gas enviado a la atmósfera aumentó 98.4% y el aprovechamiento del gas natural disminuyó 2.0%, quedando en 95.9%.

En lo que respecta a la producción de biogás, mostró una disminución del 1.6%, dando un total de 1.94 PJ. Por su parte, la biomasa, que se integra por bagazo de caña (30.0%) y leña



(70.0%), pasó de 379.26 PJ en 2013 a 363.28 PJ en 2014, disminuyendo 4.2% (Balance nacional de energía, 2015).

Tabla 1.1 Producción de energía primaria (pentajoules) (Balance nacional de energía, 2015)

	2013	2014	Variación porcentual (%) 2013-2014	Estructura porcentual (%) 2014
Total	9019.91	8826.15	-2.15	100
Carbón	299.88	303.37	1.16	3.44
Hidrocarburos	7961.43	7755.20	-2.59	87.87
Petróleo Crudo	5814.63	5597.20	-3.74	63.42
Condensados	101.20	78.55	-22.38	0.89
Gas natural	2045.61	2079.45	1.65	23.56
Nucleoenergía	122.60	100.60	-17.95	1.14
Renovables	636.01	666.98	4.87	7.56
Hidroenergía	100.81	140.01	38.89	1.59
Geoenergía	131.32	129.88	-1.09	1.47
Solar	7.60	8.73	15.00	0.10
Energía eólica	15.06	23.13	53.57	0.26
Biogás	1.97	1.94	-1.57	0.02
Biomasa	379.26	363.28	-4.21	4.12
Bagazo de caña	123.83	109.16	-11.85	1.24
Leña	255.42	254.12	-0.51	2.88

1.2 Biomasa como fuente de energía

La sustentabilidad en el crecimiento económico requiere de recursos adecuados para la producción industrial. El sector industrial ha iniciado la búsqueda de tecnologías que permitan la obtención de fuentes alternas de energía renovable, este crecimiento significativo en el interés por fuentes alternas de energía generan un enorme potencial para explotar la biomasa como fuente energética.



La biomasa es una fuente de energía prometedora, la cual incluye desechos orgánicos, desechos animales, desechos de plantas de tratamiento de aguas, residuos industriales y agrícolas, así como cultivos energéticos los cuales pueden ser usados como para la producción de biocombustibles (Antonopoulou *et al.*, 2008). En la biomasa, la concentración de cada clase de compuesto varía dependiendo de la especie, el tipo de tejido de la planta, la etapa de crecimiento y las condiciones de crecimiento (Stevens, 2011).

Atendiendo a su origen la biomasa se puede clasificar en:

- *Biomasa natural:* producida en los ecosistemas naturales, aunque es una de las principales fuentes energéticas en los países en vías de desarrollo, no es la más adecuada para un aprovechamiento energético masivo ya que podría originar una rápida degradación de los ecosistemas.
- *Biomasa cultivada:* producida con fines energéticos y no alimentarios (leñosa o herbácea), se pueden diferenciar dos tipos, los orientados a la producción de materiales leñosos con especies de arbóreas de crecimiento rápido y los orientados a la producción de especies vegetales anuales.
- *Biomasa residual:* generada como residuo en los procesos productivos de los sectores agrícola, forestal o industrial y residuos urbanos.

Las actividades agropecuarias y agroindustriales dan origen a una amplia gama de residuos y subproductos, los cuales son dispuestos de diversas maneras, principalmente como alimento para ganado, quemados in situ o generalmente considerados por el generador como aspectos negativos y periféricos de sus actividades y no como una posible fuente de ingresos; generalmente se deshace de ellos a través de su disolución, dispersión o vertimiento en tiraderos.

Esta investigación brinda una alternativa de solución a la generación de residuos orgánicos y/o agroindustriales generados en los procesos de producción que integran empresas agroindustriales del sector avícola y el sector azucarero.



1.2.1 Generación y aprovechamiento de lodos residuales

En México no existe una cifra oficial reportada sobre la producción de lodos generados en el país y son muy pocas las plantas que realizan algún proceso de estabilización, ya que generalmente, carecen de las instalaciones para llevar a cabo el tratamiento necesario y la disposición final adecuada a los lodos generados.

Sin embargo, Ortega (2003) estima que se generan cerca de 12 millones de toneladas al año de lodos residuales, de los cuales el principal problema es el alto contenido de microorganismos patógenos que son causantes de enfermedades como: gastroenteritis, tifoidea, helmintiasis y cólera entre otras, además de ser responsables directos de un gran número de muertes al año principalmente en países en desarrollo, así también es destacable la elevada concentración de materia orgánica presente en los lodos residuales y la presencia de metales pesados en algunos casos, lo que refleja una baja calidad en dicho lodos (Jiménez *et al.*, 2002).

Las concentraciones de Coliformes fecales pueden llegar a ser del orden de 6.9×10^9 NMP/g ST y de *Salmonella* spp. 2.1×10^6 NMP/g ST, concentraciones que sobrepasan los límites máximos permisibles por la Norma Oficial Mexicana (NOM 004-SEMANAT-2002).

Del total de lodos generados por las plantas tratadoras de aguas residuales el 61% se dispone en rellenos sanitarios, el 21% es dispuesto inadecuadamente en sitios a cielo abierto sin control en las tasas de aplicación originando efectos severos de contaminación, agotamiento del suelo y enfermedades en los seres humanos y el resto (18%) es dispuesto en terrenos agrícolas (Oropeza, 2006).

Un sector que sin duda aporta en cantidades importantes en la producción de lodos residuales, es el sector industrial avícola, los lodos residuales provenientes de esta industria contienen altas concentraciones de materia orgánica, sólidos suspendidos, grasas, nitrógeno y fósforo. Su composición y flujo generalmente varía dependiendo del proceso industrial, tamaño de las instalaciones, número de aves sacrificadas, eficiencia de recolección de sangre y subproductos,



consumo de agua por pollo procesado y manejo del agua en el proceso industrial (Caldera *et al.*, 2010).

Para este caso de estudio, se analizaron lodos residuales fisicoquímicos provenientes de un proceso de matanza de aves, los lodos fisicoquímicos, se generan en las plantas de tratamiento de aguas residuales basadas en un proceso de coagulación-floculación o Tratamiento Primario Avanzado (TPA) que promuevan la sedimentación primaria acelerada de los sólidos totales (incluyendo sólidos en suspensión), así como las partículas coloidales; esta técnica se ha utilizado en México desde 1997 (Jiménez *et al.*, 1997).

La explotación de los lodos residuales como biomasa energética es factible debido a que los sólidos orgánicos contenidos en los lodos pueden ser aprovechables entre un 85% y 90% (Salminen y Rintala, 2002).

1.2.1 Generación y aprovechamiento de la pollinaza

En las granjas avícolas se origina un residuo orgánico en grandes cantidades llamado pollinaza, que es una mezcla del material que se utiliza como cama para los pollos (aserrín de madera, cascarilla de arroz o de soya, olote de maíz molido, etc.) y las heces fecales de las aves. El aserrín de madera se puede encontrar en espesores de hasta 15 cm, el cual actúa como absorbente para eliminar el exceso de humedad de la orina y las heces fecales. La pollinaza debe retirarse del piso periódicamente para promover una buena higiene a las aves (Whitely, *et al.*, 2006).

Las camas avícolas contienen compuestos orgánicos e inorgánicos (Moguel *et al.*, 1995 y Pacheco *et al.*, 2003), una cantidad variable de humedad (Marshall *et al.*, 1998) y una abundante población microbiana (Martin *et al.*, 1998). No obstante, la composición química de la pollinaza influyen diversos factores, entre los que figuran: la composición de la ración, edad y estado fisiológico de las aves y se han señalado que la edad de las excretas (tiempo de acumulación en la unidad de confinación o avícola) es otro factor de importancia en la variación de la composición de la pollinaza y que está determinado por la volatilización del nitrógeno.



La dificultad para generar bioenergía a partir de pollinaza radica en la falta de conocimiento para estimar la calidad y características de biomasa que son idóneas para producir bioenergía. En países como Estados Unidos, Brasil, Inglaterra, India, Reino Unido, entre otros, se realizan aplicaciones industriales de combustión de biomasa en calderas de alta presión logrando beneficios económicos, ambientales y sociales (Saidur *et al.*, 2011), existen plantas de generación eléctrica que van de los 3 MW hasta los 38.5 MW utilizando pollinaza como combustible (E.P.R. 2012) y otras que aplican digestión anaerobia para producir biofertilizantes, biogás y energía eléctrica (UNFCCC, 2012).

El aprovechamiento de la pollinaza radica principalmente en utilizarla como alimento para animales cuya utilidad se centra en su elevado valor de nitrógeno, aunque debe tenerse en cuenta que este se halla, en su mayor parte, en forma no proteica, principalmente como ácido úrico y, por consiguiente, resulta de poca utilidad para los animales mono gástricos, aunque no para los rumiantes. El elevado valor nitrogenado para la pollinaza desecada equivaldría a un nivel proteico del orden de un 22 a 34%, de igual manera que su elevado contenido de materia orgánica, cerca del 70%, le aseguraría un valor energético del orden del de muchos cereales.

Por otra parte, la pollinaza también es empleada como abono orgánico que es un producto sólido obtenido a partir de la estabilización de este residuo y que contiene porcentajes mínimos de materia orgánica expresada como carbono orgánico oxidable total.

Estudios realizados en México indican que es posible transformar los residuos industriales, agrícolas y ganaderos a diversos productos de valor agregado como bioenergéticos y bioproductos altamente competitivos (Sacramento-Rivero *et al.*, 2010).

1.2.3 Generación y aprovechamiento del Residuo Agrícola Cañero (RAC)

Los residuos de la agroindustria azucarera y sus posibles aprovechamientos es un tema de suma importancia en las regiones cañeras, las cuales deben ajustarse a las nuevas normativas ambientales así como diversificar y adaptar sus sistemas de producción. Una de las ventajas de los desechos del sector azucarero es su naturaleza orgánica, biodegradabilidad y potencial de reutilización, ventajas que abren la oportunidad de generar estudios que proporcionen información acerca de posibles opciones de aprovechamiento.



Los residuos originados en la industria azucarera pueden convertirse en subproductos con cierto valor económico, y a la vez, evita el impacto al medio ambiente ocasionado por la mala disposición. Entre los principales residuos generados está el Residuo Agrícola Cañero (RAC), que es el remanente de los tallos de la caña, hojas, punta o flor y cogollo después de ser cosechada la caña para su posterior transporte al ingenio (Aguilar, 2010).

El RAC puede ser empleado para la alimentación animal, y generación de energía (biogás), también se usa como materia prima para la producción de mieles, levaduras, alcohol, productos hidrolizados, papel, pulpa y fertilizantes. La vaina de las hojas tiene una composición similar a la del bagazo pero no contiene azúcares y contiene mayor cantidad de humedad lo que las hace más utilizable desde el punto de vista energético (biomasa). El denominado borbojo consiste en un conjunto de vaina, collos, hojas y trozos de caña que quedan esparcidos en el campo y que puede utilizarse para alimentar digestores para la producción de gas metano.

Se estima que se generan alrededor de 8 toneladas de RAC por hectárea de caña si se corta con maquina cosechadora, si se corta de forma manual se generan alrededor de 4 toneladas por hectárea y si la caña se quema entre 1 y 2 toneladas de RAC. La realidad es que depende de cuanta superficie (Hectáreas) se tiene operando con equipo mecanizado para cortar la caña de azúcar. La gran mayoría de los ingenios utilizan el RAC como forraje para animales y en menor proporción como combustible para sus calderas.

1.3 Procesos de conversión de la biomasa en energía

La biomasa es la fuente de energía más abundante en la tierra, además de ser el primer combustible que ocupó el hombre para generar fuego, con el paso del tiempo y de la tecnología el hombre fue creando nuevos procesos para la transformación y aprovechamiento de la biomasa.

Los procesos más estudiados y empleados para transformar la biomasa en energía son los procesos termoquímicos y los procesos bioquímicos. Los primeros utilizan el calor y catalizadores para transformar la biomasa en combustibles, productos químicos y energía eléctrica. Por otra parte, los procesos biológicos involucran a microorganismos degradadores



de la material para su transformación mediante la fermentación alcohólica o digestión anaerobia a productos como biogás (metano) y biocombustibles (figura 1.2).

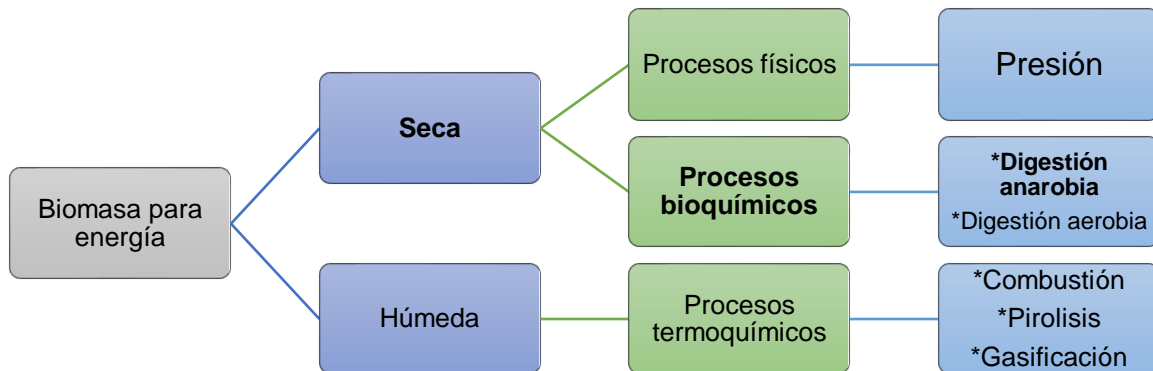


Figura 1.2 Procesos de conversión de la biomasa a energía (Secretaría de energía, 2008)

Las características y la abundancia de la biomasa, la hace susceptible de generar energía por algún medio termoquímico o bioquímico. La alta cantidad de materia volátil que generalmente contienen los diversos tipos de biomasa, le confieren una rápida generación de calor mediante un proceso termoquímico.

1.3.1 Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso biotecnológico que convierte la materia orgánica en energía en forma de biogás, mediante consorcios microbianos (hidrolíticos, acidogénicos y metanogénicos) que implican una serie de reacciones bioquímicas (Abelleira *et al.*, 2012).

La digestión anaerobia es un proceso utilizado para el tratamiento y estabilización de ciertos residuos orgánicos, así como los lodos provenientes de los procesos de tratamiento de aguas residuales. El rendimiento del proceso depende de las características físicas y químicas del sustrato, tal como pH, temperatura, potencial redox, y la retención del agua y sólidos.



La digestión anaerobia está caracterizada por la existencia de varias fases consecutivas diferenciadas en el proceso de degradación del sustrato. En la figura 1.3 se muestran las cuatro fases principales de la digestión anaerobia. Los números indican la población bacteriana responsable del proceso:

1. Bacterias hidrolíticas acidogénicas.
2. Bacterias acetogénicas.
3. Bacterias homoacetogénicas.
4. Bacterias metanogénicas hidrogenófilas.
5. Bacterias metanogénicas acetoclásticas.

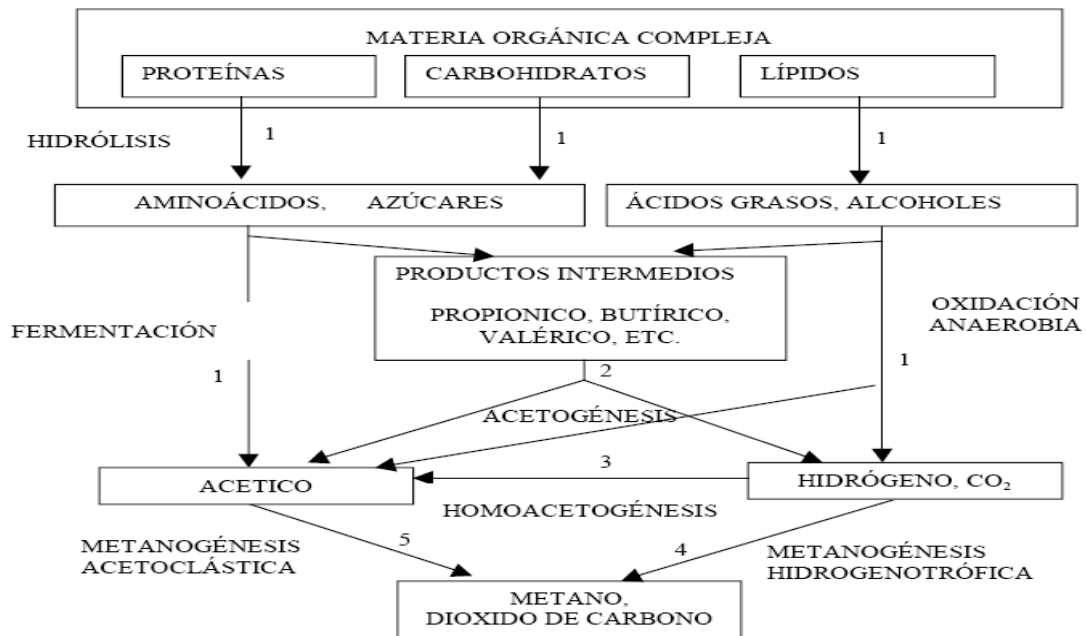


Figura 1.3 Reacciones de la digestión anaerobia (adaptada por Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991)

En el proceso de degradación del sustrato intervienen 5 grupos principales de bacterias. Estas poblaciones se caracterizan por estar compuestas por organismos con diferentes velocidades de crecimiento y diferente sensibilidad a cada compuesto intermedio como inhibidor (por



ejemplo, H_2 , ácido acético o amoníaco producido de la acidogénesis). Esto implica que cada etapa presentará diferentes velocidades de reacción según la composición del sustrato y que el desarrollo estable del proceso global requerirá de un equilibrio que evite la acumulación de compuestos intermedios inhibidores o la acumulación de Ácidos Grasos Volátiles (AGV's), que podría producir una disminución del pH. Para la estabilidad del pH es importante el equilibrio CO_2 -bicarbonato. Para hacer posible algunas reacciones es necesaria la asociación sintrófica entre bacterias acetogénicas y metanogénicas, creando agregados de bacterias de estas poblaciones.

1.3.1.1 Hidrólisis

Es la etapa inicial de la digestión anaerobia, donde compuestos orgánicos insolubles de cadena larga o también llamados polímeros, son simplificados por bacterias hidrolíticas mediante la producción de exo-enzimas extracelulares, tales como: celulasas, lipasas y proteasas, las cuales tienen como función principal, atravesar la pared celular de las bacterias para solubilizar las partículas de los compuestos complejos que se encuentran en el exterior, de manera que rompen los enlaces que unen a las macromoléculas teniendo como resultado la formación de monómeros (azúcares, lípidos y proteínas) fáciles de asumir por los microorganismos, esto se debe a que solo pueden asimilar partículas simples de materia orgánica que son llevadas hacia el centro de estas células para poder ser aprovechadas como fuente de energía.

El consorcio bacteriano involucrado comprende especies como *Clostridium*, *Staphylococcus* y *Bacteroides*. Esta etapa es relativamente lenta y por lo tanto puede ser la etapa limitante del proceso global, sobre todo tratando residuos con alto contenido de sólidos. Incluso en casos donde las fases acidogénicas o metanogénicas son consideradas como pasos limitantes, la hidrólisis puede afectar el conjunto del proceso. El grado de hidrólisis y la velocidad del proceso depende de muchos factores, entre otros del pH, la temperatura, la concentración de biomasa hidrolítica, el tipo de materia orgánica particulada (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991), y del tamaño de partícula (Hills y Nakano, 1984). Angelidaki *et al.*, (1999) consideran que la tasa de hidrólisis de carbohidratos y proteínas está limitada por la concentración total de



ácidos grasos volátiles. Henze *et al.*, (1995) consideran que la tasa de hidrólisis está inhibida por la concentración de oxígeno y nitrato.

Ya que la mayoría de los sustratos están formados básicamente por tres tipos de compuestos (carbohidratos, lípidos y proteínas), es importante mencionar los acontecimientos de cada uno durante la digestión anaerobia (DA).

1.3.1.2 Acidogénesis

También llamada fermentación, es la degradación bacteriana de los sustratos solubles de bajo peso molecular como aminoácidos y azúcares, obtenidos en la etapa anterior que pueden degradarse sin un aceptor o donador de electrón externo; los productos son: bióxido de carbono, gas hidrógeno, ácidos orgánicos, alcoholes, algunos compuestos orgánicos nitrogenados y/o sulfurados.

Las ácidos grasos volátiles (AGV's) son compuestos de cadena carbonada corta, que se producen durante la degradación fermentativa, el ácido fórmico, acético, propiónico, butírico, isobutírico, 2-metil butírico, valérico, isovalérico capriónico y caprílico se consideran generalmente ácidos grasos volátiles, produciéndose en mayor cantidad en el proceso de digestión anaerobia el acético, propiónico y butírico y en menor cantidad el capriónico y el caprílico. El ácido acético, ácido fórmico y el gas hidrógeno producidos pueden ser utilizados por las bacterias metanogénicas mientras que los compuestos orgánicos como ácido láctico, propiónico, butírico y etanol, tienen que ser oxidados en la etapa acetogénica para que puedan ser utilizados por las bacterias metanogénicas. Debido a que la acidogénesis puede ocurrir en ausencia de un aceptor de electrón y a que los rendimientos de energía libre son mayores, las reacciones pueden ocurrir en presencia de altas concentraciones de H₂ o formiato con mayor rendimiento de biomasa. (Stams, 1994).

1.3.1.3 Acetogénesis

Mientras que algunos productos de la fermentación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos (H₂ y acetato), otros (valerato, butirato, propionato, algunos aminoácidos, etc.) necesitan ser transformados en productos más sencillos, acetato e hidrógeno, a través de las bacterias acetogénicas. Los procesos acetogénicos son energéticamente difíciles, por lo que necesitan ser “ayudados” por los organismos



metanogénicos u otros organismos consumidores de hidrógeno (Stams, 1994) y la energía libre de la reacción depende de la presión parcial de hidrógeno del medio.

Un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados homoacetogénicos, que consumen H_2 y CO_2 , y producen acetato. Los principales exponentes son *Acetobacterium woodii* o *Clostridium aceticum*. Este tipo de bacterias son capaces de crecer heterotróficamente en azúcares, al contrario que los metanogénicos, siendo más parecidos a los fermentativos que a los metanogénicos, a pesar de utilizar los mismos substratos (Mandigan *et al.*, 1998). El principal inhibidor de la acetogénesis, cuya acumulación provoca la rápida acumulación de los substratos, es el hidrógeno molecular (Ahring y Westermann, 1987 y Fukuzaki *et al.*, 1990).

1.3.1.4 Metanogénesis

La metanogénesis es conocida como la última fase de la digestión anaerobia, finalmente la mayoría de los productos generados a lo largo de las anteriores etapas y sólo un número limitado de compuestos pueden actuar como sustratos (acetato, metanol, hidrógeno o dióxido de carbono), estos serán convertidos a metano, dicha conversión se lleva a cabo por bacterias netamente metanogénicas de las que destacan los géneros *methanobacterium*, *methanobacillus*, *methanococcus*, y *methanosarcina*, estas a su vez se pueden dividir en dos grupos; el primero de ellos son aquellas que consumen como sustrato al acetato y que dentro del proceso son conocidas como metanogénicas acetóclásticas, el otro grupo lo componen las bacterias que utilizan como sustrato al hidrógeno y dióxido de carbono y que son conocidas como metanogénicas hidrogenotróficas.

Batstone (1999), indica que el mejor mecanismo de transferencia de electrones puede ser vía hidrógeno, aunque termodinámicamente y estequiometricamente estos son muy similares hay tres diferencias entre ellos:

- 1) El Hidrógeno tiene una superior difusividad
- 2) El formiato es más soluble
- 3) El ácido fórmico es un ácido más fuerte que el CO_2 y el H_2



Es importante mencionar que esta ruta metabólica establecida por bacterias hidrogenotróficas requiere de presiones bajas, sin embargo es bien conocido que la ruta metabólica establecida por las bacterias acetoclásticas es más común que ocurra en la digestión anaerobia, pero existen limitaciones como los tiempos de generación o crecimiento de las bacterias en cada caso, por ejemplo para las bacterias acetoclásticas el tiempo mínimo requerido para su crecimiento y multiplicación se estima en no menos de 2.6 días que es superior comparado con el tiempo necesario para duplicarse por las bacterias hidrogenotróficas estimado en 6 horas, además de que el porcentaje de producción de metano por la vía acetoclástica es del 70%. En realidad, el desempeño y eficiencia del proceso depende mucho de cada etapa del proceso, sin embargo, existen factores que afectan y favorecen (pH, Sólidos, Alcalinidad, Temperatura, mezclado, macro y micronutrientes, configuración del digestor, etc.) el desempeño de esta última etapa, considerada por mucho la más importante en el proceso.

Los microorganismos metanogénicos pertenecen al grupo Archae, un único grupo de microorganismos genéticamente diferentes por el grupo principal de organismos procarióticos. Sólo un número limitado de compuestos pueden actuar como sustratos en la metanogénesis, entre estos está el acetato, H_2/CO_2 , metanol y formiato. Las reacciones acetoclásticas son importantes en la digestión anaerobia en conjunto con la reducción del CO_2 .

El 70% de la producción de CH_4 es generado por la vía acetato. Muy pocas especies pueden realizar esta producción acetoclástica de metano. Considerando que casi todas las especies son capaces de producir CH_4 mediante la asimilación de H_2 , la vía con hidrógeno es más productiva energéticamente que la producción mediante acetato. Esto es de fundamental importancia debido a la facultad de mantener la presión de hidrógeno baja en el sistema. El consumo de hidrógeno de las bacterias metanogénicas permite un crecimiento más rápido de los microorganismos en el proceso de digestión anaerobia.

1.4 Ecuación de Michaelis-Menten

La ecuación del tipo de Michaelis-Menten es el modelo más comúnmente utilizado para describir procesos químicos, biológicos, farmacológicos y muchos otros procesos que describen el comportamiento de saturación. La ecuación de Michaelis-Menten predice la velocidad de reacción (V) en base a parámetros organismo-dependencia (V_{max} la velocidad de



reacción en la saturación del sustrato y K_m la constante de Michaelis-Menten) y de la concentración de sustrato (S).

$$V = \frac{V_{max} * S}{K_m + S} \quad \text{Ecuación 1.1}$$

1.4.1 Determinación de los parámetros K_m y V_{max} : la representación de Lineweaver-Burk

En el caso más general, la relación cinética es la descrita por la hipérbola rectangular ecuación 1.1, que incluye dos parámetros K_m y V_{max} estos parámetros pueden estimarse en la figura 1.4 como sigue:

(1) se traza una línea asintótica a la curva, paralela al eje de las abscisas: la ordenada de esta línea será V_{max} :

(2) se marca una ordenada $V_{max}/2$ en la gráfica la abscisa correspondiente será K_m .

Sin embargo, este procedimiento es inexacto ya que se basa en el trazado de una línea asintótica a una curva. En general, como es el caso de todos los procedimientos gráficos utilizados la determinación de los parámetros biocinéticos se lleva a cabo mejor reagrupando la ecuación pertinente hacia una forma lineal, y obteniéndose los parámetros deseados de la pendiente o de la ordenada en el origen de estas rectas.

A continuación se utiliza este procedimiento para la determinación de los parámetros K_m y V_{max} en la relación general hiperbólica, ecuación 1.2. Se reagrupa primero la ecuación 1.1 en una forma lineal mediante su recíproco.

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} \frac{K_m + S_e}{S_e} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{S_e} + \frac{1}{V_{max}} \quad \text{Ecuación 1.2}$$



Basándose en la ecuación 1.2 se construye una representación de $1/q = X_{v,a} t_h / (S_0 - S_e)$ en función de $1/S_e$. Esto conduciría a una línea recta de pendiente igual a K_m / V_{max} y a una ordenada en el origen igual a $1/ V_{max}$.

De esta forma se determinan fácilmente los valores de K_m y V_{max} .

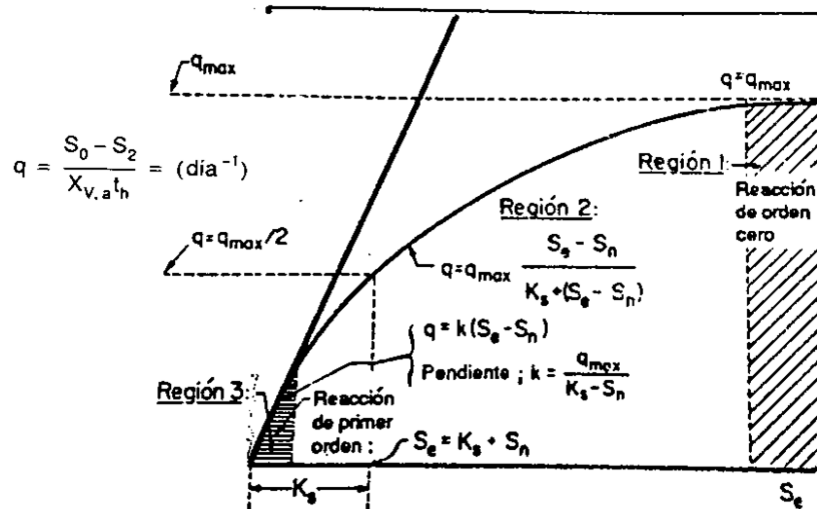


Figura 1.4 Representación de K en función de S

1.5 Co-digestión anaerobia

La co-digestión consiste en el tratamiento conjunto de residuos orgánicos diferentes con el objetivo de:

- Aprovechar la complementariedad de las composiciones para permitir perfiles de proceso más eficaces.
- Compartir instalaciones de tratamiento.
- Unificar metodologías de gestión.
- Amortiguar las variaciones temporales en composición y producción de cada residuo por separado.
- Reducir costos de inversión y explotación.

El término co-digestión se utiliza para expresar la digestión anaerobia conjunta de dos o más sustratos de diferente origen. La ventaja principal radica en el aprovechamiento de la sinergia



de las mezclas, compensando las carencias de cada uno de los sustratos por separado. La co-digestión de residuos orgánicos de diferente origen ha resultado una metodología exitosa tanto en régimen termofílico como mesofílico.

1.6 Mejoramiento de la digestión anaerobia

La minimización de la emisión de gases de invernadero para reducir el calentamiento del planeta es una tarea internacional urgente y una manera de contribuir es ampliar el uso de energía renovable de la biomasa inútil. Sin embargo, la producción de energía de esta forma no es popular debido a su viabilidad económica baja, los factores que afectan negativamente son por un lado los largos periodos de arranque y un costo alto de inversión inicial.

Para mejorar la viabilidad económica total de la digestión anaerobia es evidente la tarea de implementar estrategias que por una parte aumenten la capacidad del proceso, la eficacia del tratamiento la calidad de los biosólidos producidos, la conversión de biogás y el contenido de metano y por otra reduzcan la cantidad de lodo y el consumo de energía.

La hidrólisis macromolecular es considerada la etapa limitante del proceso anaerobio, ya que comprende la degradación de compuestos orgánicos insolubles de cadena larga, principalmente proteínas, carbohidratos y grasas a compuestos más simples o de bajo peso molecular como los son los azúcares, aminoácidos, ácidos grasos y alcoholes, por lo que, tratamientos previos a la digestión anaerobia podrían favorecer la hidrólisis macromolecular y por tanto la capacidad del proceso anaerobio incrementando su capacidad de tratamiento, la eficiencia del proceso y el rendimiento de metano.

En este aspecto se han realizado diversos estudios para evaluar el desempeño del proceso cuando el sustrato recibe un pre-tratamiento, con el objetivo de acelerar la etapa de hidrólisis, generalmente, estos tratamientos se realizan antes de que el sustrato se alimente al proceso.

Los pre-tratamientos pueden ser clasificados de acuerdo a las propiedades que contribuyen al desdoblamiento de compuestos complejos, de esta forma se cuenta con tres diferentes líneas de tratamiento que ayudan a acelerar la solubilización de estos materiales (figura 1.5). Los pre-tratamientos físicos hacen referencia a la alteración de los materiales bajo la modificación de



algunas de sus propiedades como pueden ser la temperatura, presión, y en algunos casos de estudio el uso del ultrasonido.

Los pre-tratamientos químicos consisten en la adición de compuestos orgánicos e inorgánicos ya sean ácidos o bases con el propósito de controlar y hacer un uso preciso de las condiciones extremas de pH.

Por último, los pre-tratamientos biológicos, consisten en la adición de enzimas, hongos, levaduras o bacterias, para el rompimiento específico de enlaces péptidos, glucosídicos. En los últimos dos casos, la adición de dichos compuestos tienen principalmente la función de actuar como catalizadores químicos y biológicos.

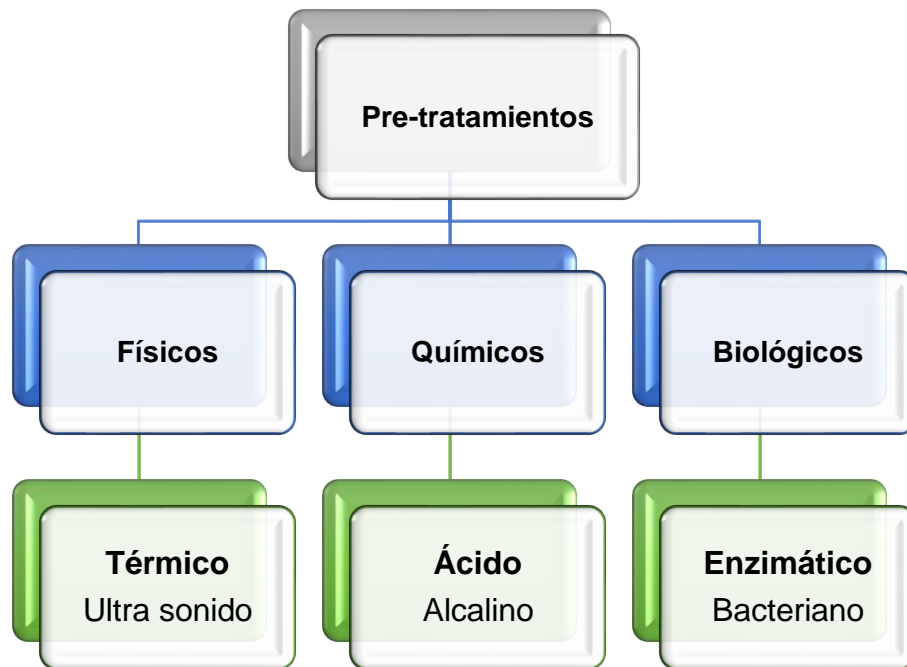


Figura 1.5 Clasificación de los pre-tratamientos (Müller, 2001)

Para fines de esta investigación, se emplearon tres pre-tratamientos diferentes, uno de cada clasificación, los cuales fueron térmico, ácido y enzimático y se describen a continuación.



1.6.1 Pre-tratamiento térmico

El pre-tratamiento térmico de los residuos, ha sido utilizado de manera considerable en los últimos años (Donoso-Bravo *et al.*, 2011) debido a que puede lograr una alta solubilidad de compuestos orgánicos y un alto porcentaje de reducción de materia orgánica al final de tratamiento anaerobio, además de favorecer la inactivación de las concentraciones de microorganismos patógenos presentes en los sustratos crudos (Menert *et al.*, 2008) En, la mayoría de las investigaciones citadas se han utilizado altas temperaturas de pretratamiento que van desde 120-200°C y diferentes tiempos de tratamiento que van desde 30-60 min (Wilson *et al.*, 2009, Yang *et al.*, 2010 y Pérez-Elvira *et al.*, 2008).

En este sentido, Bougrier *et al.* (2006) reportan que comparando varios métodos de pretratamiento en lodo secundario se obtuvo el mejor resultado en cuanto a solubilización del mismo utilizando un tratamiento térmico entre 170 y 190°C en intervalos de 1 h y 1.5 h y que el efecto del tiempo en estos tratamientos no fue importante. Además en otra investigación del mismo año (Bougrier *et al.*, 2006) concluye que el pretratamiento térmico mejora la eficiencia de la digestión anaerobia posterior y que el aumento en la producción de metano resultante (25% de aumento a 190°C) es suficiente para cubrir la demanda de energía necesaria para precalentar el lodo.

En el estudio de Wang *et al.*, (1997) fue estudiada la efectividad de un pretratamiento térmico entre 60 y 120 °C y tiempos de 5,10,20, 30 y 60 minutos para la digestión anaerobia mesofílica (37 °C) y se concluye que el pre-tratamiento resulta en un aumento significativo de la producción de metano (30-52%). No se observaron diferencias significativas entre pretratamientos a 60 °C, 80 °C y 100 °C. Este estudio también demostró que el pretratamiento térmico a temperaturas moderadas promueve la hidrólisis y la destrucción de la materia orgánica contenida en los lodos y que el rango de temperaturas durante el pretratamiento debe mantenerse entre 60-100 °C.

Valo *et al.*, (2004) reportan que un tratamiento térmico a 170 °C y 1 h resultó en un 71% de remoción de DQO, 59% de reducción de los sólidos totales y un incremento del 54% en la producción de biogás.



En el trabajo de Noyola *et al.* (2007) en el cual se utilizó un termohidrolizador con temperatura controlada en el rango de 60 a 70°C durante una hora, seguido de dos reactores mesofílicos en serie tipo UASB se concluyó que fue este pretratamiento el responsable de la eliminación de los huevos de helmintos tanto en número como en viabilidad.

Todos estos trabajos concluyen que existen muchos beneficios asociados a la introducción de un pretratamiento térmico como paso previo a la digestión anaerobia, particularmente referidas al incremento en la producción de biogás.

Por estos motivos se hace necesario el estudio de pretratamientos y sus efectos a temperaturas más bajas (moderadas) y a menores tiempos de exposición, todo esto con el objeto de hacer más eficiente el proceso y las etapas posteriores de tratamiento.

1.6.2 Pre-tratamiento ácido

Se han descrito diferentes pre-tratamientos químicos que incluyen el uso de ácidos fuertes como el ácido clorhídrico, perclórico, sulfúrico, nítrico o ácidos débiles como el fórmico y el acético (Cheng *et al.*, 2008). La hidrólisis química (ácida) es un pre-tratamiento común para convertir la fracción lignocelulósica de azúcares solubles (sacarificación) (Curreli *et al.*, 2002).

El pre-tratamiento ácido, puede operar ya sea con alta temperatura y baja concentración de ácido (ácido diluido) o con baja temperatura y elevada concentración de ácido (ácido concentrado) (Jones *et al.*, 1984). La baja temperatura de operación en pre-tratamientos con ácidos concentrados es claramente una ventaja comparado con los pre-tratamientos con ácidos diluidos (Wyman, 1999). Sin embargo, una concentración elevada de ácido (30% - 70%) en el pre-tratamiento con ácidos concentrados puede ser extremadamente peligroso y corrosivo (Sun *et al.*, 2005).

Pre-tratamientos con ácidos como acético y nítrico han sido empleados para remover la lignina de residuos de papel periódico (Xia y Clarkson, 1997) y lodos activados para la producción de biogás (Cheng *et al.*, 2007).

Las reacciones con medios ácidos son muy complejas, debido a que el sustrato se encuentra en fase sólida o semi sólida y el catalizador en la fase líquida. Los mecanismos de reacción de la hidrólisis ácida para la solubilización de azúcares incluyen: la difusión de protones a la matriz



lignocelulósica, la protonación del oxígeno en un enlace éter entre los monosacáridos, el rompimiento de este enlace, la generación de carbo-cationes (moléculas protonadas) como intermediarios, la solvatación de los carbo-cationes con agua, la regeneración de un carbo-cación a un monosacárido, oligosacárido o polisacárido dependiendo de la posición de enlace, la difusión del producto en la fase líquida (Carrasco y Roy, 1992; Gámez *et al.*, 2006).

Sin embargo, el modelamiento de la hidrólisis de un polisacárido es muy complicado y comúnmente se usan modelos empíricos (Conner, 1984). Múltiples factores están relacionados con los materiales lignocelulósicos (tamaño, forma de la partícula, estructura, etc.) así como las condiciones de extracción (tipo de ácido, concentración, temperatura, tiempo, etc.) (Carrasco y Roy, 1992).

1.6.3 Pre-tratamiento enzimático

Los tratamientos enzimáticos son realizados por enzimas de origen proteico, las cuales hacen la función de catalizadores biológicos que aceleran las reacciones bioquímicas a temperaturas alrededor de 37°C (para el caso de organismos mesófilicos), el aumento de la temperatura puede provocar un aumento de la velocidad de reacción hasta cierta temperatura óptima, ya que después de aproximadamente 45°C se comienza a producir la desnaturalización térmica de la enzima (Rodríguez, 1999).

Las enzimas catalizan reacciones bajo condiciones suaves, ya sea temperaturas relativamente bajas, presión atmosférica y pH casi neutro. Un aspecto único de la catálisis enzimática es la susceptibilidad del control de su actividad. Cada enzima tiene una temperatura óptima a la que actúa con su máxima eficiencia. Debido a que las enzimas son proteínas, los valores de la temperatura óptima dependen del pH y la fuerza iónica. Si la temperatura se incrementa más allá de la temperatura óptima, la actividad enzimática desciende bruscamente. La temperatura óptima de una enzima normalmente está cerca de la temperatura óptima de crecimiento del organismo que la produce. Del mismo modo, cada enzima presenta un intervalo de concentración de sustrato óptimo, inicialmente un aumento de la concentración de sustrato produce un aumento rápido de la velocidad de reacción, pero si se sigue aumentando la concentración de sustrato, la velocidad de reacción comienza a disminuir (García y Navarrete, 1999).



Para obtener mejores resultados en la hidrólisis de compuestos lignocelulósicos a compuestos fácilmente biodegradables, pueden utilizarse enzimas en estado puro (una sola especie) o una combinación de las mismas (varias especies) para desempeñar de forma efectiva la etapa de hidrólisis (Wyman *et al.*, 2005).

Las enzimas son producidas por diferentes especies de organismos unicelulares tales como hongos y bacterias, pero su clasificación se basa principalmente en la actividad o tipo de reacción que desempeñan sobre el sustrato empleado y pueden clasificarse en oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas o igasas.

Los tratamientos biológicos con enzimas también han sido investigados para mejorar la producción de biogás en la digestión anaerobia. El pretratamiento biológico puede ser utilizado no sólo para la eliminación de la lignina sino también para la eliminación biológica de componentes específicos tales como sustancias antimicrobianas.

El cultivo de hongos blancos de podredumbre, se ha empleado para el tratamiento de aguas residuales provenientes de un molino de aceitunas y mejorar el proceso de digestión anaerobia (Dhouib *et al.*, 2006).

Las ventajas de emplear un pre-tratamiento biológico son: el bajo requerimiento de energía, condiciones ambientales suaves y no requiere adición de químicos (Sun *et al.*, 2002).

1.7 Antecedentes

Diferentes autores han propuesto estrategias para el mejoramiento de la digestión anaerobia por medio de algún tipo de pre tratamiento, ya sea físico, químico, biológicos o combinando dos o más tipos de los mismos. Dichos pre tratamientos son aplicados a una amplia variedad de sustratos con diferentes características fisicoquímicas, la mayoría de ellos busca mejorar el proceso de digestión anaerobia en términos de rendimientos de biogás o bien lograr solubilizar sustratos de composición lignocelulósica.

En la tabla 1.2 se muestran diferentes estrategias propuestas por algunos autores para el mejoramiento de la digestión anaerobia.



Año y Autor	Título del trabajo	Objetivo
Ying-Chih Chiu <i>et al.</i> , 1997	“Alkaline and ultrasonic pretreatment of sludge before anaerobic digestion”	El proceso de pre- tratamiento llevó a cabo mediante tratamiento alcalino, tratamiento ultrasónico y diferente combinación de estos dos métodos, lo que propició una mejora en la producción de ácidos grasos volátiles en lodos activados. Las tasas de hidrólisis obtenidas en esta investigación fueron entre 10%-30%.
Mendes <i>et al.</i> 2006	“Effect of the enzymatic hydrolysis pretreatment of lipids-rich wastewater on the anaerobic biodigestion”	La hidrólisis se llevó en tiempos de incubación de 4-24 h y la eficiencia de tratamiento se verificó mediante la ejecución de ensayos de biodegradabilidad comparativos (efluentes crudos y tratados). Todos los ensayos pre-tratados mostraron aumento de los niveles de producción de biogás y materia orgánica (DQO) así como eliminación del color.
Hendriks A.T.W.M. and Zeeman G. 2009	“Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass”	Este artículo revisa los diferentes efectos de varios pre-tratamientos de las tres partes principales de la biomasa lignocelulósica para mejorar su digestibilidad. Pre-tratamiento de vapor, el tratamiento con cal (alcalinno), pre-tratamientos con agua caliente y tratamientos a base de amoníaco.
Aguilar N.R. 2010	“Kinetic model of hydrolysis of sugarcane waste”	El objetivo de este estudio es analizar la producción de azúcares fermentables a partir de residuos de cosecha cañero. El proceso de hidrólisis se llevó a cabo para evaluar el efecto del tiempo de reacción, la temperatura y la concentración de ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄): 0,5, 1,0 y 1,5%, v/v) en la producción de azúcares fermentables a 60, 90 y 120 minutos de hidrólisis y relación sólido a líquido 1:10, con base seca en un reactor discontinuo.

Tabla 1.2 Estado del arte

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA



CAPÍTULO II METODOLOGÍA

En el siguiente apartado se describe la metodología que se llevaron a cabo para cumplir los objetivos de esta investigación. En la figura 2.1 se muestra esquemáticamente las etapas metodológicas, las cuales pueden describirse de manera general en:

- 1) Obtención y caracterización de residuos y mezcla de residuos agroindustriales
- 2) Evaluación de pre tratamientos ácido, térmico y enzimático para cada mezcla de residuos agroindustriales.
- 3) Digestión anaerobia de mezclas de residuos agroindustriales para determinar su máximo rendimiento energético.
- 4) Operación a nivel piloto

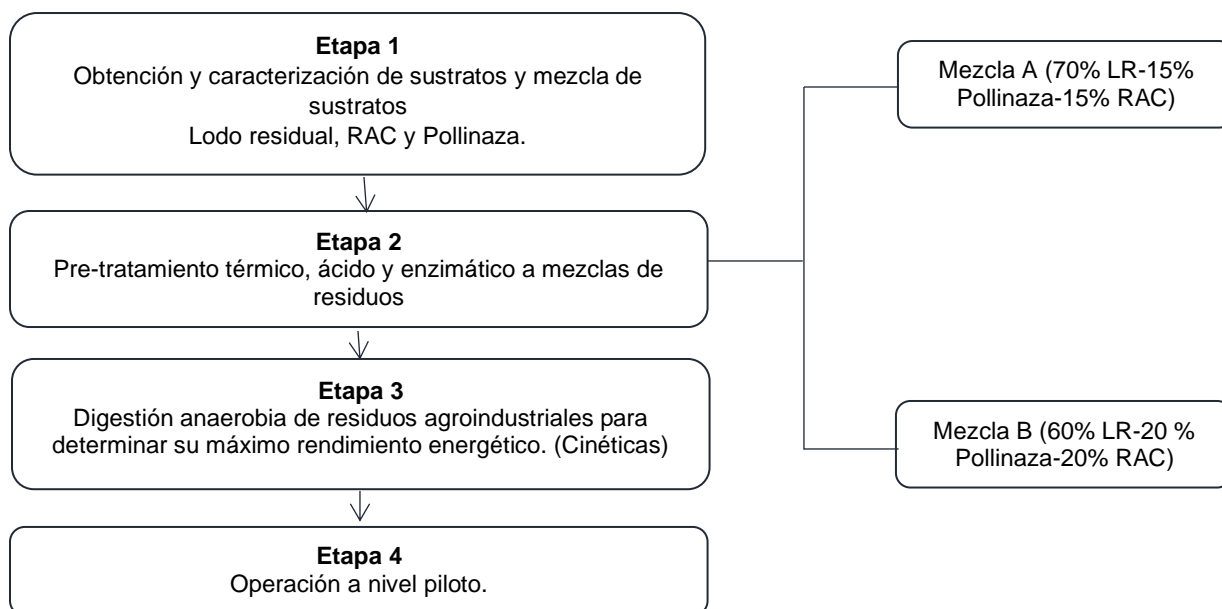


Figura 2.1 Metodología experimental

2.1 Obtención y caracterización de sustratos

2.1.1 Obtención de lodos residuales

Los lodos utilizados se obtuvieron periódicamente de una planta de tratamiento de aguas residuales de una agroindustria ubicada en la ciudad de Fortín de las Flores, Veracruz, la cual opera con las condiciones mostradas en la tabla 2.1



Tabla 2.1 Condiciones de operación PTAR

Tipos de tratamiento	Características
Tratamiento primario avanzado	Caudal 10 L/s Coagulante $Al_3 (Cl_2)_4$ Dos unidades de tratamiento en paralelo

Las muestras se obtuvieron de un tanque espesador de lodos que capta el efluente de tanques clarificadores – sedimentadores de aguas provenientes de la división rastro de aves. En la figura 2.2 se muestra las tuberías del tanque espesador, lugar donde se realizó el muestreo.



Figura 2.2 Punto de muestreo

La planta de tratamiento fue diseñada para tratar aguas procedentes de las diferentes áreas que componen el proceso avícola, uno de los departamentos que más agua consume es el área de matanza de aves. En menor cantidad se encuentra la fábrica de hielo en barra, así como el área de cocimiento (denominada también de rendimiento), en donde se encuentran tres cocedores.

El agua recibe un pre-tratamiento mediante un cribado donde se retienen los sólidos de mayor tamaño (plumas, huesos, etc.). A continuación, pasa a un tanque homogenizador, con el objeto de que el agua que entra a la planta posea características similares y en beneficio de las siguientes etapas del proceso. Posteriormente pasa a un sistema de tratamiento primario avanzado que tiene la finalidad de separar la mayor cantidad de materia orgánica contenida en el



agua residual. En esta etapa, se dosifican reactivos químicos (polícloruro de aluminio, hidróxido de calcio, y polímero catiónico) para favorecer los fenómenos de coagulación-floculación. Posteriormente, el agua se conduce a un clarificador de placas paralelas en el cual se realiza la sedimentación de sólidos suspendidos.

Cabe mencionar que en esta planta no se cuenta con tratamiento secundario. El agua tratada pasa a un tanque de cloración y finalmente es clarificada en filtros de grava y carbón activado para su descarga final. Los lodos generados durante el tratamiento primario (lodo crudo (LC)), contienen la mayor parte de materia orgánica y microorganismos patógenos presentes en las aguas residuales por tratarse de una separación de sólidos por gravedad. Dichos lodos fueron llevados al laboratorio para su acondicionamiento y caracterización.

2.1.2 Obtención de pollinaza

La pollinaza fue proporcionada en 2 costales de 20 kg traídos de la estación de confinamiento ubicado en el municipio de Soledad de Doblado, Veracruz. La pollinaza ocupada en este trabajo de investigación fue pollinaza agrícola de primera, debido a que tiene menor porcentaje de humedad, facilitando la molienda y tamizado de la misma.

Una vez obtenido el Residuo Agroindustrial (RA) pollinaza, se procedió a realizar una trituración, debido a que la pollinaza presenta gran parte del material difícil de degradar proveniente de las camas para los pollos (aserrín, cascarilla de arroz, olote, pluma) y se obtuvo partículas de menor tamaño como se muestra en la figura 2.3.

Posterior a la reducción de tamaño se solubilizó la pollinaza durante 2 h a 250 rpm debido a la gran cantidad de materia fecal seca que contenía éste residuo, una vez realizado éste procedimiento se acondiciono la muestra a la misma cantidad de sólidos totales que el lodo residual con un porcentaje de 2.5% -3% ST.





Figura 2.3 Acondicionamiento de pollinaza

2.1.3 Obtención del Residuo Agrícola Cañero (RAC)

El residuo agrícola cañero (RAC) fue muestreado de 6 zonas de Lerdo de tejada, Veracruz. Las muestras fueron traídas en costales del 30 kg, en la tabla 2.2 se presentan las zonas donde se obtuvieron las muestras, así como su edad al momento de cosechar y la estimación de residuos de cosecha.

El RAC fue reducido de tamaño a través de un molino eléctrico de cuchillas y se pasó a través de un tamiz malla 40 para obtener un tamaño de partícula menor a 0.42 mm, posteriormente se almacenó en recipientes de plástico.

Posterior a la reducción de tamaño se solubilizó el RAC durante 2 h a 250 rpm y una vez realizado éste procedimiento se acondiciono la muestra a la misma cantidad de sólidos totales que el lodo residual y la pollinaza con un porcentaje de 2.5% -3% ST

Tabla 2.2 Muestras de residuos de cosechas

No. Muestra	Zona	Estado del cultivo	Edad en meses	Estimación de residuos de cosecha	
				Kg/m ²	Ton/Ha



1	La Majahua	Cruda	13.8	2.16	10.80
2	La Majahua	Quemada	12.7	5.33	26.65
3	Hueyapan	Quemada	12.3	6.51	32.55
4	Tres Zapotes	Quemada	11.7	3.10	15.50
5	Lerdo	Quemada	13.7	3.48	17.40
6	Lerdo	Quemada	11.4	2.37	11.85
7	Santiago	Cruda	14.5	6.06	30.30
8	Santiago	Cruda	12.6	4.60	23.00
9	Cabada	Quemada	-	3.09	15.45



Figura 2.4 Acondicionamiento RAC

2.1.4 Obtención de mezclas de residuos

Una vez acondicionados y caracterizados los residuos agroindustriales en ST y SV se procedió a elaborar las mezclas de dichos residuos siendo la primera 70% Lodo residual, 15% Pollinaza y 15% RAC (mezcla A) en función a los SV.

La segunda mezcla se elaboró en proporciones de 60% LR, 20% Pollinaza y 20% RAC (Mezcla B). Una vez obtenidos los volúmenes equivalentes al porcentaje de cada residuo se procedió a mezclarlos en un juego de jarras a 115 rpp para asegurar su correcta incorporación y así obtener una mezcla lo más homogénea posible.



2.2 Caracterización de residuos agroindustriales y mezclas

Los muestreos se realizaron de manera aleatoria buscando no considerar residuos en descomposición; enseguida se llevaron a cabo técnicas de muestreo para obtener representatividad del total de la muestra (método por cuarteo).

Las muestras se sometieron a un proceso de molienda, con el fin de reducir su tamaño y posteriormente se procedió a homogeneizar la mezcla con el fin de facilitar su caracterización, se determinaron los mismos parámetros evaluados en el lodo residual, pollinaza y RAC. Se realizó la caracterización fisicoquímica de los residuos en cuestión. Los parámetros a evaluar se resumen en la tabla 2.3.

Tabla 2.3 Caracterización de sustratos

Físicos	Unidad	Método	
pH		Potenciométrico	
Sólidos Totales	% m/m	2540 B SM	
Sólidos Totales Volátiles	% m/m	2540 E SM	
Químicos	Unidad	Método	
Nitrógeno Total	g/kg ST	4500-NTK C SM	
Carbohidratos	g/Kg ST	Antrona-Sulfúrico	2.2.1
Lípidos	g/Kg ST	5520 E SM	pH
Proteínas	g/Kg ST	Micro Kjeldhal	El
DQO T	g/L	9221 B SM	pH
DQO S	g/L	9221 B SM	es el

metro que indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución, este parámetro se midió de forma directa en la muestra con un potenciómetro Orión 250a, el cual se calibró con



soluciones tampón 4.0 y 7.0, la resolución de la lectura es de 0.01 unidades de pH y la precisión es de ± 0.01 .

2.2.2 Sólidos totales

Los Sólidos Totales se definen como el material residual después de evaporación y secado de una muestra a cierta temperatura, esta determinación se realizó mediante la técnica gravimétrica descrita en el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999). Se evapora la muestra en un crisol a peso constante en una estufa a 103-105°C por un lapso de 24 horas. El aumento de peso sobre el peso del crisol vacío representa los Sólidos Totales; y el cálculo se realiza con la siguiente ecuación:

$$\% ST = \frac{p3-p1}{p2-p1} \cdot 100 \quad (2.1)$$

Donde:

p1= Peso del crisol a peso constante.

p2=Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra antes de evaporación.

p3=Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco.

2.2.3 Sólidos volátiles

El residuo producido en la determinación de Sólidos Totales según el método descrito anteriormente, se calcina a 550°C, durante dos horas. El peso perdido en el crisol tras la incineración del residuo seco, representa el contenido en Sólidos Volátiles. De la misma forma que los Sólidos Totales, esta técnica analítica se realizó de acuerdo con el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999), y el porcentaje se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\%SV = \frac{p3 - p4}{P3 - p1} * 100 \quad (2.2)$$



Donde:

p1= Peso del crisol a peso constante.

p3=Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco.

p4=Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra calcinada.

2.2.4 Nitrógeno total

El nitrógeno total se midió siguiendo la técnica analítica del método 4500-NTK C de la APHA-AWWA-WPFC (1999), el cual determina el nitrógeno en estado tri-negativo y se basa en convertir el nitrógeno disponible como amino presente en la materia orgánica, en amonio, en presencia de ácido sulfúrico, sulfato de potasio y sulfato cúprico como catalizador, sin tomar en cuenta el nitrógeno en otras formas como: nitrato, nitrito, nitrilo, nitroso, etc.

2.2.5 Carbohidratos

Los carbohidratos presentes en la muestra se determinaron mediante el método de la antrona-sulfúrico. La reacción de antrona constituye la base de un método conveniente para la determinación de hexosas, aldo-pentosas y ácidos hexourónicos, bien sea que estén libres o formando parte de un polisacárido. La solución azul verdosa muestra una absorción máxima a 625 nm.

2.2.6 Lípidos

El contenido de grasas se determinó mediante el método 5520 E de la APHA-AWWA-WPFC (1999), el cual consiste en acidificar una muestra para extraer las grasas, aceites y otras sustancias en solución, posteriormente se evapora el solvente y se cuantifica gravimétricamente el material.

2.2.7 Proteínas

La Proteína Bruta o Materias Nitrogenadas Totales se determinó mediante el método Kjeldahl que data de 1883. Como consecuencia de su estructura a base de amino ácidos individuales, el contenido de nitrógeno de las proteínas varía sólo entre unos límites muy estrechos (15 a 18% y como promedio 16%). Para la determinación analítica del contenido en proteína total o “proteína bruta”, se determinó el contenido de nitrógeno tras eliminar la materia orgánica con ácido sulfúrico, calculándose finalmente el contenido de proteína con ayuda de un factor.



2.2.8 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La DQO indica la cantidad de materia orgánica que se encuentra contenida en una muestra y que es susceptible a ser oxidada o transformada en biogás por un oxidante fuerte (dicromato de potasio) en un medio potencialmente ácido (H_2SO_4).

Cada una de las muestras fue centrifugada a 5000 rpm. Durante 10 minutos, se retiró el sobrenadante y se hizo pasar a través de papel filtro WHATMAN (0.25 Milipore), a continuación se preparó una dilución de 1:4 de cada filtrado y se tomaron 2 mL para colocarlos en los tubos de ensayo, que fueron puestos en una placa digestora a $150^\circ C$ durante 2 horas, por último las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro HACH DR/2500 a 620 nm para su determinación. Las unidades de DQO están dadas en mg/L, se realizó una curva de calibración, la cual mostro un coeficiente de correlación (R^2) de 0.98.

2.3 Pre-tratamiento térmico para mezclas de residuos agroindustriales

Los pre-tratamientos térmicos se llevaron a cabo en reactores térmicos con volumen útil de 500 ml, herméticamente cerrados, con un controlador de temperatura y agitación magnética. Se emplearon temperaturas de $80^\circ C$, $85^\circ C$ y $90^\circ C$, con tiempos de exposición de 30, 60 y 90 minutos para cada una de las mezclas elaboradas, al finalizar el pre-tratamiento las muestras fueron sumergidas en un baño de hielo inmediatamente para su posterior análisis fisicoquímico, cada análisis se llevó a cabo por triplicado para cada tratamiento, así como para cada parámetro a determinar. Con la finalidad de establecer la tasa de hidrólisis obtenida posterior a cada pre-tratamiento térmico se llevó a cabo la determinación de DQO total y DQO soluble.

Los datos obtenidos de DQO se emplearon para la obtención de la tasa de hidrólisis de cada uno de los tratamientos y fue calculado mediante la ecuación 2.3:

$$T_H = \frac{\text{Concentración SCTT} - \text{Concentración SSTT}}{\text{Concentración TSTT}} 100 \quad (2.3)$$

Donde:

TH= Tasa de hidrólisis (%)



Concentración SCTT= Concentración soluble con tratamiento térmico (mg/L)

Concentración SSTT= Concentración soluble sin tratamiento térmico (mg/L)

Concentración TSTT= Concentración total sin tratamiento térmico (mg/L)

Para evaluar de forma estadística los distintos tratamientos térmicos (temperaturas) y tiempos de exposición se empleó un diseño experimental de parcelas divididas ya que en algunos diseños multifactoriales, en los que intervienen bloques aleatorizados, puede que sea imposible aleatorizar totalmente el orden de los ensayos dentro de cada bloque (Montgomery, 1991). Los valores presentados en las pruebas son el promedio de tres replicas y fueron analizadas por una prueba ANOVA con un nivel de confianza de 95%, es decir, $\alpha = 0.05$. La variable de respuesta fue el porcentaje de tasa de hidrólisis. El diseño utilizado se resume en la tabla 2.4.

Tabla 2.4 Diseño experimental pre-tratamiento térmico

Factores	Niveles	Valores
Temperatura (°C)	3	80,85 y 90°C
Tiempo de exposición (min)	3	30, 60 y 90 min
Número de tratamientos	9	
Número de muestras por tratamiento	3	
Total de muestras	27	

2.4 Pre-tratamiento ácido de mezclas de residuos agroindustriales

Para el estudio de hidrólisis ácida se evaluaron los factores de concentración de ácido y tiempo de exposición, en bibliografía se citan diferentes ácidos para llevar a cabo la hidrólisis ácida, en este trabajo se utilizó ácido acético ($C_2H_4O_2$). Se plantearon las concentraciones de 2, 3 y 4 % v/v de ácido acético, durante un tiempo de exposición de 30, 60 y 90 minutos. Para evaluar de forma estadística los distintos tratamientos ácidos y tiempos de exposición se empleó un diseño experimental de parcelas divididas (tabla 2.5) empleando como variable de respuesta el porcentaje de tasa de hidrólisis. Los valores presentados en las pruebas son el promedio de tres



replicas y fueron analizadas por una prueba ANOVA con un nivel de confianza de 95%, es decir, $\alpha = 0.05$.



Tabla 2.5 Diseño experimental pre-tratamiento ácido

Factores	Niveles	Valores
Dosis de ácido acético (v/v)	3	2, 3 y 4% v/v
Tiempo de exposición (min)	3	30, 60 y 90 min
Número de tratamientos	9	
Número de muestras por tratamiento	3	
Total de muestras	27	

Los tratamientos ácidos se llevaron a cabo en matraces Erlenmeyer de 250 mL, con un volumen útil de 200 mL. Se utilizó una incubadora ZHICGENG Incubator Shaker, modelo ZHWY-100B para establecer una agitación continua de 150 rpm y a temperatura ambiente (figura 2.5). Una vez transcurrido el tiempo de exposición, las muestras se neutralizaron con NaOH al 4 % hasta un pH de 7.0 para detener el efecto del ácido acético.



Figura 2.5 Hidrólisis ácida de residuos agroindustriales

Con la finalidad de establecer la tasa de hidrólisis obtenida posterior a cada pre-tratamiento se llevó a cabo la determinación de DQO total y DQO soluble. Los datos obtenidos de DQO se emplearon para la obtención de la tasa de hidrólisis de cada uno de los tratamientos y fue calculado mediante la ecuación 2.3



2.5 Pre-hidrólisis enzimática de residuos agroindustriales

Las mezclas de residuos agroindustriales A y B fueron también tratadas por medio de enzimas, implementándose una estrategia de tratamiento diferente a las planteadas mayormente en fuentes bibliográficas. Diversos autores han enfocado su atención en hidrolizar materiales lignocelulósicos presentes en los residuos a tratar, para fines de este proyecto, se planteó la siguiente alternativa: de acuerdo a los resultados de la caracterización química se eligió el compuesto orgánico predominante (Carbohidratos, Lípidos o Proteínas). Una vez identificado el compuesto predominante se determinó la enzima capaz de hidrolizar ese compuesto.

Con el objeto de evaluar el desempeño de la enzima a utilizar se establecieron dos dosis enzimáticas (alta y baja) y tres tiempos de exposición (alto, medio y bajo).

Cada análisis se llevó a cabo por triplicado para cada tratamiento, así como para cada parámetro a determinar. Con la finalidad de establecer la tasa de hidrólisis obtenida posterior a cada pre-tratamiento se llevó a cabo la determinación de DQO total y DQO soluble. Los datos obtenidos de DQO se emplearon para la obtención de la tasa de hidrólisis de cada uno de los tratamientos y fue calculado mediante la ecuación 2.3.

Para evaluar de forma estadística los distintos tratamientos ácidos y tiempos de exposición se empleó un diseño experimental de parcelas divididas (tabla 2.6) empleando como variable de respuesta el porcentaje de tasa de hidrólisis. Los valores presentados en las pruebas son el promedio de tres replicas y fueron analizadas por una prueba ANOVA con un nivel de confianza de 95%, es decir, $\alpha = 0.05$.

Tabla 2.6 Diseño experimental pre-tratamiento enzimático

Factores	Niveles	Valores
Dosis de enzima	2	Alto y bajo
Tiempo de exposición (min)	3	60, 90 y 150 min
Número de tratamientos	6	
Número de muestras por tratamiento	3	
Total de muestras	18	



2.6 Digestión anaerobia de residuos agroindustriales para determinar su máximo potencial energético (Cinéticas)

Para determinar el máximo potencial energético de cada residuo agroindustrial se llevó a cabo cinéticas de biodegradabilidad, en matraces de 500 ml con volumen útil de 400 ml, los cuales operaron en modo batch hasta alcanzar el criterio de eliminación de 38% de SV para cumplimiento de los requisitos de reducción de atracción de vectores indicados por los EE.UU. EPA. Dichos experimentos fueron analizados estadísticamente mediante un ANOVA, el diseño experimental empleado fue un diseño unifactorial, donde la fuente de variación a evaluar fue el tratamiento empleado, la variable de respuesta fue el rendimiento de metano.

Posteriormente el tratamiento que mejor rendimiento y producción de biogás obtuvo, fue llevado a operación semi continua en un agitador orbital, bajo condiciones mesofílicas (35°C) y 115 rpm. Durante la operación semi continua se evaluaron diariamente los parámetros mostrados en la tabla 2.7 con los métodos utilizados para su evaluación.

Parámetro	Método
Temperatura	Termopar
Sólidos Totales	2540 G Standard Methods
Sólidos Volátiles	2540 G Standard Methods
pH	potenciométrico

Tabla 2.7 Parámetros de monitoreo operación semi-continua



Alcalinidad	2320 B Standard Methods
Concentración de AGV's	Jenkins <i>et al.</i> , (1983)
Producción de biogás	Desplazamiento volumétrico
Composición de biogás	Cromatografía de gases

2.6.1 Determinación de alcalinidad

Tanto la alcalinidad como acidez se definen como la medida de la capacidad de una sustancia para neutralizar un ácido o una base respectivamente: usualmente se expresan como mg de CaCO_3/L y cuantifican la capacidad buffer de la sustancia. En el proceso de digestión anaerobia es importante evaluar este parámetro debido a que la concentración de ácidos grasos volátiles, producto de la fermentación puede acidificar el medio provocando un proceso inestable.

Esta determinación se realizó mediante una técnica volumétrica que es una variación del método 2320-B de la APHA-AWWA-WPFC, propuesta por Jenkins *et al.*, (1991). La técnica consiste en la valoración de la alcalinidad, en dos pasos primero se determina la alcalinidad parcial (AP) a 5.75, que es un valor donde el pH, ajusta mejor a la alcalinidad debida a los bicarbonatos y posteriormente a un valor de pH de 4.33 donde más del 99% del bicarbonato del sistema se convierte en CO_2 .

Tomando estos puntos se definen la alcalinidad total (AT) medida a pH 4.33, la alcalinidad parcial asociada a la alcalinidad por bicarbonatos y por último la alcalinidad intermedia que se asocia con la concentración de ácidos grasos volátiles y que es la diferencia entre la alcalinidad parcial y total.

2.6.2 Determinación de Ácidos Grasos Volátiles (AGV's)

La determinación directa de la concentración de AGV's más común es por cromatografía gaseosa con detector de ionización de flama, sin embargo pueden determinarse teórica e



indirectamente a través de un análisis de alcalinidad y una relación propuesta por Jenkins *et al.*, (1983), quienes plantean la siguiente ecuación:

$$AGV's = \frac{AT - AP}{(0.83)(0.85)} \quad (2.4)$$

En donde:

AGV's= Es la concentración AGV's, en mg/L.

AT= Alcalinidad total.

AP= Alcalinidad parcial

0.83 =Factor de conversión de acetato a CaCO_3 .

0.85=Fracción de AGV's determinados por titulación.

2.6.3 Composición de biogás

La composición del biogás se determinó por cromatografía de gases, se utilizó un cromatógrafo BUCK SCIENTIFIC 310, y el software w32 en el que por integración se determina el área bajo la curva de los componentes del biogás.

2.7 Operación a nivel piloto para la generación de bioenergéticos y su reincorporación al sistema productivo

Posterior al tiempo de operación semi-continua a nivel laboratorio y con la finalidad de validar los resultados obtenidos en las primeras etapas experimentales, se escaló el proceso de digestión anaerobia mejorado con un pre-tratamiento a un reactor ovoide nivel piloto con un volumen de trabajo de 8 L. La alimentación y descarga del reactor se llevó a cabo mediante una bomba peristáltica, diariamente se monitoreo el % ST y % SV para determinar la remoción de materia orgánica en el reactor, así como la producción y composición del biogás, pH, relación de alcalinidad y concentración teórica de AGV's

El inóculo empleado en la investigación provino del exceso de biomasa generado en un reactor anaerobio aclimatado para la degradación de compuestos orgánicos solubles presentes en aguas residuales municipales. La mezcla de residuos agro-industriales (previamente caracterizada), se



sometió a digestión en un sistema batch en medios totalmente anaerobios con control de agitación. La estabilización del sustrato se realizó con la reducción de los SV.

Cabe mencionar que se realizó un aumento de carga orgánica cada 15 días (1Kg SV/ m³.d). Finalmente se evaluará la cantidad de bioenergéticos producidos para sugerir un uso adecuado.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de sustratos

Las características físico-químicas presentes en cada uno de los residuos orgánicos se presentan en la tabla 3.1. El lodo crudo se acondicionó previamente para su proceso de estabilización, para obtener una concentración de sólidos totales de 2.5-3.0%, ideales para el proceso de digestión anaerobia. Los lodos presentaron un valor de 84.55 % de sólidos totales volátiles siendo por tanto ricos en materia orgánica. Esto se debe principalmente a su origen, ya que la industria de donde provienen se dedica a la matanza de aves conocido como rastro avícola, de igual manera se alcanzaron valores promedio de DQO de hasta 17.97 g DQO/L. El pH en el lodo crudo fue de 6.47 los cuales son considerados como adecuados en el proceso de digestión anaerobia (Malina y Pohland, 1992). Se observó que el lodo es rico en compuestos nitrogenados al obtener un alto contenido de nitrógeno total (3.15 %).

Por otro lado la composición química de la pollinaza es muy variable, y su mayor valor reside como fuente de proteínas y minerales (Rude y Rankins, 1993). El tipo de nutrimentos varía de acuerdo al tipo de materiales utilizados como cama, grosor piso, comedero utilizado, la temperatura, el número de camadas, la relación volumen de cama y métodos de limpieza, el envejecimiento de la pollinaza, la humedad, etc. (Egaña *et al.*, 1989; Jacob *et al.*, 1997). Se obtuvieron valores de sólidos totales del 3.81 % y 75.09% de sólidos volátiles. Se observó que el pH de la pollinaza fue ligeramente ácido (6.56).

Por otra parte sobresalen valores promedios de 31.64 g DQOT/ L, indicando una elevada cantidad de carga orgánica contenida en la pollinaza. En la caracterización química también se cuantificó la presencia de los tres componentes principales de la materia orgánica, presencia de carbohidratos con un valor promedio de 3.58 g/L seguido de las proteínas con un promedio de 25.16% el nitrógeno con un valor de 4.03 %, clasificándose como residuo rico en nitrógeno y por último los lípidos con un promedio de 3.06 g/L.



Tabla 3.1 Caracterización de residuos agroindustriales

Residuo		Lodo físico-químico	Pollinaza	RAC	Mezcla A	Mezcla B
Sólidos	Parámetros	2.95±0.5	3.81±0.6	2.80±0.4	2.65±0.7	2.66±0.3
Sólidos volátiles (%)		84.55±0.6	75.09±0.5	86.12±0.5	79.31±1	77.70±0.9
pH		6.47±0.3	6.56±0.5	5.96±0.5	6.5±0.9	6.3±0.6
Carbohidratos (g/L)		2.40± 0.5	3.58±0.3	4.75±0.6	6±0.67	5±0.3
DQO total (g/ L)		17.9±1.1	31.64±2	39.23±2	23.80±3.4	29.16±1.5
DQO soluble (g/ L)		9.57±0.98	18.61±3	6.93±2.6	6.33±0.6	5.99±0.8
Lípidos (g/ L)		4.46±1.2	3.06±0.9	0.99±0.6	3.65±0.8	4.69±1
N-Total (%)		3.85±0.4	4.03±0.7	1.22±0.5	4.17±1	4.83±1.4
Proteínas (%)		19.69±2.3	25.16±3	7.61±2	26.05±3	30.20±2.4

La composición del RAC en cuanto a carbohidratos, lípidos y proteínas se refiere fue de 4.75 g/L, 0.99 g/L y 7.61 % respectivamente lo cual podrían ser favorables para el proceso de digestión anaerobia ya que la composición orgánica de los residuos agro-industriales es un factor importante para determinar el rendimiento de biogás en el proceso.

La mezclas de residuos agroindustriales presentan un pH ligeramente ácido (6.5 mezcla A y 6.3 mezcla B), el contenido de material orgánico se ve reflejado en el % de SV (79.31% y 77.7%) para la mezcla A y B respectivamente, de la misma manera, al preparar las mezclas se procuró no exceder el 3% de ST para evitar problemas de mezclado al someter las mezclas a digestión anaerobia. La alta concentración de proteínas se debe a los residuos de los alimentos de aves de corral. Al finalizar la caracterización de las mezclas de residuos agro-industriales, se determinó que el compuesto predominante en ellas son las proteínas y es superior a los demás compuestos, este dato fue empleado posteriormente para definir la enzima a emplear para el apartado de pre-hidrólisis enzimática.



3.2 Evaluación de pre-tratamientos en las mezclas de residuos agroindustriales A y B

3.2.1 Pre-tratamiento Térmico (PTT)

En la figura 3.1 se muestran los promedios de porcentajes de tasa de hidrólisis obtenidos después de los pre-tratamientos térmicos, se puede apreciar que, la tasa de hidrólisis incrementó conforme se aumentó la temperatura de los tratamientos y el tiempo de exposición, obteniéndose la mayor tasa de hidrólisis en el tratamiento 90°C 90 minutos con un valor promedio de $6.56\% \pm 0.68$, mientras que el valor mínimo de % de tasa de hidrólisis $1.14\% \pm 0.9$, se obtuvo al exponer la mezcla de residuos agroindustriales a una temperatura de 80°C durante 30 min.

En estudios previos, se obtuvieron porcentajes de 17.81% de grado de solubilización al aplicar un pre-tratamiento térmico de 90°C durante 60 minutos a lodos activados (Appels *et al.*, 2010). Por otra parte Kim *et al.*, (2003) encontró que aplicando un tratamiento con NaOH (7 g/L) y elevando la temperatura de los mismos (121°C) durante 30 min se logra una solubilización de hasta un 80%. En otros estudios se ha investigado el efecto del pre-tratamiento térmico de lodo primario con temperaturas de 70°C seguido por digestión anaerobia mesofílica y termofílica, obteniendo mejores resultados en producción y rendimiento de biogás al someter el lodo primario a digestión anaerobia termofílica (Gavala *et al.*, 2003).

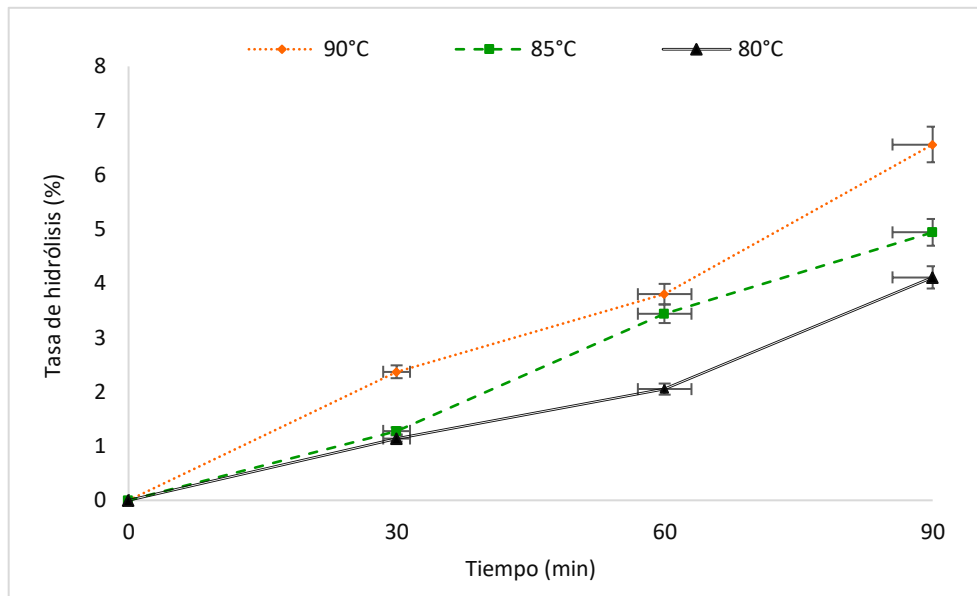


Figura 3.1 Tasa de hidrólisis mezcla A PTT

Las bajas tasas de hidrólisis obtenidas en este estudio con respecto a otros, puede deberse a la naturaleza de los residuos a tratar, ya que tanto en la pollinaza como en el RAC hay presencia de material lignocelulósico por lo se pudiera requerir una mayor temperatura o tiempo de exposición para incrementar la tasa de hidrolisis en caso que se requiera o incluso hidrolizar mezclas mediante otro tipo de tratamiento ya sea químico o biológico.

Una vez obtenidos los resultados del efecto de la temperatura en la mezcla A de residuos agroindustriales, se llevó a cabo la digestión anaerobia de dicha mezcla pre-tratada térmicamente a temperaturas de 80°C, 85°C y 90°C con un tiempo de exposición de 90 minutos, ya que fueron los pre-tratamientos con los que se obtuvo una mayor tasa de hidrólisis y que pudiera resultar significativa en la producción de biogás. Junto con estos tratamientos, también se llevó a digestión una prueba control (sin tratamiento) para verificar la viabilidad de los tratamientos térmicos.

Por otra parte, al someter la mezcla de B al pre-tratamiento térmico se obtuvieron los siguientes resultados, las tasa de hidrolisis promedio obtenidas por el tratamiento de 90°C fluctuaron desde el 3.03, 4.03 y 5.91 % para los 30, 60 y 90 min respectivamente (figura 3.2), sin embargo estos valores no superan el porcentaje de tasa de hidrolisis obtenidos en la mezcla



A (figura 3.1) hecho que puede atribuirse a que en esta mezcla existe en mayor proporción tanto la pollinaza como el RAC y estos residuos pueden agregar un contenido mayor de material lignocelulósico. Nuevamente, como en el caso del anterior sustrato (mezcla A) las mayores tasas de hidrólisis se obtuvieron a los 90 minutos en las tres temperaturas, por lo que los tratamientos de 80°C, 85°C y 90°C a 90 minutos fueron llevados a digestión anaerobia en operación batch.

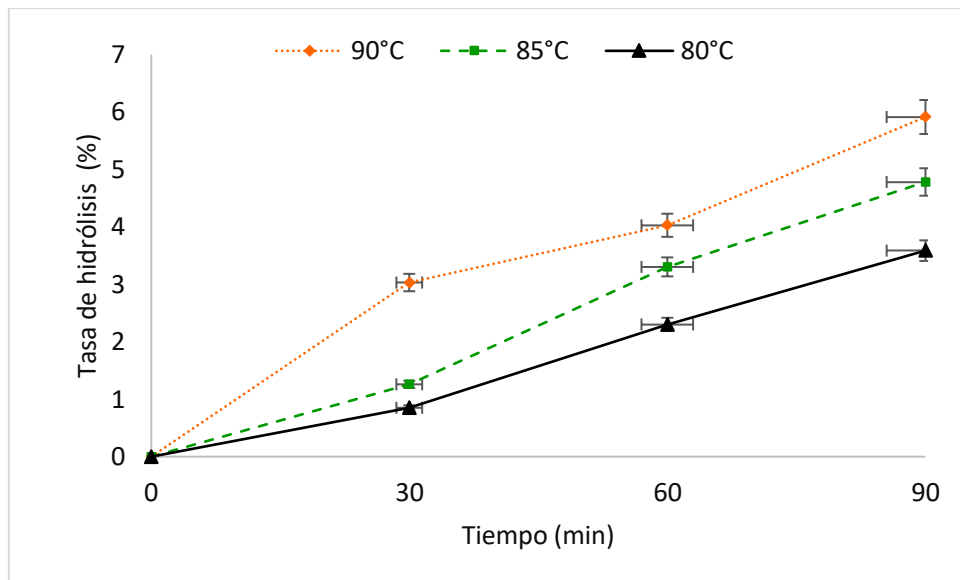


Figura 3.2 Tasa de hidrólisis mezcla B PTT

Vergine (2014) realizó un estudio en el cual implementó pre-tratamientos térmicos a nivel laboratorio a temperaturas bajas (menos de 100°C) en lodos primarios y activados obteniendo como resultado un aumento en la DQO soluble de 14% en los lodos activados y un 3% en lodos primarios.

La hidrólisis térmica es capaz de dividir y descomponer una parte notable de la fracción sólida de los lodos en moléculas solubles y menos complejas y contribuye significativamente en la destrucción de patógenos. Cabe mencionar que entre los procesos que requieren un consumo de energía, los pre-tratamientos térmicos tienen el requerimiento más alto de estos; Sin embargo, a bajas temperaturas como las empleadas en este estudio menos de 100°C (Carrère



et al., 2010) los pre-tratamientos térmicos podrían superar este inconveniente, y además el

Pre-tratamiento térmico	% Tasa de hidrólisis Mezcla A	% Tasa de hidrolisis Mezcla B	calo r pod ría ser parc ial men te recu pera do de otra s
0	0	0	
80°C 30 min	1.14±0.63	0.85±0.12	

fuentes en la planta de tratamiento (Frijns *et al.*, 2013).

La tabla 3.2 muestra un resumen del % de tasa de hidrolisis promedio obtenido para ambas mezclas.

Tabla 3.2 Resumen % tasa de hidrólisis PTT



80°C 60 min	2.05±0.71	2.30±0.22	
80°C 90 min	4.11±0.20	3.59±0.37	Par
85°C 30 min	1.28±0.66	1.26±0.57	a
85°C 60 min	3.44±0.53	3.30±0.02	eleg
85°C 90 min	4.94±0.67	4.78±0.07	ir
90°C 30 min	2.37±0.84	3.03±0.66	con
90°C 60 min	3.8±0.50	4.03±0.17	que
90°C 90 min	6.56±0.69	5.91±0.21	pre-

tratamientos térmicos se trataría las mezclas de residuos agroindustriales antes de llevarlas a pruebas de biodegradabilidad se llevó a cabo un análisis de varianza para cada mezcla de residuos agroindustriales.

La validación estadística de los resultados (sección 5.1, anexo A) corroboró que tanto la temperatura del tratamiento como el tiempo de exposición del mismo son significativos sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis.

Para maximizar el porcentaje de tasa de hidrólisis se recomienda aplicar un tratamiento térmico a 90°C durante 90 minutos, sin embargo, para evaluar la producción de biogás se seleccionaron las temperaturas de 80°, 85° y 90°C con tiempos de exposición de 90 minutos debido a que estos tratamientos son los que mayores medias estadísticas presentaron.

Las pruebas de biodegradabilidad con operación batch se llevaron a cabo con los pre-tratamientos antes mencionados con una muestra y dos réplicas además de la prueba control.

De igual manera que la mezcla A, se llevó a cabo un análisis de varianza para la mezcla B, el cual se presenta en la sección 5.2 del anexo A y que es similar al obtenido para la mezcla A, nuevamente de acuerdo al análisis de varianza, se concluye que tanto la temperatura del tratamiento como el tiempo de exposición del mismo son significativos sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis, si la composición de la mezcla de residuos cambia.

Las pruebas de biodegradabilidad con operación batch se llevaron a cabo con los pre-tratamientos antes mencionados con una muestra y dos réplicas además de la prueba control.



3.2.2 Pre-tratamiento Ácido (PTA)

La figura 3.3 muestra los valores promedio de porcentaje de tasa de hidrólisis obtenidos durante el pre-tratamiento con ácido acético de la mezcla A, y se puede apreciar que la tasa de hidrólisis presentó un comportamiento ascendente conforme se incrementó la dosis de ácido acético y el tiempo, obteniéndose la mayor tasa de hidrólisis en el tratamiento 4% y 90 minutos con un valor promedio de $15.3\% \pm 0.8$ mientras que el valor mínimo de tasa de hidrólisis $4\% \pm 0.3$, se obtuvo al exponer la mezcla de residuos agroindustriales a una dosis de 2% y un tiempo de exposición de 30 min.

Es importante resaltar que los pre-tratamientos ácidos se llevaron a cabo a temperatura ambiente ($27^{\circ}\text{C} \pm 2$) con la finalidad de economizar aún más el proceso de tratamiento y que aun con los tiempos de exposición cortos (30 min) los valores de tasa de hidrólisis son similares o inclusive mayores a los obtenidos en los pre-tratamientos térmicos.

Assawamongkholsiri *et al.*, (2013) realizaron un estudio a lodos activados provenientes de una planta de tratamiento de aguas de una industria cervecera los cuales fueron pre-tratados mediante HCl y calor (0.5% m/v, 110°C y 60 min) obteniendo una concentración de DQO soluble de 1785.6 ± 27.1 mg/L. Por otro lado Zhao *et al.*, (2014) sometieron forraje de maíz a un pre-tratamiento con ácido acético diluido (0.25%) a 191°C durante 7.74 minutos que fue la condición óptima para la producción de AGV's y así evitar la inhibición en la fermentación ácida de dicho residuo.

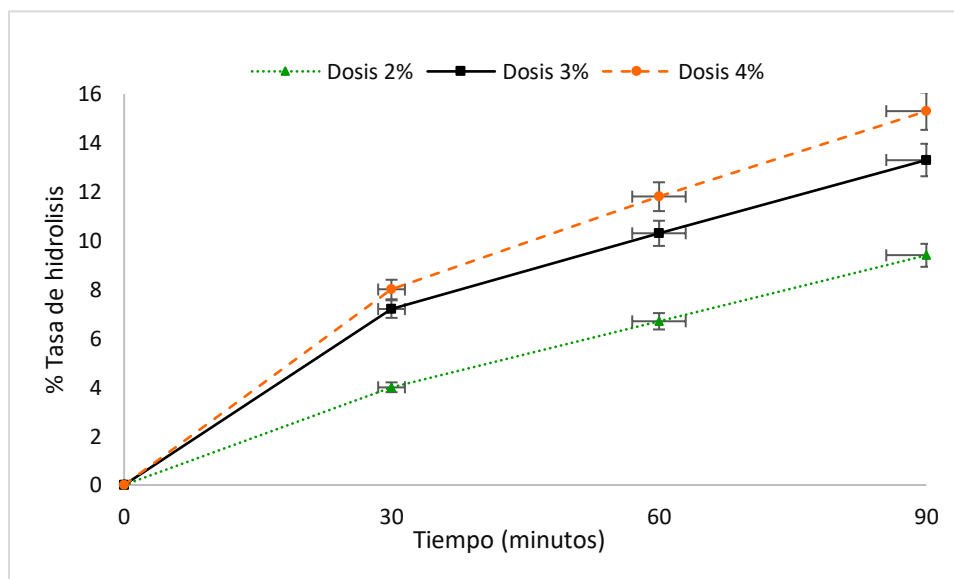


Figura 3.3 Tasa de hidrólisis mezcla A PTA



De acuerdo a los estudios citados, el pre-tratamiento ácido se aplica ampliamente debido a su bajo costo y alta eficiencia para hidrolizar la hemicelulosa en azúcares monoméricos sin disolver la lignina (Ferreira *et al.*, 2013). El pre-tratamiento ácido como tal, hidroliza la pared celular y la membrana celular. En consecuencia, se incrementa la solubilidad de la materia orgánica contenida dentro de las células (Appels *et al.*, 2008).

Por otro lado, al someter la mezcla de B al pre-tratamiento ácido se obtuvieron los siguientes resultados, las tasa de hidrolisis promedio obtenidas por el tratamiento con dosis de 4% fluctuaron desde el 9.3, 11.5 y 12.9% para los 30, 60 y 90 min respectivamente (figura 3.4), los cuales fueron muy similares a los obtenidos en la mezcla A con excepción del tratamiento a 90 min el cual es menor al obtenido por la mezcla A. El comportamiento de los datos es similar al obtenido en la mezcla A, al incrementar la dosis y el tiempo de exposición del tratamiento aumenta el porcentaje de tasa de hidrólisis.

Anteriormente, el ácido oxálico se ha empleado para pre-tratar diferentes tipos de biomasa y mejorar la eficiencia de la sacarificación. El forraje de maíz ha sido pre-tratado con una dosis de 1.8% (m/v) de ácido oxálico combinado con una temperatura de 160°C durante 10 min para posterior producción de etanol por *Saccharomyces cerevisiae* (Mtui, 2012).

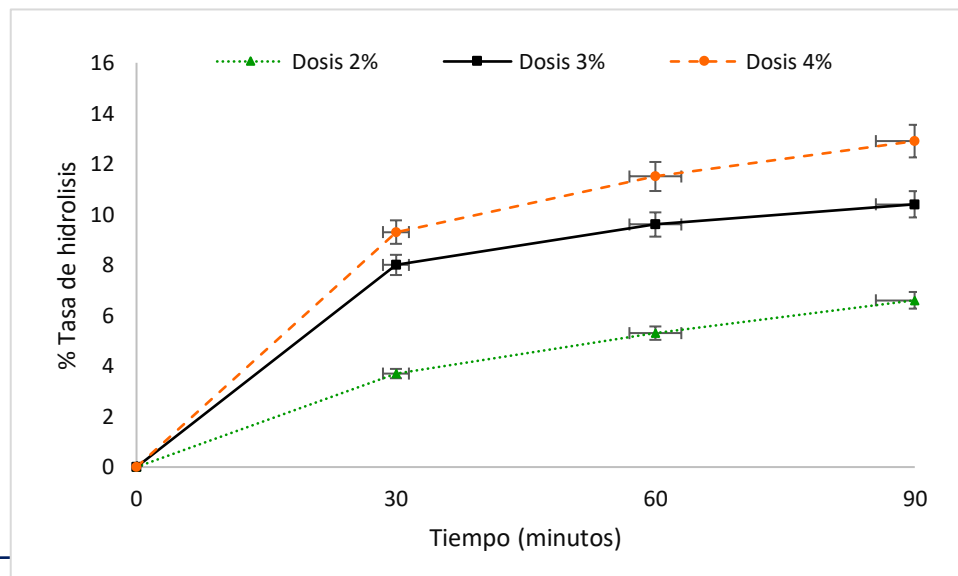


Figura 3.4 Tasa de hidrólisis mezcla B PTA



Pre-tratamiento ácido	% Tasa de hidrólisis Mezcla A	% Tasa de hidrólisis Mezcla B
-----------------------	----------------------------------	----------------------------------

El
pre-
trat
ami
ento

ácido ha sido empleado para la hidrólisis de diversos sustratos y el uso de estos sustratos ha sido la producción de bioetanol y en algunos casos la producción de biogás como es el caso de este estudio, sin embargo no existen muchos estudios donde se reporte el porcentaje de tasa de hidrólisis de materia orgánica como variable de respuesta a medir después de la hidrólisis de sustratos.

Otro factor importante de mencionar es que el tratamiento previo con ácidos orgánicos es clasificado como organosolv y se ha empleado para la fabricación de pastas tanto de madera como de plantas herbáceas (Zhao *et al.*, 2009).

Por otro lado, los pre-tratamientos con ácidos orgánicos diluidos tienen algunas características deseables incluyendo la hidrólisis eficaz y menos productos de degradación (Kootstra *et al.*, 2009b). Sin embargo, el pre-tratamiento con ácidos orgánicos está recibiendo poca atención comparado con los tratamientos con ácidos inorgánicos y se conoce relativamente poco hasta ahora sobre el mecanismo como tratamiento previo (Qin *et al.*, 2012).

La tabla 3.3 muestra un resumen de los resultados promedio de porcentaje tasa de hidrólisis obtenidos durante el pre-tratamiento ácido.

Tabla 3.3 Resumen % tasa de hidrólisis PTA



0	0	0	
2% 30 min	4±0.36	3.7±0.82	
2% 60 min	6.7±0.07	5.3±0.41	
2% 90 min	9.4±0.31	6.6±0.29	Con
3% 30 min	7.2±0.19	8±0.99	bas
3% 60 min	10.3±0.31	9.6±0.23	e en
3% 90 min	13.3±0.19	10.4±0.26	el
4% 30 min	8±0.56	9.3±0.58	anál
4% 60 min	11.8±0.25	11.5±0.41	isis
4% 90 min	15.3±0.75	12.9±0.12	gráf
			ico
			es

posible apreciar que la dosis de ácido acético aplicada y el tiempo de exposición, afecta directamente el porcentaje de tasa de hidrólisis de la mezcla A, sin embargo, una análisis más riguroso de resultados, mismos que se presentan en la sección 5.3 del anexo A. Resultó significativo para el porcentaje de tasa de hidrólisis la dosis de ácido acético aplicada, así como también el tiempo de exposición al tratamiento, en este caso es importante resaltar que la interacción entre ambos factores (dosis de ácido acético y tiempo de exposición) también resultaron significativos.

El mayor efecto sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis se obtuvo al exponer las tres distintas dosis de ácido acético a 90 min, por lo cual se decidió llevar al proceso de digestión anaerobia los pre-tratamientos con ácido acético al 2%, 3% y 4% v/v y 90 min de tiempo de exposición.

Los resultados del porcentaje de tasa de hidrólisis obtenidos para la mezcla B fueron analizados estadísticamente (sección 3.4, anexo A) y se concluye que tanto la temperatura del tratamiento como el tiempo de exposición del mismo son significativos sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis, sin embargo en este caso para la mezcla B, la interacción de estos dos factores no es significativa. Por lo que se decidió llevar a digestión anaerobia los tratamientos con las dosis 2%, 3% y 4% con tiempo de exposición de 90 minutos.



3.2.3 Pre-tratamiento Enzimático (PTE)

3.2.3.1 Determinación de la Enzima para la hidrólisis enzimática

Una vez determinado el compuesto predominante (proteínas) se siguió determinando las enzimas que se utilizaran para la realización de la hidrólisis enzimática.

La enzima con nombre comercial PROTEASA ® FUNGAL fue la enzima seleccionada, la cual es una proteasa de grado alimenticio obtenido por medio de la fermentación controlada de *Aspergillus oryzae* var. Es básicamente una mezcla proteasas ácidas, neutras y alcalinas que demuestran actividad exo-peptidasa y endopeptidasa en las moléculas de proteína. Las exo-peptidasas liberan aminoácidos por medio de la hidrólisis de las cadenas peptídicas en su parte terminal. Las endopeptidasas hidrolizan los enlaces peptídicos internos de la proteína, liberando polipéptidos de diferentes longitudes menores de endopeptidasas que hidrolizan los enlaces peptídicos primarios de las moléculas proteicas. Consecuentemente, la viscosidad de soluciones de gelatina, cola y otros geles proteínicos es reducida rápidamente. La amplia especificidad de sustratos sobre los que actúa la PROTEASA FUNGAL la hace adecuada para hidrolizar fácil y eficientemente la mayoría de las proteínas.

El rango óptimo de temperatura para PROTEASA FUNGAL es de 50 a 55 ° C con un pH de 7.0. A una temperatura de 40 a 50 ° C a un pH de 7.0, proporciona una mejor estabilidad de la enzima, mientras que la temperatura superior a 60 ° C se inactiva inmediatamente la misma. Cabe mencionar que las enzimas fueron donadas por la empresa ENMEX S.A. de C.V.

3.2.3.2 Determinación de la tasa de hidrólisis

El objetivo de evaluar esta etapa fue encontrar el rango en el que el tiempo de exposición en conjunto con la dosis de enzima empleada para la pre-hidrólisis favoreciera de manera significativa al desdoblamiento de dichas macromoléculas presentes en la mezcla viéndose reflejado en la producción de biogás, para la evaluación de la enzima Proteasa Fungal en la pre-hidrolisis de la mezcla de sustratos A con una dosis alta (0.12%) y una dosis baja (0.003%) y tres tiempos de exposición (60,90 Y 150 min) la temperatura a la cual fueron hidrolizados los sustratos fue de 45°C y para inhibir la actividad enzimática posterior al tiempo de tratamiento la muestra fue almacenada a -4°C.



La figura 3.5 muestra los resultados promedio obtenidos en el % de tasa de hidrólisis con enzima Fungal y mezcla A, se puede destacar lo siguiente, con dosis baja de enzima y tiempo de exposición de 60 minutos se alcanza un % de tasa de hidrólisis de 0.7%, empleando la misma dosis con 90 min de tiempo de exposición, la tasa de hidrólisis aumenta a 6.8% y al tratar la mezcla con la misma dosis y 150 min de tiempo de exposición, el porcentaje de tasa de hidrólisis se incrementó a 11.1%, cabe resaltar que al tratar la mezcla A con la dosis baja y 60 min de tiempo de exposición, la tasa de hidrólisis fue demasiado baja, hecho que puede atribuirse a la baja concentración de la enzima en el sustrato y al poco tiempo de exposición al pre-tratamiento.

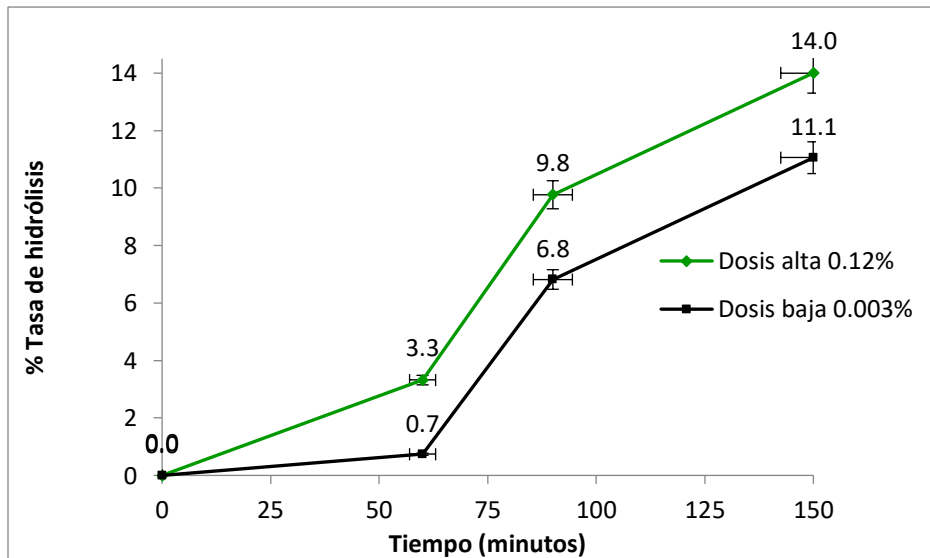


Figura 3.5 Tasa de hidrólisis mezcla A PTE

Al experimentar con la dosis alta de enzima proteasa Fungal y tiempo de 60 min se obtuvo una tasa de hidrólisis de 3.3%, 9.8% y 14% al tratar durante 90 y 150 min la mezcla A con dosis alta de enzima.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se concluye que para incrementar la tasa de hidrólisis en la Mezcla A los más altos porcentajes de tasa de hidrolisis se obtienen al emplear la dosis alta de enzima y con tiempos de exposición más prolongados.



Por otra parte, la figura 3.6 muestra los resultados obtenidos en el % de tasa de hidrólisis con enzima Fungal y mezcla B, cabe resaltar que al aplicar la enzima Fungal en la mezcla B se observa un incremento significativo en el % de tasa de hidrólisis con respecto a la mezcla A, este incremento pudiera deberse a que en la mezcla a analizar hay un contenido mayor de proteínas (tabla 3.1). Al aplicar la dosis baja de enzima se obtuvieron porcentajes de tasa de hidrólisis promedio de 14.6%, 17.9% y 20.9% para 60 minutos, 90 minutos y 150 minutos de tiempo de exposición respectivamente. Para la dosis alta los porcentajes de hidrolisis fueron de 20.1%, 22.3% y 23.8% para los 60 min, 90 min y 150 min de tiempo de exposición.

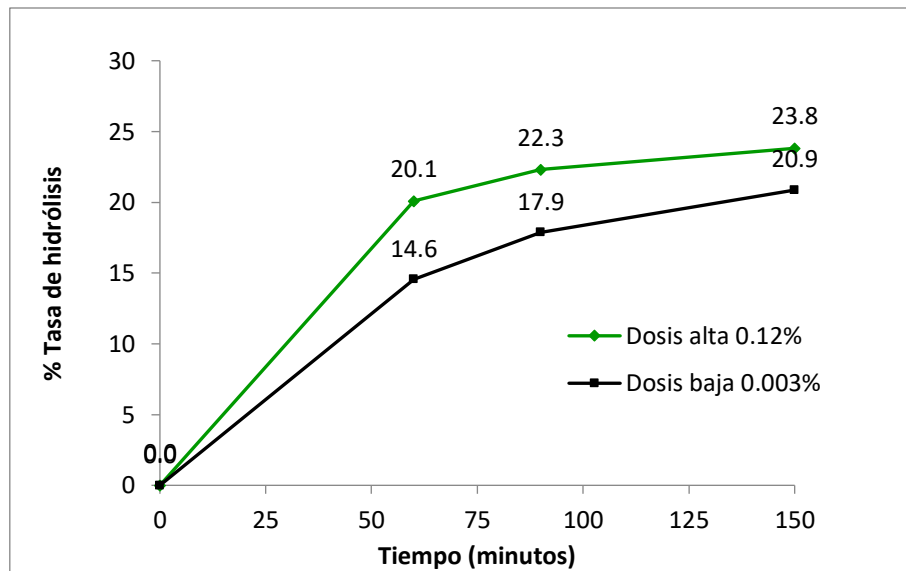


Figura 3.6 Tasa de hidrólisis mezcla B PTE

Es importante mencionar que los tiempos prolongados del pre-tratamiento aumentaron la solubilización de materia orgánica, sin embargo la eficiencia de solubilización, no siempre está directamente correlacionada con la producción de biogás (Assawamongkholisiri *et al.*, 2013).

Por otro lado, la adición de proteasas para la digestión anaerobia de componentes ricos en proteínas puede aumentar la hidrólisis y la licuefacción del sustrato. (Jördening y Winter, 2005).



Pocas fuentes bibliográficas se encuentran disponibles para hacer comparaciones con referencia a la tasa de hidrólisis obtenida mediante pre-tratamiento con proteasas en términos de DQO soluble. La tabla 3.4 muestra un resumen de los porcentajes promedio de tasa de hidrólisis obtenidos para cada dosis de enzima, tiempo de exposición y mezcla.

Tabla 3.4 Resumen % tasa de hidrólisis PTE

Pre-tratamiento enzimático	% Tasa de hidrólisis		De for ma simi lar a los cas os ante rior
	Mezcla A	Mezcla B	
0	0	0	
0.003% 60 min	0.7±0.38	14.6±1.29	
0.003% 90 min	6.8±1.66	17.9±1.66	
0.003% 150 min	11.1±0.74	20.9±0.10	
0.12 % 60 min	3.3±1.85	20.1±0.19	
0.12% 90 min	9.8±1.29	22.3±3.50	
0.12% 150 min	14±1.80	23.8±2.51	

es y con la finalidad de seleccionar el pre-tratamiento enzimático que ejerce mayor efecto sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis para llevarlo a prueba de biodegradabilidad, se realizó un análisis de varianza para la mezcla A y B. Al igual que en las secciones anteriores se empleó un diseño experimental de parcelas divididas.

La sección 5.5 del anexo A muestra los resultados, de acuerdo al análisis de varianza, se concluye que el tiempo de exposición al pre-tratamiento (factor B) es significativo sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis, sin embargo la dosis de enzima aplicada no es significativa sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis. La interacción entre ambos factores no es significativa. Para maximizar el porcentaje de tasa de hidrólisis se recomienda emplear un tiempo de exposición de 150 min sin importar la dosis de enzima a emplear.



Por esta razón, se decidió llevar a digestión anaerobia para evaluar el efecto del pre-tratamiento enzimático en la producción de metano ambas dosis de enzima (0.003% y 0.12%) con 150 min de tiempo de exposición al pre-tratamiento.

Se tomó en cuenta el mismo criterio de selección para llevar a prueba de biodegradabilidad la mezcla B pre-tratada mediante proteasa.

La sección 5.6 del anexo A muestra los resultados obtenidos en el análisis de varianza, para el caso de la mezcla B, se aprecia que, la dosis de enzima aplicada y el tiempo de tratamiento son significativos sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis, la interacción entre ambos factores no es significativa. Se recomienda si se desea maximizar el porcentaje de tasa de hidrólisis emplear la dosis de 0.12% de enzima y tiempo de 150 min.

Se decidió con el fin de hacer un análisis comparativo entre las dosis de enzima y su efecto en la producción de metano llevar a digestión anaerobia ambas dosis de enzima y 150 min de tiempo de pre-tratamiento.

3.3 Pruebas de biodegradabilidad en mezclas de residuos agroindustriales pre-tratadas (operación batch)

3.3.1 Pruebas de biodegradabilidad en mezclas A y B con pre-tratamiento térmico

La figura 3.7 detalla la disminución en el porcentaje de materia orgánica (SV) conforme transcurrió el tiempo en la digestión anaerobia de la mezcla A de residuos agroindustriales, el pre-tratamiento térmico (PTT) de 90°C y 90 min fue el primero en alcanzar el 38% de remoción de materia orgánica, con un TRH de 9 días, seguido del tratamiento 85°C y 90 min en el día 12 y el tratamiento 80°C y 90 min en el día 14. En cambio la prueba control alcanzó el 38% de remoción en el día 23, debido a lo anterior, se comprueba que un tratamiento térmico previo a la digestión anaerobia favorece la remoción de compuestos orgánicos disminuyendo así el TRH ya que al solubilizarse parcialmente la materia orgánica se ingresa al proceso moléculas en formas más simples que pueden ser aprovechadas más rápidamente como sustrato por otras bacterias presentes en la digestión anaerobia.

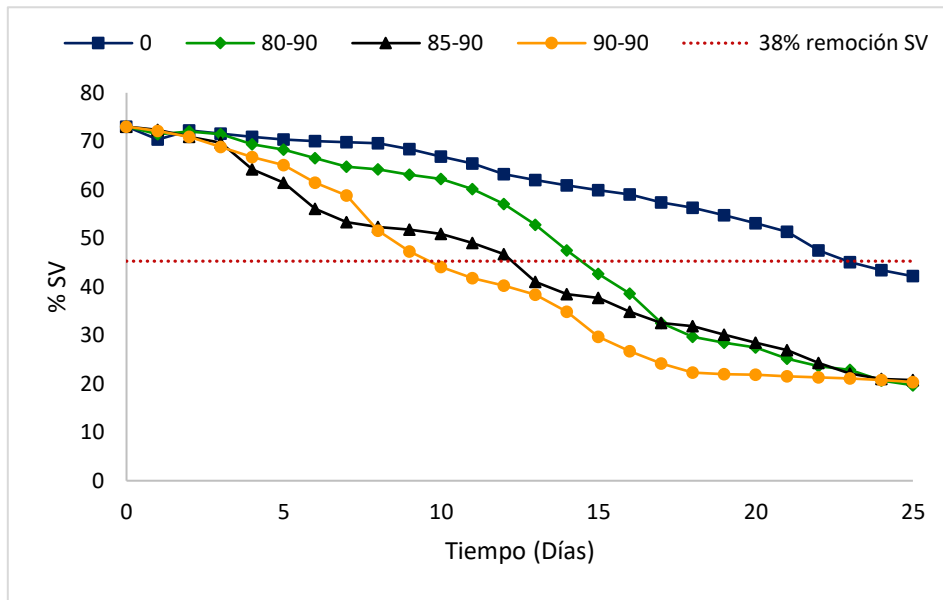


Figura 3.7 Remoción de SV en pruebas de biodegradabilidad PTT, mezcla A

Pérez-Elvira en el 2008 obtuvo TRH de 9-17 días a partir de la operación en una planta piloto que combina unidades de hidrólisis térmica de lodo secundario, la digestión anaeróbica de lodo secundario hidrolizado, conjuntamente con lodo primario fresco. Al igual que en este estudio se aprovecha la sinergia de dos o más sustratos para favorecer el proceso de digestión anaerobia mejorado con un pre-tratamiento térmico.

Una de las principales variables de monitoreo de la digestión anaerobia es el biogás, el cual es un beneficio extra en el tratamiento de estos residuos ya que puede ser empleado como fuente alterna de energía, en este aspecto se observó que la producción de biogás aumentó conforme se aumentó la temperatura del pre-tratamiento térmico obteniendo una producción de biogás de 2.6 L en el tratamiento 90°C , 90 min, superando en más de 50% a la prueba control la cual sólo tuvo una producción de 1.1 L, los tratamientos de 85°C y 80°C durante 90 min obtuvieron una producción de biogás de 1.85 L y 1.7 L respectivamente (figura 3.8).

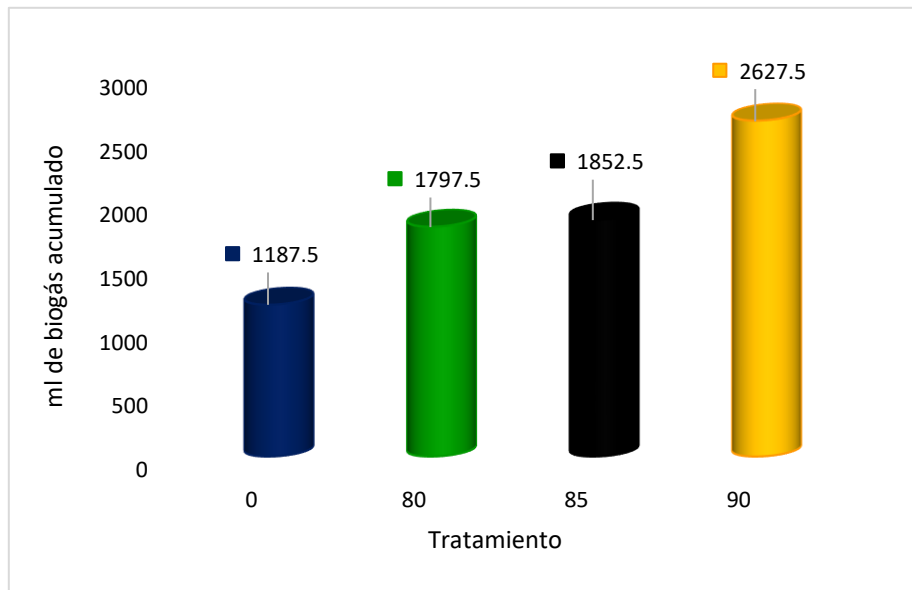


Figura 3.8 Producción de biogás acumulado, pruebas de biodegradabilidad PTT mezcla A

El rendimiento de biogás fue de 0.56, 0.75, 0.82, y 1.18 L de biogás g/SV rem para el control, 80, 85 y 90 °C respectivamente y el rendimiento de metano fue de 0.45, 0.65, 0.72 y 1.03 L CH₄ / g de SV rem para el control, 80, 85 y 90 °C respectivamente, por todo lo anterior, la aplicación de pre tratamientos físico (térmico) contribuye significativamente a la mejora del proceso de digestión anaerobia en tres aspectos importantes: velocidad del tratamiento, la eficiencia de remoción de materia orgánica y la producción de biogás. La tabla 3.11 muestra un resumen de los datos promedio obtenidos en las pruebas de biodegradabilidad para la mezcla A.

Como se observa en la tabla 3.5 el mayor rendimiento de metano se obtuvo al pre-tratar la mezcla A de residuos agroindustriales a 90°C y 90 min de tiempo de exposición, sin embargo, se llevó a cabo un análisis de varianza para determinar estadísticamente que pre-tratamiento térmico influye en el rendimiento de metano.



Tabla 3.5 Resumen parámetros pruebas de biodegradabilidad PTT mezcla A

Tratamiento	% Tasa de hidrólisis	TRH (días)	Producción de		
			biogás acumulada (L)	Y bio (L bio / Gsv rem)	Y CH ₄ (L CH ₄ / Gsv rem)
0	0	23	1.1	0.56	0.45
80°C 90 min	4.11	14	1.7	0.75	0.65
85°C 90 min	4.94	12	1.85	0.82	0.72
90°C 90 min	6.56	9	2.6	1.18	1.03

El análisis estadístico (sección 5.7, anexo A) demostró que el pre-tratamiento térmico aplicado al proceso de digestión anaerobia influye significativamente en el rendimiento de metano obtenido, por otra parte las medias de los tratamientos tienen diferencias significativas en el grupo 3 (pre-tratamiento térmico 90°C y 90 min), mismo que fue llevado al proceso de digestión anaerobia en operación semi-continua para evaluar su comportamiento en la producción de metano.

Por otro lado, la figura 3.9 muestra el porcentaje de remoción de SV en las pruebas de biodegradabilidad de la mezcla B contra el tiempo de operación, nuevamente el TRH de la prueba control fue de 25 días, en contraste los TRH obtenidos para los sustratos previamente hidrolizados térmicamente fueron menores hasta por 13 días destacándose el tratamiento 90°C y 90 min que alcanzó un TRH de 12 días, en tanto los TRH para los tratamiento de 80°C 90 min y 85°C 90 min fueron de 13 y 17 días respectivamente.

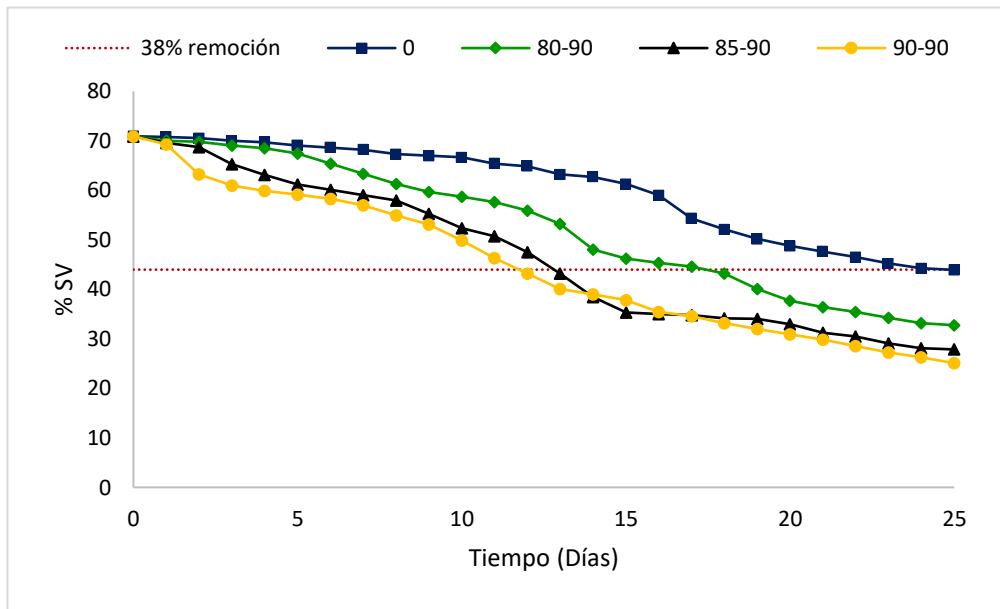


Figura 3.9 Remoción de SV en pruebas de biodegradabilidad PTT, mezcla B

La productividad de biogás y metano puede ser incrementada drásticamente mediante la co-digestión de los residuos ganaderos y los desechos que se generan durante la cosecha o procesamiento de los productos agrícolas, debido a la acción sinérgica que presentan el gran contenido de nutrientes disponibles para el desarrollo de las poblaciones microbianas responsables del proceso, en este contexto se obtuvieron resultados considerables en la producción de biogás al aprovechar la co-digestión de estos residuos en conjunto con los pre-tratamientos térmicos, la producción máxima de biogás (1.97 L) se obtuvo al aplicar un pre-tratamiento 90°C durante 90 minutos superando por 0.77 L a la prueba control que obtuvo una producción de biogás de 1.2 L ml, los tratamientos de 80°C y 90 min y 85°C y 90 min obtuvieron una producción acumulada de biogás de 1.53 L y 1.58 L respectivamente no siendo significativa la producción de biogás entre estos dos tratamientos, además, la diferencia entre la producción de biogás obtenida en la prueba control y estos dos tratamientos apenas supera los 0.3 L. (figura 3.10)

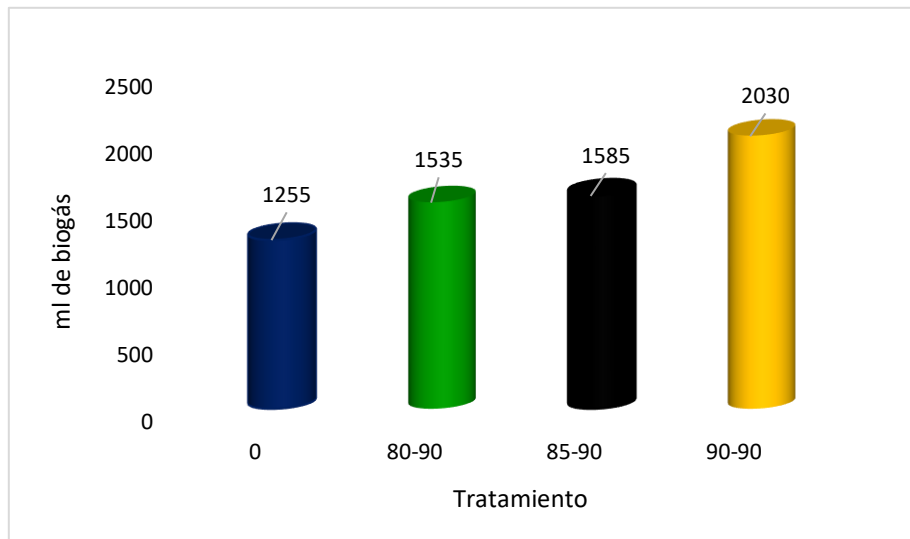


Figura 3.10 Producción de biogás acumulado, pruebas de biodegradabilidad PTT mezcla B

Los rendimientos de biogás obtenido fueron de 0.92 L de biogás/ g SV rem para el control, 0.98, 1.03, 1.14 L de biogás g/ SV rem para 80, 85 y 90 °C respectivamente y el rendimiento de metano fue de 0.55 L de CH₄/g SV rem para el control, 0.63, 0.7, 0.8 para 80, 85 y 90 °C respectivamente.

Ruiz-Espinosa (2012) reporta que al realizar pruebas de biodegradabilidad en modo batch lodos fisicoquímicos provenientes de un rastro de aves pre-tratados térmicamente a 90°C y 90 min se obtienen rendimientos de 1 L biogás/ g SV rem y 0.81 L CH₄/g SV, valores similares a los obtenidos en este estudio, ya que la composición mayoritaria de las mezclas es lodo físico-químico.

La tabla 3.6 muestra un resumen de los datos promedio obtenidos en las pruebas de biodegradabilidad para la mezcla B, el mayor rendimiento de metano se obtuvo al pre-tratar la mezcla B de residuos agroindustriales a 90°C y 90 min de tiempo de exposición, sin embargo, se llevó a cabo un análisis de varianza para determinar estadísticamente que pre-tratamiento térmico influye en el rendimiento de metano.



Tabla 3.6 Resumen parámetros pruebas de biodegradabilidad PTT mezcla B

Tratamiento	% Tasa de hidrólisis	TRH (días)	Producción de		
			biogás acumulada (L)	Y bio (L bio / Gsv rem)	Y CH ₄ (L CH ₄ / Gsv rem)
0	0	25	1.25	0.92	0.55
80°C 90 min	3.59	13	1.53	0.98	0.63
85°C 90 min	4.78	17	1.58	1.03	0.70
90°C 90 min	5.91	12	2.03	1.14	0.80

De acuerdo al análisis de varianza (sección 5.8 anexo A) el pre-tratamiento térmico aplicado al proceso de digestión anaerobia influye significativamente en el rendimiento de metano obtenido, por otro lado la tabla 3.16 describe los resultados obtenidos en la prueba de Duncan, y se observó que la mayor media estadística en el rendimiento de metano, se obtuvo al aplicar un pre-tratamiento térmico a 90°C y 90 min, pre-tratamiento que fue llevado al proceso de digestión anaerobia en operación semi-continua para evaluar su comportamiento en la producción de metano.

3.3.2 Pruebas de biodegradabilidad en mezclas A y B con pre-tratamiento ácido

La figura 3.11 describe la disminución en el porcentaje de materia orgánica (SV) conforme transcurrió el tiempo en la digestión anaerobia de la mezcla A de residuos agroindustriales, se observa que la mezcla A sin pre-tratamiento, alcanza el 38% de remoción de SV en el día 25 de operación, resultado que contrasta de forma significativa al emplear el pre-tratamiento ácido con dosis de 4% y 90 min el cual, alcanzó un TRH de 11 días, al pre-tratar la mezcla A con una dosis de 3% de ácido acético y 90 min de tiempo de exposición el TRH fue de 13 días, por otro lado, la dosis de 2% de ácido acético v/v arrojó resultados similares a los obtenidos por la mezcla sin ningún pre-tratamiento, ya que alcanzó un TRH de 20 días.

Por todo lo anterior cabe resaltar que el pre-tratamiento ácido con dosis de 4% V/V y 90 min de tiempo de exposición, resultó favorable en la disminución del TRH y la remoción de materia orgánica, de igual manera, se logra apreciar que conforme se incrementó la dosis de



ácido acético se disminuye el TRH en el proceso de digestión anaerobia, además de favorecer la

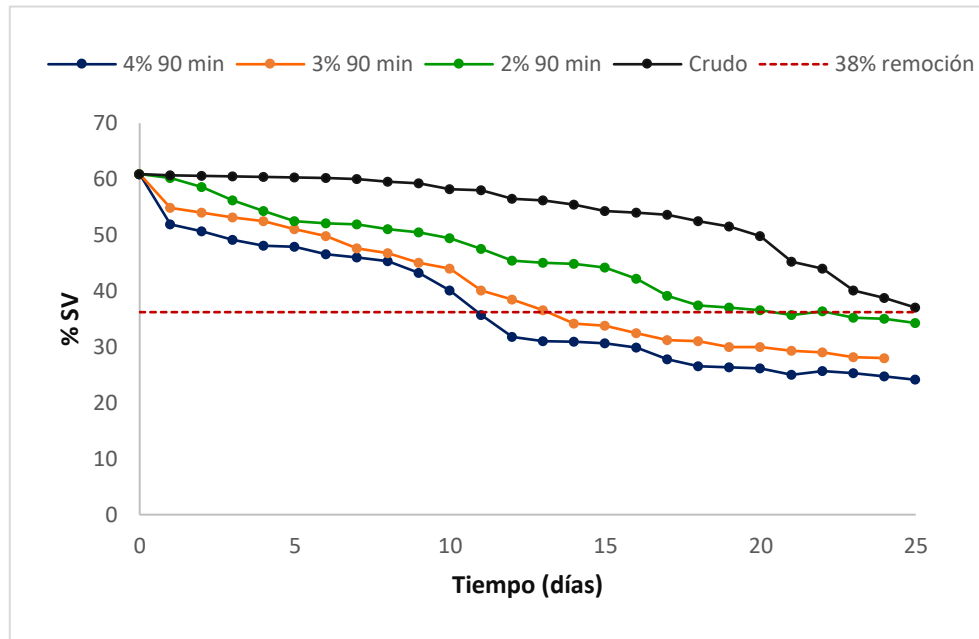


Figura 3.11 Remoción de SV pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTA

remoción de SV.



Esta observación es similar a la obtenida por Appels *et al.*, (2011), quienes estudiaron el uso del ácido peracético para la solubilización de lodos como un pre-tratamiento a la digestión anaerobia, en dicho estudio se observó que los compuestos orgánicos solubles fueron degradados por la fermentación a una tasa mayor que la hidrólisis por si sola es capaz de producir. La disminución es relativamente más grande para el lodo pre-tratado puesto que la concentración inicial de DQO soluble fue mayor, la DQO soluble a la de los lodos en el blanco.

De acuerdo al autor, al aplicar un pre-tratamiento con ácido, la materia orgánica soluble presente en el sustrato es mayor a la contenida en el mismo sustrato pero de forma cruda, por lo cual el sustrato se encuentra disponible para ser degradado con mayor facilidad por las bacterias presentes en la digestión anaerobia, favoreciendo de igual manera la disminución del TRH en el proceso y la posibilidad de tratar mayores cantidades de sustrato.

Se obtuvo un comportamiento proporcional entre la producción de biogás y la dosis de ácido acético empleado. Hecho por el cual se comprueban dos situaciones importantes, primera el pre-tratamiento ácido incrementa de manera significativa la producción de biogás y segundo, conforme se aumenta la dosis de ácido acético en el pre-tratamiento se incrementa de igual manera la producción de biogás.

Por otra parte, la figura 3.12 Muestra la producción de biogás acumulada durante la operación batch.

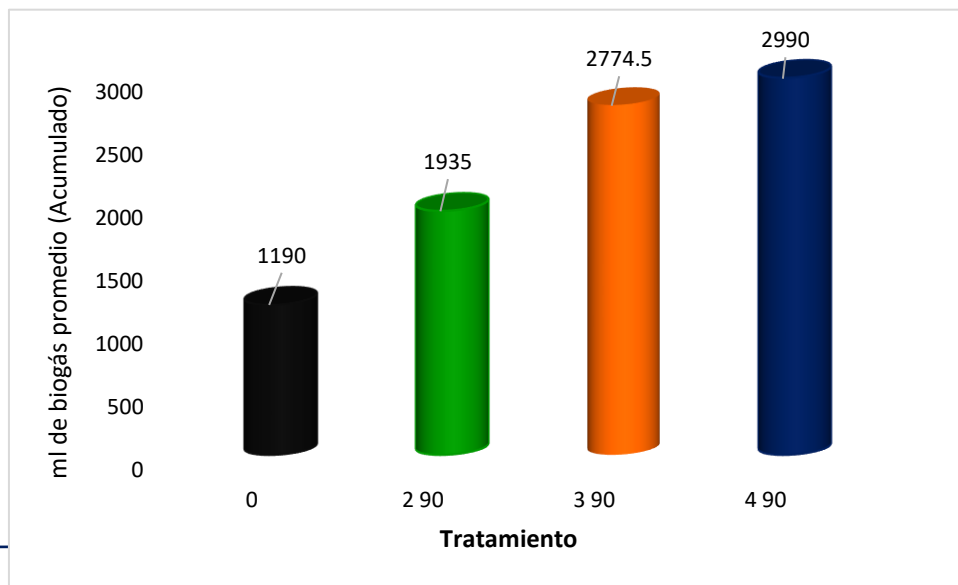


Figura 3.12 Producción de biogás, pruebas de biodegradabilidad mezcla A PTA



Los rendimientos de biogás obtenidos en la digestión anaerobia con operación batch de la mezcla A fueron los siguientes 0.55, 0.69, 1.02 y 1.09 L biogás/ g SV_{rem} para la mezcla cruda, dosis 2%, dosis 3% y dosis de 4% de ácido acético respectivamente. Los rendimientos de metano obtenidos fueron 0.45, 0.51, 0.78 y 0.89 L CH_4 / g SV_{rem} para la mezcla cruda, dosis 2%, dosis 3% y dosis de 4% de ácido acético respectivamente.

De acuerdo a lo anterior, el pre-tratamiento ácido favoreció en tres aspectos importantes el proceso de digestión anaerobia, la disminución del TRH, ayuda a la mejorar la producción de biogás y de igual manera a la producción de metano, mejorando así la calidad de biogás.

Tabla 3.7 Resumen de parámetros prueba de biodegradabilidad PTA mezcla A

Tratamiento	% Tasa de hidrólisis	TRH (días)	Producción de		
			biogás acumulada (L)	Y bio (L bio / g sv rem)	Y CH_4 (L CH_4 / g sv rem)
0	0	25	1.19	0.55	0.45
2% 90 min	9.4	11	1.93	0.69	0.51
3% 90 min	13.3	13	2.77	1.02	0.78
4% 90 min	15.3	20	2.99	1.09	0.89

La tabla 3.7 muestra un resumen de los parámetros obtenidos en las pruebas de biodegradabilidad de la mezcla A pre-tratada con ácido acético, y se logra apreciar que, conforme se incrementó la tasa de hidrólisis con los pre-tratamientos ácidos se redujo el TRH



pero se incrementó tanto la producción de biogás como el rendimiento de metano. Un aumento en la producción de metano por el pre-tratamiento del sustrato es a menudo relacionado con la solubilización de la materia orgánica (Chandra *et al.*, 2012).

Monlau *et al.*, (2013) realizaron un estudio en el que fue objeto de estudio la digestión anaerobia mesofílica combinada con un pre-tratamiento ácido-térmico 170°C, 1% H₂SO₄ empleando como sustrato residuos sólidos provenientes de la extracción de aceites de los girasoles, en dicho estudio se concluyó que el tratamiento previo con ácido diluido combinado con la temperatura fue beneficioso para la producción de metano, ya que este se incrementó de 195 mL CH₄/g SV a 289 mL CH₄/g SV, ellos aseguran que este hecho puede atribuirse a la accesibilidad mejorada de la celulosa y hemicelulosa al ataque microbiano.

En este caso de estudio a diferencia del antes mencionado, no se empleó temperatura, pero sí dosis ligeramente más elevadas de ácido acético y de igual manera se observó que se incrementa la producción de metano.

La sección 5.9 del anexo A muestra que el tratamiento aplicado a la mezcla A de residuos agroindustriales es significativo sobre el rendimiento de metano, si quiere incrementarse la producción de metano, debe emplearse el tratamiento con dosis de 4% de ácido acético y 90 min de tiempo de exposición, ya que es el que mayor media estadística alcanzó y es diferente los demás tratamientos ácido empleados.

Con base al análisis estadístico, se procedió a llevar a operación semi-continua, la mezcla A tratada con 4% de ácido acético y 90 min de tiempo de exposición.

Por otra parte, la figura 3.13 Muestra la disminución en el porcentaje de SV en las pruebas de biodegradabilidad de la mezcla B, se logra apreciar lo siguiente, la mezcla que no recibió ningún pre-tratamiento ácido obtuvo un TRH de 25 días, y, nuevamente como se ha mencionado a lo largo de este trabajo, el pre-tratamiento favorece de forma significativa el TRH, de igual manera se observa que la mezcla B pre-tratada con ácido y dosis de 4% y 90 min alcanzó un TRH de 13 días, al pre-tratar la mezcla B con una dosis de 3% de ácido acético y 90 min de tiempo de exposición el TRH fue de 16 días, la dosis de 2% de ácido acético v/v



arrojó resultados similares a los obtenidos por la mezcla sin ningún pre-tratamiento, ya que alcanzó un TRH de 20 días.

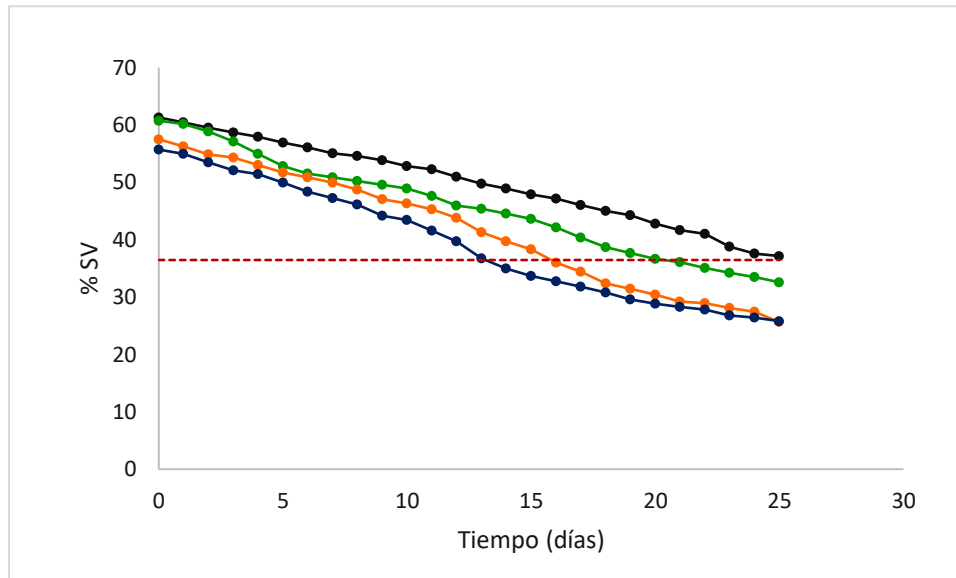


Figura 3.13 Remoción de SV pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTA

La producción de biogás acumulada se muestra en la figura 3.14, y se aprecia que conforme se incrementó la dosis del tratamiento ácido, se incrementó la producción de biogás, hecho que puede ser atribuido a que el cambio de las concentraciones de materia orgánica soluble en el sistema de digestión refleja la utilización de sustratos y la producción de biogás.

Los rendimientos de biogás obtenidos fueron 0.59, 0.67, 1.08 y 1.13 L bio/ SV_{rem} para la mezcla cruda, tratamientos 2% 90 min, 3% 90 min y 4% 90 min respectivamente. Mientras que el rendimiento de metano para la mezcla cruda fue de 0.49 L CH_4 / g SV_{rem} el cual fue menor al obtenido por los tratamientos 2% 90 min, 3% 90 min, 4% 90 min que presentaron un promedio de 0.55, 0.85 y 92 L CH_4 / g SV_{rem} respectivamente.

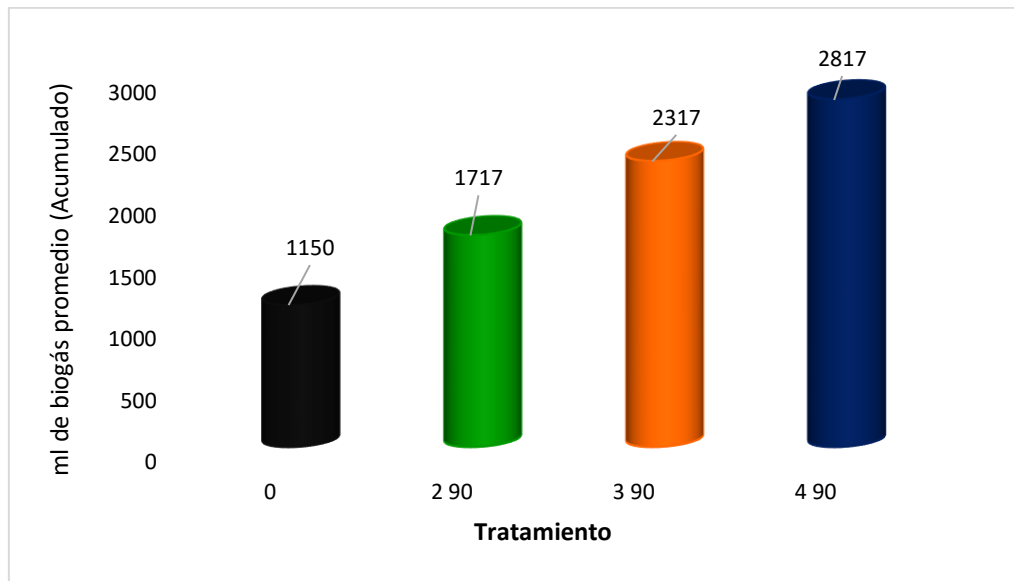


Figura 3.14 Producción de biogás, pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTA

Sambusiti *et al.*, (2013) reportó una mayor producción de metano de 341 L CH₄/ kg SV y el 85% de biodegradabilidad al trabajar con la fracción sólida de residuos sólidos (10 g NaOH /100 g ST, 100°C, 0.5 h).

Costa en el 2014 encontró una alta biodegradabilidad anaerobia de la fracción sólida del bagazo de caña de azúcar proveniente de un pre-tratamiento alcalino (184°C, 47 min, NaOH 0.80 M, 3,2% (m/v) calculada), después de la eliminación de la lignina usando una solución de NaOH, en este caso se generaron 313.4 L CH₄/kg sustrato.

De acuerdo con los dos estudios antes mencionados se puede concluir que digerir anaerómicamente la fracción sólida de diferentes sustratos mejorados con pretratamientos químicos, se aumenta la biodegradabilidad de los sustratos ensayados, así como su aprovechamiento para la producción de metano.

La tabla 3.8 Muestra un resumen de los parámetros obtenidos durante la operación batch de la mezcla B y mejorada con pre-tratamiento ácido.

Tabla 3.8 Resumen de parámetros pruebas de biodegradabilidad PTA mezcla B



De forma similar a como se manejó en las secciones anteriores para seleccionar el pre-tratamiento que se iba a llevar a digestión anaerobia con operación semi-continua, se realizó

Tratamiento	% Tasa de hidrólisis	TRH (días)	Producción de		
			biogás acumulada (L)	Y bio (L bio / Gsv rem)	Y CH ₄ (L CH ₄ / Gsv rem)
0	0	25	1.15	0.59	0.49
2% 90 min	6.6	20	1.71	0.67	0.55
3% 90 min	10.4	16	2.31	1.08	0.85
4% 90 min	12.9	13	2.81	1.13	0.92

un análisis estadístico (ANOVA) para verificar la significancia del tratamiento sobre la variable de respuesta que es el rendimiento de biogás.

El análisis de varianza arrojó los siguientes resultados, el tratamiento empleado es significativo sobre el rendimiento de metano, si se quiere maximizar el rendimiento de metano se recomienda utilizar el pre-tratamiento ácido con dosis de 4% y 90 min de tiempo de exposición.

3.3.1 Pruebas de biodegradabilidad en mezclas A y B con pre-tratamiento enzimático

La figura 3.15 muestra la disminución en el porcentaje de sólidos volátiles durante la operación batch de la digestión anaerobia de la mezcla A pre-tratada mediante enzima proteasa fungal con dosis alta y baja y 150 min de tiempo de exposición y una prueba testigo.

Los resultados obtenidos demuestran que la prueba control llegó a remover el 38% de SV en un tiempo de 22 días, contrastando los resultados obtenidos por la prueba control, las mezclas pre-tratadas con dosis alta y baja de enzima llegaron al 38% de remoción 9 días antes que la prueba control (día 13 dosis alta y día 14 dosis baja).

Un problema en la digestión anaerobia de compuestos ricos en proteínas es la formación de amonio y nitrógeno amoniacal. En FNR (2012) fueron mencionadas concentraciones de amoniaco (80-150 mg/L) y nitrógeno amoniacal (1.7-4.0 g/L) para la inhibición de la digestión



anaerobia. Nie *et al.*, (2015) describe la inhibición por amoníaco es un problema común en el proceso de digestión anaerobia de sustratos ricos en proteínas, como camas de aves de corral, estiércol de cerdo o residuos sólidos municipales.

La degradación de las proteínas no es un factor limitante del proceso de digestión anaerobia en general, pero un aumento de la descomposición de los componentes ricos en proteínas podría mejorar la eficiencia del proceso (Müller *et al.*, 2016). Con base a los estudios antes mencionados, la adición de un pre-tratamiento enzimático favoreció el TRH y la rápida degradación de materia orgánica, además de no inhibir el proceso por concentraciones de amoníaco.

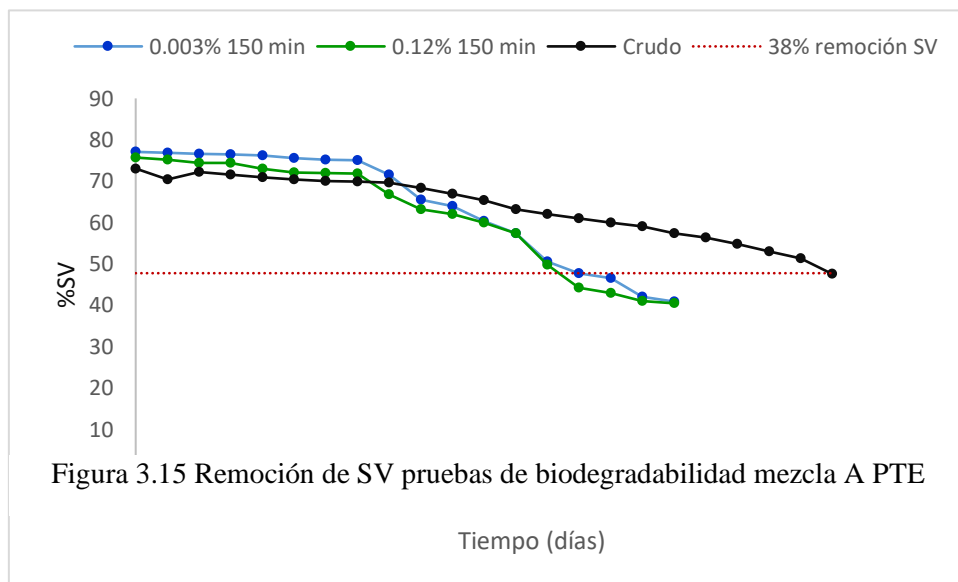


Figura 3.15 Remoción de SV pruebas de biodegradabilidad mezcla A PTE

Por otra
figura

parte, la
3.16

muestra el volumen de biogás acumulado obtenido durante las pruebas de biodegradabilidad en modo batch, se aprecia que la mezcla cruda alcanzó una producción acumulada de biogás de 1190 mL, mientras que la mezcla A pre-tratada con dosis baja de enzima durante 150 min alcanzó una producción acumulada de 2745 ML, sin embargo al tratar la mezcla A con dosis alta de enzima y 150 min la producción de biogás acumulada fue de 2340 mL, solo 400 mL menos que la mezcla tratada con dosis baja.

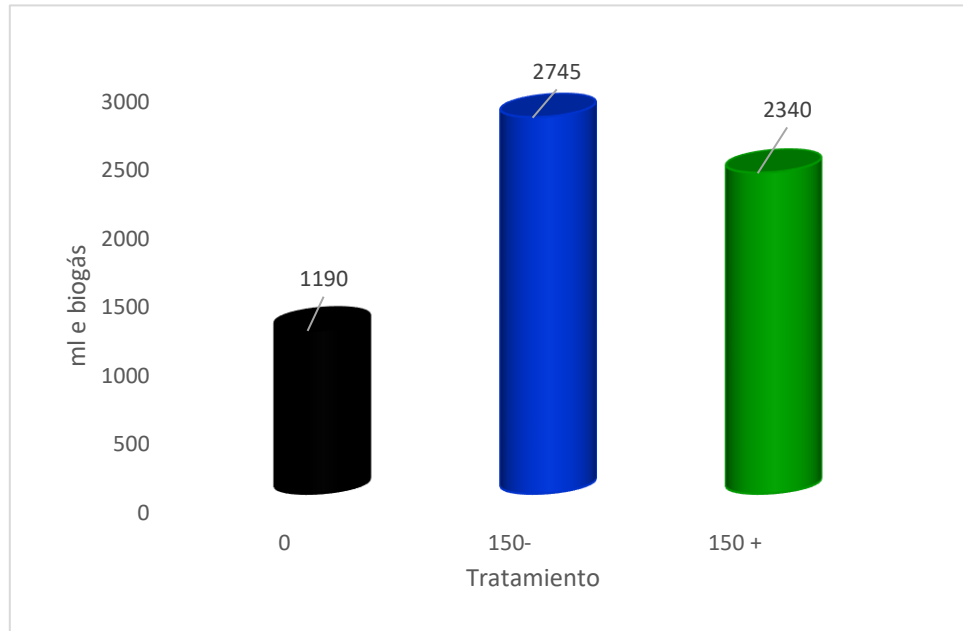


Figura 3.16 Producción de biogás, pruebas de biodegradabilidad mezcla A PTE

Los rendimientos de biogás obtenidos fueron 0.56, 1.10 y 1.04 $L_{bio} / g SV_{rem}$ para la muestra cruda, dosis baja 150 min y dosis alta 150 min. Los rendimientos de metano fueron 0.45, 0.90 y 0.81 $LCH_4 / g SV_{rem}$ para la muestra cruda, dosis baja 150 min y dosis alta 150 min.

De acuerdo con los datos obtenidos, el mayor rendimiento de metano se obtuvo al aplicar el pre-tratamiento con dosis baja (0.003%) de enzima proteasa Fungal y 150 min de tiempo de exposición, incrementando el rendimiento de metano el doble comparado con la prueba control.

Brulé *et al.*, (2007) reportó pruebas a varios productos enzimáticos comerciales de origen fúngico (celulosa, xilanasas, pectinasas y lacasa) a una mezcla de la mazorca de maíz y paja de maíz, se investigaron en un ensayo de lote denominado Test de rendimiento de biogás Hohenheim (TBH) a 37 ° C durante 35 días. Añadieron dos dosis de enzima (0.1 y 1 g enzima/ Kg SV) al inicio de la prueba de lotes. Los resultados no mostraron efectos significativos sobre la producción de metano en digestión anaerobia batch de la mezcla de mazorca de maíz y paja de maíz.



La tabla 3.9 muestra un resumen de los resultados obtenidos durante la operación batch de la mezcla A pre-tratada con la dosis baja y alta de enzima proteasa Fungal.

Tabla 3.9 Resumen de parámetros pruebas de biodegradabilidad PTE mezcla A

Tratamiento	% Tasa de hidrólisis	TRH (días)	Producción de		
			biogás acumulada (L)	Y bio (L bio / Gsv rem)	Y CH ₄ (L CH ₄ / Gsv rem)
0	0	22	1.19	0.56	0.45
0.003% 150 min	11.1	14	2.74	1.10	0.90
0.12% 150 min	14	13	2.34	1.04	0.81

El resultado obtenido en la prueba de varianza (sección 5.11 anexo A), se destaca que, el tratamiento enzimático empleado es significativo sobre el rendimiento de metano. La prueba de comparación de medias Duncan señala que la mayor media estadística de rendimiento de metano, se obtiene al pre-tratar la mezcla A con enzima proteasa Fungal y dosis baja (0.003%) durante 150 min.

Por otra parte, la figura 3.17 muestra la disminución de SV en la digestión anaerobia con operación batch se la mezcla de residuos agroindustriales B y se aprecia que la mezcla B sin pre-tratamiento enzimático, alcanza un TRH de 22 días, mientras que la mezcla pre-tratada con dosis de enzima alta (0.12%) y 150 min alcanzó un TRH de 14 días, 8 días menos que la mezcla cruda, mientras que la mezcla pre-tratada con dosis de enzima de 0.003% y 150 min alcanzó un TRH de 15 días, solo un día más que la mezcla pre-tratada con dosis baja.

Siguemoto *et al.*, (2009) estudiaron un reactor discontinuo secuencial anaerobio alimentado con efluentes lácteos hidrolizados con la enzima de *Cándida rugosa* y se observó una inhibición severa debido a que se forman además de glicerol (fácilmente convertido), los ácidos grasos de cadena larga entre los productos de la hidrólisis, los cuales son tóxicos para los procesos anaerobios importantes.



En el caso particular de este estudio no se presentó algún tipo de inhibición en la prueba batch, hecho que puede ser atribuido a que las dosis de enzima empleadas son menores en comparación a las empleadas por distintos reportes en literatura.

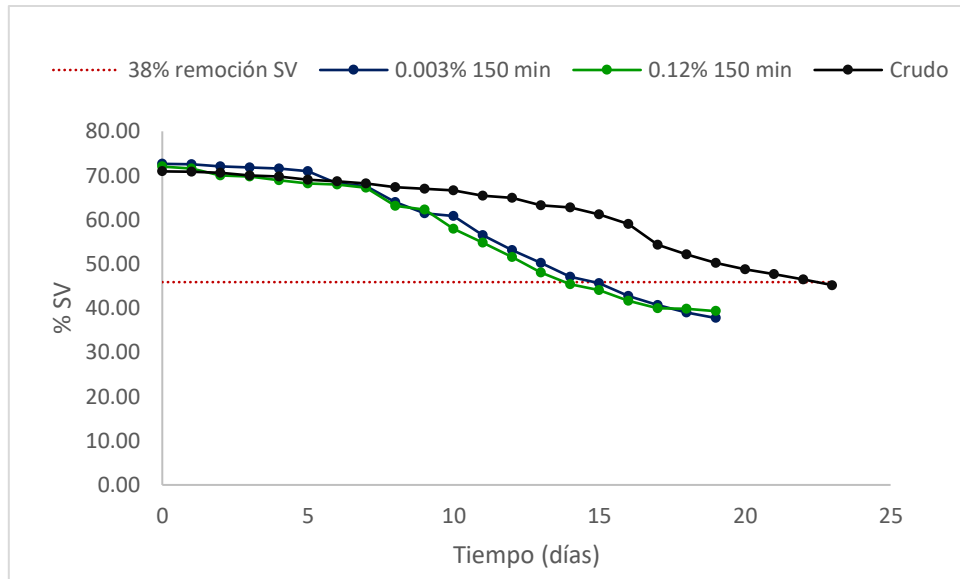


Figura 3.17 Remoción de SV pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTE

La producción de biogás acumulada se muestra en la figura 3.18, como se aprecia, la mezcla sin pre-tratamiento enzimático alcanzó una producción de biogás acumulada de 1240 mL, mientras que las mezclas pre-tratadas superan por 700 y 600 mL (dosis baja y alta respectivamente) a la prueba control.

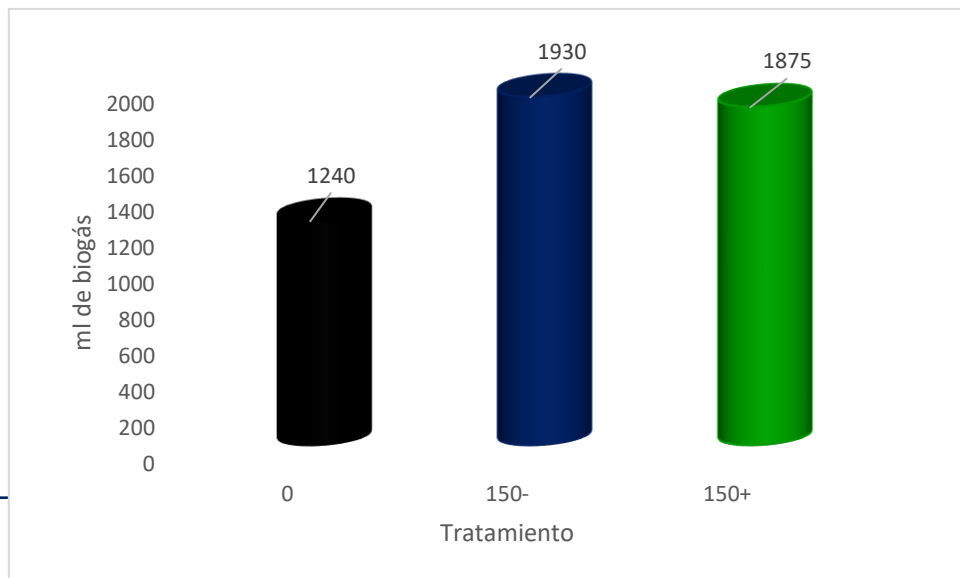


Figura 3.18 Producción de biogás pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTE



Tratamiento	% Tasa de hidrólisis	TRH (días)	Producción de		
			biogás acumulada (L)	Y bio (L bio / Gsv rem)	Y CH ₄ (L CH ₄ / Gsv rem)

Los rendimientos de biogás fueron 0.59, 1.02 y 0.95 L bio/ g SV_{rem} para el crudo, dosis baja 150 min y dosis alta 150 min respectivamente, se aprecia un comportamiento similar al obtenido en la digestión anaerobia operación Batch de la mezcla A.

Así, los rendimientos de metano fueron los siguientes 0.49, 0.80, 0.75 L CH₄/ g SV_{rem}, nuevamente se observa que el mayor rendimiento de metano se obtuvo al emplear la dosis baja de enzima con 150 min de tiempo de exposición.

Domingues *et al.*,(2015) evaluaron la degradación anaerobia de la grasa de leche *in natura* y cuando se hidrolizó por separado con dos lipasas una producida por *Geotrichum candidum* y la otra producidas por *Cándida rugosa*. Concluyeron que la pre-hidrólisis con lipasas producidas por *Cándida rugosa* fue la más adecuada para los procesos destinados a la producción de metano. Sin embargo el uso de la lipasa producida por *G. candidum* (NRRL Y-552) no ofrece beneficio alguno no ofrece un beneficio al comparar su proceso de degradación anaerobia con el proceso anaerobio alimentado con leche sin grasa hidrolizada. Después de la exposición a los ácidos grasos de cadena larga a partir de la hidrólisis de grasas de la leche, la biomasa mostró reducciones en la actividad metanogénicas acetilclástica.

La tabla 3.10 muestra un resumen de los datos promedio obtenidos durante la operación en modo batch de la digestión anaerobia de la mezcla B pre-tratada con enzima proteasa Fungal.

Tabla 3.10 Resumen de parámetros pruebas de biodegradabilidad PTE mezcla B



0	0	22	1.19	0.56	0.45
0.003% 150 min	11.1	14	2.74	1.10	0.90
0.12% 150 min	14	13	2.34	1.04	0.81

Para determinar estadísticamente el pre-tratamiento que pasaría a operación semi-continua, se llevó a cabo un ANOVA (sección 5.12 anexo A), los resultados obtenidos muestran que el tratamiento enzimático es significativo sobre el rendimiento de metano. Por otra parte, la prueba Duncan muestra que para maximizar el rendimiento de metano se sugiere emplear la dosis baja de porcentaje de enzima con tiempo de exposición de 150 min.

3.4 Pruebas de biodegradabilidad en mezclas de residuos agroindustriales pre-tratadas (operación semi-continua)

3.4.1 Operación semi-continua de las mezclas de residuos orgánicos pre-tratadas térmicamente

En la figura 3.19 se presenta la remoción de materia orgánica durante la operación semi continua del proceso de biodegradación alimentada con mezcla de residuos agroindustriales pre-hidrolizados a 90°C durante 90 minutos para mezcla A y B con una carga orgánica de 1 Kg SV/m³ d. La remoción promedio de SV alcanzada fue de 57.41%, la mínima de 47% y la máxima de 60.3%, para la mezcla B y para la mezcla A la remoción de SV promedio fue de 46.44%, el porcentaje mínimo de remoción de material orgánico fue de 39.02% y el máximo de 57.95%.

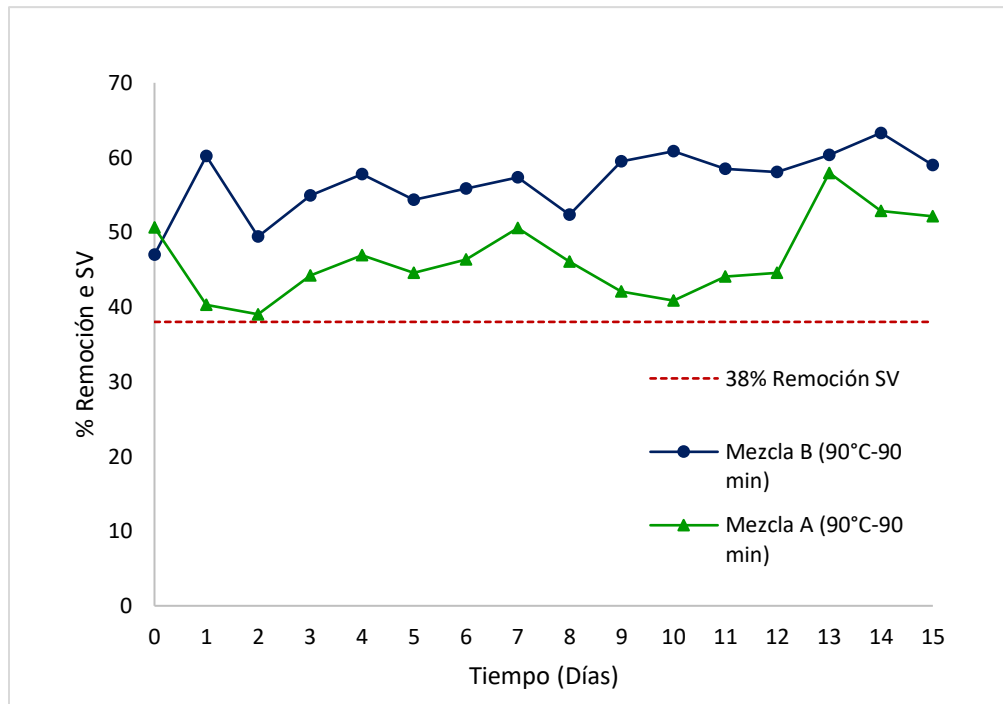


Figura 3.19 Remoción de SV operación semi-continua mezclas pre-tratadas térmicamente

En estudios previos se evaluó el proceso de digestión anaeróbica mesofílica de lodos de depuradora, cuando se incorpora un tratamiento térmico de 120°C durante 1 h, en dicho estudio obtuvo una remoción de SV de 31.5% en una prueba control (sin ningún tratamiento); al aplicar el pre-tratamiento térmico la remoción de SV aumentó hasta en un 9% (Takimasha *et al.*, 2004).

Harikishan (2003) reportó remociones de SV de 27.5% y 24.5% en la operación de un digester anaerobio termofílico alimentado con lodo crudo y carga de 1.87 y 2.84 Kg SV/ m³ d. Contrastando los resultados obtenidos con los dos estudios antes mencionados, es importante resaltar que la aplicación de un pre-tratamiento térmico a la mezcla de residuos agro-industriales favorece significativamente la velocidad del tratamiento (digestión anaerobia), disminuyendo el TRH y aumentando la remoción de SV aun cuando el proceso es operado en forma semi-continua.

La figura 3.20 Muestra la producción de biogás diaria obtenida durante la operación del digester con lodo pre hidrolizado, y se observa que llegó a alcanzar un promedio de 0.1 L/d,



un mínimo de 0.04 L/d el cual fue obtenido durante los primeros días de operación. La máxima producción de biogás fue de 0.15 L/d, todos estos valores para la mezcla A, mientras que para la mezcla B el promedio de producción diaria de biogás fue de 0.16 L/d superando la obtenida por la mezcla A tratada térmicamente bajo las mismas condiciones.

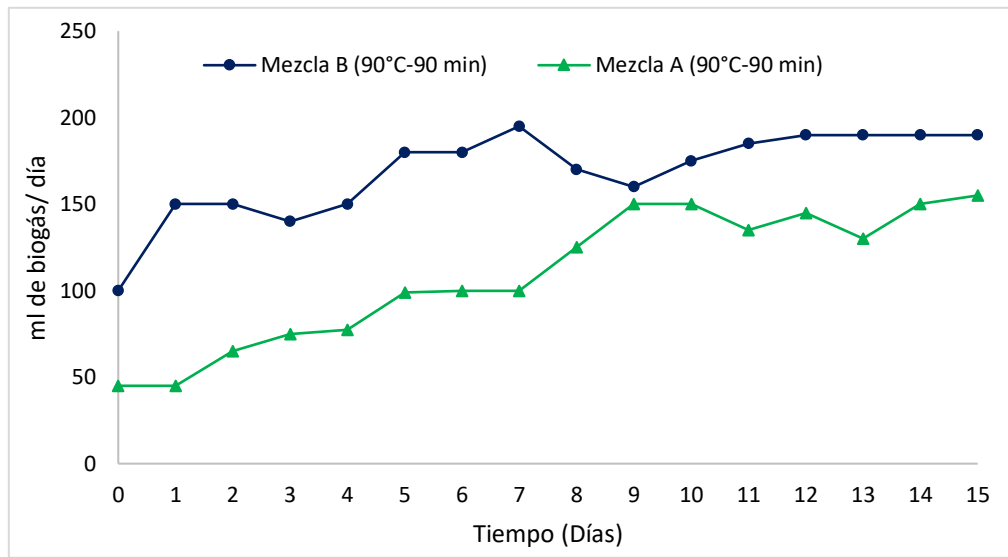


Figura 3.20 Producción de biogás operación semi-continua mezclas pre-tratadas térmicamente

El rendimiento de biogás promedio obtenido para la mezcla A fue de 1.09 L/g SV rem, y el rendimiento de CH₄ promedio obtenido fue de 0.81 L CH₄ /g SV rem. Mientras que para la mezcla B el rendimiento de biogás promedio obtenido fue de 1.17 L b /g sv rem, y el rendimiento de metano promedio fue de 0.94 L CH₄/g SV rem (figura 3.21). En estudios realizados previamente se obtuvo un promedio máximo de rendimiento de biogás de 1.3 L/g SV rem al tratar mediante digestión anaerobia termofílica (53°C) lodos provenientes de tres fuentes diferentes (Aitken *et al.*, 2005).

El valor de pH promedio fue de 7.54 para la mezcla A, y para la mezcla B fue de 7.66. Por otra parte la relación de alcalinidad promedio fue de 0.44 y 0.31 para la mezcla A y B respectivamente, la concentración teórica de AGV's fue de 2003 mg/L para la mezcla A y para la mezcla B fue de 2120 mg/L.

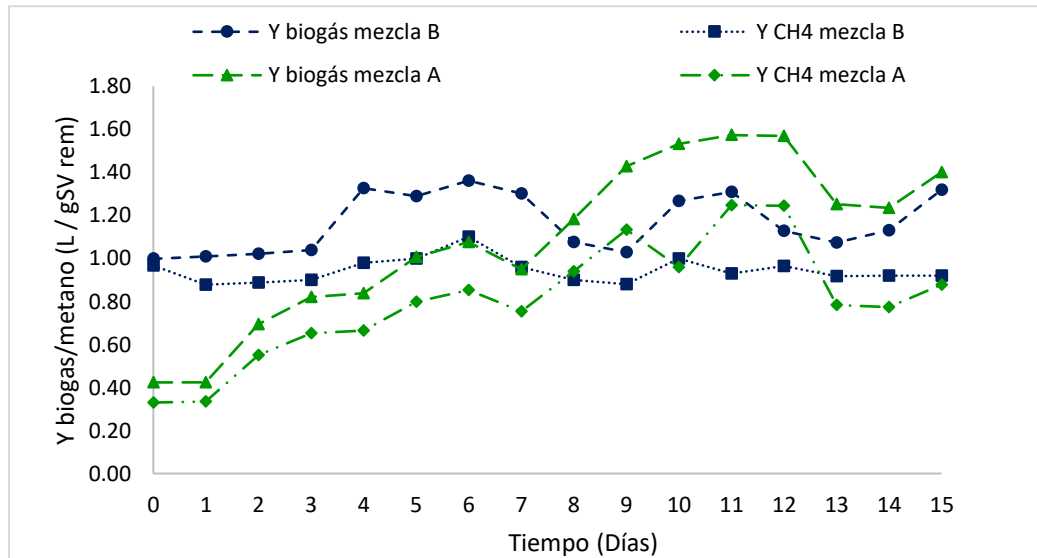


Figura 3.21 Rendimiento de biogás y de metano, semicontinuo, PTT

3.4.2 Operación semi-continua de las mezclas de residuos orgánicos pre-tratadas con ácido

En la figura 3.22 se presenta la remoción de materia orgánica durante la operación semi continua del proceso de biodegradación alimentada con mezcla de residuos agroindustriales pre-tratadas con ácido acético con una dosis de 4% v/v durante 90 minutos para mezcla A y B con una carga orgánica de 1 Kg SV/m³ d. La remoción promedio de SV alcanzada fue de 45.16%, la mínima de 38.92% y la máxima de 56.20%, para la mezcla B y para la mezcla A la remoción de SV promedio fue de 43%, el porcentaje mínimo de remoción de material orgánico fue de 38% y el máximo de 50%.

Los resultados obtenidos contrastan con los obtenidos por Rabelo *et al.*,(2011) quien alcanzó un 36% de biodegradabilidad al pre-tratar la fracción sólida de bagazo de caña con H₂O₂ al 4% m/m a una temperatura de 25°C y una hora de tiempo de exposición.

Devlin *et al.*, (2011) obtuvieron un porcentaje de destrucción de sólidos volátiles de 34.4% en la digestión anaerobia de lodos activados pre-tratados con HCl llevando estos lodos a un pH de 2. Choi *et al.*, (1997) reportaron un reducción de SV de 24% en la operación continua de un digester de lodos activados pre-tratados mediante un pre-tratamiento mecánico.

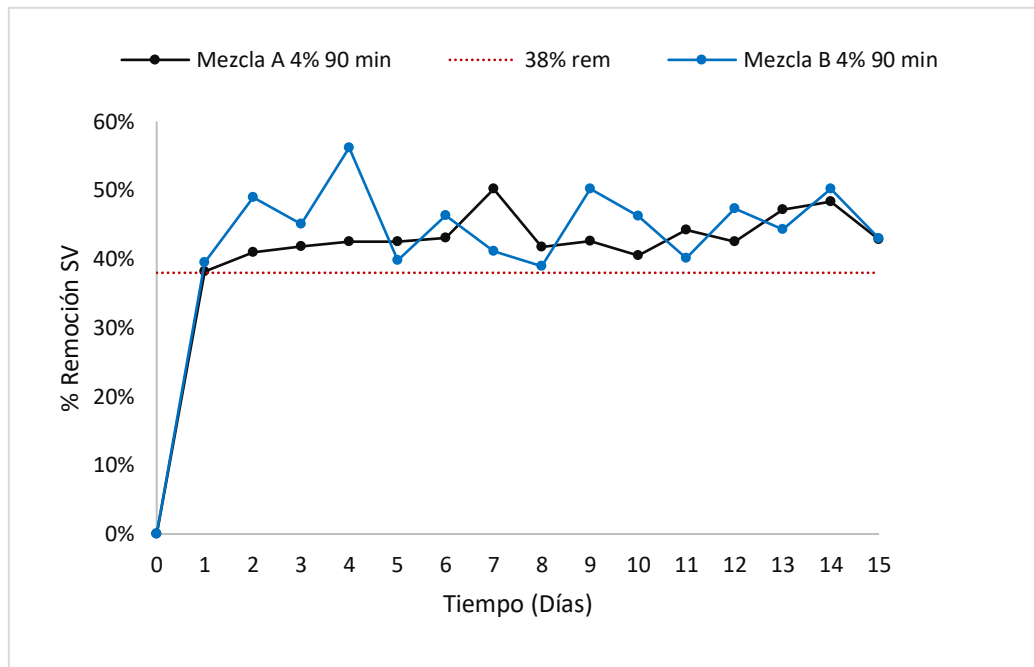


Figura 3.22 Remoción SV operación semi-continua PTA

Diversos autores han empleado diferentes tipos de pre-tratamientos químicos e incluso mecánicos para mejorar el proceso de digestión anaerobia, sin embargo la eficiencia de remoción de SV en los casos antes mencionados no ha resultado muy favorable, inclusive comprando los resultados obtenidos con el presente estudio, este solo logra superar en máximo de 10% de remoción de SV, hecho que puede atribuirse al tipo de sustrato que se emplea ya que el estado físico de las células microbianas presentes en los sustratos hace un sustrato desfavorable para la degradación microbiana, debido a que la mayoría de los compuestos orgánicos están encerrados dentro de membranas celulares microbianas. Las células están protegidas de la lisis osmótica debido a la estructura semi rígida de la envoltura celular (Muller *et al.*, 1998).

La figura 3.23 Muestra la producción de biogás diaria obtenida durante la operación del digestor con lodo pre hidrolizado, y se observa que llegó a alcanzar un promedio de 0.1 L/d, un mínimo de 0.07 L/d el cual fue obtenido durante los primeros días de operación. La máxima producción de biogás fue de 0.12 L/d, todos estos valores para la mezcla A, mientras



que para la mezcla B el promedio de producción diaria de biogás fue de 0.107 L/d superando la obtenida por la mezcla A tratada térmicamente bajo las mismas condiciones.

El rendimiento de biogás promedio obtenido para la mezcla A fue de 1.07 L/g SV rem, y el rendimiento de CH₄ promedio obtenido fue de 0.83 L CH₄ /g SVrem. Mientras que para la mezcla B el rendimiento de biogás promedio obtenido fue de 1.05 L b /g SV rem, y el rendimiento de metano promedio fue de 0.81 L CH₄/g SV rem (figura 3.24).

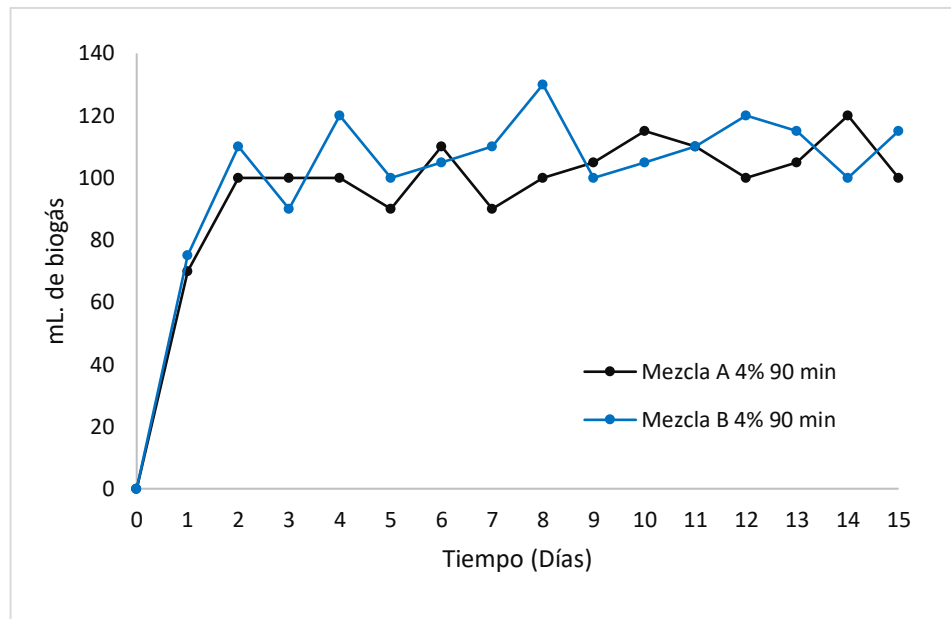


Figura 3.23 Producción de biogás, semicontinuo PTA

Los rendimientos de biogás y de metano son comparables a otros estudios publicados, por ejemplo Taherdanak y Zilouei (2014) reportaron una producción de metano de 276 mL/ g SV en la digestión de residuos sólidos pre-tratados (8% m/v NaOH, 100°C, 60 min).

Nah *et al.*, (2000) alcanzó un rendimiento de biogás de 790-850 mL/g SV destruido con un 30% de remoción de SV en la digestión anaerobia de lodos activados pre-tratados mecánicamente.

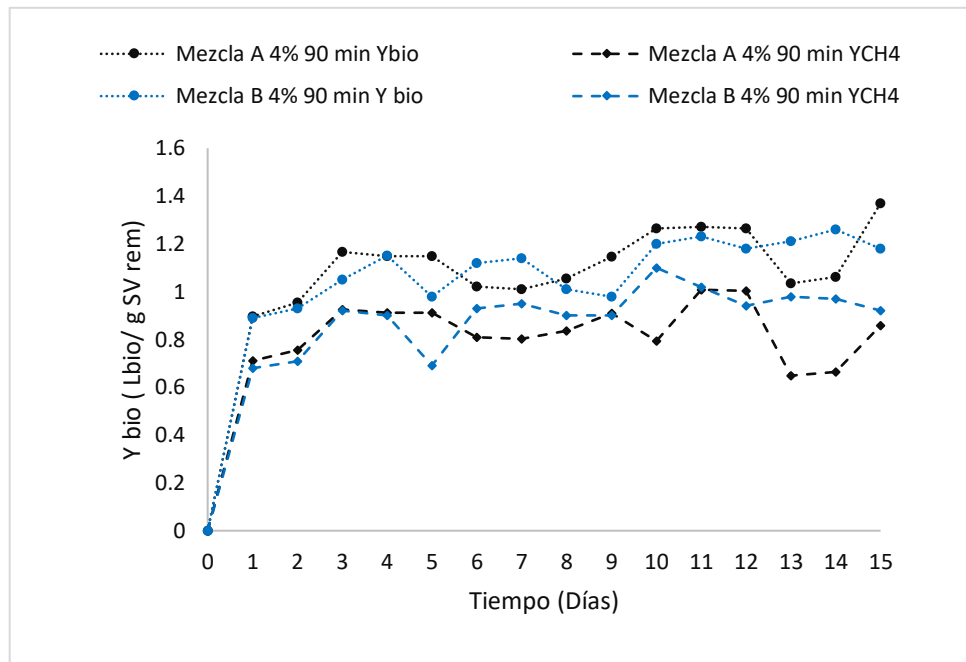


Figura 3.24 Rendimiento de biogás y de metano, semicontinuo PTA

Los resultados obtenidos en este estudio, son similares e inclusive ligeramente mayores a los citados anteriormente, esto puede atribuirse a que el tratamiento previo con ácido pueden descomponer los polímeros en monómeros u oligómeros, que permiten un aumento en la tasa de la digestión desde la etapa de hidrólisis que se ha realizado parcialmente. Algunos de los monómeros u oligómeros producidos pueden haber sido previamente disponibles para las bacterias que descomponen en ácidos grasos de cadena corta, lo que resulta en una producción de biogás superior (Devlin *et al.*, 2011).

El valor de pH promedio fue de 7.99 para la mezcla A, y para la mezcla B fue de 7.27. Por otra parte la relación de alcalinidad promedio fue de 0.39 y 0.37 para la mezcla A y para la mezcla B respectivamente.

3.5.3 Operación semi-continua de las mezclas de residuos orgánicos pre-tratadas con enzima proteasa Fungal

La figura 3.25 muestra el porcentaje de eficiencia de remoción obtenido durante la operación semi continua del proceso de biodegradación alimentada con mezcla de residuos agroindustriales pre-tratadas con enzima proteasa Fungal con una dosis de 0.003% durante 150 minutos para mezcla A y B con una carga orgánica de 1 Kg SV/m³ d. Se observa que para



la mezcla A el porcentaje de remoción de SV promedio fue de 47.47%, el valor máximo de porcentaje de remoción de SV fue de 54.12% y el mínimo 40.19%. Mientras tanto la mezcla B presentó un porcentaje de remoción de SV promedio de 44.77% con un valor máximo de 53.21% y un valor mínimo de 38%.

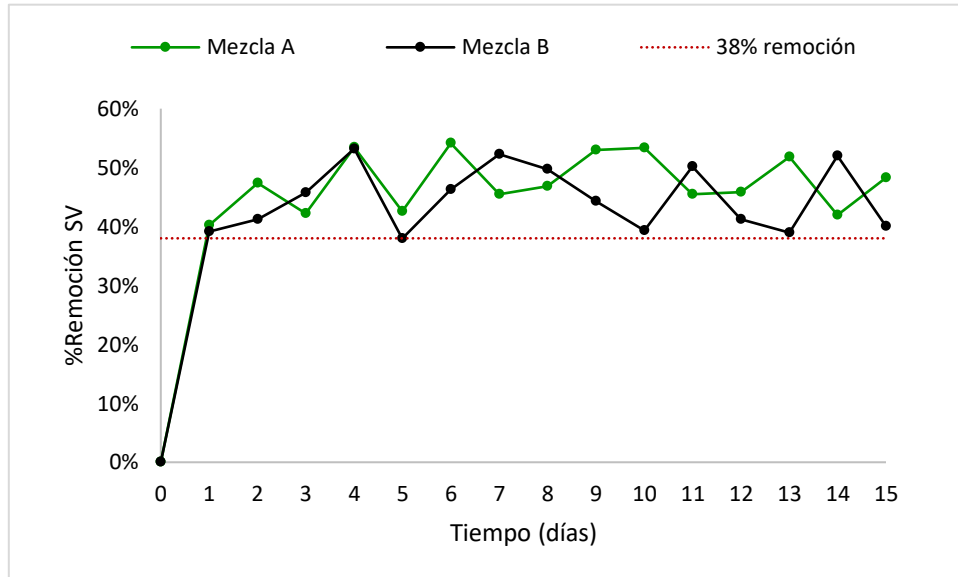


Figura 3.25 Remoción SV semicontinuo PTE

La figura 3.26 muestra la producción de biogás obtenida durante el tiempo de operación, la producción promedio para la mezcla A fue de 110.67 mL/ d y para la mezcla B la producción promedio de biogás fue de 115.3 mL /d.

La figura 3.27 Muestra los valores de rendimiento de biogás y de metano obtenido durante el proceso de digestión anaerobia con monitoreo semi-continuo, para la mezcla A el valor promedio de rendimiento de biogás fue de 1.01 L bio/ g SV rem y el de metano de 0.80 L CH₄/ g SV rem, para la mezcla B, el valor promedio de rendimiento de biogás fue de 1.03 L bio/ g SV rem y el rendimiento de metano fue igual al obtenido por la mezcla A 0.80 L CH₄/ g SV rem. Müller *et al.*, (2016) estudiaron el efecto de desintegración bioquímica de enzimas hidrolíticas en experimentos a escala de laboratorio. Examinaron la influencia de la adición de enzimas en la producción de biogás, así como efectos sobre la estabilidad del proceso. La adición de proteasas se llevó a cabo con dosis bajas y altas en pruebas batch y semi-continuas para determinar su efecto en la producción de biogás. La mezcla alimentada al proceso



consistía en forraje de maíz, estiércol de pollo y estiércol de vaca. En las pruebas de biogás semi-continuas no se observaron efectos positivos a largo plazo (100 días). Sin embargo, la dosis alta de enzima dio lugar a una reducción en el rendimiento de biogás (13% y 36% inferior a la de referencia).

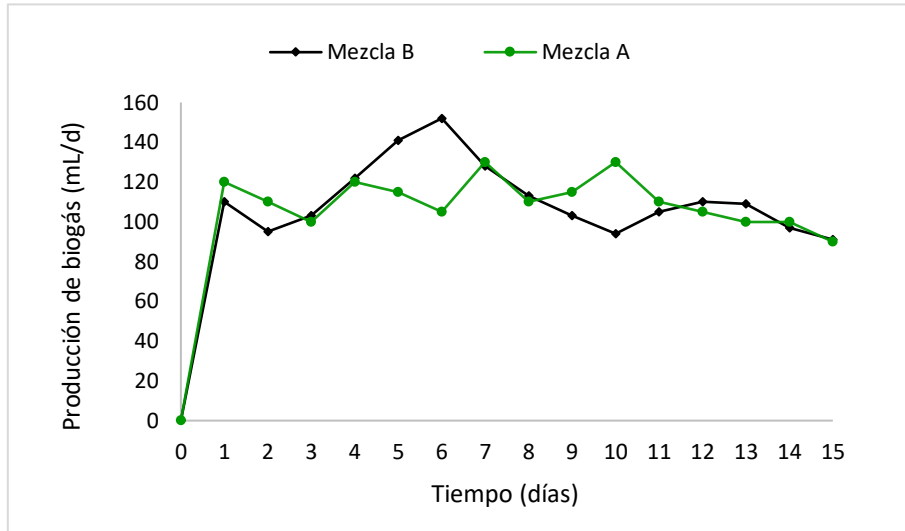


Figura 3.26 Producción de biogás semicontinuo PTE

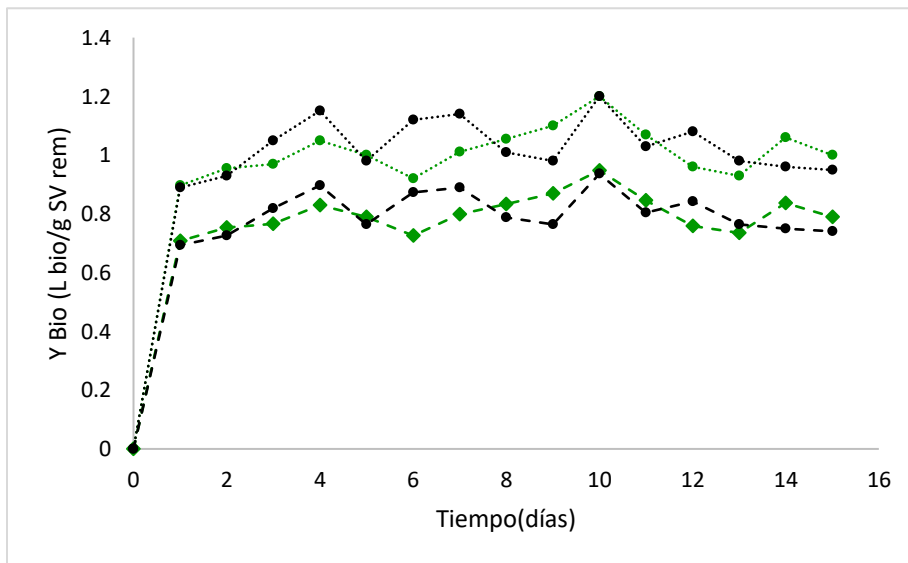


Figura 3.27 Rendimiento de biogás y de metano semicontinuo PTE



3.6 Comparación de parámetros obtenidos en la digestión anaerobia de las mezclas A y B de residuos agroindustriales operación semi-continua

En esta sección se realiza un análisis comparativo de los parámetros obtenidos durante la operación semi-continua de la digestión anaerobia de las mezclas de residuos agroindustriales A y B con los distintos pre-tratamiento seleccionados anteriormente.

Pre tratamiento	Mezcla A			Mezcla B		
	Térmico 90°C 90 min	Ácido 4% v/v 90 min	Enzimático 0.003% 150 min	Térmico 90°C 90 min	Ácido 4% v/v 90 min	Enzimático 0.003% 150 min
Parámetro						
%T.H.	6.56	15.3	11.1	5.91	12.9	20.9
% remoción SV	46.44	43	47.47	57.41	45.16	44.77

Tabla 3.11 Comparación de pre-tratamientos, operación semi-continua



TRH (d)	6	7	9	7	10	10
Producción de biogás (L/d)	0.1	0.1	0.110	0.16	0.107	0.115
Y _{bio} (L/gSV rem)	1.09	1.07	1.01	1.17	1.05	1.03
Y _{CH₄} (L/g SV rem)	0.81	0.83	0.80	0.94	0.81	0.80
*kWh	7.51	7.84	8	8.12	7.79	7.85
pH	7.54	7.99	7.78	7.66	7.27	7.83
Rel. Alcalinidad	0.44	0.39	0.30	0.31	0.37	0.41
AGV's (mg/L)	2003	2234	2123	2120	2019	1932

*Cálculo teórico de kWh con base en los resultados obtenidos de rendimiento de biogás y de metano.

La tabla 3.11 Muestra los parámetros promedio obtenidos durante la operación semi-continua de la digestión anaerobia mejorada con los distintos pre-tratamiento empleados en esta investigación. Se observa que no existió gran variación en la eficiencia de remoción de SV, inclusive la mayoría de los sustratos pre-tratados obtuvieron porcentajes de remoción de SV de alrededor de 43%-47.47%, a excepción de la mezcla B que superó en 10% o más a los demás pre-tratamientos, la producción de biogás tampoco tuvo variaciones significativas al emplear los distintos pre-tratamientos, ya que en todos sin importar la mezcla de sustrato empleada se obtuvo una producción de biogás promedio de 0.1 L/d, por otra parte el rendimiento de biogás osciló entre 1.01-1.17 L bio/ g SV rem, obteniendo el mayor rendimiento de biogás la mezcla de sustratos agroindustriales B con un pre-tratamiento térmico a 90°C y 90 min, de igual manera, el rendimiento mayor de metano se obtuvo al llevar a digestión anaerobia semi-continua la mezcla B se sustratos agroindustriales pre-tratada térmicamente a 90°C y 90 min.

Por otra parte, con los datos obtenidos se calculó la cantidad de energía producida (kW h) con los rendimientos de biogás y de metano y se aprecia que al digerir la mezcla B con un pre-tratamiento térmico a 90°C y 90 min se obtuvo la mayor cantidad de energía 8.12 Kw h.



3.7 Análisis de la cinética de biodegradabilidad de las mezclas de residuos agroindustriales mediante el modelo de Michaelis-Menten

Con el fin de obtener los parámetros cinéticos K_m y V_{max} para las pruebas de biodegradabilidad de la mezcla B, que fue seleccionada para su escalamiento a nivel piloto y con la finalidad de examinar aún más el efecto de los pre-tratamientos en la digestión anaerobia de esta mezcla de sustratos, se decidió emplear el modelo de Michaelis-Menten. La base para el modelado de la cinética de crecimiento bacteriano se obtuvo por Michaelis y Menten en 1913. Su modelo, se describe cómo la actividad enzimática depende de la concentración de sustrato. Esta relación puede estar relacionada con el crecimiento bacteriano, debido a que el crecimiento microbiano es también una reacción autocatalítica. (Yano *et al.*, 1966). Con los datos de %ST Y %SV se obtuvo la concentración en g/L SV, posteriormente se graficó el tiempo en días contra los datos de concentración y se obtuvo el modelo exponencial (figura 3.28)

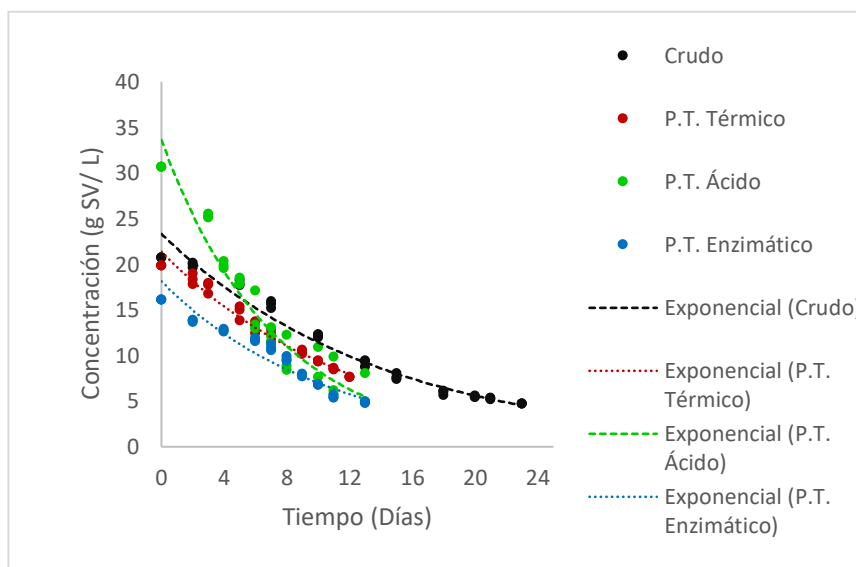


Figura 3.28 Concentración SV contra tiempo, mezcla B

Con la ecuación de la recta que se muestra en la tabla 3.12 se calculó una nueva concentración del sustrato ajustada.



Tabla 3.12 Ecuaciones modelo exponencial mezcla B

Tratamiento	Ecuación	R ²
Sin tratamiento	$y = 23.326e^{-0.071x}$	0.9836
Térmico	$y = 21.371e^{-0.082x}$	0.9808
Ácido	$y = 33.613e^{-0.14x}$	0.9155
Enzimático	$y = 18.116e^{-0.095x}$	0.9223

Con los datos ajustados, se lleva a cabo la linealización mediante la ecuación de Lineweaver-Burk se calcula V, 1/S y 1/V. Empleando los datos obtenidos de 1/S y 1/V se realizó una gráfica (figura 3.29) y se obtuvo la ecuación lineal de la recta, así como la R².

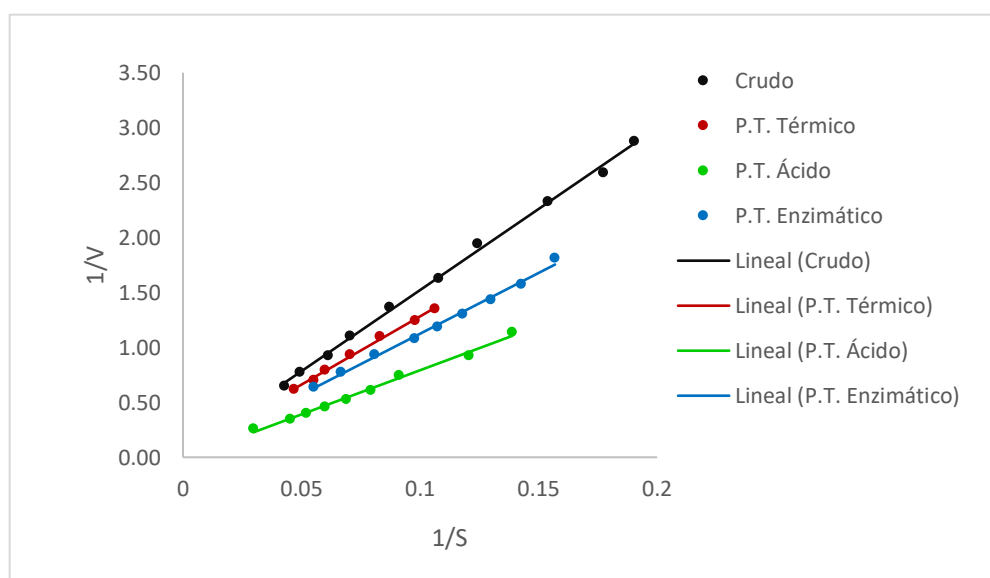


Figura 3.29 Linealización Lineweaver-Burk Mezcla B

Con los valores obtenidos en las ecuaciones de la recta, se procedió a calcular V_{máx} y K_m (tabla 3.13).



Tratamiento	Ecuación	R ²	Vmax (g SV/ L.d)	Km (g SV/d)
Sin tratamiento	$y = 14.755x + 0.046$	0.9977	21.74	320.76
Térmico	$y = 12.413x + 0.0408$	0.9959	24.51	304.24
Ácido	$y = 8.0358x - 0.0118$	0.9927	84.75	681
Enzimático	$y = 11.061x + 0.0181$	0.9943	55.25	611.10

Tabla 3.13 Parámetros cinéticos Michaelis-Menten mezcla B

Como se observa en la tabla 3.31 Km es la concentración de sustrato para la cual la velocidad de reacción es la mitad de la velocidad máxima. El valor de Km da idea de la afinidad del enzima por el sustrato: A menor Km, mayor afinidad del enzima por el sustrato, y a mayor Km, menor afinidad.

Si dos sustratos tienen distinta Km, el que presente mayor Km tiene menor afinidad por el enzima, y la reacción transcurre siempre a menor velocidad que con el sustrato de menor Km, salvo a concentraciones saturantes de sustrato, donde la $v = V_{max}$.

En el caso de la mezcla B, la menor Km la tiene el pre-tratamiento térmico, lo que indica la afinidad por las enzimas presentes en las reacciones del proceso de digestión anaerobia. El hecho de que las mayores Km se obtuvieron en los pre-tratamientos ácido y enzimático, puede deberse a la formación de sustratos intermedios que bien pueden actuar como inhibidores en el proceso de digestión anaerobia.

En cuanto a los valores obtenidos de Vmax, se aprecia que el valor mayor de Vmax se obtuvo con el pre-tratamiento ácido, esto es debido a que a concentraciones elevadas de sustrato, todos los puntos activos de las enzimas están saturados con sustrato, y por ello, la reacción transcurre lo más deprisa posible independientemente de la concentración de sustrato (reacción de orden cero).

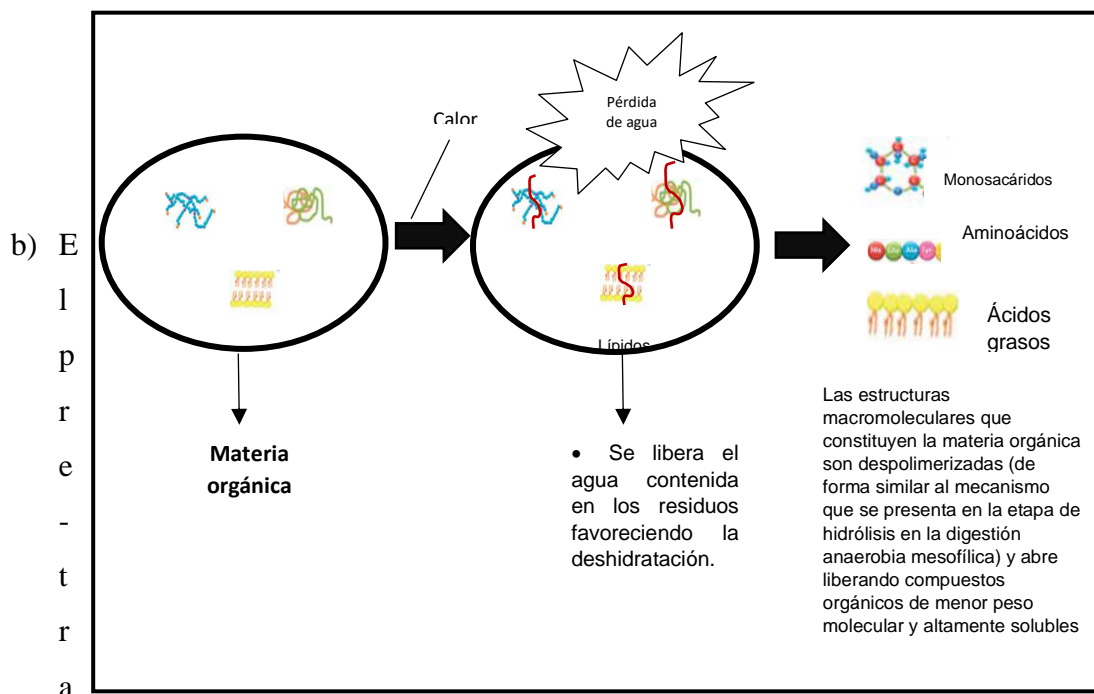
Una vez más se corroboró el efecto benéfico del pre-tratamiento térmico sobre los demás tratamientos e inclusive los beneficios que ofrece comparado con la prueba control.



3.8 Análisis mecanístico de la cinética de biodegradabilidad de las mezclas de residuos agroindustriales

Finalmente aunque el mecanismo exacto de los pre-tratamientos no está plenamente definido puede mencionarse lo siguiente:

- a) El tratamiento térmico está basado en el calentamiento de los residuos orgánicos a temperaturas moderadas y relativamente altas como se ha mencionado anteriormente, Este tratamiento sirve como proceso de estabilización e hidrólisis, aunque se considera más como un proceso de acondicionamiento ya que las temperaturas altas del agua contenida y ligada a los residuos orgánicos se libera permitiendo una deshidratación adecuada sin necesidad de adición de reactivos químicos (figura 3.30). Una vez que el agua contenida se ha liberado, las estructuras macromoleculares que constituyen la materia orgánica son despolimerizadas (de forma similar al mecanismo que se presenta en la etapa de hidrólisis en la digestión anaerobia mesofílica) y abre liberando compuestos orgánicos de menor peso molecular y altamente solubles (monosacáridos, aminoácidos y ácidos grasos volátiles) (Abelleira *et al.*, 2012; Angelidaki *et al.*, 1999; Bougrier *et al.*, 2006; Carrère *et al.*, 2010)



tamiento ácido consiste en un proceso químico que, mediante el empleo de



catalizadores ácidos, transforma las cadenas de macromoléculas como carbohidratos, lípidos y proteínas en compuestos más elementales. El posible mecanismo de acción (figura 3.31) consiste en que el ácido presente favorece la reacción de las moléculas que componen la materia orgánica con el agua presente en el residuo tratado, rompiendo enlaces covalentes y permitiendo la formación de dos o más moléculas orgánicas con grupos funcionales que incluyen los átomos de la molécula de agua. El agente ácido añadido realiza el papel de catalizador de la reacción. El ácido acético pierde acidez al ceder un protón de su grupo carboxilo y confiere acidez en el medio acuoso por lo que contribuye a la ruptura de los enlaces covalentes en la materia orgánica y cataliza la reacción (Appels *et al.*, 2011; Assawamongkholsiri *et al.*, 2013; Cheng *et al.*, 2008; Gámez *et al.*, 2006)

Es necesario mencionar que la hidrólisis de un carbohidrato se lleva a cabo mediante la hidrólisis de un enlace glucosídico cuando ocurre la disociación de una molécula de agua del medio. En las proteínas en las proteínas se lleva a cabo la ruptura de los enlaces peptídicos para dar paso a los aminoácidos. Y por último, en los lípidos se debe a la rotura de los enlaces ésteres que unen los ácidos grasos

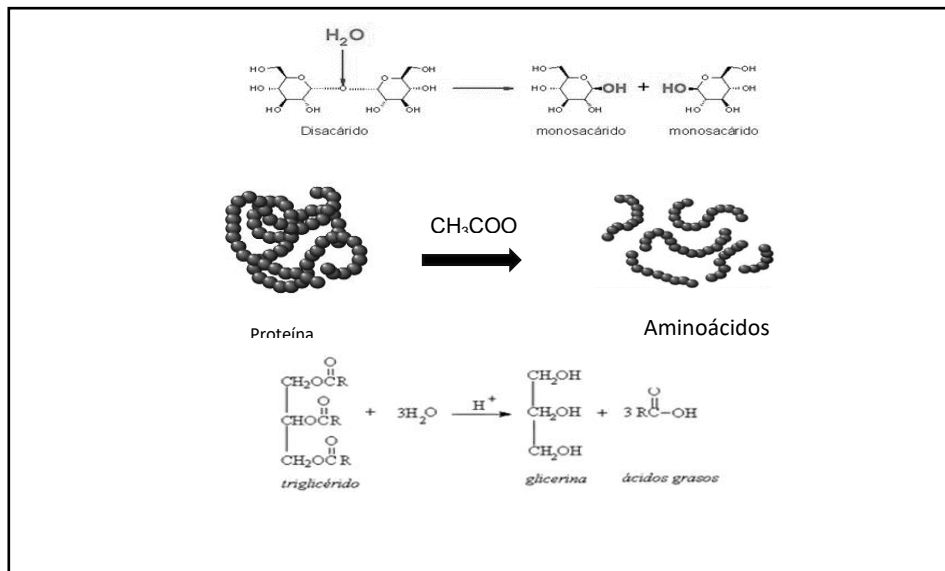


Figura 3.31 Posible mecanismo PTA



c) La aceleración de una reacción química por medio de una enzima se produce gracias a la unión del sustrato susceptible de la reacción con la enzima determinada. Esta unión se produce mediante el perfecto acoplamiento entre el sustrato y el centro activo de la enzima, formándose una estructura intermedia llamada complejo enzima-sustrato, imprescindible para que pueda llevarse a cabo la catálisis enzimática (figura 3.32). Durante la formación de este complejo tiene lugar la transformación química del sustrato, ayudada por los aminoácidos catalíticos presentes en el centro activo. De esta forma, una vez concluida la reacción química, el sustrato se transforma en el producto que, al no poseer una estructura complementaria al centro activo, es liberado, regenerándose la enzima a su forma inicial, dispuesta así a realizar de nuevo la misma reacción (Brulé *et al.*, 2017; Curreli *et al.*, 2012; Domingues *et al.*, 2015).

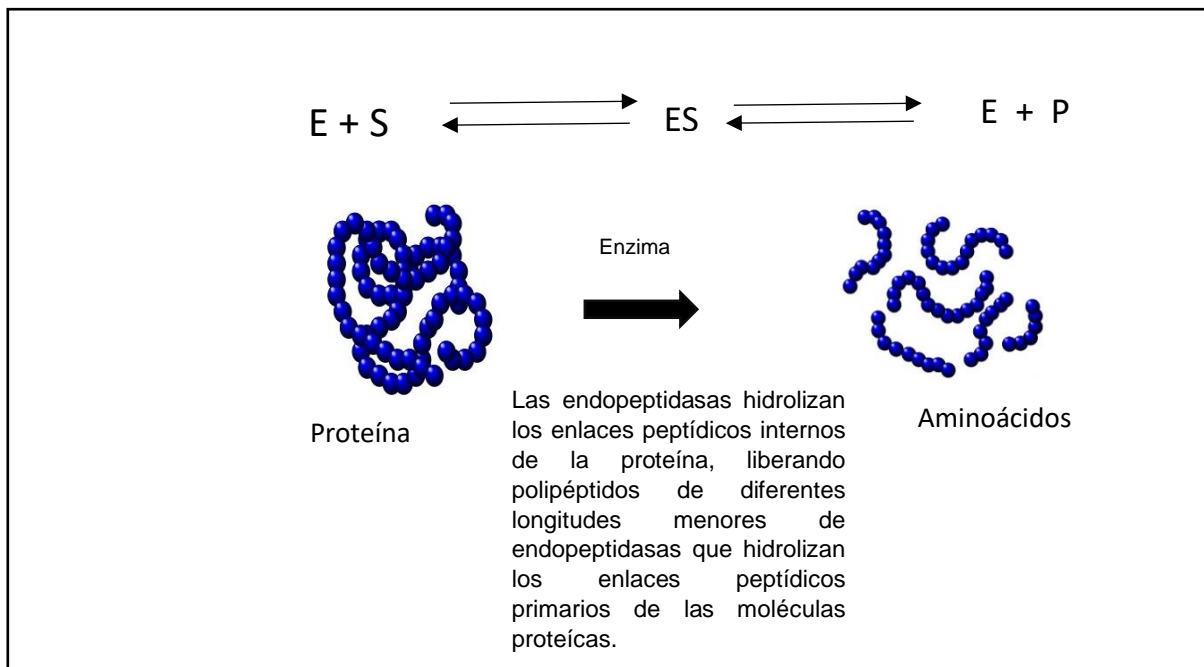


Figura 3.32 Posible mecanismo PTE

3.8 Operación semi-continua de digester anaerobio nivel piloto alimentado con de residuos orgánicos pre-tratadas térmicamente

Como se mencionó anteriormente a partir de la mezcla B se obtuvieron mayores porcentajes de remoción de materia orgánica, además de producirse mayor volumen de biogás y obtenerse mejores rendimientos de biogás y de metano esta mezcla fue seleccionada para la operación



semi-continua en el digester a nivel piloto obteniéndose los siguientes resultados. La figura 3.33 describe los datos obtenidos en la operación semi-continua del digester anaerobio alimentado con mezcla B y tratada a 90°C y 90 minutos, los primeros 15 días de operación se alimentó con una carga orgánica de 1 Kg SV/m³.d obteniéndose un promedio de remoción de materia orgánica de 50.53%, al incrementar la carga orgánica a 2 Kg SV/m³.d se obtuvo una eficiencia de remoción de SV de 47.50% y al aplicar una carga orgánica de 3 Kg SV/m³.d el porcentaje de remoción de SV promedio fue de 49.15%.

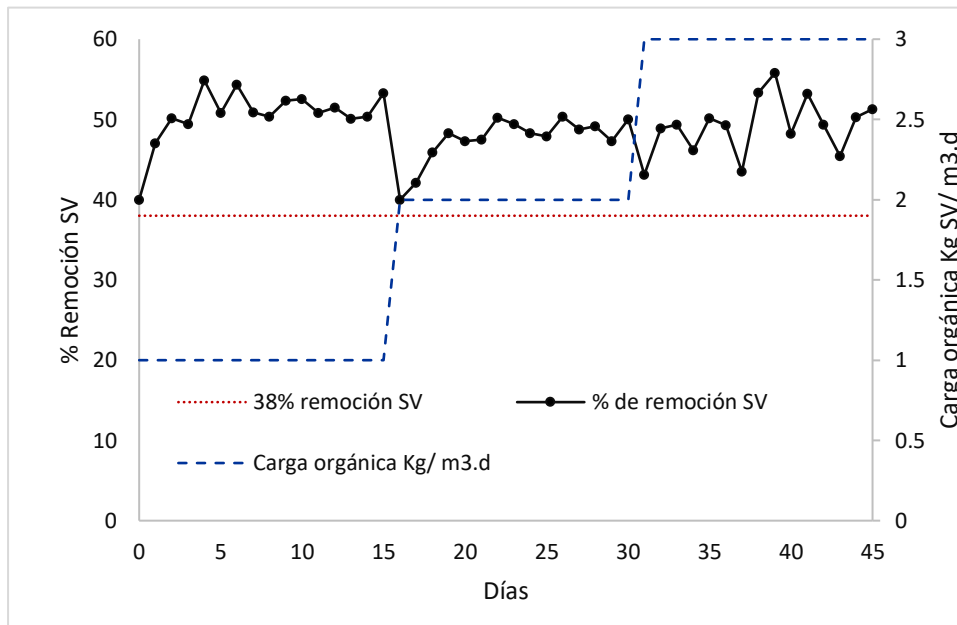


Figura 3.28 Remoción SV operación nivel piloto

La producción de biogás se puede apreciar en la figura 3.34 y se destaca lo siguiente, la producción de biogás promedio cuando el reactor operó los primeros 15 días con carga orgánica de 1 Kg SV/m³.d fue de 6.56 L /d, mientras que al aplicar una carga de 2 Kg SV/m³.d la producción promedio de biogás fue de 8.3 L/d, por último al operar el reactor anaerobio con carga orgánica de 3 Kg SV/m³.d la producción promedio de biogás fue de 10.29 L/d.

El rendimiento de biogás promedio (figura 3.35) al operar el reactor con carga de 1 Kg SV/m³.d de 1.06 L bio/g SV_{rem}, mientras que el rendimiento de metano promedio fue de 0.8 L CH₄/ gSV^{rem}, al operar con carga orgánica de 2 Kg SV /m³.d los rendimientos de biogás y de metano fueron de 1.0 L bio/g SV_{rem} y 0.85 LCH₄/ gSV_{rem} respectivamente. Los valores



obtenidos para la carga orgánica de 3 Kg SV/m³.d fueron 1.15 L bio/g SV_{rem} y 0.91 LCH₄/g SV_{rem}.

Estos valores son similares a los obtenidos en estudios previos donde se obtuvieron rendimientos de metano entre 0.8 y 1.1 L CH₄ /g SV_{rem} a partir de lodos municipales tratados previamente a 170°C por 25 minutos (Jolis *et al.*, 2008).

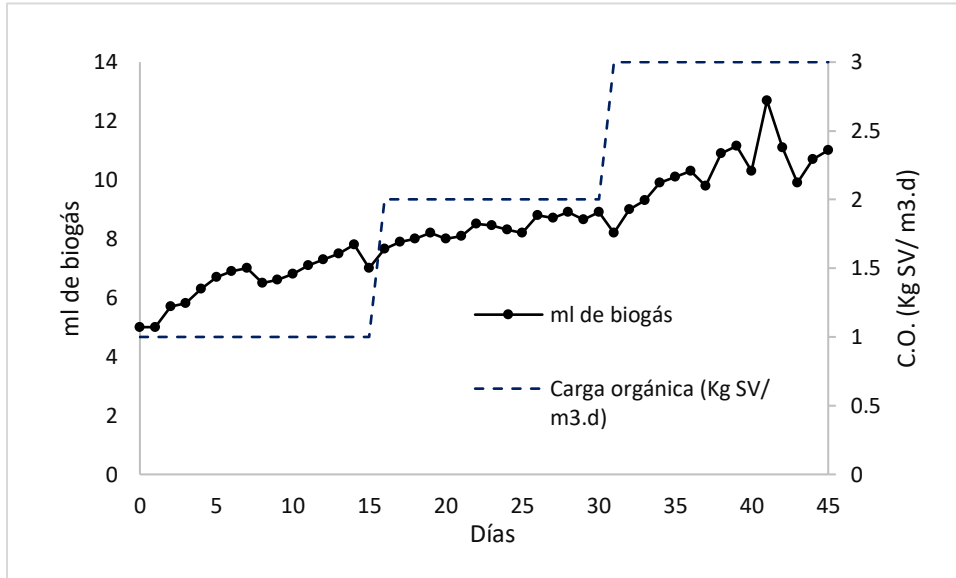


Figura 3.29 Producción de biogás operación nivel piloto

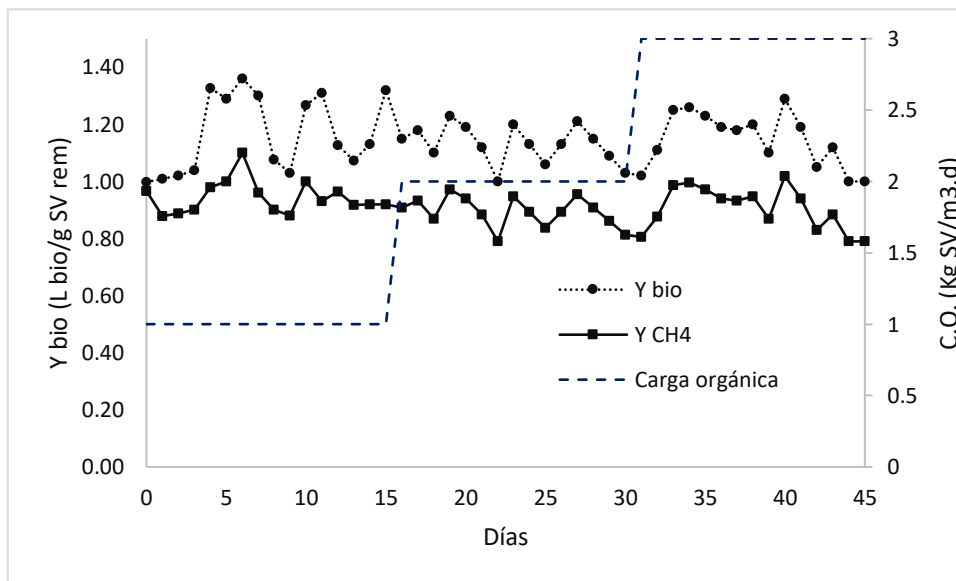


Figura 3.30 Rendimiento de biogás y de metano operación nivel piloto



Por otro lado, se ha reportado el comportamiento de diferentes tipos de biomasa para la producción de biogás empleando estiércol de vaca, estiércol de cerdo, lodos de aguas residuales municipales, frutas y residuos vegetales y residuos de alimentos los cuales después de un pre-tratamiento hidrotérmico a 170°C y 1 h fueron evaluados. La producción de biogás de estiércol de cerdo, estiércol de vaca, frutas / residuos vegetales y lodos de depuradora municipal aumentó un 7.8, 13.3, 18.5 y 67.8% respectivamente. Mientras que, para los residuos de alimentos tratados, se observó una disminución de biogás en un 3.4%. El rendimiento de metano del estiércol de cerdo, frutas / residuos vegetales y lodos de depuradora municipal se incrementó en 14.6, 16.1 y 65.8%, respectivamente. Mientras que, por estiércol de vaca tratada y residuos de alimentos, la disminución de metano por 6.9% y 7.5% (Wei *et al.*, 2011).

En el caso de este estudio en particular, se obtuvo un incremento en el rendimiento de metano de 45.55% al aplicar un pre-tratamiento térmico de 90°C y 90 minutos a la mezcla B.

La tabla 3.14 muestra un resumen de los parámetros monitoreados durante el proceso de digestión anaerobia a nivel piloto.

Tabla 3.14 Resumen de parámetros operación nivel piloto

Periodo De operación	Operación continua (d)	TRH (d)	Carga orgánica (Kg SV/ m ³ .d)	Promedio			
				Producción de biogás (L/d)	Remoción SV (%)	Y bio (L bio/ gSV _{rem})	Y CH ₄ (L CH ₄ /g SV _{rem})
1	1-15	12	1	6.56	50.53	1.06	0.8
2	16-30	11	2	8.3	47.50	1.0	0.85
3	31-45	10	3	10.29	49.15	1.15	0.91

Los resultados sugieren un incremento de la producción de bioenergía cuando mayor es la carga orgánica aplicada, sin embargo, López-Escobar *et al.*, 2014 demostraron que un proceso de digestión anaerobia operado con un sustrato similar (lodos residuales fisicoquímicos de un



rastro de aves) presentó inhibición metanogénica cuando la carga orgánica aplicada fue superior a 5 kg SV/ m³.d en el presente estudio no se evaluaron cargas mayores a 3 kg SV/ m³.d debido a que el efecto demostrado fue el incremento metano aplicando los pre-tratamientos y favoreciendo los mecanismos de solubilización y despolimerización de moléculas que integran la materia orgánica no biodegradable en condiciones anaerobias.

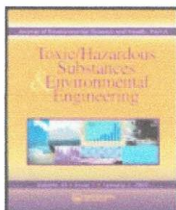
Finalmente, la presente investigación contribuye a la comprensión de los mecanismos de transformación de compuestos orgánicos provenientes de diferentes residuos cuando estos son pre-tratados en condiciones térmicas, ácidas y enzimáticas. Asimismo mejora la viabilidad la viabilidad de la digestión anaerobia mediante la estrategia utilizada aumentando la capacidad del proceso, la eficacia del tratamiento, la conversión de biogás y reduce la cantidad de desechos y consumo de energía. De igual manera, se contribuye a definir una estrategia de tratamiento mejorado cuando la digestión anaerobia se va a emplear en diferentes mezclas de residuos orgánicos agroindustriales, tal es el caso de la definición del conocimiento de los compuestos predominantes, la definición del pre-tratamiento recomendado y la posible predicción de resultados en términos de la producción de energía.

CAPÍTULO IV

PRODUCTOS ACADÉMICOS



CAPÍTULO IV PRODUCTOS ACADÉMICOS



Journal of Environmental Science and Health, Part A
Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering



ISSN: 1093-4529 (Print) 1532-4117 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/lesa20>

Improved anaerobic digestion of a thermally pretreated mixture of physicochemical sludge; broiler excreta and sugar cane wastes (SCW): Effect on organic matter solubilization, biodegradability and bioenergy production

Noemí Nava-Valente, Alejandro Alvarado-Lassman, Liliana S. Nativitas-Sandoval & Juan M. Mendez-Contreras

To cite this article: Noemí Nava-Valente, Alejandro Alvarado-Lassman, Liliana S. Nativitas-Sandoval & Juan M. Mendez-Contreras (2016) Improved anaerobic digestion of a thermally pretreated mixture of physicochemical sludge; broiler excreta and sugar cane wastes (SCW): Effect on organic matter solubilization, biodegradability and bioenergy production, *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 51:5, 446-453, DOI: [10.1080/10934529.2015.1120542](https://doi.org/10.1080/10934529.2015.1120542)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/10934529.2015.1120542>



Published online: 28 Jan 2016.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 8



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=lesa20>

Download by: [Dr Juan Manuel Méndez-Contreras]

Date: 08 March 2016, At: 15:26



Improved anaerobic digestion of a thermally pretreated mixture of physicochemical sludge; broiler excreta and sugar cane wastes (SCW): Effect on organic matter solubilization, biodegradability and bioenergy production

Noemí Nava-Valente, Alejandro Alvarado-Lassman, Liliana S. Nativitas-Sandoval, and Juan M. Mendez-Contreras

Division of Graduate Studies and Research, National Technological Institute of Orizaba, Orizaba, México

ABSTRACT

Thermal pretreatment effect of a mixture of organic wastes (physicochemical sludge, excreta of broiler chickens and sugarcane wastes (SCW)) in the solubilization and biodegradability organic matter as well as bioenergy production by anaerobic digestion was evaluated. Two different mixtures of physicochemical sludge, excreta of broiler chickens and SCW (70%, 15%, 15% and 60%, 20%, 20% of VS, respectively) were treated at different temperatures (80°C, 85°C and 90°C) and contact time (30, 60 and 90 min). Results indicate that, organic matter solubilization degree increased from 1.14 to 6.56%; subsequently, in the anaerobic digestion process, an increase of 50% in the volatile solids removal and 10% in biogas production was observed, while, retention time decreased from 23 up to 9 days. The results obtained were similar to pilot-scale. In both experimental scales it showed that the synergy produced by the simultaneous anaerobic digestion of different substrates could increase bioenergy production up to 1.3 L bio g^{-1} VS removed and 0.82 L CH_4 , g^{-1} VS removed. The treatment conditions presented in this study allow for large residue quantities to be treated and large bioenergy quantities to be produced (10% higher than during conventional treatment) without increasing the anaerobic digester volume.

ARTICLE HISTORY

Received 19 August 2015

KEYWORDS

Anaerobic digestion;
bioenergy production;
organic matter solubilization;
thermal pretreatment

Introduction

Agrarian industry development has caused an increase in the generation of organic waste. The poultry industry is one of the fastest growing segments of animal industry in the world. The activities of poultry breeding generate an organic residue from the beds of birds. The composition of this organic residue is complex and it depends on many factors as feeding birds practices, different materials of bird's beds, parenting time and other. Poultry slaughtering uses large quantities of water in various washing and cleaning operations.^[1] Slaughterhouse effluents have a high concentration of biodegradable organics, particle and dissolved forms, which include blood, feathers, viscera, soft tissues, removed during trimming and cutting, bones, soil and various cleaning and sanitizing compounds.^[2]

On the other hand, waste from the sugar industry and its possible uses, are an important topic in the regions of sugar cane cultivation, which must comply with new environmental regulations as well as diversify and adapt their production systems. Sugar cane wastes (SCW) are the agricultural residues generated during harvest; per each 100 tons of total sugars reached from the field, are dispersed into the field 134 ton of agricultural residues, which affect productivity of sugarcane fields.^[3]

In addition to the production of large amounts of organic wastes, many countries around the world face major challenges in the energy supply. The decline in oil

production and consequently the higher cost of products derived from this, have increased interest in the use of other renewable energy sources. These reasons have led to the generation of improvements in existing technologies or new processing technologies of organic substrates that offer greater efficiency and produce value-added by-products. Thus, bioprocesses such as anaerobic digestion emerge as an alternative solution for the treatment and utilization of organic waste. However, the presence of large organic molecules associated with microbial cell activity does not allow a rapid and complete stabilization of substrates.^[4]

Macromolecular hydrolysis is considered the limiting step in anaerobic process, in so much as comprising the transformation of insoluble long-chain organic compounds, (proteins, carbohydrates and lipids) to compounds of low molecular weight (sugars, amino acids, fatty acids and alcohols). Therefore, a thermal pretreatment prior to anaerobic digestion of mix of different organic wastes may favor the macromolecular hydrolysis; accordingly increase capacity and efficiency of process and methane yield.

The thermal pretreatment use has been increasing in importance in recent years,^[5] because it can achieve high solubility of organic compounds, as well as a high percentage of organic matter reduction at the end of anaerobic process; in addition favor inactivating pathogens contained in raw substrates.^[6] In most investigations cited have been

CONTACT Juan M. Mendez-Contreras jmmendez@itorizaba.edu.mx División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Orizaba, Av. Tecnológico No. 852, Col. Emiliano Zapata, C.P. 94320, Orizaba, Ver. México.

Color versions for one or more of the figures in the article can be found online at www.tandfonline.com/lesa.

© 2016 Taylor & Francis Group, LLC



used pretreatment temperatures ranging from 120°C to 200°C,^[7-9] and different contact times ranging from 30–60 min. These treatment conditions (temperature and time) require a high level of energy, which is the biggest drawback of this method, mainly in developing countries such as Mexico.

The present study aims to evaluate the effect of the thermal pretreatment at low temperatures (80°C, 85°C and 90°C) in anaerobic digestion of two different mixtures of sludge, excreta of broiler chickens and sugarcane wastes, using as main variables of response the organic matter solubilization degree and methane yield.

Materials and methods

Waste sampling and characterization

The raw physicochemical sludge was sampled from a poultry industry wastewater treatment plant (poultry slaughterhouse), in Orizaba, Veracruz (Mexico). In poultry processing, water used primarily for scalding in the process of feather removal, bird washing before and after evisceration chilling, cleaning and sanitizing of equipment and facilities, and for cooling of mechanical equipment such as compressors and pumps. A coagulation-flocculation process is employed to treat the wastewater; the physicochemical sludge obtained contains food waste for birds, blood, manure (urine and feces), animal fats, proteins and high levels of pathogenic bacteria. Excreta of broiler chickens were obtained from the beds of birds, which always occurs mixed with the material used as bedding for the chickens (sawdust, rice hulls or soy, ground, corn cobs, etc.). The excreta of broiler chickens used were periodically sampled from a confinement station located in the town of Soledad de Doblado, Veracruz (México).

Sugar cane waste consists of green leaves (8%), pod and leaves (20%) and clean stems (72%). The SCW was collected from six agricultural sugarcane areas of the municipality of Lerdo de Tejada, Veracruz, Mexico. In all cases, raw waste samples were immediately transported (at 4°C) to the laboratory to obtain the appropriate concentration of solids or to obtain proper particle size for their conservation, management and post-treatment. Quartering method described in the NMX-AA-015-1985 standard^[10] to obtain a representative sample of both excreta broiler chickens and SCW, was used.

The standard consists of a stack with sampling and in this area is mixed until homogenize everything, and then divided into four equal parts A, B, C and D, then opposing parts, A and C or B and D, are removed, and this operation is repeated to leave a minimum of 5 kg by sample. After preparation and characterized of agro-industrial waste in terms of TS and VS proceeded to make mixtures of such wastes. The first mixture consisted of 70% sludge, 15% excreta of broiler chickens and 15% sugar cane waste in terms of volatile solids; this mixture was named Mixture A. Mixture B consisted of 60% sludge, 20% excreta of broiler chickens and 20% sugar cane waste in function to volatile solids. Equivalent volume percentages of each residue were obtained through a mass balance of the volatile solids in each. Then was proceeded to mix at 115 rpm to ensure proper inclusion and well blended.

Pretreatment conditions

Thermal pretreatment was performed in a hermetically closed thermal reactor with a temperature controller and magnetic mixer. The operation volume of the lab-scale reactor was 0.5 L. Three different temperatures (80, 85 and 90°C) and contact times (30, 60 and 90 min) were used. After treatment, samples were taken conserved at 4°C for analyses. Each experiment was performed three times for all suggested treatments.

Analytical methods

Analyses of COD, soluble COD, total solids (TS), volatile solids (VS), pH and alkalinity were performed according to Standard Methods.^[11] Total theoretical VFA concentration, was determined according to Jenkins,^[12] using Eq. (1):

$$\text{VFA} = (\text{Alc}_A - \text{Alc}_B) / (0.83 \cdot 0.85) \quad (1)$$

where Alc_A is the total alkalinity titration to pH 4.3, Alc_B is the partial alkalinity titration to pH 5.7; 0.85 is a factor, assuming that 85% of the volatile acids (which are mostly acetic and propionic acids) have been titrated at pH 4.3. Finally, 0.83 is a factor, also assuming that 83% of the volatile acids is titrated to the total alkalinity endpoint. Total Kjeldahl Nitrogen (TKN) obtained by digestion and oxidation. Carbohydrates were analyzed according to the Antrone method.^[13] In addition, lipids were analyzed by Soxhlet extraction. Analyses of total chemical oxygen demand (COD) were performed on raw samples, while soluble COD has been analyzed on both raw and pretreated samples. The solubilization degree represents the ratio between soluble COD after heating and initial soluble COD. The soluble fractions were obtained after centrifugation at 12,000 rpm for 15 min and subsequent filtration with a 0.2- μm membrane filter. The solubilization degree of the organic components was calculated according to Eq. (2):

$$S_D = \frac{\text{COD}_{\text{Streated}} - \text{COD}_{\text{Sraw}}}{\text{COD}_{\text{Traw}}} \times 100 \quad (2)$$

Where S_D = solubilization degree (%); $\text{COD}_{\text{Streated}}$ = mg COD soluble L⁻¹ of mixture with thermal pretreatment; COD_{Sraw} = mg COD soluble L⁻¹ of mixture without thermal pretreatment; and COD_{Traw} = mg COD_{Total} L⁻¹ of mixture without thermal pretreatment. Biogas composition was analyzed with gas chromatography in a Focus Ultra-Trace Thermo Scientific unit (Waltham, MA, USA) equipped with a Heliflex AT-Mole sieve column (Heliflex, Aveiro, Portugal; length 30 m × diameter 0.53 mm), a Heliflex AT-Q (length 30 m × diameter 0.53 mm) and a thermal conductivity detector. O₂, N₂, CH₄ and CO₂ were analyzed on the first column. The second column allowed for the analysis of CH₄ and CO₂. Helium was used as the carrier gas. The data presented here are the average of two samples.

Biodegradability batch experiments

At this stage, the effect of thermal pretreatment of A and B mixes was evaluated during the batch test of the mesophilic anaerobic digestion (35°C ± 2). Lab-scale reactors (250 mL

Erlenmeyer flasks with 200 mL working volume) with supply and discharge ports and biogas sampling were used. For the startup the batch, test inoculum from a continuous stirred tank reactor (CSTR) with a working volume of 3.2 L was used. The reactors were maintained in an orbital mixer at 110 rpm and a temperature of $35 \pm 2^\circ\text{C}$. The amount of biogas produced was daily recorded using the water displacement method. Biogas production from raw and pretreated mixture samples were monitored daily, and each batch test was stopped after reaching the operational criterion vector attraction reduction requirement indicated by the U.S. EPA.^[14]

Semi-continuous anaerobic digestion

After the batch tests; the semi-continuous flow operation conditions of the thermal pretreatment followed by mesophilic anaerobic digestion were defined. Lab scale anaerobic reactor were daily fed with thermally pretreated A and B mixture using an organic load of $1 \text{ kg VS m}^{-3}\text{d}^{-1}$ and 15 days of operation time.

In addition, in order to validate the lab-scale semi-continuous anaerobic digestion test, the process was scale up to 8 L egg form reactor (Fig. 1), which was fed daily with thermally pretreated mixture gave better results in terms of methane yield and initial organic load of $1 \text{ Kg VS m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. The organic load increase every 15 days feeding and withdrawing were performed once a day with a peristaltic pump. Feed and outlet



Figure 1. Anaerobic digestion system.

samples were stored at 4°C and analyzed as soon as possible. Volatile and total solids were analyzed daily to evaluate the volatile solid removal. Biogas production was measured daily, and biogas composition was measured with gas chromatography.

Results and discussion

Waste sample and characterization

A summary of organic waste physicochemical characteristics obtained during sampling period are presented in Table 1, the data presented are average of two samples. Raw sludge was conditioned from 2.5% to 3.0% of total solids, 84.55% TS were VS which are indicators of organic matters. This is mainly due to the origin of the physicochemical sludge; the effluents produced in birds slaughterhouse can reach values of COD even $17.97 \text{ g COD L}^{-1}$. The pH raw sludge was 6.47 that are considered adequate in the anaerobic digestion process.^[15] Total nitrogen content in the raw sludge was 3.15%.

On the other hand, the chemical composition of excreta of broiler chickens is highly variable, and it is a source of protein and minerals.^[16] The types of nutrients vary according to type of bedding materials, used food, temperature, age of excreta of broiler chickens and humidity, etc.^[17,18] Values by 3.81% total solids and volatile solids of 75.09% were obtained. It was observed that the pH of excreta broiler chickens was slightly acidic (6.56). Moreover, average values were obtained from $31.64 \text{ g COD L}^{-1}$, indicating a high amount of organic matter contained in excreta broiler chickens. Chemical characterization reflected the presence of the three main components of the organic matter: carbohydrates with an average value of 3.58 g L^{-1} , proteins with an average value of 25.16%, nitrogen value of 4.03% and finally 3.06 g L^{-1} of lipids.

The composition of SCW in terms of carbohydrates, lipids and proteins were 4.75 g L^{-1} , 0.99 g L^{-1} and 7.61% respectively, which could be favorable for the anaerobic digestion process because the organic composition of agro-industrial waste is an important factor in determining the yield bioenergy. The pH Agro-industrial waste mixtures were 6.5 for mixture A and 6.3 for mixture B. The organic matter content is reflected in %VS (79.31% and 77.7% for mixing A and B, respectively).

According to the characterization of mixture of agro-industrial wastes, a high content of organic matter is appreciated, so that these substrates are susceptible to be treated by biological processes, a viable alternative is the anaerobic digestion, however, macromolecular hydrolysis comprising the long-chain of organic compounds degradation to simple compounds, represents the limiting stage. For all these reasons thermal pretreatment was applied in order to partially solubilize these macromolecules and thus, benefit the anaerobic digestion process.

Effects of a thermal pretreatment on solubilization degree

Mixture A

The solubilization values obtained by applying thermal pretreatments are shown in Figure 2, it is important to emphasize



Table 1. Physicochemical characteristics of the agro-industrial organic waste.

Waste/Parameters	Sludge	Excreta of broiler chickens	SCW	Mixture A	Mixture B
Total solids (%)	2.95 ± 0.5	3.81 ± 0.6	2.80 ± 0.4	2.65 ± 0.7	2.66 ± 0.3
Volatiles solids (%)	84.55 ± 0.6	75.09 ± 0.5	86.12 ± 0.5	79.31 ± 1	77.70 ± 0.9
pH	6.47 ± 0.3	6.56 ± 0.5	5.96 ± 0.5	6.5 ± 0.9	6.3 ± 0.6
Carbohydrates (g L ⁻¹)	2.40 ± 0.5	3.58 ± 0.3	4.75 ± 0.6	6 ± 0.67	5 ± 0.3
Total COD (g L ⁻¹)	17.9 ± 1.1	31.64 ± 2	39.23 ± 2	23.80 ± 3.4	29.16 ± 1.5
Soluble COD (g L ⁻¹)	9.57 ± 0.98	18.61 ± 3	6.93 ± 2.6	6.33 ± 0.6	5.99 ± 0.8
Lipids (g L ⁻¹)	4.46 ± 1.2	3.06 ± 0.9	0.99 ± 0.6	3.65 ± 0.8	4.69 ± 1
N-Total (%)	3.85 ± 0.4	4.03 ± 0.7	1.22 ± 0.5	4.17 ± 1	4.83 ± 1.4
Proteins (%)	19.69 ± 2.3	25.16 ± 3	7.61 ± 2	26.05 ± 3	30.20 ± 2.4

that organic compound solubilization increased with increasing temperature and treatment time, reaching the highest solubilization degree result after application of 90°C, 90 min with value of 6.56% ± 0.68. On the other hand, the minimum solubilization percent (1.14% ± 0.9) was obtained by exposing the mixture of the agro industrial waste at 80°C during 30 min.

In previous studies, values of 17.81% of solubilization degree was obtained when applying a thermal pretreatment at 90°C and 60 min to activated sludge.^[19] Moreover, it was found that by applying a treatment with NaOH (7 g L⁻¹) and a temperature of 121°C for 30 min up to 80% of solubilization was achieved.^[20] Other studies have investigated the thermal pretreatment effect of primary sludge with temperatures of 70°C followed by mesophilic and thermophilic anaerobic digestion, obtaining better results in biogas production and yield by subjecting the primary sludge thermophilic anaerobic digestion.^[21]

According to previous authors, organic matter solubilization degree is favored by the application of a physical pre-treatment, a chemical pre-treatment, or a combination of both pretreatments. Table 2 shows a summary of results obtained in the percentage of solubilization degree and standard deviation. The data presented are the average of three samples.

Mixture B

Subjecting mixture B to thermal pretreatment, the following results were obtained. Average solubilization degree percentage at 90°C fluctuated from 3.03, 4.03 and 5.91% for the 30, 60 and 90 min, respectively (Fig. 3). These values do not exceed the percentage of solubilization degree obtained in the mixture A,

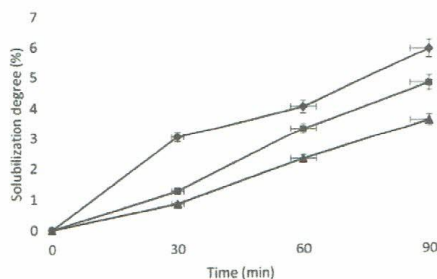


Figure 2. Solubilization degree mixture A. 80°C (▲), 85°C (■), 90°C (◆).

this fact can be attributed to the higher proportion of excreta broiler chickens and SCW, and these residues can add a higher content of lignocellulosic material.

Now, as in the case of previous substrate (mixture A), the highest percentage solubilization degree were obtained at 90 min in the three exposure temperatures; therefore, treatments at 80°C, 85°C and 90°C with 90-min of contact time were treated by anaerobic digestion in batch operation at 35°C ± 2°C.

Comparing with previous studies with similar pretreatment conditions, a disagreement was found with Vergine et al.^[4] who reports the results of lab-scale experiments on low temperature thermal pretreatment (less than 100°C) prior to anaerobic digestion of primary and waste activated sludge, for both types of sludge, increase in soluble COD caused by the pretreatment was about 14% on waste activated sludge and only 3% on primary sludge. This difference could be explained by considering that the present one study performed a fast cooling in an ice-bath after heating had been stopped. It is possible to argue that in this way the solubilization process has also been stopped.

Thermal pretreatment, cell walls get fragmented and intracellular compounds are released and the product can be utilized as a substrate in the anaerobic digestion process. Among other energy-consuming processes, thermal processes have the highest energy requirement; however, low temperature (less than 100°C) thermal treatments^[22] could overcome this drawback, and heat could be partially recovered from other sources in wastewater treatment plant.^[23]

Biodegradability tests

Mixture A

Figure 4 shows the decrease in the percentage of organic matter (VS) with regard to time during the anaerobic digestion of agro-industrial residues. The mixture was pretreated at 90°C

Table 2. Summary solubilization degree.

Thermal pretreatment	% solubilization degree Mixture A	% solubilization degree Mixture B
0	0	0
80°C 30 min	1.14 ± 0.63	0.85 ± 0.12
80°C 60 min	2.05 ± 0.71	2.30 ± 0.22
80°C 90 min	4.11 ± 0.20	3.59 ± 0.37
85°C 30 min	1.28 ± 0.66	1.26 ± 0.57
85°C 60 min	3.44 ± 0.53	3.30 ± 0.02
85°C 90 min	4.94 ± 0.67	4.78 ± 0.07
90°C 30 min	2.37 ± 0.84	3.03 ± 0.66
90°C 60 min	3.8 ± 0.50	4.03 ± 0.17
90°C 90 min	6.56 ± 0.69	5.91 ± 0.21

Downloaded by [Dr Juan Manuel Méndez-Contreras] at 15:26 08 March 2016



450 N. NAVA-VALENTE ET AL.

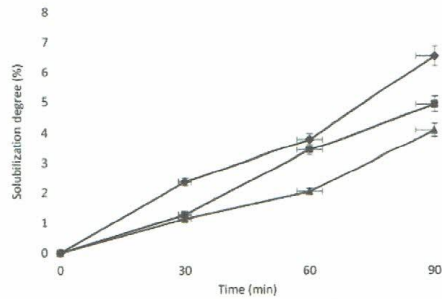


Figure 3. Solubilization degree mixture B. 80°C (▲), 85°C (■), 90°C (◆).

for 90 min, which removed 38% of the organic matter over an HRT of 9 days. It was then treated at 85°C for 90 min over 12 days and finally treated at 80°C for 90 min over 14 days to fully stabilize. The control test reached removed 38% of the VS in 23 days.

Therefore, verifying that a thermal treatment prior to anaerobic digestion favors the removal of organic compounds, which diminishes the HRT. This is because of the anaerobic digestion of organic molecules, which produces simpler forms that can be rapidly consumed as substratum by acetogenic and methanogenic bacteria.

A similar effect was noted by Perez-Elvira et al.^[9] who obtained hydraulic retention times of 10–12 days using a pilot plant that combines hydrolysis thermal units with anaerobic digestion of secondary sludge pre-hydrolyzed and primary raw sludge. He utilized the synergy between two or more substrates that improved the anaerobic digestion process after pretreatment while diminishing the HRT.

One of the principal variables anaerobic digestion monitoring is biogas production, which is an added benefit during organic residue treatments because it can be used as an alternate energy source. During our experiments, major biogas production occurred as the temperature of the thermal pretreatment increased. In effect, an accumulated biogas

production of 2.6 L was obtained during the 90°C, 90 min pretreatment, which is greater than 50% of the test control production of 1.1 L. The 85°C and 80°C, 90-min treatments lead to biogas productions of 1.85 L and 1.7 L, respectively. The biogas yields were 0.56, 0.75, 0.82 and 1.18 L biogas g⁻¹VS for the test control and the three pretreated samples, respectively. Similarly, the methane yields were 0.45, 0.65, 0.72 and 1.03 L of CH₄ of g⁻¹VS rem for the control and the three pretreated samples, respectively.

The application of the physical pretreatments (thermal) significantly contributed to improving three important aspects of the anaerobic digestion process: increasing the treatment speed, increasing the organic matter removal efficiency and improving bioenergy production (biogas).

Mixture B

Figure 5 shows the volatile solids removal percentage over time for a test control HRT of 25 days. In contrast, the HRT obtained for thermally pretreated substrates was lower for 13 days, highlighting the need for a 90°C, 90-min treatment with an HRT of 12 days. The HRT values for the 80°C, 90-min and 85°C, 90-min treatments were 13 and 17 days, respectively.

The biogas and methane productivities can significantly increase via co-digestion of cattle residues and the waste products that are generated during the processing of the agricultural products. This is due to the synergic actions that provide nutrients for the development of microbial populations, which are responsible for the anaerobic process. In this context, the significant biogas production took advantage of the co-digestion of these residues via the thermal pretreatments.

The maximum biogas production (1.97 L) was obtained for the 90°C, 90-min pretreatment, which was 0.77 L greater than the test control biogas production of 1.2 L. The 80°C, 90 min and 85°C, 90-min treatments led to 1.53 L and 1.58 L biogas productions, respectively, which represents an insignificant difference between the treatment methods.

In addition, the biogas production differences between the test control and latter two are approximately 0.3 L. Therefore, the semi-continuous operation process should include a 90°C, 90 min substratum thermal pretreatment.

Downloaded by [Dr Juan Manuel Méndez-Contreras] at 15:26 08 March 2016

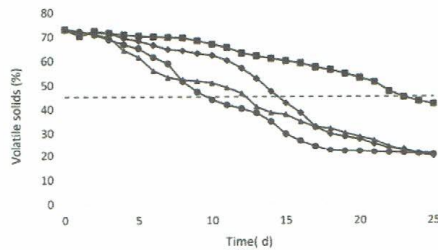


Figure 4. Removal of volatile solids in raw and treated mixture A batch operation. Raw mixture A (■), 80°C, 90 min (◆), 85°C, 90 min (▲), 90°C, 90 min (●), Reduction 38% VS (USEPA) (-).

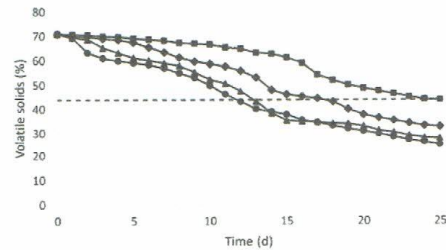


Figure 5. Removal of volatile solids in raw and treated mixture B batch operation. Raw mixture B (■), 80°C, 90 min (◆), 85°C, 90 min (▶), 90°C, 90 min (●), Reduction 38% VS (USEPA) (-).



The control biogas yield was 0.92 L of biogas g^{-1} VS_{rem}, whereas the 80°C, 85°C and 90°C thermal pretreatments produced 0.98, 1.03 and 1.14 L of biogas g^{-1} VS_{rem}, respectively. The control methane yield was 0.55 L of CH₄ g^{-1} VS_{rem}, whereas the 80°C, 85°C and 90°C thermal pretreatments produced 0.63, 0.7 and 0.8 L of CH₄ g^{-1} VS_{rem}, respectively.

Ruiz-Espinosa et al.^[11] tested biodegradability using batches with physicochemical sludge from chickens. It was thermally pretreated to 90°C for 90 min, which resulted in a biogas yield of 1 L g^{-1} VS_{rem} and a methane yield of 0.81 L CH₄ g^{-1} VS. These values are similar to those obtained in the present study. Therefore, we can assume that the studied mixtures are both principally composed of physicochemical sludge obtained via the treated effluent from chicken farms.

Mixtures A and B undergo semi-continuous anaerobic digestion at a laboratory scale. The operation and monitoring parameters involved in anaerobic digestion are important because they ensure that the operation remains stable. However, during thermal pretreatments, the organic matter (VS) removal percentage should be between the principal criteria and zero for proper organic residue management on multiple scales.

Figure 6 illustrates organic matter removal during the semi-continuous anaerobic digestion process. It included an agro-industrial residue mixture, which was thermally pretreated at 90°C for 90 min, resulting in an organic load of 1 Kg VS $m^{-3}d^{-1}$. The average removal of volatile solids was 46.44%, the minimum organic material (OM) removal percentage was 39.02% and the maximum OM removal percentage was 57.95% for mixture A. Mixture B exhibited an average VS removal of 57.41%, minimum OM removal of 47% and maximum OM removal 60.3%.

Previous studies have evaluated the mesophilic anaerobic process of sewage sludge, based on a thermal treatment of 120°C for 1 h. A VS removal of 31.5% was obtained for a test control (without treatment), and after applying a thermal pretreatment, the VS removal increased by 9%.^[24]

Other studies have suggested VS removals of 27.5% and 24.5% via a thermophilic anaerobic reactor fed with raw sludge and loads of 1.87 and 2.84 Kg VS $m^{-3}d^{-1}$.^[25] Note that the application of a thermal pretreatment to an agro-industrial residue mixture significantly increased the treatment speed

(anaerobic digestion), thereby diminishing the HRT and increasing VS removal. Even if the process is operated in a semi-continuous form, the organic matter removal efficiencies are similar or superior to those obtained via thermophilic anaerobic digestion processes. In addition, the results obtained in this study demonstrate that a low temperature (less than 100°C) thermal pretreatment can produce values similar to those obtained after applying thermal pretreatments of more than 100°C, representing an energy savings.

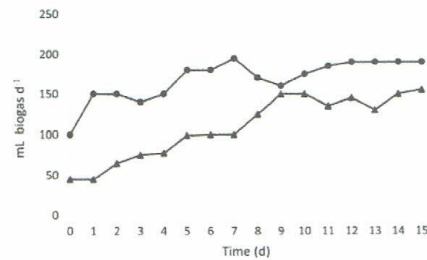


Figure 7. Daily biogas production semi-continuous operation. Mixture A 90°C, 90 min (▲), Mixture B 90°C, 90 min (●).

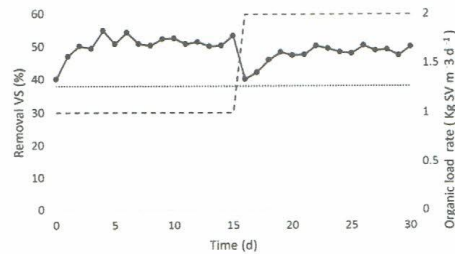


Figure 8. VS removal with increase OLR in a semi-continuous flow reactor. Removal Volatile solids (%) (●), Organic load rate (Kg VS $m^{-3}d^{-1}$) (-).

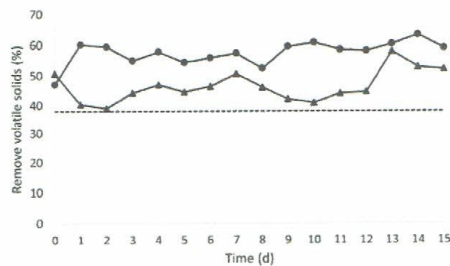


Figure 6. Removal of volatile solids semi-continuous operation. Mixture A 90°C-90 min (▲), Mixture B 90°C, 90 min (●), Reduction 38% VS (USEPA) (-).

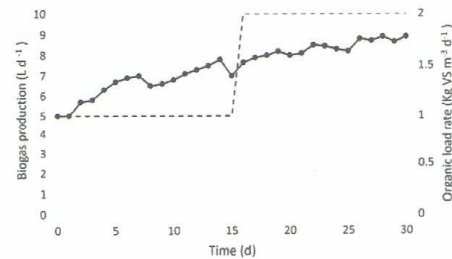


Figure 9. Daily biogas production with increase OLR in a semi-continuous flow reactor. Biogas production (L d^{-1}) (●), Organic load rate (Kg VS $m^{-3}d^{-1}$) (-).



Table 3. Semi-continuous pilot-scale anaerobic digestion.

Operation period	Continuous operation (d)	HRT (d)	Organic load (Kg VS m ⁻³ d ⁻¹)	Average			
				Biogas production (L d ⁻¹)	VS removal (%)	Biogas yield (L g ⁻¹ VS _{rem})	Methane yield (L g ⁻¹ VS _{rem})
1	15-Jan	12	1	6.56 ± 0.25	50.53 ± 4.3	1.06 ± 0.14	0.8 ± 0.1
2	16-30	11	2	8.3 ± 0.19	47.50 ± 3.12	1.0 ± 0.10	0.85 ± 0.1

Figure 7 shows the daily biogas production obtained during digester operation when it is fed with thermally pre-treated sludge. In mixture A, the bioenergy production reached an average of 0.1 L d⁻¹, with a minimum of 0.04 L d⁻¹ during the onset of the process. The maximum biogas production of mixture A was 0.15 L d⁻¹. For mixture B, the average daily biogas production was 0.16 L d⁻¹, which is greater than mixture A under the same conditions. This is because mixture B was largely composed of broiler chicken excrement and SCW.

The biogas and methane yield for mixture A were 1.09 L g⁻¹ VS_{rem} and 0.81 L CH₄ g⁻¹ VS_{rem}, respectively. For mixture B, the average biogas yield was 1.17 L g⁻¹ VS_{rem} and the average methane yield was 0.94 L CH₄ g⁻¹ VS_{rem}. The average percentage of methane present in the biogas was 72% and 75% for mixtures A and B, respectively. A previous study obtained a maximum average biogas yield of 1.3 L g⁻¹ VS_{rem} when sludge from three different sources was treated via thermophilic anaerobic digestion (53°C).^[26]

The average pH value was 7.54 for mixture A and 7.66 for mixture B. The average alkalinity values were 0.44 and 0.31 for mixtures A and B, respectively. The theoretical VFA concentration was 2003 mg L⁻¹ for mixture A and 2120 mg L⁻¹ for mixture B.

Semi-continuous pilot-scale anaerobic digestion

Mixture B produced significant organic matter removal percentages, in addition to large biogas and methane yields. Therefore, this mixture was selected for the pilot-scale semi-continuous operation reactor (8 L). Figure 8 provides the results from the semi-continuous anaerobic digester operation, which was fed with mixture B after thermal pretreatment at 90°C for 90 min.

During the first 15 days of operation, the reactor was fed with an organic load of 1 Kg VS m⁻³d⁻¹, resulting in an average organic matter removal of 50.53%. When the organic load increased to 2 Kg VS m⁻³d⁻¹, a VS removal of 47.50% was obtained. The average pH was 7.60, the average relation alkalinity was 0.32 and the theoretical VFA production was 2300 mg L⁻¹.

These results, which are based on increasing the organic load from 1 to 2 Kg SV m⁻³ d⁻¹ over a short time period, suggest a rapid adjustment strategy based on monitoring, as to provide stability for the thermal pretreatment.

Figure 9 illustrates the biogas production. The average biogas production during the first 15 days with an organic load of 1 Kg SV m⁻³d⁻¹ was 6.56 L d⁻¹ ± 0.25. In addition, the biogas yield was 1.06 L biogas g⁻¹ VS_{rem} ± 0.14, and the methane yield was 0.8 L CH₄ g⁻¹ VS_{rem} ± 0.1.

These values are similar to those obtained in a previous study, which presented methane yields ranging from 0.8 to

1.1 L CH₄ g⁻¹ VS_{rem} based on municipal sludge that was pre-treated at 170°C for 25 min.^[27]

The pretreatment of different types of organic substrates have also been studied, particularly in the context of increased biogas production. These substrates include cow manure, pig manure, municipal sewage sludge, fruit/vegetable waste and food waste, which were evaluated after a hydrothermal pretreatment at 170°C for 1 h. The biogas productions of pig manure, cow manure, fruit/vegetable waste and municipal sewage sludge increased by 7.8, 13.3, 18.5 and 67.8%, respectively. The biogas production of treated food waste decreased by 3.4%. The methane yields of pig manure, fruit/vegetable waste and municipal sewage sludge increased by 14.6, 16.1, and 65.8%, respectively. Methane yields for treated cow manure and food waste decreased by 6.9% and 7.5%.^[28]

In this study, a methane yield increase of 45.55% was obtained (0.55 L CH₄ g⁻¹ VS remove to 0.8 L CH₄ g⁻¹ VS remove) after application of 90°C, 90-min thermal treatment of mixture B. These results are similar to those obtained via treatment with significantly higher temperatures (more of 100°C). Table 3 presents a summary of the results.

Conclusions

The results obtained in this study demonstrate that applying low temperature (90°C) treatments over relatively short times (90-min) agro-industrial residue mixtures used as substratum can increase the solubilization degree of organic biodegradable matter. This allows for a significant increase in the degradation speed of organic compounds when the substrata are thermally pretreated and digested in anaerobic conditions. The impact of this pretreatment strategy directly affects the hydrolysis stage, which is considered a bounding process during anaerobic digestion. This was verified via our experiments, as the digestion time needed to reduce organic matter (38% VS removal) changed from an HRT of 23 days for the raw mixture to 9 days when a thermal pretreatment was applied.

In addition, we demonstrated that the synergy between organic residue mixtures, leading to increased biogas production. When using agro-industrial residue as digestive mixtures in anaerobic conditions, the predominant component (at least in 60% of the total mixture volume) must be biodegradable organic matter.

Finally, the treatment conditions presented in this study allow for large residue quantities to be treated and large bioenergy quantities to be produced (10% higher than during conventional treatment) without increasing the anaerobic digester volume.



Acknowledgments

The authors acknowledge the support via use of the infrastructure of the Environmental laboratories of the postgraduate of the Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba.

Funding

Nava-Valente acknowledges a PhD scholarship from the Council of Science and Technology of Mexico (CONACyT) with number (CVU/grant holder): 332980/332980.

References

- [1] Ruiz-Espinoza, J.E.; Méndez-Contreras, J.M.; Alvarado-Lassman, A.; Martínez-Delgado, S.A. Effect of low temperature thermal pre-treatment on the solubilization of organic matter, pathogen inactivation and mesophilic anaerobic digestion of poultry sludge. *J. Environ. Sci. Health Pt. A* **2012**, *47*(12), 1795–1802.
- [2] Méndez, J.M.; González, C.; Alvarado-Lassman, A.; Alvarado-Kinnell, G.; Martínez-Delgado, S. Fecal bacteria survival in ammonia-treated wastewater dewatered sludges. *Revista Mexicana. Ingen. Quim.* **2008**, *7*(3), 229–235.
- [3] Basanta, M.A.; García Delgado, J.E.; Cervantes Martínez, H.; Mata Vázquez, G. Recycling sustainability of the sugar industry. *Food Sci. Technol.* **2007**, 293–305.
- [4] Vergine, P.; Záborská, J.; Canziani, R. Low temperature microwave and conventional heating pre-treatments to improve sludge anaerobic biodegradability. *Water Sci. Technol.* **2014**, *69*(3), 518–524.
- [5] Donoso-Bravo, A.; Pérez-Elvira, S.; Aymerich, E.; Fdz-Polanco, F. Assessment of the influence of thermal pre-treatment time on the macromolecular composition and anaerobic biodegradability of sewage sludge. *Bioresour. Technol.* **2011**, *102*(2), 660–666.
- [6] Menert, A.; Vaalu, T.; Michelis, M.; Blonskaja, V.; Rikmanas, E.; Mets, A.; Vilu, R. Influence of thermal pre-treatment on mesophilic anaerobic digestion of sludges. *Proceedings of The 7th International Conference. Environmental Engineering, Faculty of Environmental Engineering, Vilnius Gediminas Technical University, May 22–23, 2008, Vilnius, Lithuania*, 625–635.
- [7] Wilson, C.A.; Novak, J.T. Hydrolysis of macromolecular components of primary and secondary wastewater sludge by thermal hydrolytic pre-treatment. *Water Res.* **2009**, *43*, 4489–4498.
- [8] Yang, X.; Wang, X.; Wang, L. Transferring of components and energy output in industrial sewage sludge disposal by thermal pre-treatment and two-phase anaerobic process. *Bioresour. Technol.* **2010**, *101*(8), 2580–2584.
- [9] Perez-Elvira, S.I.; Fernandez-Polanco, F.; Fernandez-Polanco, M.; Rodriguez, P.; Rouge, P. Hydrothermal multivariable approach. Full-scale feasibility study. *Elect. J. Biotechnol.* **2008**, *11*, 7–8.
- [10] Norma Mexicana NMX-AA-15-1985. Environmental protection. Soil Pollution Municipal Solid Waste, Sampling, quartering method, 1985.
- [11] American Public Health Association (APHA). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th ed. American Public Health Association: Washington, DC, 1998.
- [12] Jenkins, S.R.; Morgan, J.M.; Zhang, X. Measuring usable carbonate alkalinity of operating anaerobic digesters. *Res. J. Water Poll. Contr. Fed.* **1991**, *63*(1), 28–34.
- [13] Gerhard P.; Murray R.G.E.; Wood W.A.; Krieg N.R. *Methods for General and molecular Bacteriology*. ASM Press: Washington, DC, 1994.
- [14] U.S. Environmental Protection Agency. *A Plain English Guide to the EPA, Part 503 Biosolids Rule*. US PA/832/R-93-003, September, 1994.
- [15] Malina, J.F.; Poland, F. G. *Water quality management, design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes*. Technome Publishing Co. Inc.: Lancaster, PA, 1992, Vol 7.
- [16] Rude, B.; Rankins, Jr., D. Evaluation of bermudagrass (*Cynodon dactylon*) and johnsongrass (*Sorghum halapense*) as alternatives to corn forage (*Zea mays*) for ensiling with poultry litter. *Anim. Feed Sci. Technol.* **1993**, *44*, 101–111.
- [17] Egaña, J.; Haardt, E.; Pizarro, F. Factors determining the composition and nutritive value of broiler beds I. Effect warehouse floor. *Arch Med Veter.* **1989**, *21*(2), 145–149.
- [18] Jacob, J.; Kunkle, W.; Tervola, R.; Miles, R.; Mather, F.; Broiler litter, Part 1: a feed ingredient for ruminant. University of Florida. Institute of Food Animal and Agricultural Science. Florida Cooperative Extension Service: Gainesville, FL, 1997, PS-13, p. 1–5.
- [19] Appels, L.; Degreve, J.; Van der Bruggen, B.; Van Impe, J.; Dewil, R. Influence of low temperature thermal pre-treatment on sludge solubilization, heavy metal release and anaerobic digestion. *Chemical and Biochemical Process Technology and Control Section, Department of Chemical Engineering, Katholieke Universiteit Leuven, Willem De Croylaan 46, 3001 Heverlee, Belgium Bioresour. Technol.* **2010**, *101*, 5743–5748.
- [20] Kim, J.; Park, C.; Kim, T.-H.; Lee, M.; Kim, S.; Kim, S.-W.; Lee, J. Effects of various pre-treatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *J. Biosci. Bioeng.* **2003**, *95*(3), 271–275.
- [21] Gavala, H.N.; Yenal, U.; Skiadras, I.V.; Westermann, P.; Ahring, B.K. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of primary and secondary sludge. *Effect of pre-treatment at elevated temperature*. *Water Res.* **2003**, *37*, 4561–4572.
- [22] Carrère, H.; Dumas, C.; Battimelli, A.; Batstone, D.J.; Delgenès, J.P.; Steyer, J.P.; Ferrer, I. Pre-treatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. *J. Hazard. Mater.* **2010**, *183*(1–3), 1–15.
- [23] Frijns, J.; Hofman, J.; Nederlof, M. The potential of (waste) water as energy carrier. *Energy Conv. Mgmt.* **2013**, *65*, 357–363.
- [24] Takashima, M.; Shimada, K. Minimum requirements for trace metals (Fe, Ni, Co and Zn) in thermophilic methane fermentation from glucose. *Proceedings of the 10th World Congress Anaerobic Digestion, Montreal, Canada, 2004*.
- [25] Harikishan, S.; Sung, S. Cattle waste treatment and Class A biosolids production using temperature-phased anaerobic digester. *Advan. Environ. Res.* **2003**, *7*, 701–706.
- [26] Aitken, M.D.; Walters, G.W.; Crunk, P.L.; Willis, J.L.; Farrell, J.B.; Schafer, P.L.; Arnett, C.; Turner, B.G. Laboratory evaluation of thermophilic-anaerobic digestion to produce class a biosolids. *Stabilization performance of a continuous-flow reactor at low residence time*. *Water Environ. Res.* **2005**, *77*(7), 3019–3027.
- [27] Jolis, D. High-solids anaerobic digestion of municipal sludge pre-treated by thermal hydrolysis. *Water Environ. Res.* **2008**, *80*(7), 654–662.
- [28] Qiao, W.; Yan, X.; Ye, J.; Sun, Y.; Wang, W.; Zhang, Z. Evaluation of biogas production from different biomass wastes with/without hydrothermal pre-treatment. *Renew. Energy* **2011**, *36*, 3313–3318.



AMIDIQ

La Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, A. C.
"La Interdisciplinariedad en la Ingeniería Química"

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a:

Areli García López, Noemí Nava Valente, Alejandro Alvarado Lassman, Norma Alejandra Vallejo
Cantú, Juan Manuel Méndez Contreras

Por la presentación del trabajo:

**"EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA PRE-HIDROLISIS TÉRMICA Y ENZIMÁTICA DE
RESIDUOS AGROINDUSTRIALES (Lodos Residuales, Pollinaza y Residuo
Agrícola Cañero)"**

ID: 268

XXXV Encuentro Nacional
Puerto Vallarta, Jalisco México, 6 al 9 de Mayo de 2014


Dr. Juan Gabriel Segovia Hernandez
PRESIDENTE DE AMIDIQ


Dr. Tomás Viveros Garcia
PRESIDENTE DEL COMITE TECNICO



opus pro scientia et studium



Congreso Internacional de Investigación de
AcademiaJournals.com
Tabasco 2014
Villahermosa.AcademiaJournals.com



Certificado

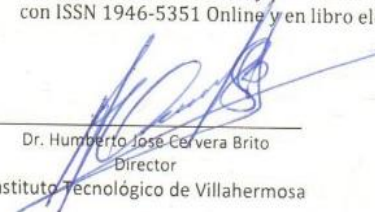
otorgado a


Dr. Juan Manuel Méndez Contreras, M.C. Noemi Nava Valente, Ing. Areli García López,
Dr. Alejandro Alvarado Lassman, M.I.Q. Norma Alejandra Vallejo Cantú

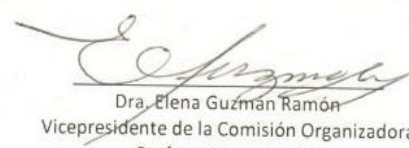
por su ponencia intitulada


Evaluación de mecanismos de transformación bioquímica de residuos
agroindustriales (lodo residual, pollinaza y RAC) para la obtención de
bioenergéticos

la cual fue presentada en el Congreso que se desarrolló los días 21 al 23 de mayo 2014
en Villahermosa, Tabasco, México, y publicada en el portal de Internet Villahermosa.AcademiaJournals.com
con ISSN 1946-5351 Online y en libro electrónico en CD ROM con ISBN 978-1-939982-06-3


Dr. Humberto José Cervera Brito
Director
Instituto Tecnológico de Villahermosa


M.C. José Antonio Canto Esquivel
Presidente de la Comisión Organizadora
Subdirector Académico
Instituto Tecnológico de Villahermosa


Dra. Elena Guzmán Ramón
Vicepresidente de la Comisión Organizadora
Profesor Investigador
Instituto Tecnológico de Villahermosa


Dr. Rafael Moras
Editor, Academia Journals
Profesor de Ing. Industrial, St. Mary's University

373V



CONCLUSIONES



CONCLUSIONES

- La caracterización de las mezclas de residuos agroindustriales (A y B) muestran que son ricas en compuestos orgánicos como carbohidratos (6.5 y 6.3 g/L para la mezcla A y B respectivamente), lípidos (mezcla A 3.65 g/L y mezcla B 4.69 g/L) y especialmente proteínas (26.05% y 30.20% mezcla A y B respectivamente) siendo el compuesto predominante y utilizado para definir la estrategia de pre-tratamiento enzimático.
- Al someter las mezclas al pre-tratamiento térmico, se obtuvieron porcentajes de tasa de hidrólisis entre 0.85%-6.56%, incrementándose el porcentaje de tasa de hidrólisis conforme se incrementó la temperatura y tiempo de exposición. El análisis estadístico indicó que si se deseaba maximizar el porcentaje de tasa de hidrólisis se recomienda emplear el tratamiento térmico a 90°C y 90 min, para ambos sustratos. El pre-tratamiento térmico aplicado a las mezclas de sustrato resultó significativo en la producción de metano en las pruebas de biodegradabilidad, e incrementó la producción de biogás en un 50% con respecto a la prueba control, de igual manera disminuyó el TRH de 20 a 12 días, a su vez se concluyó que las mejores condiciones de operación del pre-tratamiento térmico fueron 90°C y 90 min para ambas mezclas y así obtener un mayor rendimiento de metano y maximizar el potencial energético del proceso de digestión anaerobia.
- Por otra parte al someter las mezclas A y B de residuos agroindustriales al pre-tratamiento ácido se obtuvieron tasas de hidrólisis entre 3.7%-15.3% y se concluyó que si se desea maximizar el porcentaje de tasa de hidrólisis es conveniente aplicar una dosis de 4% v/v de ácido acético durante 90 min de tiempo de exposición para ambas mezclas. El tratamiento que genera mayor rendimiento de metano fue con dosis de 4% y 90 min (de 0.45 a 0.89 L CH₄/g SV rem para la mezcla A y de 0.49 a 0.92 L CH₄/g



SV rem para la mezcla B), se concluye que el pre-tratamiento ácido redujo el TRH de 25 d a 13 d.

- El pre-tratamiento enzimático arrojó porcentajes de tasa de hidrólisis entre 0.7%-23.8%, concluyendo que al incrementar el tiempo de exposición se maximiza el porcentaje de tasa de hidrólisis sin importar que dosis de las propuestas en este estudio se emplee. La hidrólisis proteica incrementó de igual manera significativa el rendimiento de metano en las pruebas de biodegradabilidad (de 0.45-0.90 89 L CH₄/g SV rem para la mezcla A y de 0.45 a 0.90 L CH₄/g SV rem para la mezcla B) exponiendo el sustrato a una dosis de enzima proteasa Fungal de 0.003% y 150 min.
- Con base a los resultados obtenidos al aplicar los tres pre-tratamientos, se concluye que el tiempo de exposición del pre-tratamiento es significativo para incrementar el porcentaje de tasa de hidrólisis, sin embargo, el porcentaje de tasa de hidrólisis no se puede relacionar directamente con la producción de biogás en la digestión anaerobia.
- Al someter a comparación los distintos pre-tratamientos y mezclas de sustrato durante la operación semi-continua de digestión anaerobia se concluyó que los pre-tratamientos mejoran la viabilidad de la digestión anaerobia obteniendo resultados similares al aplicar pre-tratamientos físicos, químicos o biológicos respetando las condiciones de pre-tratamiento sugeridas en este trabajo, hecho que permite al usuario de este proceso elegir entre estas opciones la que más le convenga en términos operacionales.
- La mezcla B pre-tratada con un pre-tratamiento térmico a 90°C y 90 min fue la mezcla seleccionada para llevar a operación planta piloto, ya que fue la que mejor rendimiento de metano obtuvo con respecto a los demás pre-tratamiento y con respecto a la mezcla A.



- Los parámetros cinéticos de la ecuación de Michaelis-Menten confirman que el pre-tratamiento térmico contribuye significativamente a la mejora del proceso de digestión, ya que el valor de K_m indicó la afinidad por las enzimas presentes en las reacciones del proceso de digestión anaerobia. El hecho de que las mayores K_m se obtuvieron en los pre-tratamientos ácido y enzimático, puede deberse a la formación de sustratos intermedios que bien pueden actuar como inhibidores en el proceso de digestión anaerobia. En cuanto a los valores obtenidos de V_{max} , se aprecia que el valor mayor de V_{max} se obtuvo con el pre-tratamiento ácido, esto es debido a que a concentraciones elevadas de sustrato, todos los puntos activos de las enzimas están saturados con sustrato, y por ello, la reacción transcurre lo más deprisa posible independientemente de la concentración de sustrato.

 - Esta investigación contribuye a mejorar la viabilidad de la digestión anaerobia mediante la estrategia utilizada (pre-tratamiento térmico) aumentando la capacidad del proceso, la eficacia del tratamiento, la conversión de biogás, y reduce la cantidad de desechos y consumo de energía. Las condiciones de operación que se encuentran en esta investigación se pueden aplicar a los procesos anaeróbicos, incluso si desea escalar el proceso.

 - Finalmente, la presente investigación contribuye a:
 - a) La comprensión de los mecanismos de transformación de compuestos orgánicos provenientes de diferentes residuos cuando estos son pre-tratados en condiciones térmicas, ácidas y enzimáticas.
 - b) Mejorar la viabilidad de la digestión anaerobia mediante la estrategia utilizada aumentando la capacidad del proceso, la eficacia del tratamiento, la conversión de biogás y reduce la cantidad de desechos.
 - c) Definir una estrategia de tratamiento mejorado cuando la digestión anaerobia se va a emplear en diferentes mezclas de residuos orgánicos agroindustriales poco biodegradables.
-



- d) La definición del conocimiento del compuesto predominante en las mezclas de residuos agroindustriales, la definición del pre-tratamiento recomendado y deja abierta la posible predicción de resultados en términos de la producción de energía.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abelleira, J., Pérez-Elvira, S. I., Sánchez-Oneto, J., Portela, J. R., & Nebot, E. 2012. Advanced thermal hydrolysis of secondary sewage sludge: a novel process combining thermal hydrolysis and hydrogen peroxide addition. *Resources, Conservation and Recycling*, 59, 52-57.

Aguilar N. R. 2010. Kinetic model of hydrolysis of sugarcane waste. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, Vol. 20-2, pp. 5-18. Bogotá, Diciembre de 2010.

Ahring, B. K. and Westermann, P. 1987. Thermophilic anaerobic degradation of butyrate by a Butyrate-utilizing bacterium in coculture and triculture with methanogenic bacteria. *Applied Environmental Microbiology*. 53(2):434-439.

Aitken M. D.; Walters G. W.; Crunk P. L.; Willis J.L.; Farrell J. B.; Schafer P. L.; Arnett C.; Turner B. G.; 2005. Laboratory evaluation of thermophilic-anaerobic digestion to produce class a biosolids. Stabilization performance of a continuous-flow reactor at low residence time. *Water Environment Research*. 77(7): 3019-3027.

Angelidaki, I., Ellegaard, L. and Ahring, B.K. 1999. A comprehensive model of anaerobic bioconversion of complex substrates to biogas. *Biotechnology and Bioengineering*. 63(3):363-372.

Antonopoulou, G., Gavala, H. N., Skiadas, I. V., Angelopoulos, K., & Lyberatos, G. 2008. Biofuels generation from sweet sorghum: fermentative hydrogen production and anaerobic digestion of the remaining biomass. *Bioresource Technology*, 99(1), 110-119.

APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th ed. American Public Health Association. Washington DC. 1998.



Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., Dewil, R., 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Prog. Energy Combust. Sci.* 34, 755–781.

Appels, L., Van Assche, A., Willems, K., Degrève, J., Van Impe, J., & Dewil, R. 2011. Peracetic acid oxidation as an alternative pre-treatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Bioresource technology*, 102(5), 4124-4130.

Assawamongkholsiri, T., Reungsang, A., & Pattra, S. 2013. Effect of acid, heat and combined acid-heat pretreatments of anaerobic sludge on hydrogen production by anaerobic mixed cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(14), 6146-6153.

Balance Nacional de Energía; Secretaría de energía, primera edición 2015 México, DF Editado en México

Basanta, M. A.; García Delgado, J. E.; Cervantes Martínez, H.; Mata Vázquez, G.; Bustos Vázquez; 2007. Sostenibilidad del reciclaje de residuos de la agroindustria azucarera: una revisión. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 293-305.

Bastone, D. 1999. Wastewater. Thesis of degree of Doctor of Philosophy in Chemical Engineering. University of Queensland.

Bougrier, C., Delgenés, J.P., Carrère, H. 2006. Combination of thermal treatments and anaerobic digestion to reduce sewage sludge quantity and improve biogas yield. *Institution of Chemical Engineers. Trans IChemE, Part B*, July 2006. p.280-284

Brulé, M., Oechsner, H., Fischer, L., Lemmer, A., Jungbluth, T., 2007. Effect of enzymatic substrate preparation on the biogas yield of energy crops. *Landtechnik – gric. Eng.* 62 (6).



Caldera, Y., Gutiérrez, E., Luengo, M., Chávez, J., & Ruesga, L. 2010. Evaluación del sistema de tratamiento de aguas residuales de industria avícola. *Revista Científica*, 20(4), 409-416.

Carrasco, F., & Roy, C. 1992. Kinetic study of dilute-acid prehydrolysis of xylan-containing biomass. *Wood Science and Technology*, 26(3), 189-208.

Carrère H.; Dumas C.; Battimelli A.; Batstone D. J.; Delgenès J. P.; Steyer J. P.; Ferrer, I. 2010. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. *Journal of Hazardous Materials*. 183 (1–3), 1–15.

Chandra R, Takeuchi H, Hasegawa T. 2012. Hydrothermal pretreatment of rice straw biomass: a potential and promising method for enhanced methane production. *Appl Energy*;94:129–40.

Cheng K., Cai B., Zhang J., 2008. Sugarcane bagasse hemicelluloses hydrolysate for ethanol production by acid recovery process. *Biochemical Engineering Journal*, 38(5):105-109.

Choi, H. B., Hwang, K. Y., & Shin, E. B. 1997. Effects on anaerobic digestion of sewage sludge pretreatment. *Water Science and Technology*, 35(10), 207-211.

Conner, A. H. 2007. Kinetic modeling of hardwood prehydrolysis. Part I. Xylan removal by water prehydrolysis. *Wood and fiber science*, 16(2), 268-277.

Costa, A.G., Pinheiro, G.C., Pinheiro, F.G.C., Dos Santos, A.B., Santaella, S.T., Leitão, R. C., 2014. The use of thermochemical pretreatments to improve the anaerobic biodegradability and biochemical methane potential of the sugarcane bagasse. *Chem. Eng. J.* 248, 363–372.

Curreli. N., Agelli. M., Pisu. B., 2002. Complete an efficient enzymic Hidrolysis of pretreatmeant wheat straw. *Process Biochemistry*, 37(4): 937-940.



Devlin, D. C., Esteves, S. R. R., Dinsdale, R. M., & Guwy, A. J. 2011. The effect of acid pretreatment on the anaerobic digestion and dewatering of waste activated sludge. *Bioresource Technology*, 102(5), 4076-4082.

Dhouib, A., Ellouz, M., Aloui, F., & Sayadi, S. 2006. Effect of bioaugmentation of activated sludge with white-rot fungi on olive mill wastewater detoxification. *Letters in applied microbiology*, 42(4), 405-411.

Domingues, R. F., Sanches, T., Silva, G. S., Bueno, B. E., Ribeiro, R., Kamimura, E. S., & Tommaso, G. 2015. Effect of enzymatic pretreatment on the anaerobic digestion of milk fat for biogas production. *Food Research International*, 73, 26-30.

Donoso-Bravo A.; Pérez-Elvira S.; Aymerich E.; Fdz-Polanco F. 2011. Assessment of the influence of thermal pre-treatment time on the macromolecular composition and anaerobic biodegradability of sewage sludge. *Bioresour. Technol.*, 102(2), 660–666.

Egaña J.; Haardt E. ; Pizarro F. 1989 . Factores determinantes de la composición y valor nutritivo de las camás de broiler I. Efecto de piso de galpón. *Archivos de Medicina Veterinaria* 21(2):145-149.

Energías Renovables 2008 - Energía Biomasa Coordinación de Energías Renovables. Dirección Nacional de Promoción Subsecretaría de Energía Eléctrica. Argentina

E.P.R. 2012. Proyectos bioenergéticos desarrollados. *Energy Power Resources*.

Ferreira, L.C., Donoso-Bravo, A., Nilsen, P.J., Fdz-Polanco, F., Pérez-Elvira, S.I., 2013.

Influence of thermal pretreatment on the biochemical methane potential of wheat straw. *Bioresour. Technol.* 143, 251–257.

FNR, Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (Ed.), 2012. *Guide to Biogas – From Production to Use*, fifth ed. Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V, Gülzow.



Frijns J.; Hofman J.; Nederlof M. 2013. The potential of (waste) water as energy carrier. *Energy Conversion and Management*. 65, 357–363.

Fukuzaki, S., Nishio, N., Shobayashi, M. y Nagai, S. 1990. Inhibition of fermentation of propionate to methane by hydrogen, acetate, and propionate. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(3): 719-723.

Gámez, S., González-Cabriales, J. J., Ramírez, J. A., Garrote, G., & Vázquez, M. 2006. Study of the hydrolysis of sugar cane bagasse using phosphoric acid. *Journal of food engineering*, 74(1), 78-88.

García, C.G., Navarrete, T.A. 1999. Avances en purificación y aplicación de enzimas en biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. México.

Gavala H. N.; Yenil U.; Skiadas I.V.; Westermann P.; Ahring B.K.; 2003. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of primary and secondary sludge. Effect of pretreatment at elevated temperature. *Water Research*, Vol 37, 4561-4572.

Harikishan S; Sung S. 2003. Cattle waste treatment and Class A biosolids production using temperature-phased anaerobic digester. *Advances in Environmental Research* (7) 701-706.

Hendriks A.T.W.M., Zeeman G. 2009 .Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* Volume 100, Issue 1, Pages 10–18

Hills, D.J. y Nakano, K. 1984. Effects of particle size on anaerobic digestion of tomato solid wastes. *Agricultural Wastes*. 10:285-295.

Jacob J.; Kunkle W.; Tervola R.; Miles R.; Mather F. 1997. Broiler litter, part 1: a feed ingredient for ruminant. University of Florida. Institute of Food Animal and Agricultural Science. Florida Cooperative Extension Service, PS-13, 1-5 p.



Jenkins S. R.; Morgan J. M.; Zhang X. 1991. Measuring usable carbonate alkalinity of operating anaerobic digesters *Research journal of the water*, 63(1): 28-34.

Gerhard P.; Murray R.G.E.; Wood W.A.; Krieg N.R. 1994. *Methods for General and molecular Bacteriology*. ASM Press: Washington, DC

Jiménez-Cisneros, B.; Chávez-Mejía, A. 1997. Treatment of Mexico City wastewater for irrigation purposes. *Environ Technol.* 18(7), 721–729.

Jiménez, B., Castrejón, A., Barrios, J. A., Maya, C., Rodríguez, A. y González, A. 2002. Evaluación de la calidad de lodos residuales de México. Instituto de Ingeniería. Grupo de Tratamiento y Reúso. Universidad Nacional Autónoma de México.

Jolis D. High-solids anaerobic digestion of municipal sludge pretreated by thermal hydrolysis. 2008. *Water Environmental Research*, 80(7), 654–662.

Jones, J. L., & Semrau, K. T. 1984. Wood hydrolysis for ethanol production—previous experience and the economics of selected processes. *Biomass*, 5(2), 109-135.

Jördening, H.-J., Winter, J., 2005. *Environmental Biotechnology. Concepts and Applications*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, pp. 1–41. ISBN: 3-527-30585-8 and 355-360.

Karakashev, D., Thomsen, A. B., & Angelidaki, I. 2007. Anaerobic biotechnological approaches for production of liquid energy carriers from biomass. *Biotechnology letters*, 29(7), 1005-1012.

Kamm, B., Gruber, P. R., & Kamm, M. 2006. *Biorefineries—industrial processes and products*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.



Kim J.; Park C.; Kim T.-H.; Lee M.; Kim S.; Kim S.-W.; Lee J. 2003. Effects of various pre-treatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *J. Bioscience & Bioengineering*, 95(3), 271- 275.

López-Escobar, L. A., Martínez-Hernández, S., Corte-Cano, G., and Méndez-Contreras, J. M. 2014. Influence of organic loading rate on methane production in a CSTR from physicochemical sludge generated in a poultry slaughterhouse. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 49(14), 1710-1717.

Kootstra, M., Beeftink, H., Scott, E., Sander, J., 2009b. Optimization of the dilute maleic acid pretreatment of wheat straw. *Biotechnol. Biofuels* 2, 31.

Mandigan, M. T., Martinko, J. M. y Parker, J. 1998. *Biología de los microorganismos*. Edit. Prentice Hall International (UK) Ltd.

Malina, J.F. and Poland, F. G. *Water quality management, design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes*. Technome Publising co inc, U.S.A. 1992. Vol 7.

Marshall, W., Reyes, R., Uña, F., Corchado, A. & Delgado, A. 1998. Ceba ovina sobre la base de heno, miel-urea y suplementación con gallinaza. Digestibilidad y balance de nitrógeno. *Rev. Prod. Anim.* 10:33

Martin, S.A., McCann, M.A. & Waltman II, W.D. 1998. Microbiological survey of Georgia poultry litter. *J. Appl. Poult. Research* 7:90

Méndez, J.M.; González, C.; Alvarado-Lassman, A.; Alvarado-Kinnell, G.; Martínez-Delgadillo, S. 2008. Fecal bacteria survival in ammonia-treated wastewater dewatered sludges. *Revista Mexicana. Ingeniería Química.*, 7(3), 229–235.



Mendes, Pereira, Heizir 2006 Effect of the enzymatic hydrolysis pretreatment of lipids-rich wastewater on the anaerobic biodigestion. *Biochemical Engineering Journal* Volume 32, Issue 3, Pages 185–190

Menert A.; Vaalu T.; Michelis M.; Blonskaja V.; Rikmann, E.; Mets A.; Vilu R. 2008 In Influence of Thermal Pre-Treatment on Mesophilic Anaerobic Digestion of Sludges. Proceedings of the 7th International Conference. Environmental Engineering. Faculty of Environmental Engineering Vilnius Gediminas Technical University, Vilnius, Lithuania , 625–635.

Michaelis, L., & Menten, M. L. 1913. Die kinetik der invertinwirkung. *Biochem.* 49(333-369), 352.

Moguel, Y., Cantón, J.G., Sauri, E. & Castellanos, A.F. 1995. Contenido de algunos macro y micro minerales en las deyecciones avícolas en Yucatán. *Téc. Pec. Méx.* 33:100

Monlau F, Barakat A, Trably E, Dumas C, Steyer J-P, Carrere H. 2012. Lignocellulosic materials into biohydrogen and biomethane: impact of structural features and pretreatment. *Crit Rev Environ Sci Technol.*

Mtui, G., 2012. Oxalic acid pretreatment: fungal enzymatic saccharification and fermentation of maize residues to ethanol. *Afr. J. Biotechnol.* 11, 843–851.

Müller, J., Lehne, G., Schwedes, J., Battenberg, S., Näveke, R., Kopp, J., and Hempel, D. C. 1998. Disintegration of sewage sludges and influence on anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, 38(8-9), 425-433.



Müller, L., Kretschmar, J., Pröter, J., Liebetrau, J., Nelles, M., & Scholwin, F. 2016. Does the addition of proteases affect the biogas yield from organic material in anaerobic digestion?. *Bioresource technology*, 203, 267-271.

Nah, I. W., Kang, Y. W., Hwang, K. Y., & Song, W. K. 2000. Mechanical pretreatment of waste activated sludge for anaerobic digestion process. *Water Research*, 34(8), 2362-2368.

Nie, H., Jacobi, H.F., Strach, K., Xua, C., Zhoua, H., Liebetrau, J., 2015. Monofermentation of chicken manure: ammonia inhibition and recirculation of the digestate. *Bioresour. Technol.* 178, 238–246.

Norma Mexicana NMX-AA-15-1985. Protección al ambiente - Contaminación del Suelo Residuos Sólidos Municipales - Muestreo - Método de Cuarteo 1985.

Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. *Diario Oficial de la Federación*.

Noyola, A., Garbossa L.H., Braga, M.C., Andreoli,C., Fernandes, C. 2007. Digestão e higienização de lodos de estação de tratamento de esgotos através de um processo de duas fases não convencionais. 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. ABES

Oropeza García N., 2006, Lodos residuales: estabilización y manejo, caos conciencia revista de la división de ciencias e ingeniería, 1: 51-58.

Ortega, S. R. D., Castillo, C. J., Colín-Cruz, A., Salazar, M. S. A. 2003. Genotoxicidad del lixiviado de lodos residuales. VIII Congreso Nacional de Ciencias Ambientales y II Congreso Internacional de Ciencias Ambientales. Querétaro, México.



Qin, L., Liu, Z., Li, B., Dale, B., Yuan, Y., 2012. Mass balance and transformation of corn stover by pretreatment with different dilute organic acids. *Bioresour. Technol.* 112, 319–326.

Pacheco, A.J., Rosciano, G.J., Villegas, C.W., Alcocer, V.V. & Castellanos, R.A. 2003. Cuantificación del contenido de cobre y otros minerales en pollinazas producidas en el estado de Yucatán. *Téc. Pecu. Méx.*, 41:197

Pavlostathis, S.G. y Giraldo-Gómez, E. 1991. Kinetics of anaerobic treatment: a critical review. *Critical reviews in environmental control.* 21(5-6):411-490.

Pérez-Elvira S.I.; Fernández-Polanco F.; Fernández-Polanco M.; Rodríguez P.; Rouge P. 2008. Hydrothermal multivariable approach. Full-scale feasibility study. *Elec. J. Biotechnol.*, 11, 7–8.

Rabelo SC, Carrere H, Maciel Filho R, Costa AC. 2011. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. *Bioresour Technol*;102:7887–95.

Rodríguez, S.G. 1999. Avances en purificación y aplicación de enzimas en biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. México.

Rude B.; Rankins Jr. D. 1993. Evaluation of bermudagrass (*Cynodon dactylon*) and johnsongrass (*Sorghum halapense*) as alternatives to corn forage (*Zea mays*) for ensiling with poultry litter. *Animal Feed Science and Technology* 44:101-111.

Ruiz-Espinoza, J.E.; Méndez-Contreras, J.M.; Alvarado-Lassman, A.; Martínez-Delgadillo, S.A. 2012. Effect of low temperature thermal pre-treatment on the solubilization of organic matter, pathogen inactivation and mesophilic anaerobic digestion of poultry sludge, *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and environmental Engineering.*, 47(12), 1795–1802.



Sacramento-Rivero, J.C., Romero G., Cortés-Rodríguez, E., Pech, E. y Blanco-Rosete, S. 2010. Diagnostico del desarrollo de bio-refinerías en México. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 9(3) 261-283.

Saidur, R., Abdelaziz, E. A., Demirbas, A., Hossain, M. S., & Mekhilef, S. 2011. A review on biomass as a fuel for boilers. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(5), 2262-2289.

Salminen, E. A., & Rintala, J. A. 2002. Semi-continuous anaerobic digestion of solid poultry slaughterhouse waste: effect of hydraulic retention time and loading. *Water research*, 36(13), 3175-3182.

Sambusiti, C., Ficara, E., Malpei, F., Steyer, J.P., Carrère, H., 2013. Effect of sodium hydroxide pretreatment on physical, chemical characteristics and methane production of five varieties of sorghum. *Energy* 55, 449–456.

Siguemoto, E.S., Fuzatto, M.C., Dibiasi, A.L.B., Santana, R.S.S., Ribeiro, R., amimura, E.S., 2009. Influence of enzymatic pre-hydrolysis on the performance of an ASBBR treating dairy effluent. *Proceedings of 17° Siicusp, Pirassununga* (in Portuguese).

Stams, A. J. M. 1994. Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. *Antoine Van Leeuwenhoek*. 66:271-294.

Stevens, C. 2011. *Thermochemical processing of biomass: conversion into fuels, chemicals and power*. R. C. Brown (Ed.). John Wiley & Sons

Sun, Y., and Cheng, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource technology*, 83(1), 1-11.

Sun, Y., & Cheng, J. J. 2005. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. *Bioresource technology*, 96(14), 1599-1606.



Taherdanak, M., & Zilouei, H. 2014. Improving biogas production from wheat plant using alkaline pretreatment. *Fuel*, 115, 714-719.

Takashima M.; Shimada K. Minimum requirements for trace metals (Fe, Ni, Co and Zn) in thermophilic methane fermentation from glucose. 2004. Proceedings of the 10th World Congress Anaerobic Digestion. Montreal, Canada

UNFCCC (2012) clean development mechanism (CMD). United Nations Framework. Convention on climate Change (UNFCCC)

U.S. EPA. A Plain English Guide to the EPA, Part 503 Biosolids Rule. US PA/832/R-93-003. September, 1994.

Valo, A., Carrère, H. and Delgenés, J.P. 2004. Thermal, chemicals and thermochemical pretreatment of waste activated sludge for anaerobic digestion. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. Vol 79. p 1197-1203

Vergine P.; Záborská J.; and Canziani R.; 2014. Low temperature microwave and conventional heating pre-treatments to improve sludge anaerobic biodegradability. *Water Science & Technology*. 69(3), 518-524.

Wang, Q., Noguchi, C., Hara, Y., Sharon, C., Kamimoto, K. and Kato, Y. 1997. Studies on anaerobic digestion mechanism: Influence of pretreatment temperature on biodegradation of waste activated sludge. *Environmental Technology*. Vol 18. p 999-1008

Wei Qiao; Xiuyi Yan; Junhui Ye; Yifei Sun; Wei Wang; Zhongzhi Zhang; 2011. Evaluation of biogas production from different biomass wastes with/without hydrothermal pretreatment. *Renewable Energy*. 36 (2011) 3313-3318.



Whitely, N., Ozao, R., Cao, Y., & Pan, W. P. 2006. Multi-utilization of chicken litter as a biomass source. Part II. Pyrolysis. *Energy & fuels*, 20(6), 2666-2671.

Wilson C.A.; Novak J.T. 2009. Hydrolysis of macromolecular components of primary and secondary wastewater sludge by thermal hydrolytic pretreatment. *Water Research.*, 43, 4489–4498.

World Energy Balances, Ed. 2015, France. *Energy Balances of OECD Countries*, International Energy Agency, Ed. 2015, France.

Yang X.; Wang X.; Wang L. 2010. Transferring of components and energy output in industrial sewage sludge disposal by thermal pretreatment and two-phase anaerobic process. *Bioresour Technol.*, 101 (8), 2580–2584.

Wyman, C. E. 1999. Biomass ethanol: technical progress, opportunities, and commercial challenges. *Annual Review of Energy and the Environment*, 24(1), 189-226.

Wyman, C. E., Decker, S. R., Himmel, M. E., Brady, J. W., Skopec, C. E., & Viikari, L. 2005. Hydrolysis of cellulose and hemicellulose. *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*, 1, 1023-1062.

Xiao, W., & Clarkson, W. W. 1997. Acid solubilization of lignin and bioconversion of treated newsprint to methane. *Biodegradation*, 8(1), 61-66.

Yang X.; Wang X.; Wang L. Transferring of components and energy output in industrial sewage sludge disposal by thermal pretreatment and two-phase anaerobic process. 2010 *Bioresour Technol.*, 101 (8), 2580–2584.



Toshimasa, Y. A. N. O., Nakahara, T., Kamiyama, S., & Yamada, K. 1966. Kinetic Studies on Microbial Activities in Concentrated Solutions. Part. I. Agricultural and Biological Chemistry, 30(1), 42-48.

Ying-Chih Chiu, Cheng-Nan Chang, Jih-Gaw Lin, Shwu-Jiuan Huang. 1997. Alkaline and ultrasonic pretreatment of sludge before anaerobic digestion. Water Science and Technology Volume 36, Issue 11, 1997, Pages 155–162

Zhao, X., Cheng, K., Liu, D., 2009. Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. Appl. Microbiol. Biotechnol. 82, 815–827.

Zhao, X., Wang, L., Lu, X., & Zhang, S. 2014. Pretreatment of corn stover with diluted acetic acid for enhancement of acidogenic fermentation. Bioresource technology, 158, 12-18.

ANEXOS



ANEXO A ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

5.1 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla A pre-tratamiento Térmico (PTT)

El análisis estadístico fue realizado a partir de las siguientes hipótesis:

Para los tiempos de exposición al tratamiento:

Ho: $\tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ No existe diferencia entre los tiempos de exposición (30, 60 Y 90 min).

H₁: $\tau_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tiempo de exposición es diferente.

Para la temperatura de tratamiento:

Ho: $\beta_1 = \beta_2 = \dots \beta_a = 0$ No existe diferencia entre los tratamientos térmicos (80, 85 y 90°C).

H₁: $\beta_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tratamiento térmico es diferente.

Para la interacción entre los dos factores (temperaturas y tiempo de exposición).

Ho: $(\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, es decir, no existe diferencia en todas las combinaciones de temperatura de tratamiento y tiempo de exposición.

H₁: al menos una $(\tau\beta)_{ij} \neq 0$

Para realizar el ANOVA del experimento de parcelas divididas, se seleccionó como variable de respuesta el porcentaje de hidrólisis. La tabla 5.1 muestra el análisis de varianza para la mezcla A obtenida mediante el software NCSS 2007.



Tabla 5.1 Análisis de varianza mezcla A, tasa de hidrólisis PTT

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel de significancia	Poder
A: Bloque	2	0.2096963	0.1048481			
B: Tiempo	2	58.94814	29.47407	907.57	0.000005*	1.000000
AB	4	0.1299037	3.247593E-02			
C: Temperatura	2	14.79672	7.398359	38.56	0.002431*	0.998893
AC	4	0.7674593	0.1918648			
BC	4	2.325082	0.5812704	3.48	0.062839	0.600291
ABC	8	1.336541	0.1670676			
S	0	0				
Total (ajustado)	26	78.51354				
Total	27					

*Término significativo de $\alpha=0.05$

La columna denominada nivel de significancia de la prueba F, para probar a un alfa de 0.05, tiene que ser menor que 0.05 para hacer que la prueba F sea significativa. Se debe tomar en cuenta que si el valor es significativo en el valor especificado de alfa, se coloca un asterisco a la derecha de la relación F. Por otra parte, la columna denominada poder, es la probabilidad de rechazar la hipótesis de que las medias son iguales cuando en realidad no son iguales. Obtener un valor alto en la prueba poder es deseable, ya que significa que hay una alta probabilidad de rechazar la hipótesis nula.

Se asignó al experimento un 95% de confianza, es decir, $\alpha=0.05$. El análisis de varianza realizado muestra que el tiempo de tratamiento (factor B) tiene un efecto significativo en el porcentaje de solubilización de materia orgánica, ya que el valor crítico de F es $F_{0.05, 2, 4} = 6.94$ que comparado con $F_0=907.57$, entonces $907.57 > 6.94$ por lo que se rechaza H_0 y se acepta H_1 .



De igual manera se concluye que la temperatura del tratamiento es significativa en el porcentaje de tasa de hidrólisis y se rechaza H_0 aceptándose H_1 , ya que el valor de F crítica fue $F_{0.05, 2,4} = 6.94$, por lo que $38.56 > 6.94$. Por último la interacción entre el factor tiempo y el factor temperatura no resultó significativo sobre la variable de respuesta debido a que no se cumple la condición $3.48 > 3.84$ y se acepta H_0 .

5.2 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla B pre-tratamiento Térmico (PTT)

Hipótesis

Para los tiempos de exposición al tratamiento:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ No existe diferencia entre los tiempos de exposición (30, 60 y 90 min)

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tiempo de exposición es diferente.

Para la temperatura de tratamiento:

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots \beta_a = 0$ No existe diferencia entre los tratamientos térmicos (80, 85 Y 90 °C).

$H_1: \beta_i \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tratamiento térmico es diferente.

Para la interacción entre los dos factores (temperaturas y tiempo de exposición).

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, es decir, no existe diferencia en todas las combinaciones de temperatura de tratamiento y tiempo de exposición.

$H_1: \text{al menos una } (\tau\beta)_{ij} \neq 0$

Para realizar el ANOVA del experimento de parcelas divididas, se seleccionó como variable de respuesta el porcentaje de hidrólisis de la mezcla B. La tabla 5.2 muestra el análisis de varianza para la mezcla B obtenida mediante el software NCSS 2007.



Tabla 5.2 Análisis de varianza mezcla B tasa de hidrólisis PTT

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel de significancia	Poder
A: Bloque	2	0.1182519	5.912593E-02			
B: Tiempo	2	41.77372	20.88686	115.86	0.000288*	1.0000
AB	4	0.7210815	0.1802704			
C: Temperatura	2	19.58099	9.790493	211.14	0.000088*	1.0000
AC	4	0.1854815	4.637037E-02			
BC	4	1.086882	0.2717204	2.05	0.179423	0.37858
ABC	8	1.058785	0.1323482			
S	0	0				
Total (ajustado)	26	64.52518				
Total	27					

*Término significativo de $\alpha=0.05$

Al fijar en 95% de confianza al experimento se tiene $\alpha=0.05$ y por lo tanto el valor crítico de F para los tiempos de tratamiento es de $F_{0.05, 2,4} = 6.94$, por lo que $115.8 > 6.94$ (tabla 5.2) y al igual que en el caso anterior se concluye que el tiempo de exposición al tratamiento es significativo sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis y la hipótesis nula debe ser rechazada.

En tanto, F en su valor crítico para el factor C (temperatura de tratamiento) $F_{0.05, 2,4} = 6.94$, por lo que $211.14 > 6.94$, el factor temperatura es significativo en el porcentaje de solubilización de materia orgánica. Por último al evaluar estadísticamente la interacción entre el factor B y C se determinó que esta interacción no es significativa ya que $F_{0.05, 4,8} = 3.84$, $2.05 > 3.84$, se acepta H_0 .



5.3 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla A pre-tratamiento ácido (PTA)

Para los tiempos de exposición al tratamiento:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ No existe diferencia entre los tiempos de exposición (30, 60 y 90 min).

$H_1: \tau_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tiempo de exposición es diferente.

Para las dosis del tratamiento ácido:

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots \beta_a = 0$ No existe diferencia entre los tratamientos ácidos (2%, 3% y 4% v/v ácido acético)

$H_1: \beta_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tratamiento ácido es diferente.

Para la interacción entre los dos factores (tratamiento con ácido y tiempo de exposición).

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, es decir, no existe diferencia en todas las combinaciones de tratamiento ácido y tiempo de exposición.

$H_1: \text{al menos una } (\tau\beta)_{ij} \neq 0$

El ANOVA del experimento de parcelas divididas, tuvo como variable de respuesta el porcentaje de hidrólisis de la mezcla A tratada con diferentes dosis de ácido acético y tiempos de exposición al tratamiento. La tabla 5.3 muestra el análisis de varianza para la mezcla A obtenida mediante el software NCSS 2007.



Tabla 5.3 ANOVA tasa de hidrólisis mezcla A PTA

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel de significancia	Poder
A: Bloque	2	2.888889E-02	0.1025926			
B: Tiempo	2	168.6689	84.3337	734.52	0.000007*	1.000000
AB	4	0.3555556	0.1148148			
C:Dosis	2	122.2289	61.69148	314.87	0.000040*	1.000000
AC	4	0.5088889	0.1959259			
BC	4	1.795556	0.4537037	5.81	0.017133*	0.834686
ABC	8	0.4533333	7.814815E-02			
S	0	0				
Total (ajustado)	26	294.04				
Total	27					

*Término significativo de $\alpha=0.05$

Los resultados indican un claro efecto de la dosis aplicada de ácido acético y el tiempo de exposición, así como la interacción entre la dosis y el tiempo de exposición.

5.4 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla B pre-tratamiento ácido (PTA)

Para los tiempos de exposición al tratamiento:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ No existe diferencia entre los tiempos de exposición (30, 60 y 90 min).

$H_1: \tau_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tiempo de exposición es diferente.



Para las dosis del tratamiento ácido:

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_a = 0$ No existe diferencia entre los tratamientos ácidos (2%, 3% y 4% v/v ácido acético).

$H_1: \beta_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tratamiento ácido es diferente.

Para la interacción entre los dos factores (tratamiento con ácido y tiempo de exposición).

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, es decir, no existe diferencia en todas las combinaciones de tratamiento ácido y tiempo de exposición.

H_1 : al menos una $(\tau\beta)_{ij} \neq 0$

Para realizar el ANOVA del experimento de parcelas divididas, se seleccionó como variable de respuesta el porcentaje de hidrólisis de la mezcla B. La tabla 5.4 muestra el análisis de varianza para la mezcla B obtenida mediante el software NCSS 2007.

Al fijar en 95% de confianza al experimento se tiene $\alpha=0.05$ y por lo tanto el valor crítico de F para los tiempos de tratamiento es de $F_{0.05, 2,4} = 6.94$, por lo que $219 > 6.94$ (tabla 5.4) y al igual que en el caso anterior se concluye que el tiempo de exposición al tratamiento es significativo sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis y la hipótesis nula debe ser rechazada.

En tanto, F en su valor crítico para el factor C (tratamiento ácido) $F_{0.05, 2,4} = 6.94$, por lo que $280.31 > 6.94$, el factor tratamiento es significativo en el porcentaje de solubilización de materia orgánica. Por último al evaluar estadísticamente la interacción entre el factor B y C se determinó que esta interacción no es significativa ya que $F_{0.05, 4,8} = 3.84$, $1.23 > 3.84$, se acepta H_0 .



Tabla 5.4 ANOVA tasa de hidrólisis mezcla B PTA

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueb. F	Nivel de significancia	Poder
A: Bloque	2	1.851852E-02	9.259259E-03			
B: Tiempo	2	38.36518	19.18259	219.00	0.000082*	1.00000
AB	4	0.3503704	8.759259E-02			
C:Dosis	2	167.7719	83.88593	280.31	0.000050*	1.00000
AC	4	1.197037	0.2992592			
BC	4	1.11037	0.2775926	1.23	0.371362	0.23610
ABC	8	1.807407	0.2259259			
S	0	0				
Total (ajustado)	26	210.6207				
Total	27					

*Término significativo de $\alpha=0.05$

5.5 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla A pre-tratamiento enzimático (PTE)

Para los tiempos de exposición al tratamiento:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ No existe diferencia entre los tiempos de exposición (60, 90 y 150 min).

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tiempo de exposición es diferente.

Para las dosis del tratamiento enzimático:

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_a = 0$ No existe diferencia entre los tratamientos enzimáticos (0.12 y 0.003% enzima).



$H_1: \beta_i \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tratamiento ácido es diferente.

Para la interacción entre los dos factores (tratamiento con ácido y tiempo de exposición).

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, es decir, no existe diferencia en todas las combinaciones de tratamiento ácido y tiempo de exposición.

H_1 : al menos una $(\tau\beta)_{ij} \neq 0$

Se seleccionó como variable de respuesta el porcentaje de hidrólisis de la mezcla A. La tabla 5.5 muestra el análisis de varianza obtenida mediante el software NCSS 2007 para la mezcla A pre-tratada con hidrólisis enzimática.

Tabla 5.5 ANOVA tasa de hidrólisis mezcla A PTE

Fuente de variació	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueb F	Nivel de significanci	Poder
A: Bloque	2	4.653334E-0	2.326667E-02			
B: Tiempo	2	337.4364	168.7182	55.95	0.001191*	0.999969
AB	4	12.06107	3.015267			
C:Dosis	1	36.40889	36.40889	8.17	0.103714	0.362081
AC	2	8.913645	4.456822			
BC	2	0.1077778	5.388889E-02	0.08	0.928104	0.055938
ABC	4	2.835489	0.7088722			
S	0	0				
Total (ajustado)	17	397.8098				
Total	18					

*Término significativo de $\alpha=0.05$



El análisis de varianza realizado muestra que el tiempo de tratamiento (factor B) tiene un efecto significativo en el porcentaje de solubilización de materia orgánica, ya que el valor crítico de F es $F_{0.05, 2,4} = 6.94$ que comparado con $F_0 = 55.95$, entonces $55.95 > 6.94$ por lo que se rechaza H_0 y se acepta H_1 .

Se concluye que el tratamiento enzimático empleado (dosis de enzima) no es significativo en el porcentaje de tasa de hidrólisis y se acepta H_0 , ya que el valor de F crítica fue $F_{0.05, 1,2} = 18.51$, por lo que $18.51 > 8.17$. Por último la interacción entre el factor tiempo y el factor temperatura no resultó significativo sobre la variable de respuesta debido a que no se cumple la condición $6.39 > 0.08$ y se acepta H_0 .

5.6 Análisis estadístico porcentaje de tasa de hidrólisis mezcla B pre-tratamiento enzimático (PTE)

Para los tiempos de exposición al tratamiento:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ No existe diferencia entre los tiempos de exposición (60, 90 y 150 min).

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tiempo de exposición es diferente.

Para las dosis del tratamiento enzimático:

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots \beta_a = 0$ No existe diferencia entre los tratamientos enzimáticos (0.12 y 0.003% enzima).

$H_1: \beta_i \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos un tratamiento ácido es diferente.

Para la interacción entre los dos factores (tratamiento con ácido y tiempo de exposición).

$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$ para toda i, j , interacción, es decir, no existe diferencia en todas las combinaciones de tratamiento ácido y tiempo de exposición.

$H_1: \text{al menos una } (\tau\beta)_{ij} \neq 0$



Se seleccionó como variable de respuesta el porcentaje de hidrólisis de la mezcla B. La tabla 5.6 muestra el análisis de varianza obtenida mediante el software NCSS 2007 para la mezcla B pre-tratada con hidrólisis enzimática.

Tabla 5.6 ANOVA tasa de hidrólisis mezcla B PTE

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueb F	Nivel de significanci	Poder
A: Bloque	2	1.6528	0.8264			
B: Tiempo	2	75.29504	37.64752	14.20	0.015237*	0.88038
AB	4	10.60297	2.650742			
C:Dosis	1	81.92	81.92	33.45	0.028616*	0.81401
AC	2	4.897733	2.448867			
BC	2	5.125033	2.562517	0.35	0.721346	0.07828
ABC	4	28.88783	7.221958			
S	0	0				
Total (ajustado)	17	208.3814				
Total	18					

*Término significativo de $\alpha=0.05$

Al fijar en 95% de confianza al experimento se tiene $\alpha=0.05$ y por lo tanto el valor crítico de F para los tiempos de tratamiento es de $F_{0.05, 2,4} = 6.94$, por lo que $14.20 > 6.94$ (tabla 5. 6) y al igual que en el caso anterior se concluye que el tiempo de exposición al tratamiento es significativo sobre el porcentaje de tasa de hidrólisis y la hipótesis nula debe ser rechazada.

En tanto, F en su valor crítico para el factor C (tratamiento enzimático) $F_{0.05, 1,2} = 18.51$, por lo que $18.51 > 6.94$, el factor tratamiento es significativo en el porcentaje de solubilización de materia orgánica.



5.7 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla A pre-tratada térmicamente

El análisis estadístico fue realizado bajo las siguientes hipótesis:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ No existe diferencia entre todos los tratamientos térmicos.

$H_1: \tau_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

Para realizar el análisis de varianza, del experimento unifactorial, se empleó la siguiente nomenclatura 0= sin tratamiento, 1= 80°C 90 min, 2=85°C 90 min, 3= 90°C 90 min, la variable de respuesta fue el rendimiento de metano, debido a que el metano es el gas que confiere el valor energético al biogás, de igual manera se realizó una prueba Duncan para comparar las medias obtenidas durante el experimento mediante el software NCSS 2007.

Tabla 5.7 ANOVA mezcla A PTT, rendimiento de metano

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel de significancia	Poder
A: Tratamiento	3	0.5341583	0.1780528	43.78	0.000026*	1.000000
S	8	3.253333E-02	4.066667E-03			
Total ajustado	11	0.5666916				
Total	12					

*Término significativo de $\alpha=0.05$

Se asignó al experimento un 95% de confianza, es decir, $\alpha=0.05$. El análisis de varianza realizado muestra que el tratamiento (factor A) tiene un efecto significativo en el rendimiento de biogás ya que el valor crítico de F es $F_{0.05, 3,8} = 4.07$ que comparado con $F_0 = 43.78$ entonces $43.78 > 4.07$ por lo que se rechaza H_0 y se acepta H_1 .



La tabla 5.7.1 muestra la prueba de medias Duncan, donde se aprecia que, la mayor media estadística la posee el grupo 3 (tratamiento térmico a 90° C y 90 min) y es diferente a los grupos 0,1 y 2.

Grupo	No. de observaciones	Media	Diferencia entre grupos
0	3	0.45	1,2,3
1	3	0.65	0,3
2	3	0.72	0,3
3	3	1.03	0,1,2

Tabla 5.7.1 Prueba Duncan mezcla A PTT rendimiento de metano

5.8 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla B pre-tratada térmicamente

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ No existe diferencia entre todos los tratamientos térmicos.

$H_1: \tau_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

Para realizar el análisis de varianza, del experimento unifactorial, se empleó la siguiente nomenclatura 0= sin tratamiento, 1= 80°C 90 min, 2=85°C 90 min, 3= 90°C 90 min, la variable de respuesta fue el rendimiento de metano, debido a que el metano es el gas que confiere el valor energético al biogás, de igual manera se realizó una prueba Duncan para comparar las medias obtenidas durante el experimento mediante el software NCSS 2007.

95% fue el valor asignado de confianza, es decir, $\alpha=0.05$. El análisis de varianza realizado muestra que el tratamiento (factor A) tiene un efecto significativo en el rendimiento de biogás ya que el valor crítico de F es $F_{0.05, 3,8} = 4.07$ que comparado con $F_0 = 7.09$ entonces $7.09 > 4.07$ por lo que se rechaza H_0 y se acepta H_1 .



Tabla 5.8 ANOVA mezcla B PTT rendimiento de metano

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel de significancia	Poder
A: Tratamiento	3	9.9633E-02	3.32111E-02	7.09	0.012128*	0.865897
S	8	3.7466E-02	4.68333E-03			
Total ajustado	11	0.1371				
Total	12					

*Término significativo de $\alpha=0.05$

La tabla 5.8.1 muestra la prueba de medias Duncan, donde se aprecia que, la mayor media estadística la posee el grupo 3 (tratamiento térmico a 90° C y 90 min) y es diferente a los grupos 0 y 1.

Tabla 5.8.1 Prueba Duncan mezcla B PTT rendimiento de metano

Grupo	No. de observaciones	Media	Diferencia entre grupos
0	3	0.556	3
1	3	0.633	3
2	3	0.706	-
3	3	0.803	0,1

5.9 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla A PTA

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_a = 0$ No existe diferencia entre todos los tratamientos ácidos

$H_1: \tau_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.



Para realizar el análisis de varianza, del experimento unifactorial, se empleó la siguiente nomenclatura 0= sin tratamiento, 1= 2% 90 min, 2=3% 90 min, 3= 3% 90 min, la variable de respuesta fue el rendimiento de metano, se realizó una prueba Duncan para comparar las medias obtenidas durante el experimento mediante el software NCSS 2007.

Se empleó $\alpha=0.05$. El análisis de varianza realizado muestra que el tratamiento (factor A) tiene un efecto significativo en el rendimiento de biogás ya que el valor crítico de F es $F_{0.05, 3,8} = 4.07$ que comparado con $F_0 = 46.10$ entonces $46.10 > 4.07$ por lo que se rechaza H_0 y se acepta H_1 .

La tabla 5.9.1 muestra la prueba de comparación de medias Duncan, donde se aprecia que, la mayor media estadística la posee el grupo 3 (tratamiento térmico a 90° C y 90 min) y es diferente a los grupos 0,1 y 2.

Tabla 5.9 ANOVA mezcla A PTA rendimiento de metano

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel de significancia	Poder
A: Tratamiento	3	0.3964333	0.1321445	46.10	0.000022*	1.000000
S	8	2.293333E-02	2.866667E-03			
Total ajustado	11	0.4193667				
Total	12					

*Término significativo de $\alpha=0.05$

Tabla 5.9.1 Prueba Duncan mezcla A PTA rendimiento de metano

Grupo	No. de observaciones	Media	Diferencia entre grupos
0	3	0.456	2,3
1	3	0.506	2,3
2	3	0.78	0,1,3



3	3	0.89	0,1,2
---	---	------	-------

5.10 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTA

Las hipótesis planteadas fueron:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ No existe diferencia entre todos los tratamientos ácidos

$H_1: \tau_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

Se empleó un experimento unifactorial, y la siguiente nomenclatura 0= sin tratamiento, 1= 2% 90 min, 2=3% 90 min, 3= 3% 90 min, la variable de respuesta fue el rendimiento de metano, se realizó una prueba Duncan para comparar las medias obtenidas durante el experimento mediante el software NCSS 2007.

La tabla 5.10 muestra que se empleó $\alpha=0.05$ para el análisis de varianza realizado. El tratamiento (factor A) tiene un efecto significativo en el rendimiento de biogás ya que el valor crítico de F es $F_{0.05, 3,8} = 4.07$ que comparado con $F_0 = 27.63$ entonces $27.63 > 4.07$ por lo que se rechaza H_0 y se acepta H_1 .

Tabla 5.10 ANOVA mezcla B PTA rendimiento de metano

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel de significancia	Poder
A: Tratamiento	3	0.4136917	0.1378972	27.63	0.000142*	0.999989
S	8	3.993334E-02	4.991667E-03			
Total ajustado	11	0.453625				
Total	12					

*Término significativo de $\alpha=0.05$



La prueba de comparación de medias Duncan reflejó que la mayor media estadística la posee el grupo 3 (tratamiento térmico a 90° C y 90 min) y es diferente a los grupos 0 y 1.

Tabla 5.10.1 Prueba Duncan mezcla A PTA rendimiento de metano

Grupo	No. de observaciones	Media	Diferencia entre grupos
0	3	0.4866667	2,3
1	3	0.553	2,3
2	3	0.85	0,1
3	3	0.92	0,1

5.11 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla A PTE

Las hipótesis planteadas fueron:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ No existe diferencia entre todos los tratamientos enzimáticos

$H_1: \tau_i \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

Se empleó un experimento unifactorial, y la siguiente nomenclatura 0= sin tratamiento, 1= 0.003% 150 min, 2=0.12% 150 min, la variable de respuesta fue el rendimiento de metano, se realizó una prueba Duncan para comparar las medias obtenidas durante el experimento mediante el software NCSS 2007.

Tabla 5.11 ANOVA mezcla A PTE rendimiento de metano

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel de significancia	Poder
A: Tratamiento	2	0.3259556	0.1629778	47.62	0.000208*	0.999
S	6	2.05333E-02	3.4222E-03			



Total ajustado	8	0.3464889
Total	9	

*Término significativo de $\alpha=0.05$

Se empleó $\alpha=0.05$ para el análisis de varianza realizado. El tratamiento (factor A) tiene un efecto significativo en el rendimiento de biogás (tabla 5.11) ya que el valor crítico de F es $F_{0.05, 2, 6} = 5.14$ que comparado con $F_0 = 47.62$ entonces $47.62 > 5.14$ por lo que se rechaza H_0 y se acepta H_1 .

Por otra parte la prueba de medias Duncan (tabla 5.11.1) señala que la mayor media estadística es la del grupo 1 (dosis 0.003% enzima 150 min), sin embargo la media solo existe diferencia con el grupo 0, que representa las pruebas de biodegradabilidad sin pre-tratamiento enzimático.

Tabla 5.11.1 Prueba Duncan mezcla A PTE rendimiento de metano

Grupo	No. de observaciones	Media	Diferencia entre grupos
0	3	0.4566667	2,1
2	3	0.81	0
1	3	0.8966666	0

5.12 Análisis estadístico para pruebas de biodegradabilidad mezcla B PTE

Las hipótesis planteadas fueron:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots \tau_a = 0$ No existe diferencia entre todos los tratamientos enzimáticos



$H_1: \tau_1 \neq 0$ Para al menos un i . Es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

Se empleó un experimento unifactorial, y la siguiente nomenclatura 0= sin tratamiento, 1= 0.003% 150 min, 2=0.12% 150 min, la variable de respuesta fue el rendimiento de metano, se realizó una prueba Duncan para comparar las medias obtenidas durante el experimento mediante el software NCSS 2007.

Tabla 5.12 ANOVA mezcla B PTE rendimiento de metano

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media de cuadrados	Prueba F	Nivel de significancia	Poder
A: Tratamiento	2	0.17388	8.69444E-02	24.84	0.001251*	0.99810
S	6	0.021	0.0035			
Total ajustado	8	0.19488				
Total	9					

Se empleó $\alpha=0.05$ para el análisis de varianza realizado. El tratamiento (factor A) tiene un efecto significativo en el rendimiento de biogás (tabla 5.12) ya que el valor crítico de F es $F_{0.05, 2, 6} = 5.14$ que comparado con $F_0 = 24.84$ entonces $24.84 > 5.14$ por lo que se rechaza H_0 y se acepta H_1 .

Tabla 5.12.1 Prueba Duncan mezcla B PTE rendimiento de metano



Grupo	No. de observaciones	Media	Diferencia entre grupos
0	3	0.4866667	2,1
2	3	0.7533333	0
1	3	0.8033333	0

Por otra parte la prueba de medias Duncan (tabla 5.12.1) señala que la mayor media estadística es la del grupo 1 (dosis 0.003% enzima 150 min), sin embargo la media solo existe diferencia con el grupo 0, que representa las pruebas de biodegradabilidad sin pre-tratamiento enzimático.