

**PRODUCCIÓN DE BIOGÁS USANDO COMO SUSTRATO RESIDUOS  
INDUSTRIALES DE MASA DE GALLETA**

**ESTEBAN CARDONA GIRALDO  
SOFÍA ALEJANDRA ZÚÑIGA GUTIÉRREZ**

**Proyecto integral de grado para optar por el título de Ingeniero químico**

**Director**

**Harvey Andres Milquez Sanabria**

**Ingeniero Químico**

**MsC Ingeniería Química**

**PhD Ciencias - Energías Renovables**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA**

**FACULTAD DE INGENIERÍAS**

**PROGRAMA INGENIERÍA QUÍMICA**

**BOGOTÁ D.C.**

**2024**

**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

---

---

---

---

Nombre  
Firma del Director

---

Nombre  
Firma del Presidente Jurado

---

Nombre  
Firma del Jurado

---

Nombre  
Firma del Jurado

Bogotá D.C., Junio de 2024

## **DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD**

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro.

Dr. Mario Posada García- Peña.

Consejero Institucional.

Dr. Luis Jaime Posada García - Peña

Vicerrectora Académica de Investigaciones.

Dra. María Fernanda Vega de Mendoza

Vicerrectora de Investigaciones y Extensión.

Dra. Susan Margarita Benavides Trujillo

Vicerrector Administrativo y Financiero.

Dr. Ramiro Augusto Forero Corzo

Secretario General.

Dr. José Luis Macías Rodríguez.

Decana de la Facultad de Ingenierías.

Ing. Naliny Patricia Guerra Prieto.

Directora del Programa de Ingeniería Química.

Ing. Nubia Liliana Becerra Ospina

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
OBJETIVOS	11
1. MARCO REFERENCIAL	12
1.1. Marco teórico	12
1.1.1. Parámetros observados durante la fermentación	12
1.1.2. Condiciones de pretratamiento y fermentación	16
1.1.3. Posibles rutas metabólicas dadas en la fermentación	18
2. METODOLOGÍA	21
2.1. Caracterización de materia prima	21
2.2. Pretratamiento	22
2.3. Digestión anaerobia	32
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	41
3.1. Caracterización de materia prima	41
3.2. Pretratamiento	44
3.3. Digestión anaerobia	55
3.3.1 Estabilización del inóculo	55
3.3.2. Alimentación Con Masa de Galleta	60
4. CONCLUSIONES	73
5. RECOMENDACIONES	74
6. BIBLIOGRAFÍA	75

## LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Producción en función de tiempo de hidrólisis, de acuerdo a proceso utilizado</i>	17
<i>Figura 2. Producción de biogás en función del tiempo de fermentación a diferentes temperaturas</i>	18
<i>Figura 3. Montaje de hidrólisis planteado.</i>	28
<i>Figura 4. Montaje de hidrolizado de biomasa empleado.</i>	32
<i>Figura 5. Montaje de fermentación de biomasa empleado.</i>	35
<i>Figura 6. Representación de operaciones de proceso y denominación de corrientes</i>	39
<i>Figura 7. Curva de calibración de glucosa.</i>	45
<i>Figura 8. Curva de calibración de glucosa.</i>	47
<i>Figura 9. Concentración de metano en la estabilización del inóculo.</i>	55
<i>Figura 10. Relación entre ácidos grasos volátiles y alcalinidad.</i>	57
<i>Figura 11. Comparación de producción de metano acumulada.</i>	62
<i>Figura 12. Rendimiento de producción de metano.</i>	64
<i>Figura 13. Balance de masa del proceso completo.</i>	72

## RESUMEN

El presente trabajo presenta como objetivo principal el comprobar si es posible la producción de biogás en base a una alimentación de hidrolizado de masa de galletas, de esta manera aprovechando todos los residuos producidos por la industria alimenticia.

Tras realizar los correspondientes análisis estadísticos del proceso de pretratamiento para la biomasa, se realizó el proceso de hidrolizado por medio de un reactor CSTR, obteniendo una solución con ácido clorhídrico de pH 1 por dos horas y  $50^{\circ} \text{C} \pm 10^{\circ} \text{C}$ . Por parte de la biomasa objeto de estudio, se realizaron pruebas de caracterización de la materia prima deseada y de esta prever la necesidad de algún tipo de suplemento alimenticio para una correcta relación carbono nitrógeno. Este proyecto se llevó a cabo por medio de un reactor UASB el cual fue inoculado con estiércol vacuno y porcino, este sistema se manejó bajo condiciones de temperatura mesofílicas rondando los  $35^{\circ}\text{C}$ , fue estabilizado por 2 meses por medio de un alimento artificial basado en glucosa. Se realizaron mediciones diarias, de concentración de metano, volumen de gas producido, alcalinidad, y AGVs. Este reactor se alimentó diariamente con  $5 \text{ kg/m}^3$  día como valor equivalente a la carga orgánica. Por medio del hidrolizado obtenido se alimentó el reactor UASB por 10 días, con una carga orgánica de  $1.8 \text{ kg/m}^3$  al día manteniéndose con una retención hidráulica de 10 días.

Una vez obtenidos los resultados de los 10 días de fermentación con el hidrolizado, se pudo obtener un buen rendimiento en la producción de metano con este, llegando en su punto máximo en el tercer día con un valor de  $0.75 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg DQO}$  removido a pesar de presentar ciertas variaciones en su comportamiento. A este rendimiento se le puede asociar una concentración máxima de 65.8% de metano y 680 mL de biogás.

**PALABRAS CLAVE:** Hidrólisis, fermentación anaerobia, biogás, biomasa, estabilización, inóculo.

## INTRODUCCIÓN

Los combustibles fósiles son unas de las principales fuentes de energía utilizadas a nivel mundial. Específicamente el gas natural es muy usado a nivel industrial en diferentes maquinarias y procesos, esto debido a que su naturaleza es muy beneficiosa para la industria. De acuerdo con valores brindados por la universidad de Oxford el uso de gas fósil generó en EEUU 1.64 billones de toneladas de CO<sub>2</sub> en el año 2,021, siendo este uno de los principales gases de efecto invernadero [1]. En la actualidad se ha priorizado la transición de combustibles fósiles a otros tipos de combustibles más amigables con el medio ambiente. La finalidad de estos es ser neutros en dióxido de carbono en la atmósfera, ya que el CO<sub>2</sub> resultante de la combustión de fuentes fósiles libera una carga de carbono que no está contemplada en la atmósfera, pero sí en la fijación del suelo.

De acuerdo con los últimos pronósticos de Ecopetrol, Colombia tiene reservas de petróleo hasta el 2,030, lo que causaría una crisis energética en el país, por lo que actualmente se están realizando arduas investigaciones en busca de un sustituto para el combustible tradicional de origen fósil. Actualmente se está viviendo una crisis ambiental, a la cual ciertas comunidades señalan como causa la gran cantidad de combustibles fósiles que están siendo utilizados no solo en el sector transporte, sino también para la producción de calor para procesos industriales y producción de energía eléctrica, generando en simultaneidad (como producto de la combustión) los gases de efecto invernadero. Lo anterior es un gran problema si nos referimos a las consecuencias ambientales que esto refiere, debido a que si no se realizan cambios en las matrices energéticas el consumo energético seguirá avanzando de manera exponencial (como lo hace actualmente) que se extinguirían a mayor velocidad las fuentes de energía fósil, por este motivo es preciso realizar diferentes investigaciones para suplir estos déficits de combustibles fósiles [3][2].

Actualmente se tiene otra problemática a nivel industrial, esta es el desperdicio de alimentos en cada línea de proceso, ya que únicamente el procesamiento industrial de alimentos representa el 34% de las pérdidas de la cadena alimentaria según el Departamento Nacional de Planeación (DNP) [4]. Para ejemplificar esto se obtiene que en el año 2,021 el grupo Nutresa reportó que se tienen pérdidas (provenientes de procesos de producción) de comestibles cercanas a 11,191.70 toneladas y cerca de 3,086.9 toneladas de desperdicio (provenientes de distribución y consumo) anual. Los productos que más se pierden o desperdician son galletas y mezcla de galletas dulces y de sal.

Teniendo presente que estos desperdicios tienen diferentes usos, desde alimento para ganado (con un 87.6%), compostaje (cerca del 7.4%); pese a esto, alrededor del 4.8% terminan en un vertedero [5].

En respuesta a las problemáticas mencionadas anteriormente se propone la producción de biogás, el cual es una de las alternativas a los combustibles fósiles más estudiada y elaborada en la actualidad, esto gracias a su versatilidad de sustratos usados como fuente de carbono y su aporte a la biodegradabilidad, se sabe que los residuos que son empleados con mayor frecuencia para la generación de este biogás son desechos agrícolas y desechos animales.

Si bien a nivel global se tiene aprovechamiento de múltiples materias primas y residuos alimenticios o lixiviados generados de manera transversal en todas las industrias, no se ha tomado la oportunidad de usar la fermentación de la mezcla líquida o galleta húmeda para generar este biogás, esto se puede afirmar gracias a la carencia de información con respecto a este proceso, y según las cifras otorgadas por Nutresa estos residuos son los producidos en mayor cantidad.

El biogás como se menciona anteriormente entra a ser parte de las energías renovables, por lo tanto, los objetivos de desarrollo sostenible entran a jugar un papel importante, analizando el potencial de biogás para ser principalmente una energía asequible y no contaminante. Por este motivo se parte del área del aprovechamiento energético; esto permite que el ciclo del dióxido de carbono sea más rentable, ya que se no se generan combustibles por medio de CO<sub>2</sub> ya perteneciente a diferentes niveles del subsuelo, si no que se toma fuentes de carbono como en este caso alimentos que hacen parte del ciclo el dióxido de carbono de la atmósfera, de esta manera se podría considerar la neutralidad en la huella de carbono.

Para sintetizar es pertinente mencionar que proyectos de esta índole pueden ser de interés de múltiples empresas del sector alimenticio, ya que a nivel industrial siempre hay pérdidas en cualquier paso de la etapa de producción. En este caso se parte de estas materias primas (masa de galletas) que tienden a fermentar sin dejar un producto de valor cuando esto sucede. Para futuras investigaciones se puede plantear la combinación de dos o más sustratos que tengan origen y composiciones diferentes, pueden llegar a mejorar la eficiencia de la digestión anaerobia. Esto ofrece diferentes beneficios gracias al ajuste de factores físico químicos tales como la temperatura,

el pH, la relación carbono/nitrógeno, relación sustrato/inóculo, entre otros; teniendo como finalidad mejorar la producción de biogás. Sumado a esto también está una unificación de los diferentes sectores de la industria de alimentos [6].

Este proyecto nace como una oportunidad de aprovechamiento de una materia prima que por lo general es un residuo industrial. El uso actual que tiene esa materia prima es ser alimento de ganado, si este no se logra vender en su totalidad se fermenta en un lapso de cuatro días, teniendo un impacto económico negativo. En un panorama global esto implica pérdidas económicas para la empresa ya que se usó materia prima que no tendrá ningún tipo de rentabilidad. Al momento de implementar un biodigestor para la producción de biogás se podría implementar como fuente energética en las máquinas que requieren combustión de gas.

En Colombia se está optando por esta transición según lo registra Consejo Nacional De Política Económica Y Social (CONPES) [7] en el año 2,022, en este reporte se presencia como desde el Ministerio de Minas y Energía colombiano hasta la UPME promueven el uso de biogás como el sustituto de combustibles líquidos, o en regiones municipales la sustitución del uso de la leña para fines de combustión [7].

Por último, la ingeniería se ha enfocado en los últimos años a desempeñar un papel crucial para cumplir con los objetivos de desarrollo sostenible (ODS). En el enfoque de esta investigación se reflejan tres que son muy compatibles y cercanos entre ellos. En primer lugar, tenemos el ODS número siete, este propone obtener energía de forma asequible y no contaminante, puntualmente el objetivo 7.2; al tratarse de fuentes de carbono fijas su combustión no equivale a una fuente altamente contaminante. Por parte de asequibilidad tener un biodigestor se puede implementar desde zonas rurales hasta en parques industriales. El objetivo número doce es producción y consumo responsable, este se ve reflejado en el aprovechamiento de los residuos industriales, que basados en los datos anteriores son un desperdicio significativo gracias a la cultura consumista. Esto está estrechamente ligado al objetivo de desarrollo sostenible número 12.5.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Analizar el rendimiento de producción de biogás utilizando como sustrato materia prima orgánica residual de la industria alimenticia (masa de galleta), por medio de digestión anaeróbica.

### **Objetivos específicos**

1. Caracterizar la biomasa inicial obteniendo la relación carbono nitrógeno de partida.
2. Evaluar las condiciones de proceso del pretratamiento previo a la fermentación anaerobia.
3. Producir biogás por medio de una fermentación anaerobia en un biodigestor.

# 1. MARCO REFERENCIAL

## 1.1. Marco teórico

### 1.1.1. *Parámetros observados durante la fermentación*

1.1.1.i. Demanda Química de Oxígeno (DQO). La demanda química de oxígeno (DQO) es la cantidad de oxígeno necesaria para descomponer químicamente la materia orgánica. En casos de un sistema anaerobio las bacterias convierten los componentes orgánicos en biogás, este suele estar compuesto en su mayoría por metano, y en una menor medida por dióxido de carbono. Al momento de hablar del DQO en el reactor se suele asumir que el 10% de este durante el proceso anaeróbico es utilizado para la producción de biomasa [8].

Dependiendo del tipo de reactor utilizado al momento de realizar la fermentación anaeróbica se determinará la tasa de carga orgánica. Estos pueden clasificarse como reactores de alta o baja velocidad, los reactores de baja velocidad son aquellos que no se encuentran mezclados y condiciones como la temperatura no están controladas, este tipo de reactores suelen tener una carga orgánica diaria en un rango de  $1-2 \text{ kg de DQO}/\text{m}^3 \text{ dia}$ , este tipo de reactores no suelen ser buenos para la producción de Biogás. Por otro lado están los reactores de alta velocidad, estos mantienen un alto nivel de biomasa, estos consisten principalmente en un reactor continuo con agitación, que opera bajo condiciones mesofílicas y termofílicas, estos reactores tienen un amplio rango de tasa de carga orgánica, yendo desde los 5 hasta los  $30 \text{ kg de DQO}/\text{m}^3 \text{ dia}$  o incluso mayores [19].

1.1.1. ii. Temperatura. De acuerdo a un artículo de la UNAD de los 3 rangos de temperatura, siendo estos psicrófila, mesófila y termófila, las bajas temperaturas afectan negativamente la velocidad de crecimiento y actividad metanogénica, mientras por otro lado la digestión anaerobia termófila ( $55-70^\circ\text{C}$ ), tiene una ventaja sobre la digestión mesófila ( $37^\circ\text{C}$ ) la cual resulta en una velocidad de reacción más rápida y mayor productividad comparada con la digestión anaerobia mesófila. Distintos autores afirman diferentes temperaturas óptimas para la producción de biogás, por un lado, se afirma que la digestión anaerobia puede ocurrir en la gama termófila, con un

óptimo en las proximidades de los 55°C, mientras por otro lado otro estudio afirma que en un rango mesofílico de 20 a 34.2°C se es más efectivo el proceso de producción de biogás [9].

1.1.1.iii. Alcalinidad y pH de clarificado. La cantidad de iones presentes en el agua, que tienen la capacidad de neutralizar los iones hidrógeno, se denomina alcalinidad. Los principales componentes asociados con la alcalinidad incluyen bicarbonato, carbonato e hidróxido [10]. Este concepto está estrechamente relacionado con el pH (potencial de hidrógeno) dentro del reactor. El pH óptimo para cultivos mixtos (tal como es el caso de este estudio) se encuentra en el rango entre 6.8 y 7.4.

Si el equilibrio del pH de un sistema anaeróbico está dentro de límites aceptables, a menudo está regulado por la alcalinidad natural del sistema. El amoníaco se libera durante la descomposición de la materia orgánica, especialmente de las proteínas. En teoría, cada molécula de nitrógeno orgánico produce la misma cantidad de alcalinidad. El amoníaco se combina con el dióxido de carbono en una reacción bioquímica para formar bicarbonato de amonio, que contribuye a la alcalinidad del sistema [8].

Es frecuente emplear el pH como una medida para supervisar la efectividad operativa del sistema. No obstante, es relevante considerar que las interacciones del efluente con el entorno pueden provocar fluctuaciones en el pH debido a cambios en la presión parcial de los gases ácidos disueltos, especialmente el dióxido de carbono como fue mencionado anteriormente.

1.1.1. iv. Ácidos grasos volátiles (AGVs). Los ácidos grasos de cadena corta, con una extensión de hasta seis átomos de carbono, representan los principales productos finales resultantes de la fermentación microbiana en el sistema digestivo de los rumiantes [11].

La acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) conlleva a una redistribución del bicarbonato hacia el CO<sub>2</sub> disuelto, parte del cual se transformará en gas. Este exceso de AGV en el digestor resulta en una carga orgánica excesiva y acidificación del contenido del mismo, lo que puede llevar al fracaso del proceso [12].

Desde el panorama de eficiencia se tiene el concepto de ácidos grasos como una disminución en eficiencia de la fermentación dentro de cualquier proceso fermentativo. Los valores que pueden tomar estos pueden oscilar entre 20,000 y 40,000 ppm (si no se tiene presente la relación con el DQO o AGVs propios del inóculo), empezando a tener comportamientos inhibidores desde las 40,000 ppm de ácidos grasos volátiles [13]. Por otro lado, se obtiene que los ácidos grasos volátiles no deberían superar el valor de 50 a 250 ppm, este valor no es reglamentario debido a que depende del contenido de nitrógeno y posible amoníaco presente durante toda la fermentación en el biodigestor [14].

1.1.1.v. Fermentación anaerobia. La fermentación anaerobia es un proceso en el que las células obtienen energía de los carbohidratos en ausencia de oxígeno u otros aceptores de electrones en el entorno. A diferencia de la respiración anaerobia, que utiliza aceptores de electrones distintos al oxígeno, la fermentación anaerobia emplea enzimas para añadir un grupo fosfato a una molécula de adenosina difosfato (ADP), produciendo ATP. Este mecanismo, conocido como fosforilación a nivel de sustrato, es crucial en la producción de biogás. El biogás consiste principalmente en metano ( $\text{CH}_4$ ) y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), con pequeñas cantidades de hidrógeno ( $\text{H}_2$ ), sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ) y nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) [15]. La fermentación anaerobia es realizada por una variedad de microorganismos, predominantemente anaerobios facultativos. Estos microorganismos son fundamentales para la descomposición de la materia orgánica y la generación de biogás, convirtiendo este proceso en una parte esencial del ciclo de la materia orgánica en la naturaleza [15].

1.1.1.vi. Inóculo. En un proceso de fermentación, el inóculo se refiere a una mezcla de microorganismos que se añade al medio de cultivo para dar inicio a la fermentación. Este inóculo puede incluir diversos tipos de microorganismos, como bacterias, levaduras u otros necesarios para el proceso fermentativo específico. La incorporación del inóculo es crucial para comenzar y regular la fermentación, ya que los microorganismos en el inóculo son responsables de iniciar las reacciones bioquímicas que resultan en el producto deseado, como el alcohol en la elaboración de cerveza o vino [16]. El inóculo proporciona las cepas de microorganismos necesarias para llevar a cabo la fermentación de forma controlada y eficiente, lo cual es fundamental en la producción de una variedad de productos fermentados, incluyendo bebidas alcohólicas, productos lácteos y alimentos fermentados [17] o como en el caso de esta investigación, biocombustibles.

1.1.1.vii. Reactor UASB. El reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) es un tipo de biorreactor tubular que funciona de manera continua con un flujo ascendente. Se emplea en tratamientos primarios para estabilizar la materia orgánica inicial, tanto en plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas como en plantas de tratamiento de efluentes industriales. Este reactor es capaz de procesar aguas residuales con alta carga orgánica, convirtiendo el efluente en biogás y fertilizante estabilizado. El funcionamiento del reactor UASB se basa en el movimiento ascendente del afluente a través de una capa de lodo suspendido, que filtra y trata las aguas residuales al pasar por esta capa. Este proceso permite transformar efluentes con alta carga orgánica en biogás y fertilizante estabilizado [18].

1.1.1. viii. Tasa de Retención hidráulica (TRH). El tiempo de retención hidráulica (TRH) indica la cantidad de días que el material permanece en el digestor. Este se calcula como la relación entre el volumen del digestor y el caudal diario de alimentación. El TRH determina el periodo disponible para que la población microbiana crezca y realice la bioconversión de los sustratos en biogás. Principalmente, el TRH depende del tipo de sustrato y de las condiciones operativas del proceso, especialmente la temperatura. En un reactor mesofílico, el TRH varía entre 14 y 40 días, mientras que en un reactor termofílico, oscila entre 14 y 20 días [19].

1.1.1. ix. Tasa de Carga Orgánica (TCO). La tasa de carga orgánica (TCO) se refiere a la cantidad de materia orgánica que se introduce en el reactor para su biodigestión, medida por unidad de volumen del reactor y por unidad de tiempo [20].

Durante los primeros días de la fermentación, añadir un gran volumen de material nuevo diariamente puede alterar significativamente el entorno del digestor y temporalmente inhibir la actividad bacteriana. Esto sucede porque las bacterias responsables de la hidrólisis y acidificación pueden generar una cantidad excesiva de ácidos grasos volátiles a partir del exceso de sustrato en un corto período. Como resultado, el pH del digestor disminuye y las bacterias metanogénicas no pueden convertir tantos ácidos en metano [21].

### 1.1.2. Condiciones de pretratamiento y fermentación

Al momento de analizar la influencia de la temperatura al momento de realizar una hidrólisis en medio ácido, se referenció a un artículo por M. He *et al*, donde se monitorean diferentes productos y variables en la producción de biogás, esto se realizó en residuos alimenticios como biomasa. Al realizar los experimentos a tres temperaturas de hidrólisis distintas se detectó que la producción de biogás alcanzó su máximo valor en el primer día, pero con distintos valores de acuerdo a la temperatura utilizada. Se observó que la mayor producción se obtuvo a una temperatura de 55°C con una producción de 3,515 mL, en segundo lugar, a una temperatura de 70°C se obtuvieron 2,475 mL y por último a 35°C se obtuvieron 1,870 mL.

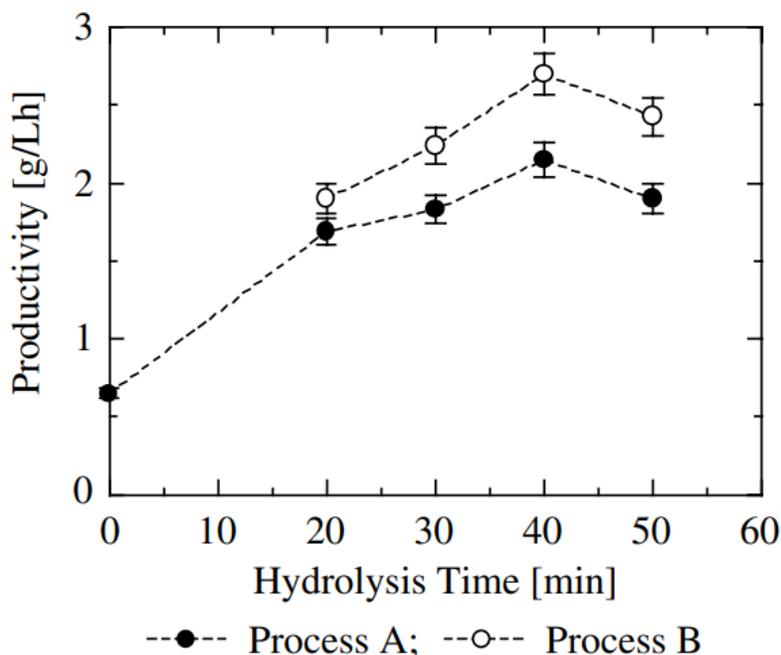
En estudios previos se mostró que en fases ácidas se benefició en mayor manera la producción de hidrógeno [22] [23].

Al momento de analizar el medio para realizar la hidrólisis y su importancia en el experimento se hace referencia al artículo realizado por T. Fan *et al*, donde se analizaron resultados de fermentación de residuos alimenticios, a los que previamente se le realizó un tratamiento por hidrólisis, específicamente en medio ácido.

Como se puede observar en la **Figura 1**, inicialmente se utilizó un pH de 1 para el medio de la hidrólisis haciendo uso de HCl a una concentración de 6 M, el proceso se llevó a cabo a una temperatura de 121°C por 20 min al cual posteriormente se realizó el proceso de fermentación, siendo este proceso llamado “Proceso B”. Posteriormente se llevó a cabo la fermentación de los residuos sin un proceso de hidrólisis para comparar los resultados, siendo llamado este “Proceso A” [24].

**Figura 1.**

*Producción en función del tiempo de hidrólisis, de acuerdo al proceso utilizado.*

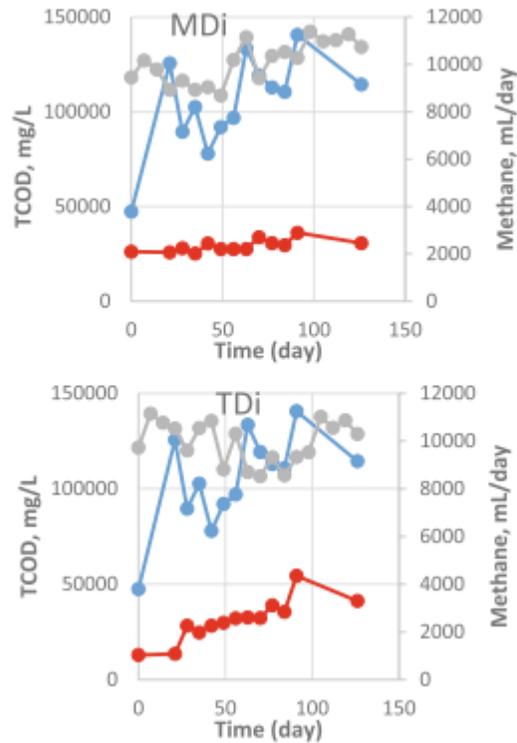


*Nota.* La figura representa la productividad de la hidrólisis ácido, usando como medio ácido clorhídrico a pH 1. Tomado de T. Fan *et al.*, “Hydrolysis of food waste by hot water extraction and subsequent *Rhizopus* fermentation to fumaric acid,” *Journal of Environmental Management*, vol. 270, pp. 110954–110954, Sep. 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110954>.

Al momento de determinar los rangos de temperatura a los cuales se llevaría a cabo la digestión anaerobia se hace referencia a un artículo publicado por Zamanzadeh et al. donde se puede evidenciar en la **Figura 2** como se realizaron estudios de producción de biogás a 2 diferentes temperaturas en el momento de fermentación por 150 días, siendo estas temperaturas de 37°C (Mesofílica) y 55°C (Termofílica), en donde al final del estudio se encontró que a un largo plazo y en total hubo una mayor producción de biogás a las temperaturas de 37°C, teniendo una baja producción en los primeros 50 días, para después tener un aumento significativo, mientras con la temperatura de 55°C hubo una alta producción de biogás los primeros 50 días para luego caer y volver a subir el día 100, donde se puede observar que a largo plazo, una temperatura de 37°C es más eficiente [25].

**Figura 2.**

*Producción de biogás en función del tiempo de fermentación a diferentes temperaturas.*



**Nota.** La figura representa la producción de biogás desde cero hasta 150 días, relacionando la demanda química de oxígeno con el volumen diario producido con 4 diferentes datos de pH. Tomado de M. Zamanzadeh, L. H. Hagen, K. Svensson, R. Linjordet, and S. J. Horn, “Biogas production from food waste via co-digestion and digestion- effects on performance and microbial ecology,” Scientific Reports, vol. 7, no. 1, Dec. 2017, doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15784-w>.

### **1.1.3. Posibles rutas metabólicas dadas en la fermentación**

#### **- Hidrólisis:**

La hidrólisis es el proceso de ruptura de los polímeros que forman los carbohidratos, para liberar moléculas más sencillas como monosacáridos, mejorando así la eficiencia de procesos como la digestión anaeróbica y la fermentación. En la hidrólisis se descomponen polímeros como proteínas, lípidos, vitaminas y polisacáridos, esto se realiza para facilitar procesos posteriores como la fermentación para de esta manera llegar a la obtención del biogás, dicho proceso se puede llevar a cabo previo a la alimentación al digestor o como parte de la ruta metabólica propia de los cultivos microbianos mixtos que están dentro del biodigestor [26].

- ***Acidogénesis:***

En la digestión anaerobia, la acidogénesis representa la segunda etapa del proceso, seguida por la hidrólisis. Durante la acidogénesis, los monómeros simples provenientes de la hidrólisis son convertidos en ácidos grasos volátiles, como lo son el ácido acético y el ácido butírico. Estos productos intermedios son preferibles para la producción de metano, con el ácido acético siendo el responsable del 70% de la formación del metano. La acidogénesis es una reacción biológica que juega un rol fundamental en las fases de la digestión anaerobia, contribuyendo a la producción de ácidos grasos volátiles y otros compuestos orgánicos [27].

- ***Acetogénesis:***

La acetogénesis es la tercera fase de la digestión anaerobia, donde los productos fermentados, por medio de las bacterias acetogénicas, son transformados en acetato, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>, especialmente de ácidos grasos y alcoholes. Estas bacterias, conocidas como acetogénicas, son fuentes obligadas de hidrógeno. Los metanógenos acetoclásticos transforman el ácido acético en metano. En esta fase la concentración de hidrógeno es clave para regular el metabolismo de formación del acetato y el metano [28].

- ***Metanogénesis:***

La metanogénesis es la fase final del proceso de digestión anaerobia. Esta implica la conversión de varios compuestos orgánicos de bajo peso molecular, como el ácido acético y metanol, entre otros, en gas de metano. Las bacterias metanogénicas tienden a ser sensibles a las caídas de pH, lo que puede llevar a la acumulación de los AGVs y una rápida acidificación [29].

La producción de metano en los rumiantes se genera principalmente por una reacción de hidrogenación de dióxido de carbono, generando metano y agua como subproducto de esta reacción metabólica propia de los bovinos, esto debido a que la generación de estos consorcios microbianos tiene un tiempo de generación que ronda entre cuatro horas y doce horas. Estas poblaciones microbianas se ven compuestas en su mayoría por bacterias metanogénicas, siendo las más características *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium formicicum*, *Methanomicrobium mobile*.

Las bacterias metanógenas desempeñan un papel distintivo en la población del rumen al regular la fermentación total mediante la eliminación de  $H_2$ . Como se ha mencionado previamente, la reducción de  $CO_2$  con  $H_2$  constituye el principal método de producción de  $CH_4$  en el rumen. Sin embargo, ciertas bacterias metanógenas, como *Methanosarcina barkerii*, emplean metanol, metilamina y acetato para generar  $CH_4$ . Al reducir la concentración de  $H_2$  a través de la formación de  $CH_4$ , estas bacterias metanógenas fomentan el desarrollo de otras especies bacterianas y facilitan una fermentación más eficiente [30].

La capacidad de las bacterias metanógenas para eliminar el  $H_2$  estimula a especies clave productoras de  $H_2$ , como *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Selenomonas ruminantium*, a generar más  $H_2$ . Este fenómeno altera su metabolismo hacia rutas con mayores rendimientos de energía [30].

## 2. METODOLOGÍA

### - Selección de materia prima

Este proyecto nace como una oportunidad de aprovechamiento de una materia prima que por lo general es un residuo industrial, se logró percibir esta coyuntura al realizar las prácticas empresariales en una maquila de Nutresa. El uso actual que tiene esa materia prima es ser alimento de ganado [5], si este no se logra vender en su totalidad se fermenta en un lapso de cuatro días, teniendo un impacto económico negativo. En un panorama global esto implica pérdidas económicas para la empresa ya que se usó materia prima que no tendrá ningún tipo de rentabilidad. Al momento de implementar un biodigestor para la producción de biogás se podría implementar como fuente energética en las máquinas que requieren combustión de gas.

Al momento de extrapolar el experimento con distintos sustratos, hay que tener en cuenta distintas variables, ya que el diseño del biodigestor es acorde a la caracterización de sólidos presentes, al momento de usar un inóculo basado en excretas animales se tiene que aportar un porcentaje de sólidos, por lo que el régimen de operación se ajusta al funcionamiento de un biodigestor tipo UASB, por parte del alimento, se debe tener un alimento que tenga unos sólidos en suspensión totales mayor a 420 mg/L [31]. Si se desea realizar el mismo experimento, con otro tipo de materia prima se debe tener presente también el régimen mínimo de operación del biodigestor a usar[32]. Por otro lado, se debe tener presente las características de estos sustratos, ya que han de ser ricos en azúcares y carbohidratos (principalmente fuentes de carbono), por otro lado hay que analizar su relación de C/N, para de esta manera determinar si cumple con los estándares que se requieren para una buena dieta microbiana [33], de lo contrario se pueden agregar aditivos y/o suplementos, o simplemente designar la materia prima como sustrato no idóneo para la producción de biogás.

### 2.1. Caracterización de materia prima

#### Objetivo 1

Realizar un análisis de caracterización de la muestra del residuo industrial, los datos principales de interés de la muestra son el porcentaje de carbono orgánico oxidable, porcentaje de humedad, posible contenido de cenizas y por último pero no menos importante el porcentaje de nitrógeno se espera la relación carbono nitrógeno de la muestra inicial. Estos datos son obtenidos por medio de técnicas gravimétricas, volumétricas, espectrofotométricas y destilación por Kjeldahl. La

finalidad de estas mediciones es obtener la relación carbono:nitrógeno al dividir el porcentaje de carbono en el porcentaje de nitrógeno. Sumado a los parámetros anteriores también se realizaron medidas de densidad, pH y conductividad eléctrica.

Debido a que el método utilizado para la obtención de los valores de nitrógeno, son por medio de la utilización de un equipo especializado, siendo este un destilador Kjeldahl, por lo que el proceso de caracterización va a ser enviado a un tercero, siendo este la empresa Agrosavia, la cual es especialista en en caracterización de este tipo de sustratos. [34]

## **2.2. Pretratamiento**

Objetivo 2

### **Equipos:**

Plancha de calentamiento y agitación  
Condensadores  
Balones de destilación  
Agitadores magnéticos  
Mangueras  
Espectrofotómetro  
Celdas de cuarzo, plástico o vidrio  
Reactor de 2-3 L

### **Materiales:**

DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico)  
Agua de refrigeración  
Hidróxido de sodio  
Ácido clorhídrico 37%  
Masa de galleta  
Agua destilada  
Glucosa  
Tartrato de sodio y potasio.

Se analiza en laboratorio a distintas condiciones el método para poder obtener la mayor cantidad de glucosa posible del sustrato. Para poder evaluar los datos del pretratamiento se planteó realizar un diseño de experimentos, en el cual la variable de salida y de crucial importancia es la concentración de glucosa. Para poder realizar estas mediciones se hace uso de la técnica del método DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), el cual es un procedimiento de cuantificación que se basa en una reacción redox que ocurre entre el DNS y los azúcares reductores. Esta es una técnica colorimétrica,

los azúcares reducen al DNS que en su estado puro presenta un color amarillo, variando a una nueva tonalidad que permite su análisis espectrofotométrico a una longitud de onda de 540 nm [35][36].

Para poder realizar una medición de los azúcares presentes en las muestras hidrolizadas, se tiene que primero tener una curva de calibración de glucosa, se parte de glucosa ya que este es el monómero de los carbohidratos a hidrolizar. Esta curva de calibración parte de establecer la absorbancia de muestras cuya concentración es conocida, esto con el fin de poder linealizar y dictaminar una ecuación entre la absorbancia en las muestras y su absorbancia.

Para aplicar esta técnica de cuantificación se parte de la fijación del volumen final de la dilución, el cual será 5 mL, de los cuales 2.5 mL serán del reactivo DNS en cada una de las muestras, el volumen restante será una dilución de glucosa y agua; en las siguientes secciones se explicará el procedimiento desarrollado para las diferentes diluciones de agua y glucosa.

Solución intermedia 100 ppm:

Se preparan 100 mL de solución ( $V_2$ ) a una concentración de 100 ppm ( $C_2$ ), partiendo una solución patrón de 5,000 ppm ( $C_1$ ), por ende es necesario saber cuánto de la solución patrón es requerida para alcanzar esa concentración ( $V_1$ ) haciendo uso de la **Ecuación 1**.

$$C_1V_1 = C_2V_2 \qquad \qquad \qquad \text{Ecuación 1}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

Esto indica que se deben agregar 2 mililitros de la solución patrón de glucosa y completar con 98 mL de agua desionizada para obtener una dilución de una concentración de 100 ppm.

Solución intermedia 500 ppm

Se preparan 100 mL de solución ( $V_2$ ) a una concentración de 500 ppm ( $C_2$ ), partiendo una solución patrón de 5,000 ppm ( $C_1$ ), por ende es necesario saber cuánto de la solución patrón es requerida para alcanzar esa concentración ( $V_1$ ) haciendo uso de la **Ecuación 1**.

$$V_1 = 10 \text{ mL}$$

Esto indica que se deben agregar 10 mililitros de la solución patrón de glucosa y completar con 90 mL de agua desionizada para obtener una dilución de una concentración de 500 ppm.

Una vez se tienen esas diluciones intermedias se hace uso de la misma ecuación de dilución para completar 5 mL de disolución, donde el 50% de esta debe ser el reactivo DNS y las concentraciones de glucosa deben ser 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200 y 250 ppm. Se usan estas medidas para la curva de calibración debido a que el valor de absorbancia a mayores concentraciones es demasiado alto, lo que podría afectar su validez de acuerdo con la ley de Lambert-Beer, la cual dictamina que la relación entre la absorbancia y la concentración se mantiene lineal bajo condiciones específicas, pero puede producir mediciones inexactas a altas concentraciones debido a las fuertes interacciones intermoleculares y electrostáticas entre las moléculas del analito, lo que puede alterar la absorptividad molar de la sustancia [37].

La expresión se usa para conocer el volumen de la solución intermedia de glucosa a agregar, se agrega el 2.5 mL de reactivo DNS (siempre debe ser el 50% de la disolución) y se completa con la cantidad de agua requerida para obtener un dilución de 5 mL, de manera estándar la ecuación de dilución sólo varía la concentración final de glucosa. Para tener un registro de estos cálculos y su respectiva aplicación, se puede observar la **Tabla 1** y la **Tabla 2**.

La glucosa es el patrón para la hidrólisis porque es el monómero más común de los carbohidratos, estos pueden ser monosacáridos, disacáridos y polisacáridos. Siendo la mínima expresión entre este grupo de moléculas los monosacáridos, los cuales son azúcares más simples (los monómeros que constituyen el polímero), siendo entre los más abundantes la glucosa, fructosa y galactosa [38].

La glucosa, a veces también denominada dextrosa, se encuentra en frutas, harinas, cebollas y otras sustancias vegetales; es la sustancia en la que se convierten muchos otros carbohidratos, como los disacáridos y almidones. Por ende, se ha vuelto el estándar en medición de carbohidratos y azúcares no solo en el entorno productivo, también en el sector salud [39].

**Tabla 1.**

Curva de calibración glucosa a bajas concentraciones. (solución glucosa 100 ppm)

Punto De La Curva	Volumen de solución glucosa (mL)	Volumen de agua (mL)	Volumen reactivo DNS (mL)	Concentración final de glucosa (ppm)
Blanco	0	2.5	2.5	0
1	0.5	2	2.5	10
2	1	1.5	2.5	20
3	1.5	1	2.5	30
4	2	0.5	2.5	40

*Nota.* La tabla anterior describe los reactivos y las cantidades necesarias de cada uno para obtener las muestras que serán parte de la curva de calibración, tomando los valores más bajos presentes en esta.

**Tabla 2.**

Curva de calibración glucosa a altas concentraciones. (solución glucosa 500 ppm)

Punto De La Curva	Volumen de solución glucosa (mL)	Volumen de agua (mL)	Volumen reactivo DNS (mL)	Concentración final de glucosa (ppm)
5	0.5	2	2.5	50
6	1	1.5	2.5	100
7	1.5	1	2.5	150
8	2	0.5	2.5	200
9	2.5	–	2.5	250

*Nota.* La tabla anterior describe los reactivos y las cantidades necesarias de cada uno para obtener las muestras que serán parte de la curva de calibración, tomando los valores más altos presentes en esta.

Siguiendo con el método DNS, se procedió a llevar cada una de las muestras a diferentes concentraciones a un baño termostatado precalentado a 90°C por 5 minutos. Una vez pasados los 5 minutos, fueron retirados del baño termostatado y dejar enfriar a temperatura ambiente, para posteriormente realizar las mediciones de absorbancia en el espectrofotómetro a 540 nm [35][36].

#### - *Hidrólisis laboratorio*

Para empezar los procesos de hidrólisis es necesario tener listo de antemano las muestras de galleta, y el ácido clorhídrico. Por parte de la masa húmeda no es necesario ningún tipo de intervención, para el secado de la masa se lleva un mínimo de 48 horas en un horno a 60°C o 65°C [40]. Para obtener una disolución de ácido clorhídrico de pH 1 [24], se debe realizar una relación entre la concentración de iones hidronio y el potencial de hidrógeno. tal como se representa en la *Ecuación 2*.

$$pH = -\log[H_3^+O] \quad \text{Ecuación 2}$$

$$[H_3^+O] = 0.1 \text{ mol/L}$$

Una vez se tiene este valor se procede a realizar un factor de dilución con los datos del ácido clorhídrico presente en la universidad; este corresponde a HCl 37%, equivalente a 12.07 mol/L. Con estos datos se procede a estimar la cantidad de ácido requerida para preparar un litro de una solución pH 1.

Se procede a realizar un factor de dilución con la **Ecuación 1** y los datos del ácido clorhídrico disponible; este corresponde a HCl 37%, equivalente a 12.07 mol/L. Con estos datos se procede a estimar la cantidad de ácido requerida para preparar un litro de una solución pH 1, obteniendo así un volumen requerido de HCl de 8.28 mL para un litro de dilución.

Con la disolución de pH 2 se deben realizar los mismos cálculos que se realizaron para el pH 1, obteniendo como resultado una concentración requerida de 0.01 mol/L y 0.8285 mL de ácido clorhídrico para una dilución de 1,000 mL realizada en un balón aforado de 1 L.

Una vez se tiene la preparación de diluciones de ácido y la masa de galleta se procede a realizar el montaje de hidrólisis, para esto se hizo uso de balones, condensadores, planchas, agua de refrigeración y mangueras de silicona. Sobre las planchas de calentamiento se sitúan los balones con el contenido de ácido clorhídrico, tanto la masa de galleta, manteniendo esta en una relación 1:10 p/v (1 gramo de masa por cada 10 mililitros de ácido clorhídrico) [41]. Para el caso del sistema presentado en la **Figura 3** se emplearon 10 g de masa de galleta y 100 mL de HCl. Cuando se llega a la temperatura deseada, comienza la recirculación por los condensadores. Una vez terminados los tiempos de hidrólisis (60 minutos, 90 minutos y 120 minutos [41]) se retira la muestra de la plancha.

**Figura 3.**  
*Montaje de hidrólisis planteado.*



**Nota:** En la figura se muestra el montaje de hidrólisis, en la superficie de cada plancha se depositó un beaker con el cual se mantuvo el control de la temperatura de cada sistema de forma individual.

Para realizar las mediciones de la absorbancia en el hidrolizado obtenido se lleva la misma metodología que para realizar las curvas de calibración, se realiza una dilución donde el 50% es el reactivo DNS, debido al alto contenido de glucosa para cada una de las muestras del hidrolizado se mantuvo una dilución 10% v/v; obteniendo que todas las muestras estaban compuestas de la siguiente manera: 1 mL de hidrolizado de masa de galleta, 4 mL de agua desionizada y 5 mL de reactivo DNS. Posteriormente se lleva al mismo baño maría precalentado a 90°C por 5 minutos, una vez pasados los 5 minutos, fueron retirados del baño termostatado y dejar enfriar a temperatura ambiente, para posteriormente realizar las mediciones de absorbancia en el espectrofotómetro a 540 nm [35][36].

Por parte de la caracterización necesaria para este alimento resultante de las hidrólisis, se tiene como información de relevancia los sólidos que pueda tener el posible alimento, la determinación de sólidos totales se llevó a cabo por medio de la siguiente ecuación.

$$ST = \frac{(A-B) 1000}{V} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde A representa el peso final del crisol después de pasar por un secado a 103 o 105 °C, B representa el peso inicial de la cápsula en gramos y V el volumen de la muestra desecada en litros. Todo esto para obtener los sólidos totales en mg/L o ppm.

Para calcular los sólidos suspendidos totales se debe hacer uso de la siguiente ecuación, la finalidad es obtener los resultados en mg/L con el fin de poder realizar comparaciones posteriores con los datos registrados en literatura.

$$SST = \frac{\text{Masa filtro a } 105^{\circ}\text{C (mg)} - \text{Masa de filtro preparado (mg)}}{\text{Volumen de la muestra (mL)}} * 1000 \quad \text{Ecuación 4}$$

#### - *Diseño de experimentos*

La finalidad de estas modificaciones en el proceso de hidrólisis es llevar a la siguiente etapa de la metodología aquella que resulte con mejor concentración de azúcares fermentables. Esto se determinará por medio de un análisis de varianza (ANOVA) con una significancia del 5% como se muestra a continuación:

#### *Planteamiento de hipótesis*

Como variables no modificadas o constantes, se tiene la temperatura de hidrólisis que se estableció en 50°C [22], no solo por referentes teóricos, también debido a que las bombas de la Universidad de América tienen una temperatura máxima de operación de 50°C. También se deja establecida la relación biomasa:solvente con una relación 1:10 [41], debido a que el volumen ocupado por la biomasa en el balón no permite incrementar esta relación. Por último, todos los experimentos se llevaron a cabo a presión atmosférica.

Por parte de las variables se tienen 3 factores los cuales son: La primera es el tiempo de hidrólisis, tomando valores entre 60 minutos, 90 minutos y 120 minutos [41]. La siguiente es el potencial de hidrógeno (pH), con dos niveles pH 1 y pH 2 [24]. Por último, se tiene el tipo de masa, en este caso se realizó en masa seca y masa húmeda, este con el fin de optimizar la energía requerida por el sistema [42] y comprobar si en definitiva en base seca se genera mayor glucosa con el mismo gasto energético. Dando como resultado un diseño experimental con un arreglo factorial 3\*2\*2, en vista de que se tienen tres factores, dos con dos niveles y uno con tres niveles posibles (este último es el tiempo de hidrólisis). Para dejar las variables en términos más sencillos se denominan de la siguiente manera los factores a plantear en el diseño de experimentos y sus posibles interacciones:

A = Tiempo de la hidrólisis

B = pH

C = Tipo de masa

n = número de réplicas

### *Hipótesis del ANOVA*

FACTOR A

$$H_0: A = 0$$

$$H_A: A \neq 0$$

FACTOR B

$$H_0: B = 0$$

$$H_A: B \neq 0$$

FACTOR C

$$H_0: C = 0$$

$$H_A: C \neq 0$$

INTERACCIÓN AB

$$H_0: AB = 0$$

$$H_A: AB \neq 0$$

INTERACCIÓN AC

$$H_0: AC = 0$$

$$H_A: AC \neq 0$$

INTERACCIÓN BC

$$H_0: BC = 0$$

$$H_A: BC \neq 0$$

## INTERACCIÓN ABC

$$H_0: ABC = 0$$

$$H_A: ABC \neq 0$$

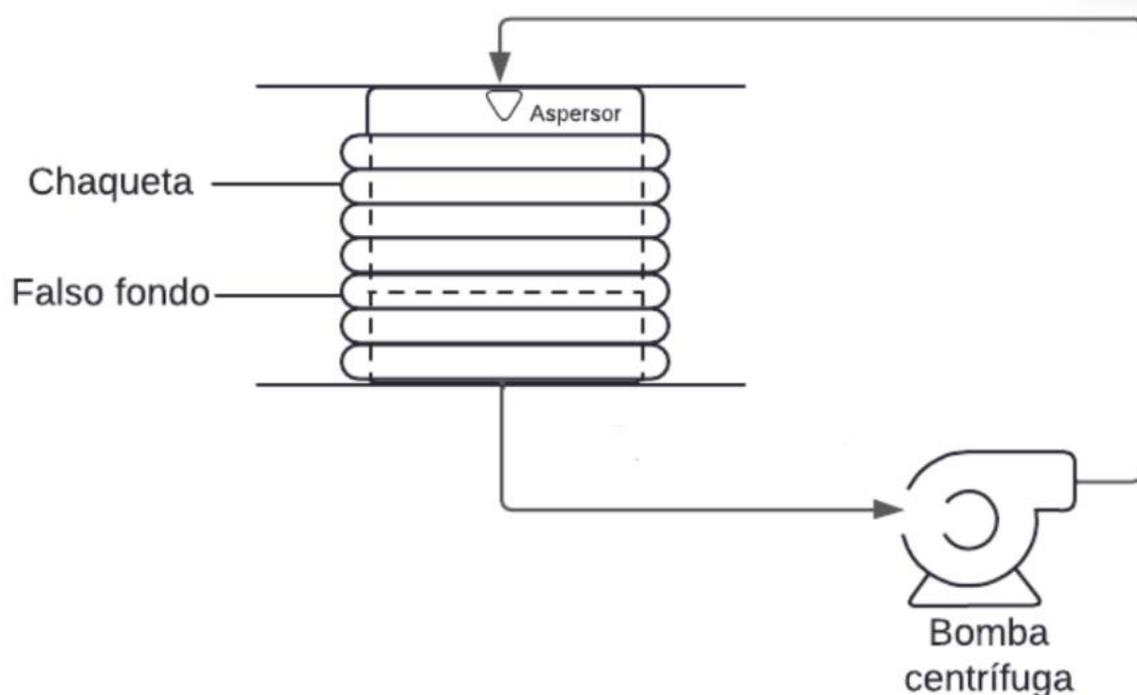
### - *Hidrolizado masa de galletas en CSTR*

Una vez son determinadas las condiciones idóneas para la obtención de azúcares fermentables, se realiza el proceso de hidrolizado final de la masa de galleta en un reactor CSTR, se parte del resultado del ANOVA anterior para determinar el mejor nivel de cada variable a llevar a cabo en este sistema. como el que se puede observar en la **Figura 4**. Este equipo consiste de un cilindro dividido por un falso fondo y en la parte superior consta de un aspersor, el cual va a recircular el ácido que se encuentre debajo del falso fondo. Este proceso se realizó por medio de método inundado. Este consiste en llenar el reactor CSTR con una cantidad designada de la masa de galleta por encima del falso fondo, separado por capas y piezas por medio anillos de PVC de 2 cm de diámetro y 1 cm de grosor, de esta manera evitando aglomeraciones y congestiones del sistema. Una vez colocada la cantidad deseada de masa de galleta se llena el reactor CSTR con un volumen de ácido designado con una relación 1/10, por cada 100 g de masa de galleta se introduce 1 litro de ácido.

Una vez se encuentra terminado el montaje del reactor, se prepara la chaqueta de calentamiento, con el objetivo de mantener la temperatura dentro del sistema  $50^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ , siendo este el rango de temperatura designado previamente. Una vez se encuentra en funcionamiento la chaqueta se enciende la bomba de recirculación del CSTR para empezar el proceso, el cual se deja funcionando durante el tiempo designado por el estudio ANOVA.

**Figura 4.**

*Montaje de hidrólisis de biomasa empleado.*



*Nota.* La figura representa el funcionamiento y el sentido de los flujos planeados para el sistema reactivo para la hidrólisis en el reactor CSTR.

Se hizo uso de un reactor CSTR el cual se adaptó para operar bajo un funcionamiento de un reactor batch con recirculación, por este motivo no se tiene presente el tiempo de estancia inherente de un CSTR. Se realizaron estas modificaciones con el fin de ser coherente con el sistema planteado en las pruebas de hidrólisis del pretratamiento a nivel laboratorio, ya que este mantiene el mismo lote recirculando por medio del sistema de aspersión.

### **2.3. Digestión anaerobia**

Objetivo 3

#### **Equipos:**

Biodigestor (Reactor UASB)

POLI MP400

Baño termostatado

Mangueras de alimentación

Mangueras de liberación de gas

Jeringa de alimentación

Bureta

Trampa de agua

**Materiales:**

Agua de calentamiento  
Solución acuosa alimento para cultivo microbiológico  
Cultivo microbiológico  
Hidrolizado de masa de galleta  
Ácido sulfúrico 0.1 N

Por parte del inóculo se partió de una mezcla entre estiércol bovino y porcino, esto es debido a que estos animales cuentan con una población microbiana rumiante [43]. El metano se genera a través de la actividad de microorganismos presentes en el rumen, durante el proceso de fermentación anaeróbica de carbohidratos, destacando especialmente aquellos carbohidratos solubles y estructurales. Esta producción de metano es más significativa en dietas compuestas principalmente por forrajes [30].

De manera más específica, el inóculo plantado en el reactor UASB constaba de las siguientes características: suelo profundo 30 g/L, excreta vacuna 300 g/L, excreta porcina 150 g/L y 1.5 g/L de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> [44].

Dentro del biodigestor UASB presente en las instalaciones de la Universidad de América se tiene un medio de cultivo microbiológico mixto (al ser un cultivo complejo su composición exacta no es determinada en este experimento) este es completamente anaeróbico por lo cual toda la alimentación se realizará por medio de mangueras y jeringas, evitando al máximo la introducción de aire en el sistema. Para este procedimiento se utiliza el producto de las hidrólisis anteriores escalado a un reactor CSTR de 2 litros (máximo 3 litros), con el fin de brindar los nutrientes necesarios para la producción de biogás. El alimento entrará en el sistema según la **Ecuación 5**, obtenida del Manual de biogás generado por el Ministerio de Energía de Chile junto con el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo [8]:

$$\frac{\text{Volumen del biodigestor (mL)}}{\text{Tiempo de retención (días)}} = \text{Volumen de carga diaria (mL/día)} \quad \text{Ecuación 5}$$

Para poder mantener un control sobre los sistemas reactivos se deben tener ciertas medidas presentes para tener todos los parámetros de control y poder monitorear la estabilización bajo ciertos criterios. Como primer factor a delimitar se parte de la tasa de carga orgánica (TCO o por sus siglas en inglés OLR), esta fue determinada dado a las condiciones mesófilas y termófilas (se maneja una temperatura de  $45^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ) tomando un valor de  $5 \text{ kg DQO/ m}^3 \text{ día}$ , este valor también se estima usando el tiempo de retención hidráulica (TRH o por sus siglas en inglés HRT) de 15 días, ya que por las condiciones ejercidas en el reactor se dictaminó un régimen de fermentación de alta velocidad [8] [45].

Tanto el volumen del biodigestor como el tiempo de retención son datos ya establecidos, por lo que la variable a determinar en este paso es el volumen de carga diaria.

Una vez obtenidos esos datos se procede a establecer por medio de la **Ecuación 6** que cantidad de oxígeno disuelto es requerido por el sistema para cumplir con los parámetros de TCO y TRH.

$$TCO = \frac{\text{Volumen de carga diaria (mL/día)} * DQO \text{ (kg O}_2\text{/m}^3\text{)}}{\text{Volumen del reactor (mL)}} \quad \text{Ecuación 6}$$

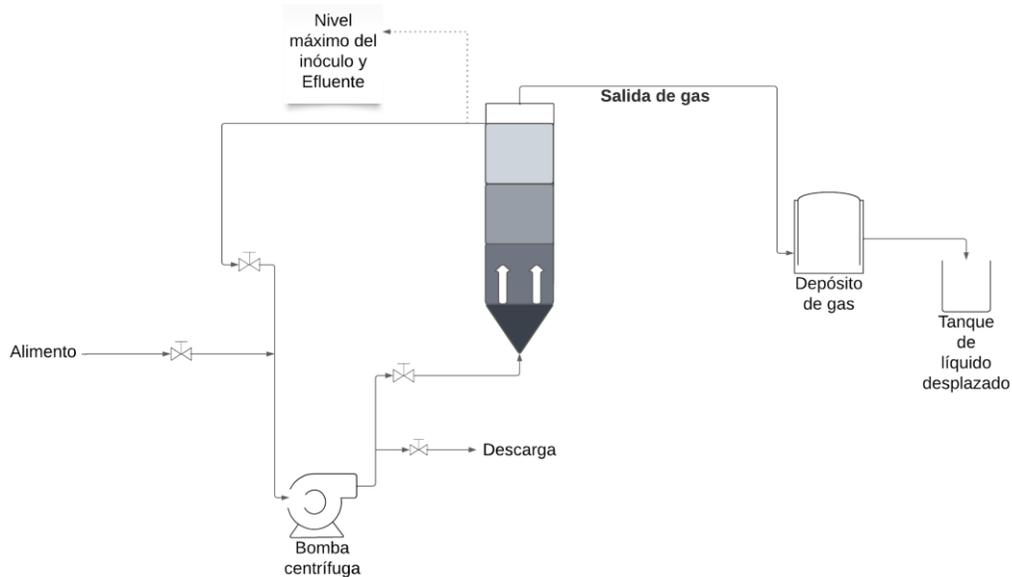
Al despejar DQO se obtiene que la demanda química de oxígeno en el alimento corresponde a 50,000 ppm O<sub>2</sub> lo cual sitúa el alimento planteado para la estabilización bastante por debajo de este límite ya que este tenía un valor de 8,985 ppm O<sub>2</sub>. Por este motivo a partir del día 9 se reemplaza el alimento y el volumen agregado al reactor

En cuanto a las variables de funcionamiento del reactor observado en la **Figura 5** fueron determinadas según literatura del marco teórico, por este motivo se dictaminó la temperatura del baño termostatado cerca de  $50^{\circ}\text{C}$  para mantener una temperatura uniforme en el sistema, dando así una temperatura de operación que oscila entre  $30^{\circ}\text{C}$  y  $40^{\circ}\text{C}$  debido a que esta es la temperatura

límite bajo la cual puede operar este equipo y obtener el pico en concentración de metano. Por parte de la presión el biodigestor trabaja a presión atmosférica y tiene una capacidad de 2,000 mL.

**Figura 5.**

*Montaje de fermentación de biomasa empleado.*



**Nota.** La figura representa el funcionamiento y el sentido de los flujos planeados para el sistema reactivo.

Durante el periodo de digestión anaerobia se realizó diariamente la medición de metano generado en el biodigestor usando el medidor POLI MP400, de igual modo se monitoreo el volumen de gas diario para poder graficar la tendencia en la producción de biogás a partir de esta biomasa residual.

Por parte de la fermentación se deben realizar una serie de mediciones para regular y controlar la producción de biogás del sistema planteado. En el sistema planteado para la fermentación se debe realizar mediciones diarias de: Potencial de hidrógeno, Volumen de biogás producido, concentración de metano ( $\text{CH}_4$ ), Alcalinidad y ácidos grasos volátiles (AGVs). Por otro lado, se debe realizar una medición diaria de la demanda química de oxígeno (DQO) cuando se alimenta con el hidrolizado de galleta, inicialmente se realiza esta medición dos veces por semana durante la estabilización del inóculo.

Como se mencionó anteriormente es importante determinar la alcalinidad, esta viene dada en función de los carbonatos presentes en este clarificado; asimismo los ácidos grasos volátiles

(AGVs), estos dos últimos parámetros son importantes debido a que son indicadores de proliferación bacteriana. Gracias al método Nordmann se puede conocer estos valores por medio de una titulación con ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a una concentración de 0.1 N , haciendo uso de las *ecuaciones 7 y 8* [46].

$$AGVs = \left( \frac{20}{A} * B * 1.66 - 0.15 \right) * 500 \quad \text{Ecuación 7}$$

$$Alcalinidad = \frac{20}{A} * C * 250 \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde A es el volumen en mililitros (mL) de la muestra usada en la titulación, B es el volumen en mililitros (mL) de ácido sulfúrico 0.1 N usado para llegar de pH 5 a pH 4.4 y C es el volumen en mililitros (mL) de ácido sulfúrico 0.1 N empleado para llegar desde el pH inicial a pH 5 [46].

- **Porcentaje de remoción de DQO**

La determinación de la cantidad de DQO que está siendo consumida por los microorganismos es esencial para la determinación de la eficiencia de producción de biogás. Este valor determina la cantidad consumida para la producción de biogás en comparación con la cantidad que es alimentada diariamente. Para la determinación de este valor, primero es necesario obtener el valor de la masa consumida por el reactor, esta se obtiene por medio de la siguiente ecuación.

**Ecuación 9**

$$Masa Removida DQO (kg) = (DQO Salida(\frac{kg}{L}) - DQO Entrada(\frac{kg}{L})) * Vol alimentado (L)$$

Una vez obtenida la masa removida de DQO, ya es posible obtener el porcentaje de remoción en base a este, el cual puede ser obtenido por medio de la siguiente ecuación:

$$\%Remoción DQO = \frac{DQO removida * 100}{DQO Entrada} \quad \text{Ecuación 10}$$

- **Determinación de rendimiento**

La determinación del rendimiento del proyecto es esencial, ya que este nos permite evidenciar la viabilidad de este, al obtener un valor número que indica la relación entre el producto obtenido y la cantidad y concentración alimentada al reactor.

Inicialmente se determina el volumen obtenido del metano, el cual se determina por medio de la siguiente ecuación.

$$\text{Volumen Metano} = \text{Vol Biogás} * \% \text{Metano} \quad \text{Ecuación 11}$$

Al determinar el volumen de metano obtenido, se prosigue a la obtención del valor de rendimiento, para esto es necesario el valor masa removida de DQO, siendo este el valor de alimento consumido por el reactor, el cual fue obtenido previamente haciendo uso de la **Ecuación 9**. Por inferencia de las unidades brindadas en el artículo de N. Da *et al.* [47] se plantea la siguiente ecuación para estimar el rendimiento diario de nuestro sistema reactivo:

$$\text{Rendimiento de Metano} = \frac{\text{Volumen de CH}_4 \text{ (m}_3\text{)}}{\text{Masa de DQO Removida (kg)}} \quad \text{Ecuación 12}$$

- **Balance De Energía de la fermentación**

La evaluación del rendimiento energético neto es esencial para determinar la eficiencia y el impacto ambiental de un sistema. Este indicador muestra la cantidad de energía útil que se obtiene en relación con la energía total utilizada o generada por el sistema. Entender este concepto es clave para optimizar el consumo de energía y mejorar la eficiencia de los sistemas energéticos en general [48]. Por lo cual se puede escribir la ecuación con la siguiente estructura:

$$\begin{aligned} \text{Rendimiento energético neto} \\ = \text{Energía neta}_{\text{salida}} - \text{Energía neta}_{\text{entrada}} \end{aligned} \quad \text{Ecuación 13}$$

por parte de la energía que sale del sistema planteado se tiene que está netamente el valor energético del metano, ya que los demás gases no tienen un valor energético o de combustión

aprovechable. En las entradas al sistema se tiene el trabajo ejercido por la bomba centrífuga de manera intermitente, y de manera constante se tiene el calor introducido al sistema por medio de la chaqueta de calentamiento, dejando la expresión final como lo demuestra la **Ecuación 14** tras introducir estas variables en la **Ecuación 13**.

**Ecuación 14**

$$\Delta \text{Energía neta} = LHV_{CH_4} \dot{m}_{CH_4} - (Q_{chaqueta} * \text{Tiempo de uso} + P_{bomba} * \text{Tiempo de uso})$$

Donde se pueden definir las variables de la siguiente forma: LHV es el calor calorífico inferior del metano,  $\dot{m}_{CH_4}$  como el flujo másico de metano presente en el biogás, las variables de energía que entran al sistema consiste netamente en el flujo de calor que hay desde la chaqueta de calentamiento hasta el interior del reactor UASB.

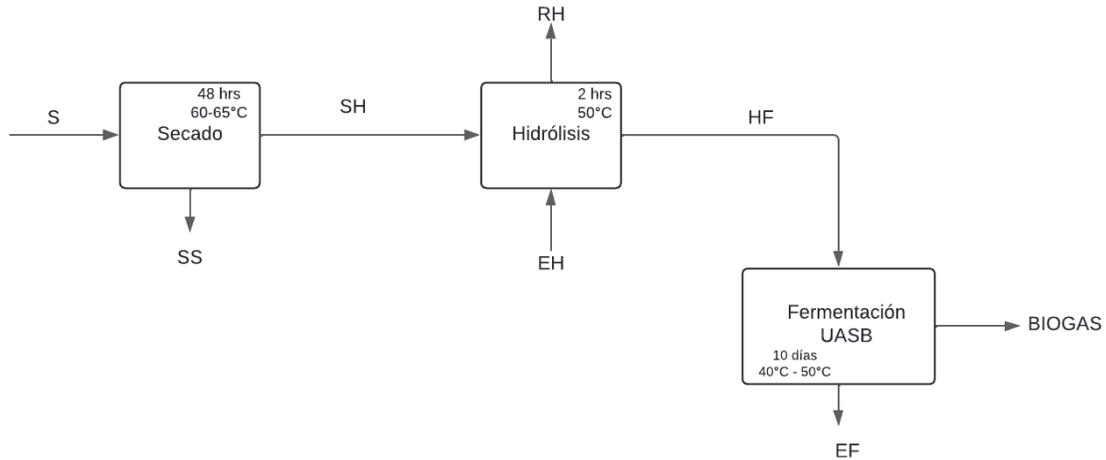
Todos los datos presentes en la **Ecuación 14** se pueden obtener de manera directa, a excepción del calor otorgado por la chaqueta, ese se calculó como se ve en **Ecuación 15**.

$$Q_{chaqueta} = \frac{A * \Delta T_{Global}}{\left( \frac{1}{h_{agua}} + \frac{\Delta X_{PVC}}{k_{PVC}} + \frac{\Delta X_{silicona}}{k_{silicona}} + \frac{1}{h_{agua}} \right)} \quad \text{Ecuación 15}$$

- **Balance De Masa Todo El Proceso**

**Figura 6.**

*Representación de operaciones de proceso y denominación de corrientes*



**Nota:** La imagen anterior muestra como se denominó cada una de las corrientes del proceso desde el secado de la materia prima hasta la producción de biogás para el posterior balance de masa.

Partiendo del esquema anterior, se procede a establecer las ecuaciones de balance para cada parte del proceso, discriminado por especie presente en cada etapa.

*Ecuaciones de secado*

Balance general

$$S = SH + SS \quad \text{Ecuación 16}$$

Balance de masa de galleta

$$S * X_{galleta,S} = SH * X_{galleta,SH} + SS * X_{galleta,SS} \quad \text{Ecuación 17}$$

Balance de agua

$$S * X_{agua,S} = SH * X_{agua,SH} + SS * X_{agua,SS} \quad \text{Ecuación 18}$$

*Ecuaciones de hidrólisis*

Balance general

$$SH + EH = RH + HF \quad \text{Ecuación 19}$$

Balance de masa de galleta

$$SH * X_{galleta,SH} + EH * X_{galleta,EH} = RH * X_{galleta,RH} + HF * X_{galleta,HF} \quad \text{Ecuación 20}$$

Balance de Ácido clorhídrico (HCl)

$$SH * X_{HCl\ 0.1M,SH} + EH * X_{HCl\ 0.1M,EH} = RH * X_{HCl\ 0.1M,RH} + HF * X_{HCl\ 0.1M,HF} \quad \text{Ecuación 21}$$

Para el sistema UASB está dictaminado como:

$$\frac{dm}{dt} (\text{acumulación}) = \text{Entrada} + \text{Generación} - \text{Salida} - \text{Consumido} \quad \text{Ecuación 22}$$

### 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 3.1. Caracterización de materia prima

En primera instancia se tienen los resultados provenientes del primer objetivo de este proyecto, el cual es obtener una caracterización previa de la biomasa a utilizar. En este caso se prioriza el valor de la relación nitrógeno, esto con el fin de asegurar una correcta disposición de nutrientes al cultivo microbiano y obtener las lecturas de producción de biogás con la menor cantidad de sesgos posibles.

De la *Tabla 3* hay ciertos parámetros que pueden estar orientadas hacia este estudio, en primer lugar, se tiene el contenido de humedad, la literatura relata la necesidad de pasar por procesos de decantación o secado de materias primas ya que el contenido de agua interfiere negativamente en el balance energético del proceso, requiriendo mayor energía y obteniendo rendimientos más bajos [42].

**Tabla 3.**

*Resultados caracterización previa de sustrato*

<b>Determinación Analítica</b>	<b>Unidad</b>	<b>Método</b>	<b>Valor</b>
Cenizas	%	NTC 5167 / Gravimetría	2.47
Nitrógeno (N)	%	NTC 5167 Digestión y destilación por Kjeldahl / Volumetría	0.93
Contenido de Humedad	%	NTC 5167 / Gravimetría	49.52
Pérdidas por volatilización	%	NTC 5167 / Gravimetría	48.00
Carbono Orgánico Oxidable (CO)	%	NTC 5403 modificada/Espectrofotometría	22.60

Densidad	g/ 100 cm <sup>3</sup>	NTC 5167 / Gravimetría	0.64
pH	Potencial de Hidrógeno	NTC 5167 modificado - Lectura directa en pasta saturada/Potenciometría NTC 5167 modificado -	5.88
Conductividad Eléctrica (C.E.)	dS/m	NTC 5596:2008 Método B. / Conductimetría	1.88
Relación Carbono/Nitrógeno (C/N)	NA	Cálculo matemático a partir del valor de carbono orgánico y nitrógeno total	24.32

*Nota.* La tabla anterior plasma los resultados obtenidos por la caracterización previa.

Otro valor a recalcar es el porcentaje de cenizas, si bien pueden presentar una composición muy diversa, las cenizas parecen ser idóneas para absorber el dióxido de carbono con el fin de optimizar la conversión del biogás a biometano en los procesos de digestión anaeróbica [42].

La relación carbono nitrógeno (C/N) es importante porque afecta directamente la descomposición de la materia orgánica y la transformación del nitrógeno. Cuanto mayor sea esta proporción, más tiempo tardará la materia orgánica en descomponerse, sumado a esto los cultivos microbianos pueden sufrir un déficit de nitrógeno hasta alcanzar la muerte de estos, debido a la falta de nitrógeno para poder procesar ese exceso de carbono; este proceso es llamado inmovilización. Por otro lado, cuando esta relación es menor (es decir mayor cantidad de nitrógeno) ocurre un proceso de mineralización, esto deja mayor cantidad de nitrógeno en el medio. Debido a esto se han estipulado ciertas relaciones que benefician la actividad microbiana, oscilando éstas entre 8/1 y 24/1. [33]

Se registró en un estudio por el análisis de sólidos totales en suspensión que cambiar la relación carbono nitrógeno (C/N) no cambió significativamente la cantidad de microorganismos dentro del

sistema, eso logra concluir que se puede excluir el crecimiento microbiano como principal mecanismo de eliminación de nitrógeno [32].

En un estudio dedicado a la producción de biogás, los resultados mostraron que el pretratamiento de biomasa, aumentó la producción de biomasa en proporciones C/N de 25 y 30. En otros estudios sobre la relación C/N se encontró que una relación C/N de 25 era mejor que una relación C/N de 30. Esto se puede ver en muchas variables, incluida la identidad y calidad de la materia prima, modificaciones con grupos pequeños o sin grupos y el biorendimiento con una relación C/N de 25. 53% a 90.5% mayor que la relación C/N 30 [49]. Sumado a lo anterior se tiene presente que el factor tiempo tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la viabilidad de las bacterias [50].

Teniendo presente la información brindada en el texto anterior se puede concluir por parte de esta relación representada en la **Tabla 3.** (*Resultados caracterización previa de sustrato*) que la masa de galleta cumple con los requisitos nutricionales de los microorganismos, obteniendo un valor dentro del rango óptimo de la relación carbono nitrógeno con un 24.32, entrando en la clasificación de *Dieta microbiana ideal* según la **Tabla 4.** Esto implica que no se presentará ninguno de los dos fenómenos, inmovilización o mineralización, producto de la falta de nitrógeno en el medio de cultivo.

**Tabla 4.**

*Relación carbono nitrógeno de microorganismos y materia orgánica.*

<b>Material</b>	<b>C:N</b>
Rastrojo de centeno	82/1
Rastrojo de trigo	80/1
Rastrojo de avena	70/1
Maíz	57/1

Centeno (antesis)	37/1
Rastrojo de leguminosas	29/1
Centeno (vegetativo)	26/1
Fardo de alfalfa maduro	25/1
<b>Dieta microbiana ideal</b>	<b>24/1</b>
Fardo de leguminosas	17/1
Estiércol	17/1
Fardo de alfalfa joven	13/1
Vicia Villosa (vegetativa)	11/1
Microorganismos	8/1
<b>Masa de galleta</b>	<b>24.32/1</b>

*Nota.* La tabla representa los valores de las posibles relaciones carbono nitrógeno, desde componentes vegetales hasta composición microbiana, como se puede ver en negrilla el valor de interés es aquel que se denota como “ **Dieta microbiana ideal**” tomando este un valor de 24:1 o 24/1. Tomado de USDA U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, “Carbon to Nitrogen Ratios in Cropping Systems | Natural Resources Conservation Service,” *Natural Resources Conservation Service*, 2024. <http://cultivosdeservicios.agro.uba.ar/wp-content/uploads/2019/04/stelprdb1166766.pdf>

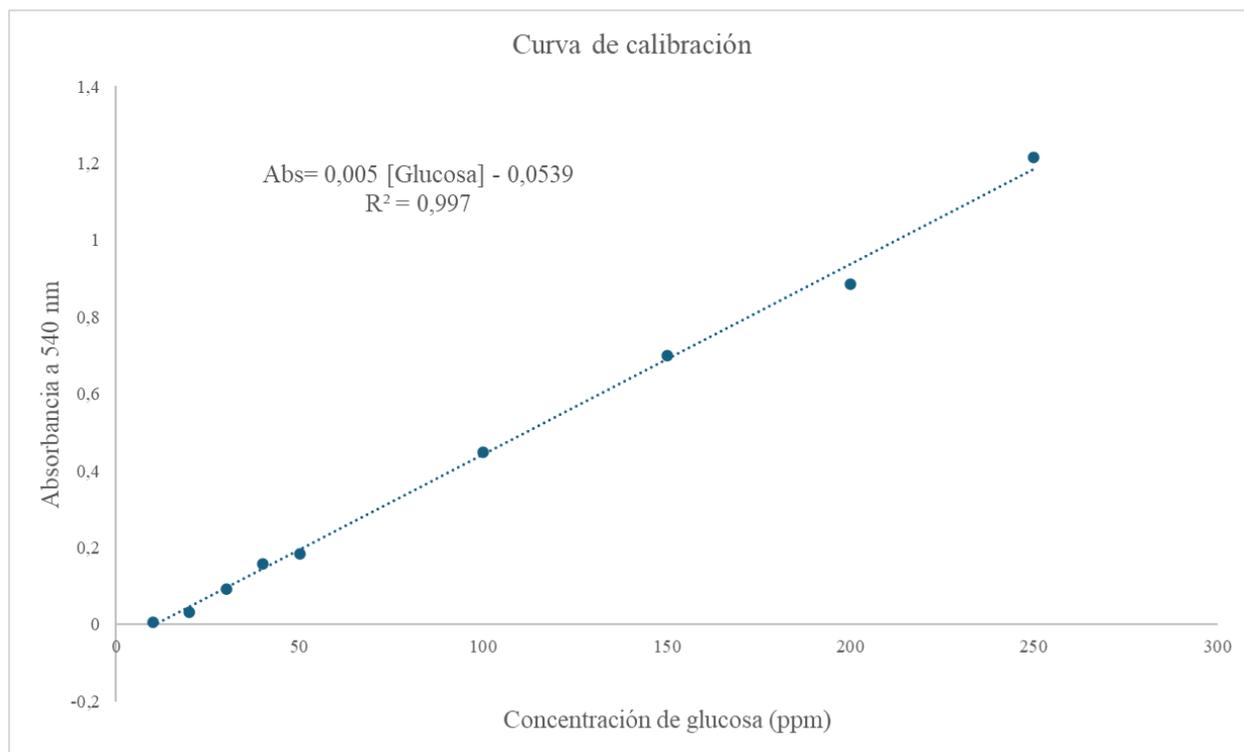
### 3.2. Pretratamiento

En este caso se obtiene la *Figura 7* relacionando la concentración con las diferentes absorbancias que se presentaron durante las hidrólisis, en este caso se obtiene un coeficiente de correlación  $R^2$  de 0.997, esto significa que aproximadamente el 99.7% de la variabilidad de la variable dependiente es explicada por el modelo de regresión lineal, este valor debe ser mayor a 0.995 [23].

Haciendo uso de la **Figura 7.** anterior se procede a obtener las concentraciones de cada absorbancia obtenida durante el proceso experimental.

**Figura 7.**

*Curva de calibración de glucosa.*



**Nota.** La figura representa la absorbancia en función de la concentración de glucosa según las muestras patrón realizadas y descritas anteriormente, esta gráfica se emplea para calcular las concentraciones de glucosa para la hidrólisis de pH 1.

Como se puede observar en la **Tabla 5** se encuentra una mayor cantidad de azúcares encontradas en la solución de hidrolizado de acuerdo a cuan mayor sea su tiempo de proceso, siendo su mayor concentración a los 120 minutos con 2,423.8 ppm de glucosa. También se puede observar que el estado de la galleta es un factor importante para la obtención de los azúcares en el hidrolizado.

**Tabla 5.***Resultados de absorbancias a 540 nm y concentraciones de hidrólisis a pH 1.*

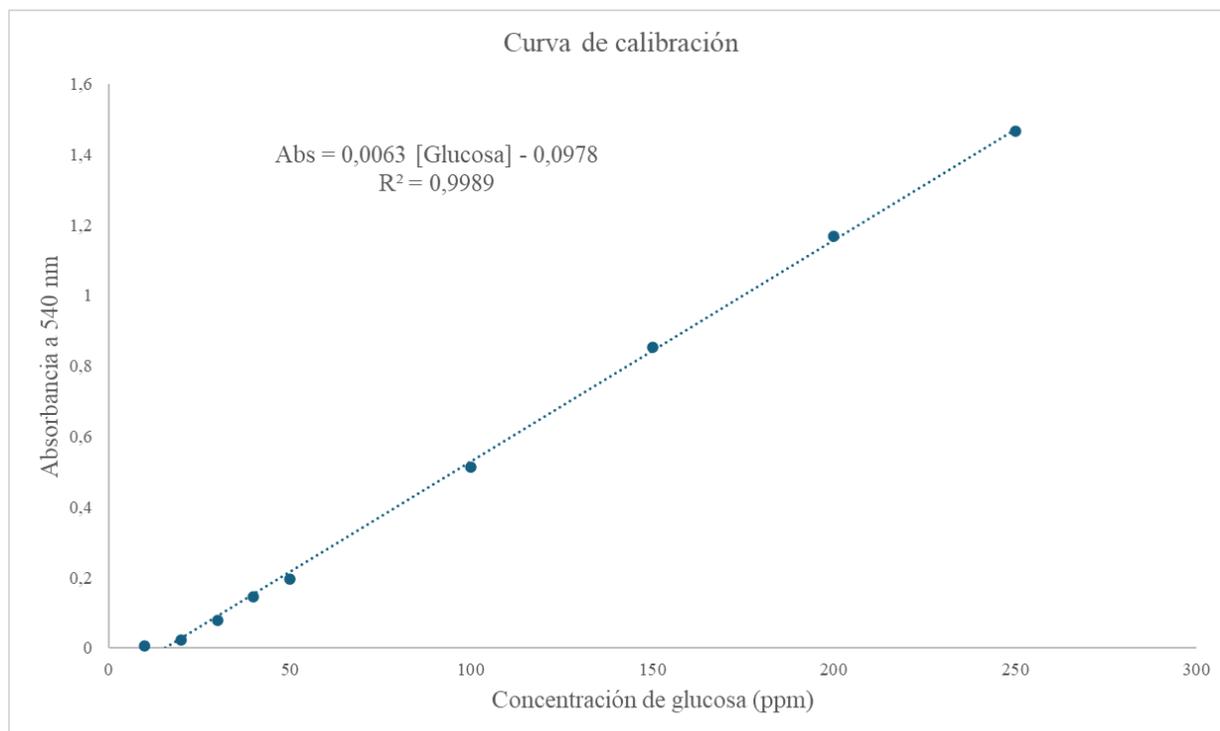
<b>Tiempo / Tipo de masa</b>	<b>Masa seca</b>		<b>Masa húmeda</b>	
	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración (ppm C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>)</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración (ppm C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>)</b>
<b>60 minutos</b>	0.528	1,163.8	0.438	983.8
	0.499	1,105.8	0.678	1,463.8
<b>90 minutos</b>	0.691	1,489.8	0.783	1,673.8
	0.749	1,605.8	0.865	1,837.8
<b>120 minutos</b>	1.051	2,209.8	0.945	1,997.8
	1.158	2,423.8	1.027	2,161.8

*Nota.* La tabla anterior representa la concentración de glucosa en partes por millón en cada posible experimento junto con su respectiva réplica, asimismo, se observa la absorbancia que junto con la curva de calibración y el factor de dilución permite encontrar la concentración.

Al momento de realizar las hidrólisis a pH 2 se realizó una nueva curva de calibración en simultáneo con los procedimientos realizados ese día, siendo esta la **Figura 8**. Esos datos son representados en la tabla que se muestra a continuación.

**Figura 8.**

*Curva de calibración de glucosa.*



**Nota.** La figura representa la absorbancia en función de la concentración de glucosa según las muestras patrón realizadas y descritas anteriormente, esta gráfica se emplea para calcular las concentraciones de glucosa para la hidrólisis de pH 2.

Al igual que en la gráfica anterior se obtiene una gráfica relacionando la concentración con las diferentes absorbancias que se presentaron durante las hidrólisis, en este caso se obtiene un coeficiente de correlación  $R^2$  de 0.9989, lo cual indica que los datos ingresados previamente están relacionados con una tendencia lineal acorde a la ecuación presentada en la misma gráfica, este valor debe ser mayor a 0.995 [23].

Haciendo uso de la gráfica anterior se procede a obtener las concentraciones de cada absorbancia obtenida durante el proceso experimental.

Como se puede observar en la **Tabla 6** se encuentra una mayor cantidad de azúcares encontradas en la solución de hidrolizado de acuerdo a cuan mayor sea su tiempo de proceso, siendo su mayor concentración a los 120 minutos con 872.7 ppm de glucosa.

**Tabla 6.***Resultados de absorbancias a 540 nm y concentraciones de hidrólisis a pH 2.*

<b>Tiempo / Tipo de masa</b>	<b>Masa seca</b>		<b>Masa húmeda</b>	
	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración (ppm C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>)</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración (ppm C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>)</b>
<b>60 minutos</b>	0.377	753.7	0.126	355.2
	0.399	788.6	0.106	323.5
<b>90 minutos</b>	0.432	841.0	0.159	407.6
	0.441	855.2	0.149	391.8
<b>120 minutos</b>	0.453	874.3	0.162	412.4
	0.452	872.7	0.183	445.7

*Nota.* La tabla anterior representa la concentración de glucosa en partes por millón en cada posible experimento junto con su respectiva réplica, asimismo, se observa la absorbancia que junto con la curva de calibración y el factor de dilución permite encontrar la concentración.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la curva de calibración, se puede determinar la cantidad de carbohidratos encontrados en la solución preparada de glucosa, con los que luego se realiza el método DNS con la materia prima a utilizar en el proceso de fermentación, en este caso masa de galleta, ya entonces con la curva de calibración se pueden comparar estos resultados y determinar la concentración de carbohidratos en ppm de la materia prima y de esta manera estipular si esta es viable como sustrato en el proceso de fermentación para la producción de biogás

En este caso se realiza netamente hidrólisis ácida por las características propias del sustrato, este es en su mayoría harina de trigo, la cual a su vez se compone entre un 70% a 75% de almidón y entre un 10% al 12% de otros tipos de polisacáridos [51]. Por parte de la hidrólisis del almidón se parte del principio que esta se puede dar vía hidrólisis ácida o enzimática [52]. Por esta razón, para realizar las pruebas se descartó emplear la hidrólisis básica y se partió de la hidrólisis ácida; también se descartó el uso de la hidrólisis enzimática debido al escalamiento del proceso de hidrólisis a un reactor CSTR de dos litros para la etapa de fermentación.

Obteniendo resultados en las pruebas de laboratorio que reflejan un rendimiento de 240.62 ppm de glucosa por cada gramo de masa de galleta (240.62 ppm  $C_6H_{12}O_6/g$  masa) para las condiciones de 50°C a presión atmosférica con pH 1 (concentración 0.1 M de HCl), esto es afín con lo que se encuentra en la literatura ya en esta se obtiene mayor rendimiento a pH 1 con HCl [24].

Al momento de realizar la hidrólisis en el CSTR de 2 litros se obtiene un rendimiento de 7.446 ppm de glucosa por cada gramo de masa, se pueden tener variaciones en la temperatura debido a pérdidas asociadas a la chaqueta instalada en el reactor; sumado a esto se mantiene la misma relación masa:ácido de 1/10 (p/v). Estas posibles variaciones representan cambios significativos en el rendimiento de la extracción, ya que como se pudo ver anteriormente este disminuye drásticamente (pese a que se obtiene una mayor concentración de glucosa en ppm), como es de esperarse en cualquier escalamiento de procesos.

#### - *Análisis Anova*

Después de realizar los cálculos con el Anova se obtuvieron los valores de  $F_0$  y  $F_\alpha$  correspondientes al experimento de la extracción de azúcares fermentables de la masa de galleta por medio de hidrólisis. En la **Tabla 7** se puede observar que la mayoría de las hipótesis resultan en  $H_0$ , a excepción de las interacciones de las variables del tiempo de hidrolizado con el tiempo de masa y la interacción entre las 3 variables, esto siendo determinado debido a que los  $F_0 > F_\alpha$ . En primer lugar, se puede observar que se encuentran diferencias estadísticamente significativas respecto al tiempo de hidrolizado de la materia prima, indicado por  $F_{0A} > F_\alpha$ , siendo esta variable relevante para el experimento. Respecto a la variable B, el valor de pH utilizado, se puede observar que se rechaza la hipótesis nula debido a que  $F_{0B} > F_\alpha$  indicando que se encuentran diferencias estadísticamente significativas correspondiente al valor de pH utilizado en el hidrolizado, lo que muestra su relevancia en el experimento. Respecto a la variable C, que es el tipo de masa utilizada, siendo las opciones húmeda o seca, se rechaza la hipótesis nula debido que  $F_{0C} > F_\alpha$ , indicándonos que hay diferencias estadísticamente significativas, significando su relevancia en el experimento realizado. Teniendo en cuenta lo anterior expuesto, respecto a las interacciones entre variables, se puede observar que solo una de las interacciones entre cada una de estas es estadísticamente

significativa, esto siendo determinado por, como se mencionó previamente la diferencia numérica entre  $F_0$  y  $F_\alpha$  indicándonos su relevancia en el experimento, por lo que se podría concluir que las interacciones de el tiempo de hidrólisis con el valor del pH, y el tipo de masa con el valor del pH muestran diferencias estadísticamente significativas, lo que nos indica que estas interacciones son relevantes para el experimento. Por otro lado, las interacciones entre el tiempo de hidrolizado con el tipo de masa utilizado y las interacciones entre las 3 variables no muestran diferencias estadísticamente significativas, esto determinado ya que sus  $F_0 < F_\alpha$ , lo que nos indicaría que estas interacciones son irrelevantes para el experimento.

Ya habiendo concluido que todas las variables utilizadas en el experimento son estadísticamente significativas, se puede observar que todas las diferencias entre  $F_\alpha$  y  $F_0$  no son iguales, ya que algunas son mucho mayores que otras, lo cual nos puede indicar el nivel de relevancia de cada una de las variables y las interacciones entre estas. En la **Tabla 7** se puede observar que la variable independiente más relevante en el experimento es la B, siendo este el tipo de pH utilizado en la hidrólisis, y en segundo lugar iría el tiempo de hidrolizado.

**Tabla 7.***Tabla de resultados del Anova.*

FV (Factor de Varianza)	SC (Suma de cuadrados)	GL (Grados de libertad)	CM (Cuadrados medios)	F <sub>0</sub>	F <sub>α</sub>
TOTAL	9'790,079.48	23			
A	1'243,669.53	2	621,834.77	42.57	3.885
B	6'822,446.37	1	6'822,446.37	467.02	4.747
C	266,543.22	1	266,543.22	18.25	4.747
AB	856,286.11	2	428,143.05	29.31	3.885
AC	53,281.77	2	26,640.88	1.82	3.885
CB	319,527.95	1	319,527.95	21.87	4.747
ABC	53,023.53	2	26,511.76	1.81	3.885
ERROR	175,301.00	12	14,608.42		

*Nota.* La tabla anterior representa los resultados del ANOVA realizado con el fin de determinar si hay diferencias significativamente estadísticas entre las variables medidas y sus posibles interacciones. A siendo Tiempo de hidrólisis, B siendo pH del medio de hidrólisis y C siendo tipo de masa (húmeda o seca).

Cuando se rechaza la hipótesis nula en un análisis de varianza (ANOVA) para un factor, se puede inferir que no todas las medias son iguales. Naturalmente, este hallazgo plantea la cuestión de qué medias específicas difieren entre sí. Para solucionar este problema se realiza el llamado análisis post hoc, que consiste en buscar información adicional después de los resultados de la prueba [53]; estos se realizan teniendo presente las interacciones entre variables (debido a que en todas se encontraron diferencias significativamente estadísticas), ya que estos no son cálculos multivariados, se analizan de manera detallada los diferentes valores obtenidos en cada categoría.

Por parte de los resultados obtenidos es requerido mínimo contar con tres niveles de valoración dentro de la misma categoría, por este motivo se presentan a continuación los resultados obtenidos del análisis Tukey HSD, estos datos se basan en las medias observadas.

**Tabla 8.**

*Comparaciones múltiples Post Hoc con variable dependiente la concentración.*

HSD Tukey						
(I) Tiempo		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1 hora	1.5 horas	-270.57	60.432	0.002	-431.80	-109.35
	2 horas	-557.52	60.432	0.000	-718.75	-396.30
1.5 horas	1 hora	270.57	60.432	0.002	109.35	431.80
	2 horas	-286.95	60.432	0.001	-448.18	-125.72
2 horas	1 hora	557.52	60.432	0.000	396.30	718.75
	1.5 horas	286.95	60.432	0.001	125.72	448.18

**Nota.** La tabla anterior representa los resultados de las posibles interacciones entre las tres categorías pertenecientes a la variable de tiempo de hidrólisis.

El término de error es la media cuadrática (Error) es igual a 14,608.364 y como último dato relevante se tiene que la diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05. Para obtener el promedio en ppm de glucosa por cada categoría se hace uso de la **Tabla 9**. En donde cada subconjunto representa las diferencias significativas.

**Tabla 9.**

*Subconjuntos homogéneos en términos de la concentración en ppm de glucosa.*

Tiempo	Número de datos	Subconjunto		
		1	2	3
1 hora	8	867.27		
1.5 horas	8		1,137.84	
2 horas	8			1,424.79
Sig.		1.000	1.000	1.000

*Nota.* La tabla anterior representa la concentración de glucosa en partes por millón en cada subconjunto, siendo estos la representación de las diferencias significativamente estadísticas.

Al igual que en la **Tabla 8** se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos y se basa en las medias observadas. El término de error es la media cuadrática (Error) igual a 14,608.364. En esta ocasión se utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica igual a 8 y un valor de Alfa (significancia) de 0.05. Todo eso nos da a concluir con un nivel de confianza de 95% según la prueba Tukey que existen diferencias significativamente estadísticas entre los tres niveles que componen la variable tiempo, esto se puede evidenciar en la existencia de tres subconjuntos con valores completamente distantes entre sí. Dando paso a las siguientes afirmaciones: la concentración promedio de glucosa al ser sometida a una hora de hidrólisis es menor que las concentraciones obtenidas en los otros dos tiempos de hidrólisis. Por otro lado, la hidrólisis que otorga mayor concentración de glucosa en función del tiempo es aquella que tiene una duración de dos horas, obteniendo una concentración promedio de 1,424.78 ppm de glucosa. Todos estos datos permiten concluir que a medida que se incrementa el tiempo de hidrólisis, asimismo incrementa la concentración promedio de glucosa en el hidrolizado.

Como se mencionó anteriormente las muestras con mayores rendimientos fueron las que pasaron por un proceso de secado, este tiempo de secado fue de aproximadamente 48 horas para cada uno

de los experimentos a realizar. La explicación de este rendimiento tiene su origen en el porcentaje de humedad de la masa de galleta inicial, tomando ésta un valor de 49.52%, esto implica que, en las mediciones de masa húmeda, cerca de la mitad de la masa hidrolizada (aproximadamente 10 gramos por cada experimento) equivale a agua, esta suma representa cerca de 4.95 gramos de masa que no están siendo hidrolizados, al ser masa en agua no aporta glucosa o azúcares fermentables al momento de realizar las mediciones. Por estas razones, es esperado el resultado obtenido, reflejando un rendimiento máximo de masa seca equivalente a 240.62 ppm de glucosa por cada gramo de masa; por otro lado, en masa húmeda se tiene un rendimiento máximo de 215.62 ppm de glucosa por cada gramo de galleta empleado en la hidrólisis.

Para la hidrólisis a realizar previo al momento fermentativo en el biodigestor se eligió la hidrólisis realizada a pH 1, con un tiempo de hidrolizado de 2 horas usando la masa seca. Esto está respaldado por los análisis estadísticos, los cuales nos brindan diferencias significativamente estadísticas, pese a que el tipo de masa resulta ser la variable con menos impacto estadístico sobre los resultados se quería elegir la opción con mejores resultados para poder llevar a cabo el debido escalamiento a nivel laboratorio.

Por parte del alimento hidrolizado de la fermentación se obtuvo unos sólidos totales iguales a 1.269% Esto quiere decir que se encuentra fuera de los parámetros fijados por literatura, ya que se encuentra registro de que este debe oscilar entre un 8% a 12% en procesos semicontinuos, y oscilar entre 40% y 60% en biodigestores discontinuos [8]. En otros estudios se encuentran registros de obtención de picos de producción de metano cuando se presenta cerca del 15% de sólidos totales [54]. Esos datos son comparaciones realizadas con biodigestores en fase sólida o aguas residuales con alto contenido de materia orgánica, no puntualmente un reactor UASB; por otro lado, se tiene que los equipos utilizados como bombas centrífugas o mangueras de silicona no permiten una gran cantidad de sólidos y fue necesario realizar un proceso de filtración al hidrolizado. Por este motivo se buscan datos acordes al diseño del biodigestor (Reactor UASB), por lo que encontramos que es pertinente calcular los sólidos suspendidos totales.

Al igual que en el proceso anterior se debe calcular los sólidos suspendidos totales, la finalidad es obtener los resultados en mg/L con el fin de poder realizar comparaciones posteriores con los datos registrados en literatura.

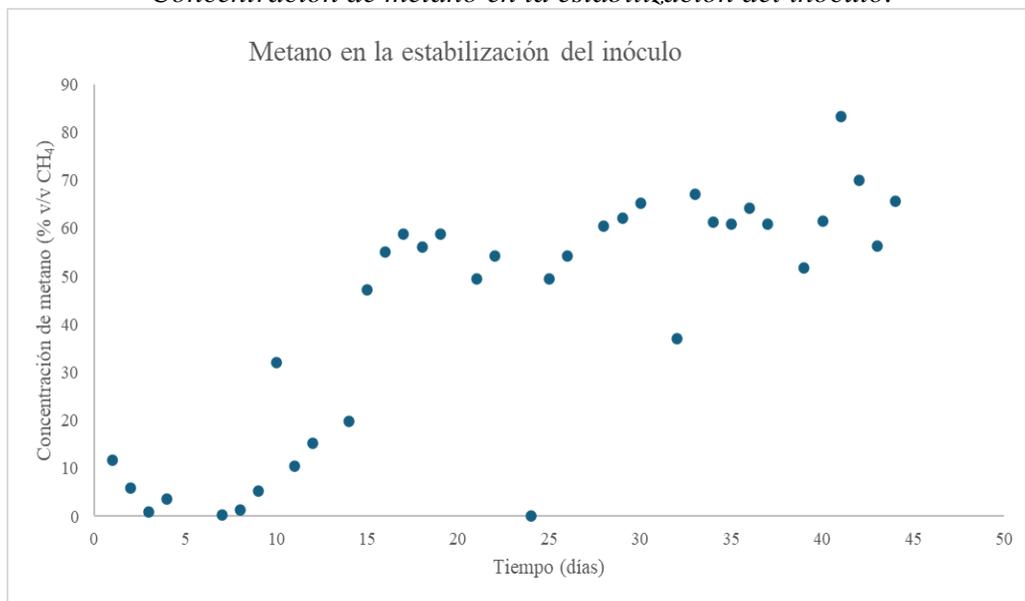
Como otra medida de control se tienen los sólidos suspendidos totales que en el reactor UASB tiene un rango óptimo de 420 mg/L y 2,837 mg/L [31]. Por parte del alimento hidrolizado de la fermentación se obtuvo unos sólidos suspendidos totales iguales a 450 mg/L. Esto quiere decir que se encuentra dentro de los parámetros fijados por la literatura para el funcionamiento del reactor UASB.

### 3.3. Digestión anaerobia

#### 3.3.1 Estabilización del inóculo

Si bien las tendencias en los procesos microbiológicos son difíciles de evidenciar, en el reactor UASB se presencian incrementos en función del tiempo, no solo aumentando la concentración de metano, también la estabilidad entre medidas, permitiendo observar con mayor facilidad el aplanamiento de la tendencia cerca del día 20 de estabilización con una concentración de metano que oscila entre 51.70% y 83.30% tal como se evidencia en la **Figura 9**.

**Figura 9.**  
*Concentración de metano en la estabilización del inóculo.*



**Nota.** La figura anterior muestra las concentraciones de metano en el reactor desde la etapa cero de inoculación

Al comparar estos resultados con la literatura, en la cual se usó como alimento aguas residuales (el alimento durante la etapa de fermentación de este estudio fue una elaboración sintética de aguas residuales) y fue inoculado con estiércol de ganado vacuno y lechero, se obtiene que la concentración de metano se encuentra entre 55% y 70% [55], esto sitúa los datos obtenidos dentro del rango planteado, incluso obteniendo mayor concentración de metano.

Los datos reflejados anteriormente pueden variar entre sí por múltiples factores, los microorganismos encargados de realizar la fermentación anaerobia son muy sensibles a cambios en el medio, si bien se trató de manejar condiciones constantes a lo largo de la experimentación se tienen variables que interfieren durante el proceso. La temperatura es un factor que se puede mantener en condiciones mesófilas, teniendo datos que oscilan entre los 30°C y los 39°C. La alimentación tuvo modificaciones para alcanzar la TCO de estabilización, fluctuando concentración de todos los reactivos, de igual modo modificando la relación C/N incrementando el cloruro de amonio en la fórmula.

La influencia de los AGVs en la proliferación bacteriana puede variar, actuando como promotores en concentraciones bajas o como inhibidores en concentraciones elevadas [56].

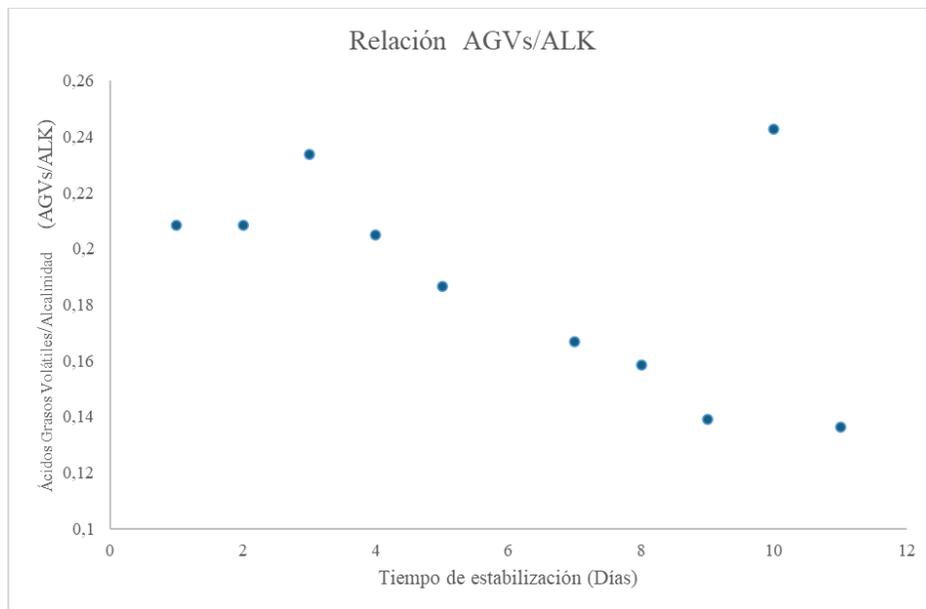
Según la literatura se recomienda una relación entre estas dos variables cercana a 0.2 o incluso llegar a tener valores inferiores a este con el fin de obtener una producción más estable bajo condiciones microbiológicas óptimas evitando inhibición por exceso o carencia de alguno de los dos parámetros; También se tienen estudios que recomiendan mantener este parámetro con valores entre 0.1 a 0.4, teniendo que cuando la proporción entre los ácidos grasos volátiles (VFA o AGVs) y la alcalinidad (Alk) es menor que 0.4, se promueve la digestión anaerobia, mientras que cuando esta proporción excede 0.8, el proceso se ve comprometido, lo que resulta en una reducción en la producción de metano [57]. Para obtener estos valores la alcalinidad debe oscilar entre 1,000 ppm y 5,000 ppm [12], estos son rangos obtenidos en el reactor UASB durante las primeras tres semanas de estabilización, a partir de la cuarta semana estos valores se incrementaron alcanzando valores cercanos a 10,000 ppm de carbonatos. Durante las últimas dos semanas de estabilización, se puede presenciar que el reactor está dentro de estos rangos oscilando entre valores de 0.13 y 0.24 cómo se puede observar de manera gráfica en la **Figura 10**, resaltando que también presenta una alta

concentración de metano y un buen rendimiento en términos de producción, lo cual es coherente con la relación entre estos dos parámetros.

En el día 10 se puede observar un salto en los datos, el cual no es consistente con el comportamiento de la relación AGV/ALK, al momento de realizar un análisis de estos datos, se otorga este cambio en el comportamiento a un error humano al realizar la medición de los AGVs, ya que el error corresponde a un valor de 0.3 mL al momento de realizar la medición.

**Figura 10.**

*Relación entre ácidos grasos volátiles y alcalinidad.*



**Nota.** La figura anterior es la representación de la relación entre los ácidos grasos volátiles y la alcalinidad durante las últimas dos semanas de estabilización.

Al realizar la estabilización del biorreactor se obtuvieron diferentes datos los cuales servirán posteriormente para realizar comparaciones cuando se esté alimentado con el alimento que se desea probar para la producción de biogás. En primer lugar, se realizaron pruebas de DQO del inóculo clarificado cada 3 días para conocer el estado de este, el cual en promedio se obtuvo un valor de 20,050 mg O<sub>2</sub>/L.

De igual manera se realizó la prueba de DQO al alimento que se administra al biorreactor con un volumen de 0.1 L, al cual se le obtuvo un valor de 54,450 mg O<sub>2</sub>/L. De acuerdo al valor obtenido del alimento y el del clarificado se puede obtener el valor de DQO consumido por los microorganismos, siendo entonces un 63.18% consumido, destinando al menos un 50% a la producción del biogás.

En el momento de medir el rendimiento del biorreactor se decidió por medir un total del volumen de biogás generado por la concentración de metano de este, teniendo en cuenta el DQO alimentado de manera diaria al biorreactor, este dato se retomará en la sección de **3.3.2. Alimentación con Masa de Galleta** para presenciar su correspondiente comparación con literatura.

Durante el proceso de fermentación anaerobia, la alcalinidad juega un papel crucial en el control del equilibrio ácido-base. La acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) puede afectar este equilibrio, ya que los AGV generan acidez en el medio. En condiciones de alcalinidad insuficiente, la producción excesiva de AGV puede resultar en una acidificación del medio, lo que a su vez puede inhibir el proceso de fermentación. Por otro lado, una alcalinidad adecuada puede ayudar a mantener el pH dentro de un rango óptimo para la actividad microbiana, lo que favorece la producción continua de biogás y evita el colapso del proceso. Por lo tanto, mantener un equilibrio adecuado entre la alcalinidad y la producción de AGV es esencial para garantizar la eficiencia y estabilidad de la fermentación anaerobia.

De manera inherente al inóculo de partida se tiene que aproximadamente un 10% del DQO ingresado al reactor se dispone netamente a la sintetización de materia orgánica [8], tomando esta información se tiene que en promedio 5,247.5 mg O<sub>2</sub>/L son destinados dentro del reactor para la producción de biomasa, esta cantidad estimada se obtiene netamente del DQO removido o absorbido por el sistema reactivo.

Como fue mencionado anteriormente el reactor UASB empleado para este experimento resulta ser un sistema competitivo, al ser comparado con la literatura en la **Tabla 10**, para realizar la fermentación de la materia prima designada por este proyecto. Asimismo, se puede observar que se tiene valores que están dentro de los rangos fijos en la literatura y/o en diferentes estudios orientados a la fermentación anaerobia de sustratos.

**Tabla 10.**  
*Comparación de rendimientos y otros parámetros.*

Fuente de carbono	Condiciones				% CH <sub>4</sub>	Rendimiento (L CH <sub>4</sub> /kg DQO)	Referencia
	T (°C)	DQO (mg O <sub>2</sub> /L)	TCO (kg DQO/m <sup>3</sup> d)	HRT (Días)			
Almidón y celulosa	<37	20,000	-	4	68.89	13-360	[58]
Celulosa y lodos residuales	15-42 (37)	70,100-199,000	-	30	60	89.9-264.1	[59]
Residuos de alimentos y jardinería con alto contenido de sólidos	35	2,000-15,000	5	54	20-60	211-232	[60]
Aguas residuales petroquímicas con estiércol de ganado vacuno y lechero.	37-55	15,000-21,000	6.31-25.17	10	55-70	85-460	[55]
Vinaza de Caña de Azúcar	37.1-65	60,990-104,000	25	40	8.75-51.58	7.51-16.11	[61]
Aguas residuales sintética	27-38	8,000-75,000	5	10	51.7-83.3	104-145.45	Este estudio

*Nota.* La tabla representa los valores de los diferentes rendimientos obtenidos en diferentes experimentos y registrados de modo que sea apto para comparaciones futuras.

### 3.3.2. Alimentación Con Masa de Galleta

El proceso para la fermentación parte de los cálculos realizados una vez se obtuvo la demanda química de oxígeno del hidrolizado neutralizado con hidróxido de sodio. Para estos cálculos se hace uso de las ecuaciones usadas durante la estabilización del reactor, los resultados preliminares son presentados en la **Tabla 11**.

**Tabla 11.**

*Resultados de los parámetros preliminares de la fermentación.*

TCO (kg/ m <sup>3</sup> día)	1.8
Temperatura (°C)	45
TRH (días)	10
Vol. Alimentado( mL/día)	240
DQO requerido (mg O <sub>2</sub> /L)	9,000

*Nota.* La tabla representa los valores de los parámetros calculados para la fermentación usando como sustrato el hidrolizado de la masa de galleta. Estos cálculos parten del DQO de la biomasa alimentada, este valor corresponde a 9000 mg O<sub>2</sub>/L.

Para esta etapa hay varios factores a analizar y monitorear durante el proceso, entre estos el pH y la tasa de carga orgánica. La digestión anaeróbica típicamente ocurre en un rango de pH cercano a la neutralidad y está influenciada por la TCO y la capacidad amortiguadora (buffer) del sustrato. Los residuos ganaderos como el estiércol de vacas, cerdos y aves de corral, tienen una alta capacidad de amortiguación y suelen mantener valores de pH más elevados, alrededor de 7.6. Por lo tanto, la reducción de la TCO puede alterar los niveles de pH dentro del biodigestor. Una carga orgánica excesiva puede disminuir el rendimiento del biorreactor, por lo que se llega a recomendar disminuir la tasa de carga orgánica del reactor para mantener la actividad microbiana y la producción de biogás [62]; todos estos cambios se deben monitorear basándose en las propiedades

inherentes del alimento (en este caso masa de galleta) y el rendimiento del reactor. En el caso de este estudio se redujo la tasa de carga orgánica debido a la baja demanda química orgánica de la masa de galleta.

**Tabla 12.**

*Mediciones de parámetros de biogás durante la fermentación.*

	Volumen biogás (mL)	Concentración CH <sub>4</sub> (% Vol. CH <sub>4</sub> )
Día 1	770	46.3
Día 2	600	49.1
Día 3	680	65.8
Día 4	785	57.8
Día 5	1,040	28.7
Día 6	220	19.7
Día 7	440	21.1
Día 8	780	37.5
Día 9	860	45.9
Día 10	680	42.4

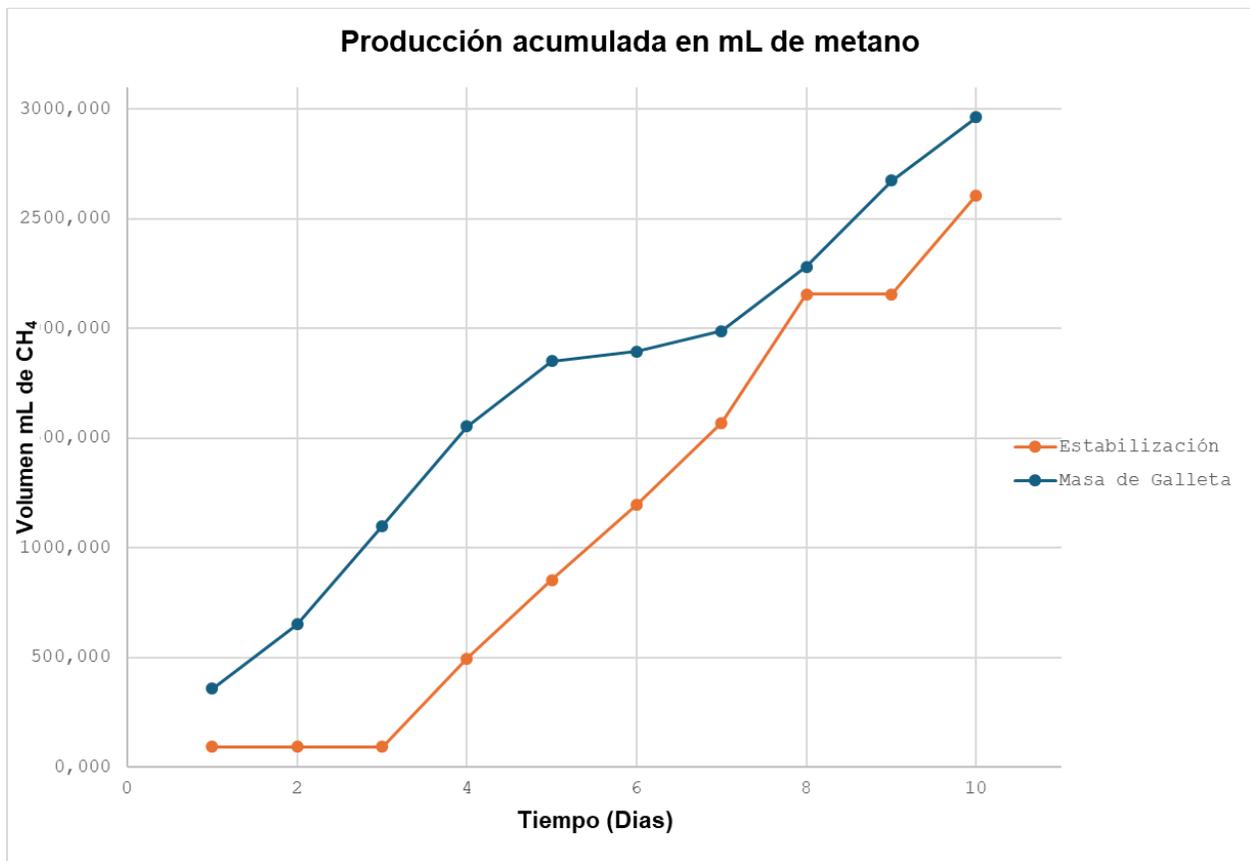
*Nota.* La tabla representa los valores de los parámetros de biogás medidos durante la fermentación usando como alimento el hidrolizado de la masa de galleta. Los valores registrados son el volumen diario producido y la concentración de metano asociado a cada uno de esos volúmenes.

Debido a que el alimento preparado por hidrolizado es rico en azúcares y contiene levaduras, éste puede ser susceptible a fermentación, lo cual puede alterar la concentración de azúcares fermentables y el pH de la solución si esta no es almacenada adecuadamente, lo cual puede llevar a una disminución del rendimiento del proceso.

Debido a que la cantidad de alimento producida por medio de hidrolizado fue de 2.5 L, solo fue posible llevar a cabo la experimentación por 10 días.

Ya una vez obtenidos los resultados de la fermentación con el alimento utilizado, se puede realizar una comparación de la producción total de metano. De acuerdo con lo que se puede observar en la **Figura 11**, se puede apreciar que la producción de metano con un alimento en base a masa de galleta seca es ligeramente superior al que se alimenta con un alimento sintético en base a glucosa.

**Figura 11.**  
*Comparación de producción de metano acumulada.*



**Nota.** La figura realiza una comparación de la producción en mililitros de metano de la etapa de estabilización del inóculo, esta es representada por la línea de seguimiento naranja, contra el periodo de fermentación con el sustrato objeto de estudio (masa de galleta), la cual es representada por la línea azul.

Al realizar el rendimiento del proceso con masa de galleta, se puede observar en la **Figura 12** que el rendimiento del proceso fue bastante variado, siendo su punto máximo el tercer día con un valor de 0.75, en donde posteriormente cayó significativamente hasta el sexto día, donde volvió a crecer

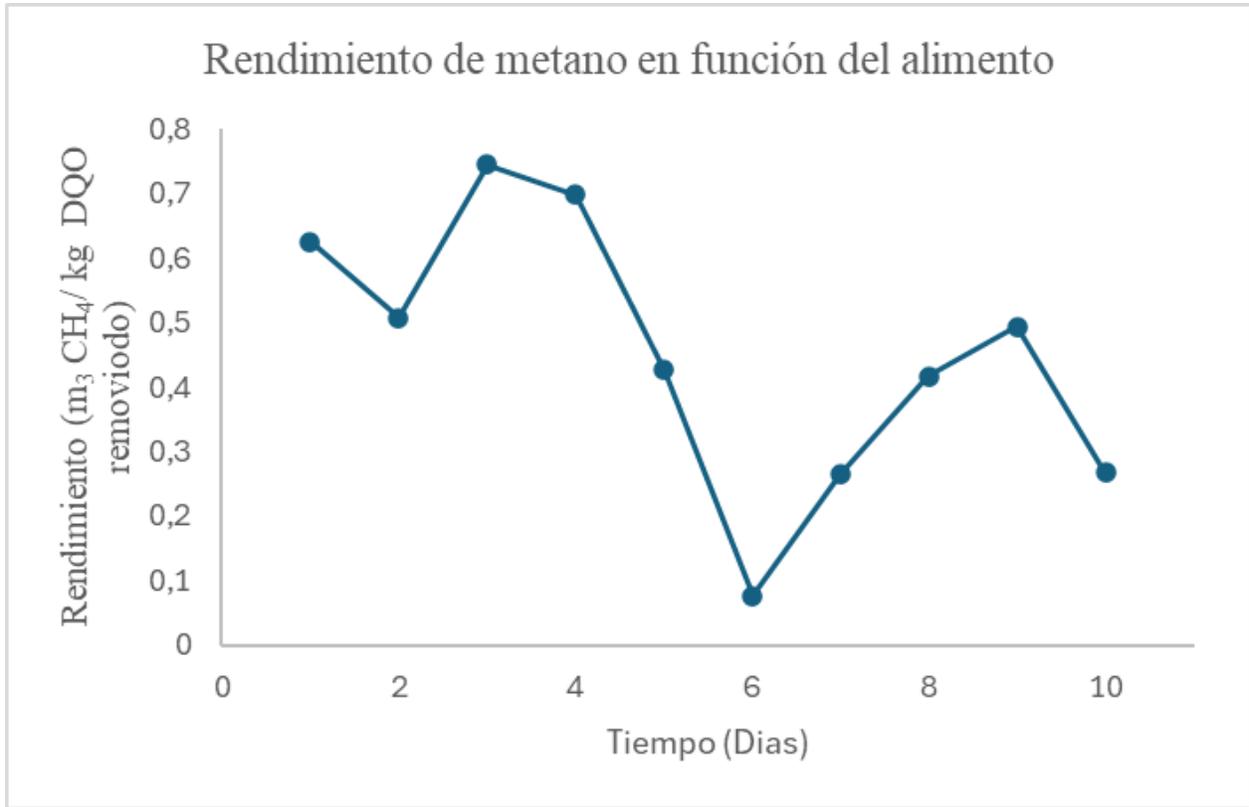
hasta un rendimiento de 0.5, este crecimiento se debe a la caída en la concentración de metano en el gas producido, el cual se puede observar en la **Tabla 12**. Estas variaciones de rendimiento se dieron debidas al cambio de pH en el alimento debido a la fermentación de este. Dado que el pH del alimento se medía diariamente, se decidió en el sexto día de experimento en volver a neutralizar el alimento debido a que la acidez de este dada a la fermentación estaba afectando gravemente el rendimiento del biogás.

Al contrario, de cómo se puede observar en la **Tabla 13** en la primera fila el valor mínimo de rendimiento de producción de biogás es de 0.4 llegando hasta un valor máximo de 0.65, mostrando entonces un crecimiento constante. Mirando de manera general los valores de la **Tabla 13** se puede observar rangos variados de rendimiento, donde el mínimo de todos es de 0.10, y el máximo es 0.83, en donde se puede observar aumentos de hasta 0.4

Al momento de analizar el comportamiento entre los días 5 y 6, con el de los días 9 y 10, se puede observar que hay un comportamiento similar, en las cuales se presencia un disminución del rendimiento relevante, el pico del día 6, es causado por una disminución significativa en el porcentaje de metano en el biogás, siendo este una disminución del 10%, aun con una remoción de DQO baja de un 44%, dando como resultado un volumen significativamente menor de metano en la mezcla de gases obtenida, por otro lado en el día 10 hay una caída en el rendimiento debido a la relación de metano producido, con el porcentaje de DQO removido, esta disminución es causada por el poco volumen de metano generado en el décimo día, a pesar de haber una remoción de 60% del DQO, lo que indica una muy baja concentración de producto en comparación con la gran cantidad de alimento que fue consumida por el reactor.

**Figura 12.**

*Rendimiento de producción de metano.*



**Nota.** La figura representa una evaluación de la producción de metano en metros cúbicos en función del DQO removido por el reactor UASB en el cual tiene lugar la fermentación de la biomasa.

**Tabla 13.***Rendimiento de producción de metano.*

Producción de metano %	pH reactor	TRH (Días)	Rendimiento min CH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg DQO)	Rendimiento máx CH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg DQO)	Referencia
83.45	7.55 ± 0.60	10	0.4	0.65	[55]
60-70	7.16-7.64	25	0.10	0.21	[63]
-	5.63-7.04	35	0.15	0.55	[64]
69.6-75.2	6.7	7-28	0.43	0.83	[47]
19.7-65.8	7.7-8.22	10	0.10	0.75	Realización propia

*Nota.* La tabla representa los valores de los diferentes rendimientos obtenidos en diferentes experimentos y registrados de modo que sea apto para comparaciones futuras.

El realizar una comparación con el proceso de producción de biogás realizado por Siddique et al. [55] se puede observar que, al contrario de la fermentación propia, esta es relativamente constante, en donde el proceso mesofílico a los 10 días del periodo de co-digestión, este es ascendente respecto a su rendimiento. Pese a las fluctuaciones de los datos obtenidos se encuentra que en términos de rendimientos se encuentra dentro de los parámetros encontrados en literatura.

De acuerdo a lo que puede ser observado en la **Tabla 14** se puede observar que el porcentaje de remoción de DQO es bastante variable, donde la mayor cantidad se puede observar fue en el décimo día, donde se consume un 60% del DQO alimentado, estas variaciones, como se mencionó previamente, son debidas al cambio de pH en el alimento.

**Tabla 14.**

*Mediciones de Demanda química de oxígeno durante la fermentación.*

	DQO Clarificado (mg O <sub>2</sub> /L)	Porcentaje Remoción DQO
Día 1	6,150	31.66%
Día 2	6,100	32.22%
Día 3	6,000	33.33%
Día 4	5,750	36.11%
Día 5	5,500	38.88%
Día 6	6,150	31.66%
Día 7	7,250	19.44%
Día 8	5,500	38.88%
Día 9	5,000	44.44%
Día 10	3,600	60%

*Nota.* La tabla representa el DQO y la remoción de estos en cada día de la fermentación anaerobia del hidrolizado de masa de galleta, estos datos son calculados tomando el clarificado del reactor UASB y empleando la titulación del método Nordmann.

En un experimento realizado en un reactor UASB a condiciones mesofílicas se obtuvo rendimientos de 50% a 90%, mencionando en este, que este varía de acuerdo al TCO, aumentando éste, de acuerdo sea la carga más baja, manejando ellos una carga 0.4 Kg/m<sup>3</sup> [65]. Obteniendo que el porcentaje de remoción se encuentra por fuera de los rangos encontrados, ya que estos oscilan

en su mayoría valores cercanos a 30%, únicamente el último día se encuentra dentro del rango con un 60%.

Por otro lado, se encuentra una relación entre el pH del alimento y la remoción de DQO durante la fermentación, encontrando que el pH puede ser un factor inhibidor, disminuyendo un 27% si se llega a acidificar [66], en el caso reflejado en la **Tabla 14**. se ve una disminución 12.22%, esto debido a que en el día 7 se encontró el menor valor del pH del alimento, posteriormente se neutralizó el hidrolizado de galleta (como ya fue mencionado), esto trajo como consecuencia un incremento en el porcentaje de remoción de DQO.

Los otros parámetros que pueden ser considerados como inhibidores durante la fermentación anaerobia son los AGVs y la alcalinidad, estos se pueden ver en la **Tabla 15**. obteniendo valores realmente altos, pero sin llegar al punto de generar una inhibición en la generación de biogás ya que la relación entre AGVs/Alcalinidad no supera el valor de 0.2 mencionado anteriormente en la estabilización, el reactor UASB mantuvo dicha relación entre 0.098 y 0.22, lo cual permite interpretar que no estos valores no se interponen con los resultados de la generación del biogás.

**Tabla 15.**

*Mediciones de parámetros de clarificado durante la fermentación.*

	pH	Alcalinidad (ppm CaCO <sub>3</sub> )	AGVs (ppm)
Día 1	8.22	11,100	1,087
Día 2	7.91	10,650	1,419
Día 3	8.02	9,200	921
Día 4	8.03	8,600	921
Día 5	8.1	8,000	589
Día 6	7.97	7,200	755

Día 7	7.71	7,100	755
Día 8	7.7	5,800	1,253
Día 9	7.75	5,600	1,253

**Nota.** La tabla representa los ácidos grasos volátiles y la alcalinidad registrada en cada día de la fermentación anaerobia del hidrolizado de masa de galleta, estos datos son calculados tomando el clarificado del reactor UASB y empleando la titulación del método Nordmann .

Como se ha mencionado anteriormente el rendimiento en los digestores anaerobios puede tener su origen en diferentes factores, estos pueden ser la TCO, el pH, la temperatura y las características del sustrato. En este caso se realizó una disminución a la TCO del reactor, por literatura se obtienen registros relatando como un cambio en la TCO con la correspondiente modificación en la TRH puede dar como resultado la acumulación de ácidos grasos volátiles [67] justo como sucedió en el experimento planteado, al momento de comparar los datos de estabilización con los de la fermentación se encuentra un incremento de AGVs superior al 100% en algunos casos, esto también tiene repercusiones en la alcalinidad del reactor, en la cual se evidencian disminuciones diarias.

Si bien se pueden observar grandes concentraciones de ácidos grasos volátiles representados en la **Tabla 15**, se puede contrastar con lo mencionado previamente en el marco referencial de este documento, concluyendo que, pese a que se obtuvo un incremento de estos, no han superado el límite de 4,000 ppm, sin reflejar una inhibición en la producción de biogás.

#### - ***Balance De Energía Fermentación***

Se parte de la **Ecuación 15**, pero para poder ejercer esta ecuación son requeridos ciertos parámetros, estos datos son representados en la siguiente tabla, aquellos que no están en la siguiente tabla es porque son variables que cambian su valor de manera diaria.

**Tabla 16.***Valor de las constantes presentes en la ecuación 15.*

Constantes	Valor	Referencia
k del PVC (W/m·K)	0.21	[68]
k de la silicona (W/m·K)	0.24	[69]
h del agua (W/m <sup>2</sup> ·K) @50°C	2,450	[70]
Grosor del PVC (m)	4.0x10 <sup>-3</sup>	Elaboración propia
Grosor de la silicona (m)	2.0x10 <sup>-3</sup>	
Área de transferencia (m <sup>2</sup> )	0.15188	

**Nota:** En la tabla se puede ver registrados los datos requeridos constantes para calcular la transferencia de calor desde la chaqueta de calentamiento hasta el reactor UASB.

De la misma forma para poder emplear la **Ecuación 14** es necesario ciertos parámetros tanto energéticos como propios del funcionamiento del sistema planteado, por estos motivos se representan estos valores constantes en la siguiente **Tabla 16**.

**Tabla 17.***Valores de las variables presentes en la ecuación 14.*

Constantes	Valor
LHV CH <sub>4</sub> (kJ/kg) *	555,536
Potencia bomba (kW)	5.0x10 <sup>-3</sup>
Tiempo de uso diario bomba (s)	43,200
Tiempo de uso diario chaqueta (s)	21,600

**Nota:** En la tabla se puede ver registrados los datos requeridos constantes para calcular la eficiencia neta energética del sistema planteado. \*El valor de LHV de metano fue tomado de S. McAllister, J.-Y. Chen, and A. Carlos Fernandez-Pello, "Fundamentals of Combustion Processes," *SpringerLink*, 2016.

De aplicar los datos de las tablas 16 y 17, a la **Ecuación 15** y a la **Ecuación 14**., se obtienen los siguientes resultados representados en la **Tabla 18**.

Al momento de analizar los resultados del delta energía neta del sistema en la **Tabla 18**, se puede observar que el sistema utilizado no es eficiente energéticamente, ya que la energía equivalente producida con el biogás, no es lo suficientemente alta para compensar por los altos gastos energéticos que se dieron para el calentamiento del sistema, esto es debido a que los materiales utilizados en la construcción de este funcionan como aislantes térmicos, lo que lleva a un alto consumo de energía para poder el llevar el inóculo a la temperatura deseada.

Al momento de realizar una comparación teórica, haciendo uso de una termocupla para el calentamiento del sistema, se hallaron resultados positivos en el balance energético, pudiendo observar estos valores en la **Tabla 18**, indicándonos que el sistema actual de calentamiento no es el óptimo para este proceso [71].

**Tabla 18.**

*Resultados del balance de energía propuesto con anterioridad.*

Q (kW)	$m CH_4$ (kg)	$\Delta E$ neta con chaqueta (kJ)	$\Delta E$ neta con termocupla (kJ)	
0.01260405	0.00040393	-263.85213	77.40535	
0.01163451	0.00033378	-281.87755	38.437806	
0.0184213	0.00050695	-332.27143	134.638709	
0.02908627	0.00051408	-558.67561	138.597775	
0.01939085	$4.91 \times 10^{-05}$	-607.56309	-119.710838	
0.01292723	0.00010519	-436.7926	-88.554435	
0.02100675	0.0003314	-485.63976	37.11601924	
0.0168054	0.00044724	-330.53847	101.46815	
0.0100186	0.00032667	-250.9268	34.4850341	
Promedio	0.01687722	0.00033537	-394.23749	39.320396

**Nota:** La tabla anterior representa el calor proporcionado por la chaqueta de calentamiento, junto con la producción másica de metano generado y el cambio de energía neta del sistema, todos estos datos son en un periodo de 24 horas.

- ***Balance De Masa Todo El Proceso***

Haciendo uso de la *Ecuación 22*. Se procede a realizar el balance de masa para el UASB, partiendo de que la acumulación dentro de este es igual a cero, ya que el inóculo inicial abarca la totalidad del volumen disponible en el reactor, se retira el volumen necesario para ingresar el alimento diario. Para el término de generación se usa el porcentaje de generación de biomasa, el cual establece que dentro de un biodigestor la acumulación debe ser mínimo un 10% del DQO ingresado al reactor se dispone para la sintetización de materia orgánica, por lo que se fija este porcentaje como el valor de generación [8]. Por parte de lo consumido, se tiene un promedio del porcentaje de remoción de DQO, el cual equivale al 36.66%, por lo que este valor corresponde al consumo neto del sistema. El resto de la masa del sistema se reparte entre generación de biogás (con un valor de 7.7667 g de biogás) y la salida del efluente (con un valor de 1612.636 g).

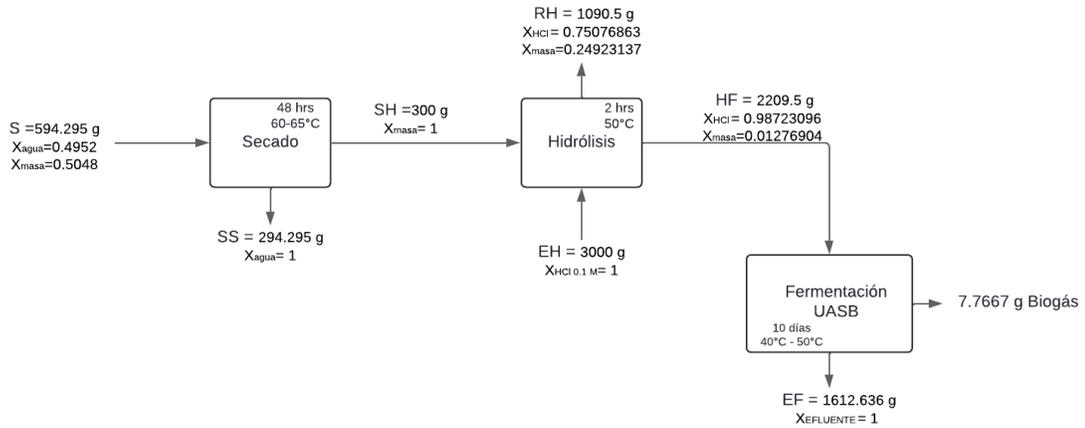
**Tabla 19.**  
*Balance de masa del reactor UASB*

<b>Variable</b>	<b>Valor (g)</b>
Acumulación	0
Entrada	2209.50
Generación	220.95
Salida	1620.403
Consumido	810.047

*Nota:* En la tabla anterior se depositan los datos resultantes del balance de masa del reactor UASB tras usar la *Ecuación 22*, la generación de biomasa, la producción de biogás y la remoción del alimento representando como consumo.

Al momento de definir todo el balance de masa del sistema se puede dejar representado como se presencia en el siguiente esquema, separado por operaciones y procesos unitarios, cada uno de los datos surgen como el resultado de aplicar las *Ecuaciones 16, 17, 18, 19, 20, 21 y 22*. Obteniendo como resultado lo representado en la *Figura 13*.

**Figura 13.**  
*Balance de masa del proceso completo.*



**Nota:** El diagrama anterior muestra el balance de masa de las especies empleadas desde el proceso de secado hasta el proceso de fermentación.

Dando como resultado que de 300 gramos de de masa de galleta seca, se puede obtener cerca de 7.77 g de biogás. En otros términos, se obtiene que por cada kilogramo de masa de galleta seca se obtiene se genera 0.0229 m<sup>3</sup> de biogás. Esta producción de biogás está dentro de los rangos esperados, ya que cuando es alimentado directamente con estiércol bovino genera por cada kilogramo de estiércol 0.05 m<sup>3</sup> de biogás [72]. Partiendo del principio teórico que la producción a partir de mezclas de heces (bovino y cerdo o gorrino), es más eficiente debido a la alta disponibilidad de microorganismos metanogénicos y contenido proteico [73]. Se obtiene un mismo orden de rendimiento en ambos escenarios (1x10<sup>-2</sup> m<sup>3</sup>).

#### 4. CONCLUSIONES

La materia prima inicial fue caracterizada, obteniendo que esta materia prima de partida contiene un 0.93% de nitrógeno; También se realizó la determinación de carbono orgánico, obteniendo un total de 22.60% carbono orgánico oxidable. La importancia de estos dos datos permitió encontrar la relación C/N obteniendo una relación igual a 24.32, este valor permite descartar inmovilización o mineralización (inhibición fermentativa) por déficit de nitrógeno o de carbono.

Se evaluaron las condiciones de pretratamiento hidrolítico, teniendo como variables el potencial de hidrógeno (viéndose reflejado como la concentración de ácido clorhídrico), el tiempo de hidrólisis (entre 60 minutos y 120 minutos) y por último el modo de empleo de la masa de galleta (masa húmeda o masa seca), determinando la mejor opción por medio de la medición de carbohidratos por el método DNS de espectrofotometría. Obteniendo como resultado que la mejor hidrólisis se encontró a un pH de 1 con una concentración de HCl de 0.1 M, dos horas de hidrólisis y masa seca obteniendo 240.62 ppm de glucosa por cada gramo de masa de galleta (240.62 ppm  $C_6H_{12}O_6/g$  masa). Para obtener estos resultados se vio necesario fijar la relación biomasa:solvente (1:10 p/v) y la temperatura de hidrólisis (50°C). Producto de la caracterización previa se sabe que al usar masa húmeda un 49.52% será agua, es decir producto que no aportará glucosa al proceso; por parte de la dilución de ácido empleada se debe a la necesidad de hidrolizar los almidones propios de la harina de trigo presente en las galletas, esta hidrólisis se ve altamente favorecida por medios ácidos.

Se produjo biogás por medio de una fermentación anaerobia en un reactor UASB previamente inoculado con heces porcinas y bovinas, usando como sustrato estabilizador una fórmula de aguas residuales y el hidrolizado de masa de galleta previamente secada. Obteniendo una concentración máxima de metano en la etapa de estabilización de 83.30% y de 65.80% para fermentación usando como sustrato el hidrolizado de la masa de galleta. También se tiene un rendimiento de 630.18 L  $CH_4/kg$  DQO durante la fermentación del sustrato de estudio y un rendimiento de 168.81 L  $CH_4/kg$  DQO durante la etapa de estabilización, presenciando un incremento del rendimiento con la masa de galleta, asimismo generando 7.77 g de biogás por cada 300 g de masa seca.

## **5. RECOMENDACIONES**

- Rediseñar los gasómetros, incrementando el volumen e implementando un mayor sistema de válvulas que permita su fácil relleno.
- Comparar rendimientos con una fermentación en dos fases.
- Realizar optimización del sistema de calentamiento del reactor UASB

## 6. BIBLIOGRAFÍA

[1]H. Ritchie, M. Roser, and P. Rosado, “Fossil Fuels,” *Our World in Data*, 2022. <https://ourworldindata.org/fossil-fuels>

[2]O. US EPA, “Greenhouse Gases Equivalencies Calculator - Calculations and References,” *US EPA*, Aug. 10, 2015. <https://www.epa.gov/energy/greenhouse-gases-equivalencies-calculator-calculations-and-references#:~:text=The%20average%20carbon%20dioxide%20coefficient>

[3]“Consumo de gasolina por país,” *TheGlobalEconomy.com*, 2023. [https://es.theglobaleconomy.com/rankings/gasoline\\_consumption/](https://es.theglobaleconomy.com/rankings/gasoline_consumption/)

[4] Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, “Minambiente, interesado en ayudar a disminuir el desperdicio de alimentos - Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible,” Sep.29, 2022. <https://www.minambiente.gov.co/cambio-climatico/minambiente-interesado-en-ayudar-a-disminuir-el-desperdicio-de-alimentos/>

[5]Nutresa, “Informe Integrado 2021, Pérdida y Desperdicio de Alimentos,” 2021. Accessed: Nov. 01, 2023. [Online]. Available: [https://data.gruponutresa.com/informes/2021/Informe\\_integrado\\_2021-Perdida\\_y\\_desperdicio\\_de\\_alimentos.pdf](https://data.gruponutresa.com/informes/2021/Informe_integrado_2021-Perdida_y_desperdicio_de_alimentos.pdf)

[6] K. García, “ Codigestión anaeróbica de estiércol y lodos de depuradora para producción de biogás" Trabajo de Fin de Master Perfil Investigador,” 2009. Accessed: Sep. 13, 2023. [Online]. Available: <https://core.ac.uk/download/pdf/161351086.pdf>

[7]CONSEJO NACIONAL DE POLÍTICA ECONÓMICA Y SOCIAL, “Política De Transición Energética Conpes 4075,” Mar. 2022. Accessed: Nov. 01, 2023. [Online]. Available: <https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Conpes/Econ%C3%B3micos/4075.pdf>

[8]MINENERGIA, PNUD, FAO, GEF, “Manual De Biogás”. 2011. <https://www.fao.org/3/as400s/as400s.pdf>

[9] J. Pérez Serna y Y. A. Quinchía Jaramillo, "Revisión sistemática de parámetros de calidad de producción de biogás a partir de pulpa de café mediante digestión anaerobia," Tesis de Ingeniería

Ambiental, Univ. Nac. Abierta y a Distancia, Medellín, Colombia, 2019. [En línea]. Disponible:<https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/25667/%20%09yaquinchiaj.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

[10] O. Bozorg-Haddad, M. Delpasand y H. A. Loáiciga, “10 - Water quality, hygiene, and health”, en O. Bozorg-Haddad, Ed. Elsevier, 2021, pp. 217–257. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90567-1.00008-5>

[11] OMS, “DeCS Ácidos Grasos Volátiles,” *Bvsalud.org*, 2020. <https://decs.bvsalud.org/es/ths/resource/?id=5335> (accessed Apr. 16, 2024).

[12] M. Bakraoui, Fadoua Karouach, Badr Ouhammou, M. Aggour, Aazzouz Essamri, and Hassan El Bari, “Biogas production from recycled paper mill wastewater by UASB digester: Optimal and mesophilic conditions,” *Biotechnology reports*, vol. 25, pp. e00402–e00402, Mar. 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00402>.

[13] H. Fisgativa y M. Debled, "Performance of Coupling an Aerobic Pre-treatment Prior to a Solid-State Anaerobic Digestion of Food Waste," *Waste and Biomass Valorization*, 2019. [En línea]. DOI: 10.1007/s12649-019-00630-z.

[14] G. Kulichkova *et al.*, “Plant Feedstocks and their Biogas Production Potentials”, *Open Agriculture J.*, vol. 14, pp. 219–234, noviembre de 2020. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.2174/1874331502014010219>

[15] Textos científicos, “Fermentación anaeróbica | Textos Científicos,” *Textoscientificos.com*, Nov. 27, 2005. <https://www.textoscientificos.com/energia/fermentacion> (accessed Jun. 30, 2024).

[16] Zonagreen, “¿Qué es un inóculo? Descubre su significado y uso en la agricultura,” *Zona Green*, Nov. 04, 2023. <https://zonagreen.com.mx/que-es-un-inoculo/> (accessed Jun. 30, 2024).

[17] Clínica Universidad de Navarra. “Diccionario Médico Inoculable,” <https://www.cun.es>, 2024. <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/inoculable> (accessed Jun. 30, 2024).

- [18] Águas Claras Engenharia, “Reactor UASB: Sepa que és y como funciona | Águas Claras Engenharia, Águas Claras, Aug. 13, 2019. <https://www.aguasclarasengenharia.com.br/reactor-uasb-sepa-que-es-y-como-funciona/> (accessed Jun. 30, 2024).
- [19] G. Srisowmeya, M. Chakravarthy, and G. Nandhini Devi, “Critical considerations in two-stage anaerobic digestion of food waste – A review,” *Renewable & sustainable energy reviews*, vol. 119, pp. 109587–109587, Mar. 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109587>.
- [20] M. M. Arimi, J. Knodel, A. Kiprof, S. S. Namango, Y. Zhang, and Sven-Uwe Geißen, “Strategies for improvement of biohydrogen production from organic-rich wastewater: A review,” *Biomass & bioenergy*, vol. 75, pp. 101–118, Apr. 2015, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.02.011>.
- [21] E. Kwietniewska and Jerzy Tys, “Process characteristics, inhibition factors and methane yields of anaerobic digestion process, with particular focus on microalgal biomass fermentation,” *Renewable & sustainable energy reviews*, vol. 34, pp. 491–500, Jun. 2014, doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.041>.
- [22] M. He *et al.*, “Influence of Temperature on Hydrolysis Acidification of Food Waste,” *The Seventh International Conference on Waste Management and Technology (ICWMT 7)*, vol. 16, pp. 85–94, 2012, doi: <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2012.10.012>.
- [23] AGQ Labs & Technological Services, “Artículo técnico: Análisis químico, medir es comparar”, 2017. <https://agqlabs.cl/wp-content/uploads/Analisis-quimico-medir-es-comparar.pdf>
- [24] T. Fan *et al.*, “Hydrolysis of food waste by hot water extraction and subsequent *Rhizopus* fermentation to fumaric acid,” *Journal of Environmental Management*, vol. 270, pp. 110954–110954, Sep. 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110954>.
- [25] M. Zamanzadeh, L. H. Hagen, K. Svensson, R. Linjordet, and S. J. Horn, “Biogas production from food waste via co-digestion and digestion- effects on performance and microbial ecology,” *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, Dec. 2017, doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15784-w>.

- [26] L. Mayorga-Reyes, P. Bustamante-Camilo, A. Gutiérrez-Nava, E. Barranco-Florido, and A. Azaola-Espinosa, “Crecimiento, sobrevivencia y adaptación de bifidobacterium infantis a condiciones ácidas growth, survival and adaptation of bifidobacterium infantis to acidic conditions,” *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, vol. 8, no. 3, pp. 259–264, 2009. [Online]. Available: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v8n3/v8n3a3.pdf>
- [27] M. A. M. Ishak, A. Y. Ani, S. N. A. Syed Ismail, M. L. M. Ali y R. Ahmad, “Chapter 2 - Conversion of biomass to biofuels”, en S. Yusup y N. A. Rashidi, Eds. Elsevier, 2022, pp. 49–67. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824388-6.00005-1>
- [28] M. A. Hassaan, M. R. Elkatory, A. El Nemr y A. Pantaleo, “Chapter 11 - Eco-friendly biogas production from algal biomass”, en M. El-Sheekh y A. E.-F. Abomohra, Eds. Elsevier, 2022, pp. 225–249. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823764-9.00023-6>
- [29] V. Arelli, S. Juntupally, S. Begum y G. R. Anupoju, “16 - Solid state anaerobic digestion of organic waste for the generation of biogas and bio manure”, en C. Hussain y S. Hait, Eds. Elsevier, 2022, pp. 247-277. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85792-5.00023-X>
- [30] C. Juan, M. Diana and A. Luis, “El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo”, *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias; Rev Col Cienc Pec* Vol. 18:1, 2005. Redalyc.org. [En línea]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2950/295022952006.pdf>.
- [31] Anyi Pacco *et al.*, “Proposal design parameters of a UASB reactor treating swine wastewater,” *Scientia agropecuaria*, vol. 9, no. 3, pp. 381–391, Sep. 2018, doi: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.03.09>. Available: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2077-99172018000300009](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172018000300009). [Accessed: Apr. 29, 2024]
- [32] Lorenzo Cristiani, Lorenzo Leobello, Marco Zeppilli, Marianna Villano, “Role of C/N ratio in a pilot scale Microbial Electrolysis Cell (MEC) for biomethane production and biogas upgrading”. *Renewable Energy*, Volume 210, 2023, Pages 355-363, ISSN 0960-1481, <https://doi.org/10.1016/j.renene.2023.04.049>.

[33] USDA U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE,. “Carbon to Nitrogen Ratios in Cropping Systems | Natural Resources Conservation Service,” *Natural Resources Conservation Service*, 2024. <http://cultivosdeservicios.agro.uba.ar/wp-content/uploads/2019/04/stelprdb1166766.pdf> (accessed Feb. 01, 2024).

[34] J. Parrado, H. Dorsant, A. Cuesta, and M. Alberto, “UTILIZANDO LOS MÉTODOS DE MACRO Y MICRO-KJELDAHL\*.” Available: [https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/20069/76451\\_1180.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/20069/76451_1180.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

[35]D. B, Emilia, and Yuset, “Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico,” *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, vol. XL, pp. 45–50, 2006, Available: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120664006>

[36]L. J. Burgos Montañez, “Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico,” *Questionar: Investigación Específica*, vol. 7, no. 1, pp. 57–66, Dec. 2020, doi: <https://doi.org/10.29097/23461098.308>.

[37] T. G. Mayerhöfer, S. Pahlow, and J. Popp, “The Bouguer-Beer-Lambert Law: Shining Light on the Obscure,” *ChemPhysChem*, vol. 21, no. 18, pp. 2029–2046, Aug. 2020, doi: <https://doi.org/10.1002/cphc.202000464>.

[38] Khan Academy, “Carbohidratos:Descripción general de los carbohidratos que abarca estructura y propiedades de monosacáridos, disacáridos y polisacáridos. ,” *Khanacademy.org*, 2023. <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/chemistry-of-life/properties-structure-and-function-of-biological-macromolecules/a/carbohydrates> (accessed Feb. 19, 2024).

[39]Food and Agriculture Organization, “Capítulo 9: Macronutrientes: carbohidratos, grasas y proteínas,” *Fao.org*, 2024. <https://www.fao.org/3/w0073s/w0073s0d.htm#:~:text=Los%20carbohidratos%20m%C3%A1s%20sencillos%20son,%3A%20glucosa%2C%20fructosa%20y%20galactosa>. (accessed Feb. 19, 2024).

[40] “M·MMP·1·03/03 LIBRO: MMP. MÉTODOS DE MUESTREO Y PRUEBA DE MATERIALES.” Available: <https://normas.imt.mx/normativa/M-MMP-1-03-03.pdf>

[41] R. Lilian, O. Charchalac, and H. Zamorano, Available: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/120c3a12-cfb2-45a0-af5e-ae607acb7efd/content>

[42] D. Mammarella, A. Di Giuliano y K. Gallucci, *Reuse and Valorization of Solid Digestate Ashes from Biogas Production*, vol. 17. 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/en17030751>

[43] J. Armando, B. Cárdenas, and C. Lemus Flores, “Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revisión Enteric methane emission by ruminants and its contribution to global climate change. Review,” *Rev Mex Cienc Pecu*, vol. 3, no. 2, pp. 215–246, 2012, Available: <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v3n2/v3n2a6.pdf>

[44] L. M, A. Gaviria, A. Pérez-Hernández, V. G. Nevárez-MOorillón, N. Rinderknecht-Seijas, and Poggi-Varaldo, Héctor M, “Comparación de dos sistemas anaerobios acoplados para la biometanización de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos,” *Interciencia*, vol. 28, no. 8, pp. 436–442, 2024, Accessed: Mar. 05, 2024. [Online]. Available: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442003000800002](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442003000800002)

[45] Mark P, “Guía sobre el Biogás Desde la producción hasta el uso.”, Fachagentur Nachwachsende Rohstoff (FNR), 2013 Available: <https://www.fnr.de/fileadmin/Projekte/2021/Mediathek/leitfadenbiogas-es-2013.pdf>

[46] B. J. Jobling Purser, S. M. Thai, T. Fritz, S. R. Esteves, R. M. Dinsdale y A. J. Guwy, “An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food waste”, *Water Res.*, vol. 61, pp. 162–170, septiembre de 2014. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.05.020>

[47] N. Da *et al.*, “Potential of biogas and methane production from anaerobic digestion of poultry slaughterhouse effluent”, *Rev. Bras. Zootec.*, vol. 41, pp. 2379–2383, noviembre de 2012. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982012001100013>

[48] Área de Ingeniería Mecánica. Universitat Jaume I, “*Rendimineto*,” *Mecapedia.uji.es*, 2024. <https://www.mecapedia.uji.es/pages/rendimiento.html> (accessed Jun. 29, 2024).

[49] Siswo Sumardiono, Hashfi Hawali Abdul Matin, Ihdina Sulistianingias, Tri Yulianto Nugroho, Budiyo Budiyo. “Effect of physical and biological pretreatment on sugarcane bagasse waste-based biogas production”. *Materials Today: Proceedings*, Volume 87, Part 2, 2023, Pages 41-44, ISSN 2214-7853, <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.01.372>.

[50] A. Martínez-Sánchez et al., “Estudio de estabilidad del inóculo LB-1 del bioproducto Lebame”, *ICIDCA. Sobre Deriv. Cana Azucar*, vol. 51, n.º 2, pp. 17–20, febrero de 2017. Accedido el 9 de febrero de 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223154251003>

[51] G. de la Vega Ruiz, “Proteínas de la harina de trigo: clasificación y propiedades funcionales”, *Temas Cienc. Tecnol.*, vol. 13, n.º 38, pp. 27–32, 2009. [https://www.utm.mx/edi\\_anteriores/Temas38/2NOTAS%2038-1.pdf](https://www.utm.mx/edi_anteriores/Temas38/2NOTAS%2038-1.pdf)

[52] J. ISLAS, A. CORONA, LÓPEZ Y LÓPEZ, Víctor E, T. JURADO, and Jorge, “Obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis ácida de *Beta vulgaris* L.,” *Revista internacional de contaminación ambiental*, vol. 28, no. 2, pp. 151–158, 2024, Accessed: Feb. 19, 2024. [Online]. Available: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-49992012000200006](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992012000200006)

[53] Maurice A, “13.6: Análisis Post-hoc — Prueba de Diferencia Honestamente Significativa (HSD) de Tukey85,” *LibreTexts Español*, Oct. 31, 2022. [https://espanol.libretexts.org/Estadisticas/Estadisticas\\_Introductorias/Libro%3A\\_Estad%3A\\_Dstica\\_inferencial\\_y\\_probabilidad\\_-\\_Un\\_enfoque\\_hol%C3%ADstico\\_\(Geraghty\)/13%3A\\_An%C3%A1lisis\\_de\\_varianza\\_de\\_un\\_factor\\_\(ANOVA\)/13.06%3A\\_An%C3%A1lisis\\_Post-hoc\\_%E2%80%94\\_Pruoba\\_de\\_Diferencia\\_Honestamente\\_Significativa\\_\(HSD\)\\_de\\_Tukey85](https://espanol.libretexts.org/Estadisticas/Estadisticas_Introductorias/Libro%3A_Estad%3A_Dstica_inferencial_y_probabilidad_-_Un_enfoque_hol%C3%ADstico_(Geraghty)/13%3A_An%C3%A1lisis_de_varianza_de_un_factor_(ANOVA)/13.06%3A_An%C3%A1lisis_Post-hoc_%E2%80%94_Pruoba_de_Diferencia_Honestamente_Significativa_(HSD)_de_Tukey85) (accessed Mar. 28, 2024).

[54] J. N. Martín, A. Esteves, y S. Manrique, "Influencia del porcentaje de sólidos en la producción de biogás a partir de guano caprino," en Acta de la XXXIX Reunión de Trabajo de la Asociación Argentina de Energías Renovables y Medio Ambiente, vol. 4, pp. 06.97-06.106, 2016.

[55] M. N. I. Siddique, M. Munaim y Z. Wahid, "Mesophilic and thermophilic biomethane production by co-digesting pretreated petrochemical wastewater with beef and dairy cattle manure", J. Ind. Eng. Chemistry, vol. 20, p. 331–337, enero de 2014. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.03.030>

[56] M. Lili, G. Biró, E. Sulyok, M. Petis, J. Borbély, and J. Tamás, "NOVEL APPROACH ON THE BASIS OF FOS/TAC METHOD," Fascicula Protecția Mediului, vol. XVII, 2011, Accessed: Mar. 01, 2024. [Online]. Available: [https://protmed.uoradea.ro/facultate/anale/protectia\\_mediului/2011B/im/15.%20Mezes%20Lili.pdf](https://protmed.uoradea.ro/facultate/anale/protectia_mediului/2011B/im/15.%20Mezes%20Lili.pdf)

[57] D.-A. Nabarlantz, L.-P. Arenas-Beltrán, D.-M. Herrera-Soracá, y D.-A. Niño-Bonilla, "Biogas production by anaerobic digestion of wastewater from palm oil mill industry," CT&F - Ciencia, Tecnología y Futuro, vol. 5, no. 2, pp. , enero-junio 2013.

[58] M.-Y. Shen et al., "Improvement of gaseous bioenergy production from spent coffee grounds Co-digestion with pulp wastewater by physical/chemical pretreatments", Int. J. Hydrogen Energy, vol. 47, n.º 96, pp. 40664–40671, diciembre de 2022. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.10.041>

[59] Energiforsk, "Increased yield of biogas by post treatment of residual sludge report 2016:312 energy gas technology.", ISBN 978-91-7673-312-7, Energiforsk 2016. Accessed: Apr. 04, 2024. [Online]. Available: [https://energiforskmedia.blob.core.windows.net/media/21662/increased-yield-of-biogas-by-post-treatment-of-residual-sludge-energiforskrapport-2016-312\\_af.pdf](https://energiforskmedia.blob.core.windows.net/media/21662/increased-yield-of-biogas-by-post-treatment-of-residual-sludge-energiforskrapport-2016-312_af.pdf)

[60] M. F. Drennan y T. D. DiStefano, "High solids co-digestion of food and landscape waste and the potential for ammonia toxicity", Waste Manage., vol. 34, n.º 7, pp. 1289–1298, julio de 2014. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.03.019>

- [61] N. Hariastuti et al., “Full-Scale Application of Up-flow High Rate Anaerobic Reactor with Substrate Modification and Effluent Recirculation for Sugarcane Vinasse Degradation and Biogas Generation”, *J. Ecol. Eng.*, vol. 22, n.º 4, pp. 314–324, abril de 2021. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.12911/22998993/134036>
- [62] J. Bhattacharya, S. Dev y B. Das, “Chapter 11 - Design of Wastewater Bioremediation Plant and Systems”, en J. Bhattacharya, S. Dev y B. Das, Eds. Butterworth-Heinemann, 2018, pp. 265–313. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812510-6.00011-5>
- [63] D. Tas et al., “Comparative Assessment of Sludge Pre-Treatment Techniques to Enhance Sludge Dewaterability and Biogas Production”, *CLEAN - Soil Air Water*, vol. 46, p. 1700569, enero de 2018. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1002/clen.201700569>
- [64] A. Eusébio, C. A. Santos y I. P. Marques, “Anaerobic Digestion of Microalga *Chlorella protothecoides* and Metagenomic Analysis of Reddish-Colored Digestate”, *Appl. Sci.*, vol. 13, p. 3325, marzo de 2023. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/app13053325>
- [65] M. Musa, Syazwani Idrus, Che Hasfalina, and N. Daud, “Effect of Organic Loading Rate on Anaerobic Digestion Performance of Mesophilic (UASB) Reactor Using Cattle Slaughterhouse Wastewater as Substrate,” *International journal of environmental research and public health/International journal of environmental research and public health*, vol. 15, no. 10, pp. 2220–2220, Oct. 2018, doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph15102220>.
- [66] M. A. Latif, C. M. Mehta y D. J. Batstone, “Influence of low pH on continuous anaerobic digestion of waste activated sludge”, *Water Res.*, vol. 113, pp. 42–49, abril de 2017. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.002>
- [67] C. E. Manyi-Loh, S. N. Mamphweli, E. L. Meyer, A. I. Okoh, G. Makaka y M. Simon, *Microbial Anaerobic Digestion (Bio-Digesters) as an Approach to the Decontamination of Animal Wastes in Pollution Control and the Generation of Renewable Energy*, vol. 10. 2013. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/ijerph10094390>
- [68] S. S. Samsudin, M. S. Abdul Majid, M. R. Mohd Jamir y A. F. Osman, “Thermal polymer composites of hybrid fillers”, *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, vol. 670, p. 012037, diciembre de 2019. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/670/1/012037>

[69] Elaplas, "Ficha técnica Silicona VMQ," Elastómeros, plásticos, cauchos y piezas de poliuretano - Elaplas, *Elaplas.es*, 2024. <https://www.elaplas.es/> (accessed Jun. 29, 2024).

[70] A. Ferrantelli, P. Melóis y M. Viljanen, "Sensitivity studies of heat transfer: forced convection across a cylindrical pipe and duct flow", agosto de 2013.

[71] Çengel Y. A. and A. J. Ghajar, "Transferencia de calor y masa : fundamentos y aplicaciones". México: Mcgraw-Hill, 2011

[72] J. Pimentel López, A. Amante-Orozco, R. Martínez-Esquivel, E. D. Rössel-Kipping, E. J. García-Herrera, y A. Gómez-González, "Digestión anaerobia de estiércol de ovino para producir biogás y bioabono", *AP*, vol. 12, n.º 4, abr. 2019.

[73] M. Aremu, "Comparison of Biogas production from Cow dung and Pig dung under Mesophilic condition," *International Refereed Journal of Engineering and Science (IRJES) ISSN (Online)*, vol. 1, no. 4, pp. 16–21, 2012, Accessed: Jul. 09, 2024. [Online]. Available: <http://www.irjes.com/Papers/vol1-issue4/Version%201/C141621.pdf>