

**UNIVERSIDAD VERACRUZANA
CENTRO DE INVESTIGACIONES TROPICALES**



Universidad Veracruzana

**Potencial de la biomasa residual del fruto de *Jatropha curcas* L.
para la producción de biogás: un enfoque experimental.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN ECOLOGÍA TROPICAL**

PRESENTA

BIOL. CÉSAR SANTOS LANDEROS GUTIÉRREZ

Comité tutorial:

**Dr. Odilón Sánchez Sánchez
Dr. Eric Pascal Houbron Marty
Dr. Jorge Del Real Olvera**

Agradecimientos y dedicatorias.

Agradezco principalmente a Dios por darme la vida y permitirme alcanzar cada una de mis metas propuestas.

A la Universidad Veracruzana y al Centro de Investigaciones Tropicales (CITRO) así como a todos mis catedráticos, por brindar servicios académicos de excelencia, y por otorgar las facilidades necesarias para la realización de estudios de postgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios de maestría.

Al Dr. Odilón Sánchez Sánchez, por permitirme desarrollar esta investigación bajo su dirección, sobre todo por su paciencia, tiempo y conocimientos compartidos.

Al Dr. Eric Houbron por su paciencia, asesoría y facilidades otorgadas en el uso del Laboratorio de Gestión y Control Ambiental de Universidad Veracruzana ubicado en la Facultad de Ciencias Químicas.

Al Dr. Jorge Del Real por la revisión, corrección y sugerencias que ayudaron a la mejora de este proyecto.

A la M. C. Gloria Inés por sus asesorías y consejos brindados para la culminación de este trabajo científico.

A la I.Q. Selene Tejeda y I.Q. Gerardo por su entereza y enseñanzas brindadas durante mi estancia en el laboratorio.

A mi compañero QFB. Daniel Cuervo por su apoyo, asesoría y paciencia brindado en los cálculos utilizados en algunas operaciones.

A mis padres, Hermanas que me brindaron su apoyo y financiamiento para seguir adelante y finalizar con éxito esta investigación.

Y a todas y cada una de las personas que contribuyeron de alguna manera en la realización de este trabajo el cual no hubiera sido posible sin su ayuda.

Dedico esta investigación a Mis Padres: César Román y María Elena, a mis hermanas: Amparo, Reina y Susana, que siempre han creído en mí y que me apoyan en todo momento de mi vida. Especialmente a mi sobrino Joshua que con sus ocurrencias siempre me hace sonreír.

Así como a los interesados en ampliar sus conocimientos sobre la obtención de biogás y metano a nivel laboratorio a partir de *Jatropha curcas* L no tóxica.

Índice

1. Introducción	1
2. Marco teórico	3
2.1 Situación del biogás en el mundo	3
2.2 Ejemplo de <i>Jatropha curcas</i> L. como biomasa para la generación de biogás	4
2.3 Producción de biogás en México	6
3. Marco conceptual	7
3.1 Energías renovables y energías no renovables	7
3.2 Biomasa: Tipos y uso	9
3.3 Biocombustibles	10
3.4 Tratamiento anaerobio para residuos vegetales	13
3.5 Fases de la digestión anaerobia en la obtención de biogás	14
3.5.1 Hidrólisis	16
3.5.2 Acidogénesis o fermentación	16
3.5.3 Acetogenesis	17
3.5.4 Metanogénesis	17
3.5.5 Parámetros que influyen en la digestión anaerobia	17
3.5.5.1 pH: Neutralidad y Alcalinidad	18
3.5.5.2 Ácidos grasos volátiles (AGV'S)	19
3.5.5.3 Temperatura	20
3.5.5.4 Demanda Química de Oxígeno (DQO)	21
3.5.5.5 Agitación	24
3.5.5.6 Tiempo de retención	25
3.5.5.7 Contenido de sólidos suspendidos totales	25
3.5.5.8 Fósforo y nitrógeno total	26
3.5.5.9 Relación C/N	26
3.5.5.10 Toxicidad o efectos inhibitorios	27
3.5.5.11 Metales pesados	27
3.6 Inóculo	28
3.6.1 Lodos activados	31
3.7 Tamaño de la partícula	31
3.8 Biodigestores Anaerobios	33
3.8.1 Clasificación de los reactores químicos	33
3.8.2 Reactores a nivel laboratorio	36
3.8.3 Reactores anaerobios discontinuos	37
3.8.3.1 Descripción del reactor ASBR	38
3.9 Cultivos energéticos	40
3.9.1 <i>Jatropha curcas</i> L. como cultivo energético	41
3.10 Pruebas de biodegradabilidad anaerobia	43

3.10.1 Método estandarizado para la Biodegradación Anaerobia, Actividad e Inhibición perteneciente a la Asociación Internacional del Agua	44
4. Objetivos	55
4.1 Objetivo general	55
4.2 objetivos particulares	55
5. Hipótesis	55
6. Materiales y Métodos	56
6.1 Ubicación y descripción del área de colecta	56
6.2 Desarrollo del Trabajo	57
6.3 Metodología del Trabajo	59
6.3.1 Visita a plantación y Recorridos de prospección	59
6.3.2 Delimitación del área a muestrear y selección de individuos	59
6.3.3 Recorridos para la colecta de frutos	59
6.3.4 Colecta del inóculo microbiano (lodos anaerobios)	60
6.4 Trabajo de laboratorio	60
6.4.1 Pesado del fruto	60
6.4.2 Obtención de la cáscara	60
6.4.3 Pesado de la cáscara	61
6.4.4 Almacenamiento de la cáscara	61
6.4.5 Secado de la cáscara del fruto	61
6.4.6 Pre-acondicionamiento de la cáscara	63
6.4.7 Lavado de inóculo microbiano (lodo anaerobio)	63
6.4.8 Pesado del lodo anaerobio	63
6.5 Metodología Experimental	64
6.5.1 Caracterización de la biomasa residual de <i>Jatropha curcas</i> L	64
6.5.2 Implementación de un reactor anaerobio para la producción de biogás	66
6.5.3 Medición del volumen de biogás producido	74
7. Resultados y Discusión	75
7.1 Caracterización de la cáscara residual del fruto	75
7.2. Implementación de un reactor anaerobio para la producción de biogás	85
7.3 Medición del volumen producido y de la DQOs	85
8. Conclusiones	95
9. Recomendaciones	96
10. Bibliografía	97

Índice de figuras

1. Composición del biogás	12
2. Etapas principales de la Digestión Anaerobia	15
3. Estratificación del reactor por ausencia de mezclado	24
4. Clasificación de reactores según el intercambio de materia	34
5. Fases de operación de un reactor anaerobio modo “Batch”	39
6. Planta de <i>Jatropha curcas</i> L. ó piñoncillo	42
7. Ensayo en recipientes para la prueba de biodegradabilidad anaerobia	51
8. Curva teórica con el punto de medición de la pendiente	53
9. Ubicación del sitio de estudio	56
10. Parcelas donde se colectaron los frutos de <i>Jatropha curcas</i> L	57
11. Etapas del trabajo experimental	58
12. Colecta de frutos de <i>Jatropha curcas</i> L	59
13. Pesado de frutos maduros de <i>Jatropha curcas</i> L	60
14. Cáscara del fruto maduro de <i>Jatropha curcas</i> L	61
15. Cáscaras secas del fruto de <i>Jatropha curcas</i> L	62
16. Estado físico de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L	62
17. Lavado de lodos anaerobios	63
18. Lodos anaerobios para inocular los reactores anaerobios	64
19. Esquema del montaje experimental de reactores anaerobios	67
20. Gránulos de lodos anaerobios a 10 x	67
21. Gránulos de lodos anaerobios	68
22. Fotografía de los bioreactores empleados	69
23. Reactores Anaerobios: A) Testigo, B) Blanco, C) Tratamiento 1, D) Tratamiento 2 y E) Tratamiento 3	71
24. Contenido de fibras lignocelulósicas antes y después de la digestión Anaerobia	80
25. Evolución de la producción de metano (CH ₄), pH y DQOs	87
26. Evolución de la producción de metano en el tratamiento 2	88
27. Evolución de la producción de CH ₄ , pH y DQOs	90
28. Evolución de la Digestión Anaerobia en la cáscara entera	91
29. Evolución de la producción de CH ₄ , pH y DQOs en el blanco	93
30. Evolución de la producción de metano (CH ₄) en los cinco reactores	94

Índice de tablas

1. Clasificación de la energía	7
2. Clasificación de los biocombustibles en función de su origen	10
3. Clasificación de los biocombustibles según su aspecto físico	11
4. Uso de diferentes inóculos en sustratos de origen vegetal	29
5. Influencia del tamaño de partícula en la producción de gas metano	31
6. Tamaño de reactores	35
7. Tipos de reactores anaerobios a nivel laboratorio	36
8. Criterios utilizados para el análisis Físicoquímico	64
9. Normas TAPPI para el análisis de madera y pulpa	66
10. Listado de reactivos para preparar la solución amortiguadora	72
11. Caracterización de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L. Análisis vía Sólido Seco	75
12. Composición porcentual de la cáscara. Análisis vía Sólido húmedo	76
13. Composición de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L. (Promedios en base seca)	76
14. Análisis Lignocelulósico de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L	79
15. Fibras lignocelulósicas de la cáscara de <i>Jatropha curcas</i> L. después de Digestión Anaerobia	80
16. Análisis del licor mezclado de los Reactores Anaerobios Batch	86
17. Potencial metanogenico de las fibras lignocelulosicas removidas	94

Índice de fórmulas

1. Determinación de volumen de inóculo	49
2. Obtención de la constante $-K_hS$	54
3. Obtención de la constante $-K_{ht}$	54

Resumen

El presente trabajo trata de resolver una problemática actual y futura que consiste en la valorización de los residuos de *Jatropha curcas* L., mediante la evaluación del potencial de la cáscara residual del fruto para la obtención de biogás. *Jatropha curcas* L. o piñón pertenece a la familia Euforbiaceae. Es originaria de México y Centroamérica. Actualmente ha adquirido gran importancia como especie oleaginosa, siendo su aceite muy valioso para la industria de los biocombustibles, con la producción de biodiesel. La biomasa residual se puede usar para obtener biogás. El proceso se evaluó en 3 digestores anaerobios de tipo Batch a escala piloto, además de los testigos del inóculo y sustrato. En uno se colocó la cáscara sin cortar (2 cm), en otro en fragmentos (1.5 cm) y en el tercero molida (0.6 mm). La evolución del proceso se siguió diariamente por determinaciones químicas de DQOs, pH y producción de metano. Los resultados sugieren que este tipo de sustrato es susceptible de transformarse en metano. Se determinó que el tiempo de retención óptimo fue de 126 días para la digestión de la materia orgánica y generación de metano. Bajo las condiciones de operación las cinéticas de producción son bajas, esto se debió a la presencia de fibras estrechamente ligadas de lignina, hemicelulosa y celulosa.

Introducción

Energías renovables como la eólica, solar, hidráulica, geotérmica, mareomotriz y bioenergías se destacan por la disminución de agentes contaminantes al ambiente en comparación con aquellas provenientes de hidrocarburos, además de proveer una motivación financiera. Juegan un papel fundamental junto con los biocombustibles tales como el bioetanol, biodiesel y biogás, obtenidos a partir de biomasa proveniente tanto de desechos industriales como rurales, así como de cultivos energéticos oleaginosos como la colza, aceite de palma, soja, girasol, maní y *Jatropha* los cuales han adquirido importancia en el campo bioenergético (Posso, 2002).

La implementación del biogás como fuente de energía se remonta a los Persas, quienes descubrieron que la biomasa o materia orgánica en descomposición, generaba un gas flamable que podía ser empleado para otros fines tales como combustible o fuente de iluminación. Fue empleado por primera vez a nivel industrial en 1985 en Reino Unido, utilizando como biomasa madera y carbón, para la iluminación de las ciudades. Posteriormente su utilidad se diversificó al ser empleado en motores de combustión interna durante la segunda guerra mundial en Europa, también se empleó en motores de diesel en 1942, como combustible en camiones recolectores de basura Suizos. Los antecedentes del biogás como fuente de energía corroboran su gran potencial al reciclar biomasa sin utilidad o valor comercial alguno, y su versatilidad en cuanto a su conversión energética (procesos de combustión y generación de electricidad o calor) y aplicaciones (Masera, 2006; IDEA, 2007; Deublein y Steinhauser, 2008; Last, 2009).

La creciente popularidad del piñón (*Jatropha curcas* L) en México como cultivo energético, reside a su tolerancia a condiciones ambientales desfavorables y el empleo de su semilla como biomasa para la generación de biodiesel y la cáscara para la obtención de biogás. La siembra del piñón a gran escala se ha venido desarrollando de manera reciente en varios países del mundo, principalmente de Centro y Sur América, África y Asia. (Toral *et al.*, 2008, FAO, 2008^a). Esta también ha sido relevante en la mayoría de los países de la región mesoamericana, documentándose más de 7400 ha sembradas de *Jatropha* (Cifuentes-Jara y Fallot, 2010), siendo México, el país con mayor área de plantaciones

(3000-6500 ha), seguido de Honduras (2500 -3000 ha). Hasta ahora, las áreas plantadas con *Jatropha* son en su mayoría tierras con potencial limitado para la producción intensiva de cultivos agrícolas tradicionales (Cifuentes-Jara y Fallot, 2010). La actual disponibilidad de *Jatropha* en nuestro país, así como la proyectada expansión de su cultivo (hasta alcanzar los 5 millones de hectáreas), la posicionan como una fuente de materia prima ideal para la generación de biogás a partir de la biomasa residual generada durante el proceso del beneficiado del fruto (separación de la cáscara) para la obtención de la semilla.

El presente proyecto plantea el uso de dicha biomasa residual para la producción de biogás, mediante la fermentación anaerobia dentro de un biodigestor a nivel laboratorio.

2 Marco Teórico

2.1 Situación del biogás en el mundo

Organizaciones internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), están incursionando en el diseño e implementación de tecnologías relacionadas con la producción del biogás para el desarrollo de las comunidades rurales. Este tipo de proyectos se han aplicado en varios países de Europa, Asia y Oceanía, obteniendo resultados alentadores a favor de las nuevas tecnologías relacionadas con la producción de biogás (Matthews, 2006).

Países de Europa como Francia, España, Alemania e Italia están aprovechando los beneficios del biogás en grandes proporciones, principalmente para la producción de energía eléctrica (Deublein y Steinhauser, 2008).

Existiendo una capacidad para generar biogás y energía eléctrica cercana a los mil MW en sectores agrícolas, industriales, de aguas residuales y rellenos sanitarios. La proyección del mercado establece un crecimiento energético mundial de hasta 4,275 MW para 2010, debido al crecimiento demográfico y el desarrollo económico (FAO, 2011).

El 60 % de dicho crecimiento energético proviene de rellenos sanitarios los cuales tenderán a disminuir en las próximas décadas, debido a las nuevas leyes aprobatorias en cuanto al manejo y disposición de basura, y al repunte de los sectores de residuos agropecuarios y la industria alimenticia (Matera, 2006; Deublein y Steinhauser, 2008).

Solo en Alemania, en los últimos tres años, se ha duplicado la capacidad energética y se reporta la existencia de 2700 plantas de biogás con un potencial total de 665 MW y un total de generación de energía de 3.2 TWh. Se estima un potencial actual de 1,100 a 1,900 MW, basados en residuos agrícolas, pecuarios, desechos orgánicos urbanos e industria alimentaria. Está planeado construir 43 000 plantas de biogás en Alemania para el año 2020 (Deublein y Steinhauser, 2008).

En China, India y Nepal el gobierno ha promovido la introducción de programas para la utilización de biogás dentro de las comunidades (Contreras *et al.*, 2006). En China se ha trabajado desde los años ochenta y la mayor expansión se dio en los noventa. De acuerdo con Matera (2006), existen a la fecha 11.1 millones de biodigestores domésticos en China y

cuenta con más de 100 mil unidades de pequeña y media escala (para comunidades o pequeñas ciudades). En cuanto a India, actualmente se estima que existen de 16 a 22 millones de plantas pequeñas (reactores de 2 m² de volumen, con una capacidad energética suficiente para una familia de granjeros con 4 vacas). La experiencia del Nepal ha sido también muy exitosa contabilizando más de 100 mil unidades familiares que emplean dicha energía renovable (Deublein y Steinhauser, 2008).

2.2 Empleo de *Jatropha curcas* L. como biomasa para la generación de biogás

Algunos investigadores se han especializado en el estudio de plantas oleaginosas para la obtención de biogás, como *Jatropha curcas* L. Staubmann *et al.*, (1997) emplearon los residuos de semilla prensada en un filtro anaerobio de 110 L, obteniendo un rendimiento de 355 L de biogás con 70 % de metano por cada kg de Demanda Química de Oxígeno (DQO) degradada.

Por su parte Shilpkar *et al.*, (2009) realizaron una mezcla con las cáscaras de *Jatropha curcas* L. y excremento de búfalo para evaluar el potencial de la biometanización, (Empleando digestores de vidrio capacidad de 5 L), obteniendo una producción de biogás de 2936.39 mL d⁻¹ con la mezcla de pasta de *Jatropha* y excremento de búfalo, lo cual representó un incremento de 139.2 % respecto al testigo (únicamente heces) el cual generó un promedio de 1227.58 mL d⁻¹. La producción de gas metano fue de 71.74 % atribuido a los nutrientes provenientes de la semilla y los resultados de la codigestión presentaron un incremento de 92.94 % para la demanda química de oxígeno.

También se han realizado experimentos con la cáscara de *Jatropha curcas* L. en la obtención de biogás y biofertilizante, aplicando la digestión anaerobia y reactores anaerobios. Estos reportan producciones de biogás de un 70 %, con una disminución de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) del 70 al 80 % (Sotolongo *et al.*, 2007; López *et al.*, 2008).

Dhanya *et al.*, (2009) realizaron investigaciones para evaluar la producción de biogás en diferentes tratamientos con excremento de vaca y cáscara del fruto de *Jatropha curcas* L dentro de un periodo de 70 días. Las pruebas fueron llevadas a cabo en matraces de cristal con una capacidad de 2 L. Se realizaron 5 tratamientos y 2 blancos, el testigo 1 consistía

solo en cáscara de *Jatropha curcas* L (sustrato) y el testigo 2 contenía heces fecales de ganado vacuno (inóculo). Los tratamientos subsecuentes fueron mezclas de cáscara del fruto con heces fecales de ganado vacuno.

La máxima producción de biogás fue obtenida en una relación 2:1 con 403.84 l/kg de cáscara de *Jatropha* seguida por los tratamientos 3:1, 1:2, 1:1 y 1:3, obteniendo 329.66, 219.77, 217.79, 203.64 l/kg materia seca comparado con el blanco que contenía solo heces fecales, el cual obtuvo 178.49 l/kg materia seca (50 % CH₄) (Dhanya *et al.*, 2009).

Sinbuathong *et al.*; (2011) evaluaron la efectividad del proceso de digestión anaerobia en reactores Batch para producir biogás. En esta experimentación se utilizaron 5 reactores con una capacidad de 6 L y un volumen útil de 5 L. El sustrato pasta comprimida (semilla de *Jatropha curcas* L.), fue diluido en preparaciones 1:20, 1:10, 1:6.67, 1:5 y 1:4 presentando un pH inicial de 5.5 ajustado a 7 con bicarbonato de sodio. El inóculo (excremento fresco de vaca) diluido a 1:1. El reactor Batch diluido a 1:20 y 1:10 obtuvieron un 60 % de gas (7.5 L ST/día). La máxima producción de metano fue de 296 L ST/Kg DQO degradada (164 L en ST/kgSTV degradados ó 156 L en ST/Kg de pasta comprimida).

Raheman y Mondal (2012) realizaron un estudio en reactores (capacidad 2 L) para evaluar la producción de biogás a partir de pasta comprimida (semilla de *Jatropha curcas* L.). En el tiempo de retención hídrica (40 días) se evaluaron dos testigos conteniendo solo excremento de vaca (inóculo) y pasta comprimida (sustrato). El tratamiento T1 (50 g de pasta comprimida y 150 g excremento de vaca en una relación de 25%: 75%). El T2 (100 g pasta comprimida y 100 g excremento en una relación de 50%: 50%) y el T3 (150 g pasta comprimida y 50 g excremento de vaca en una relación de 75%: 25%).

Además Raheman y Mondal (2012) estudiaron el efecto del contenido de sólidos totales en la producción de biogás en base a los tratamientos siguientes: El tratamiento 1 (excremento bovino: 10 % Sólidos Totales), el tratamiento 2 (pasta comprimida de *Jatropha*: 10 % Sólidos Totales). El tratamiento 3 (pasta comprimida: 15 % Sólidos Totales). El tratamiento 4 (pasta comprimida: 20 % Sólidos Totales) y por último el tratamiento 5 (pasta comprimida: 25 % de Sólidos Totales).

Raheman y Mondal en el 2012 en base a los resultados obtenidos determinaron que el contenido de metano producido consistió en 68.3 %, 69.5% y 68 % para una proporción de mezcla de *Jatropha*: excremento bovino en una relación 25 %: 75 %, 50 %: 50 % y 75 %: 25 %. La máxima producción de gas fue 0.170 m³/kg ST para la pasta de *Jatropha* (20 % sólido total) en comparación con los 0.166 m³/kgST obtenidos del excremento bovino. El porcentaje de metano (CH₄) fue 65-68 % en la pasta comprimida en comparación con el 37.5 % obtenido del excremento.

2.3 Producción de biogás en México

La primera experiencia a nivel nacional, sobre el aprovechamiento del biogás fue llevada a cabo en Nuevo León en el año de 2002. Esta empleó el biogás emitido por la basura dispuesta en rellenos sanitarios, para la generación de 52 GWh de energía eléctrica y la mitigación de emisiones de 34 m³/min de metano. Algunos objetivos específicos de este proyecto fueron la aplicación de dicha tecnología para plantear un modelo reproducible en otras ciudades de México y América Latina (Maserá, 2006).

En las comunidades rurales, la tecnología para la obtención del biogás ha sido probada principalmente con biodigestores horizontales tipo “bolsa flexible”, con bolsas de fermentación y reservorios de biogás de material plástico (capacidad de 3 m³). En estos casos un biodigestor alimentado con 16 kg de estiércol por día puede producir 1,235 L de biogás en 21 días, lo cual alcanza un rendimiento útil para su empleo como fuente de energía para procesos de combustión (Maserá, 2006).

Por otra parte la utilización de biogás en dichas comunidades rurales se enfoca en el empleo de residuos orgánicos como el excremento de ganado y restos vegetales, por lo cual dicha tecnología cuenta con potencial para extrapolar su uso a los sistemas ganaderos de explotación intensiva (Soria *et al.*, 2001; Casas *et al.*, 2009).

Hay estudios que evalúan el potencial del biogás para la generación de energía eléctrica a nivel laboratorio a partir de estiércol de ganado bovino o residuos sólidos agrícolas (Posso, 2002; Magaña *et al.*, 2006; Casas *et al.*, 2009).

3 Marco Conceptual

3.1 Energías renovables y no renovables

Las fuentes de energías renovables son los tipos de flujo de energía natural que resultan útiles para los fines humanos presentándose cerca de la superficie de la Tierra y, además, son depósitos útiles de energía naturales que se reponen por flujo natural dentro del marco de tiempo de uso humano concebible. Todas las fuentes conocidas de energías renovables tienen su origen en la radiación electromagnética del Sol, la Tierra y los campos gravitacionales lunares y el calor que irradia desde el interior de la tierra. Las fuentes de energía renovable son prácticamente inagotables aunque algunas fuentes como la conversión de energía térmica oceánica y geotérmica pueden llegar a ser localmente agotadas por el uso humano a un ritmo que supera la reposición por flujo natural (Hoexter, 2007). La clasificación de las energías renovables y no renovables se puede observar en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de la energía (United Nations Statistics Division, 2012)

Tipo	Renovabilidad	Renovable		No renovable
Convencional	Comercial	Hidroeléctrica Geotérmica Nuclear		Combustibles fósiles Nuclear (otra)
	Tradicional	Otras	Solar (Secado al aire) Hidro (molino, bombas, etc.) Viento (molinos, bomba, velas) Animado (animal y humano)	
		Biomasa	Leña "Cultivo" Natural Bosques/ carbón Ramas, hojas Palos, etc.	Extracción de leña para carbón

Continuación (tabla 1)

Tipo	Renovabilidad	Renovable		No renovable
		Biomasa	Residuos de cultivos (paja, cáscara etc) Residuos animales (estiércol, sebo, etc.) Residuos industriales (residuos de madera, aserrín, etc.)	Extracción de leña para carbón
No convencional	Nueva		Plantación y cultivos marinos (Para destilación, pirolisis, etc) Biogás	
		Otra	Solar (Colectores fotovoltaicas) Hidro (mini y micro) Viento (motores viento) De mareas, energía de las olas Gradientes térmicos oceánicos Bombas de calor	Nuclear (Fusión) Petróleo partir de carbón Gas natural sintético

Las Fuentes no renovables de energía son las reservas de energía con cero índices o diminutos índices por minuto de reposición en relación a su agotamiento por los seres humanos. La mayoría de las fuentes no renovables de energía se convierten en energía utilizable por reacciones térmicas o nucleares. Las fuentes no renovables de energía han

almacenado el flujo de energía natural del pasado biológico y geológico de la Tierra o de la formación de elementos en la historia temprana del Universo (Hoexter, 2007).

La diversificación en los recursos de la energía renovable puede ser una opción viable para asegurar en buena parte la disponibilidad de energía, porque no sólo un tipo de recurso sería suficiente para disminuir considerablemente la utilización de combustibles fósiles. Entre los recursos de energías renovables disponibles para la diversificación se encuentran los siguientes: a) *Agro-Energía* mediante el cultivo de vegetales como *Jatropha* e higuera para elaboración de biodiesel o biogás, y los pastos *Miscanthus* y *Switchgrass* para elaboración de etanol celulósico, b) *Micro-Algas* cultivadas en foto-bio-reactores para elaboración de biodiesel y captura de dióxido de carbono, c) *Energía del Clima* como la solar, eólica y marítima (De la Vega, 2008).

3.2 Biomasa: tipos y uso

La biomasa se considera una fuente renovable y limpia de energía. Esta energía química acumulada puede ser utilizada para producir calor, combustibles líquidos y gaseosos (Matera, 2006). La biomasa ocupa un lugar preponderante entre las fuentes de energía renovable representando el 13 % del suministro total de energía primaria.

La biomasa es la mayor fuente de potencia para generación de energía eléctrica con Energías Alternativas después de la hidroeléctrica (Posso, 2002). Los principales subproductos de las industrias forestales se emplean para producir leña y carbón vegetal, a la vez que el aceite vegetal puro (subproducto del pulpeo) es una fuente importante de combustible para la generación de bioelectricidad en países como Brasil, Canadá, Estados Unidos de América, Finlandia y Suecia. El uso de biomasa como energía representa, en México, 8 % de la demanda de energía primaria y está centrada en el uso de leña residencial y de pequeñas industrias (FAO, 2008^b).

Los cultivos energéticos son ya una realidad en países como Brasil y Estados Unidos que enfocan la producción de caña de azúcar y maíz, respectivamente, a la obtención de etanol. Si bien hasta ahora el principal incremento en la utilización de la biomasa como fuente de energía se ha basado en la biomasa residual (procedente de actividades agrícolas, ganaderas

y forestales), son los cultivos energéticos considerados como la alternativa más adecuada y competitiva (Posso, 2002).

3.3 Biocombustibles

Una de las grandes ventajas de los biocombustibles, frente a los denominados combustibles fósiles, es su carácter de fuente energética renovables, además de ser considerados como una energía renovable destinada a mitigar las carencias futuras de combustibles fósiles (Camps y Marcos, 2002). Estos son derivados en su mayoría de productos forestales, agrícolas y pesqueros o desechos municipales, así como de subproductos y desechos de la agroindustria, la industria alimentaria y los servicios alimentarios.

Se pueden clasificar en función de su origen y su aspecto físico como se plantea en las tablas 2 y 3.

Tabla 2. Clasificación de los biocombustibles en función de su origen

Origen del biocombustible		Especie o procedencia
Cultivos energéticos	Agrícolas	Cardo, sorgo, miscanto, girasol, soja, maíz, trigo, cebada, remolacha, especies C4 agrícolas ...
	Forestales	Chopos, Sauces, Eucaliptos, Robinas, Acacias, especies C4 forestales ...
Restos de cultivos agrícolas	Cultivos herbáceos	Paja, restos de cereales y especies herbáceas...
	Cultivos leñosos	Olivo, vid, frutales de hueso, frutales de pepita y especies leñosas ...
Restos de tratamientos silvícolas	Podas, clareos, restos de cortas finales	Especies forestales
Restos de industrias forestales	Industrias de primera transformación de la madera	Especies maderables
	Industrias de segunda transformación de la madera	Especies maderables
Restos de industrias agroalimentarias		Especies vegetales agroalimentarias
Restos de explotaciones ganaderas		Animales de granja
Restos de actividades humanas		Todo tipo de biomasa sólida urbana

Tomado de Camps y Marcos (2002)

Tabla 3. Clasificación de los biocombustibles según su aspecto físico

Aspecto físico	Biocombustibles
Sólidos	Residuos maderables (Leña y astillas) Paja de cereales y biomasa de cardo, <i>Miscanthus</i> ... Biocombustibles sólidos densificados Carbón vegetal
Líquidos	Líquido piroleñoso Líquido de hidrólisis Bioetanol y bioalcoholes Aditivos oxigenados Aceite vegetal Metil éster
Gases	Biogás de origen muy diverso

Tomado de Camps y Marcos (2002)

Los biocombustibles más importantes hoy en día son el etanol y el biodiesel. El etanol se produce, principalmente, a partir de la caña de azúcar y el maíz, y -en menor medida-, a partir del trigo, remolacha azucarera y yuca. El biodiesel se produce, principalmente, con aceite de colza, en menor medida, con aceites de palma, soja y *Jatropha* (FAO, 2008^b).

Otro biocombustible de importancia es el biogás, este es una mezcla de gases constituida principalmente por metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) en una proporción de 60 % y 40 % respectivamente, y cantidades traza de otros gases (10 %) como ácido sulfhídrico, nitrógeno, oxígeno y vapor de agua, entre otros. Es producido a partir de la digestión anaerobia de residuos vegetales y animales, por ejemplo, estiércol animal o humano, aguas negras y residuos agrícolas (Masera, 2006).

El metano CH₄, constituyente principal del biogás (Figura 1), contribuye de manera muy importante como gas de efecto invernadero (GEI), con un impacto mayor que el CO₂ aproximadamente 21 veces más en la atmósfera (Solórzano, 2003). Con un poder calorífico medio entre 18.8 y 23.0 MJ/m³ puede emplearse en motores de combustión interna, para cocción de alimentos, iluminación, calefacción doméstica (Masera, 2006) o bien en enfriadores de absorción para producir refrigeración (Casas *et al.*, 2009) entre otros usos.

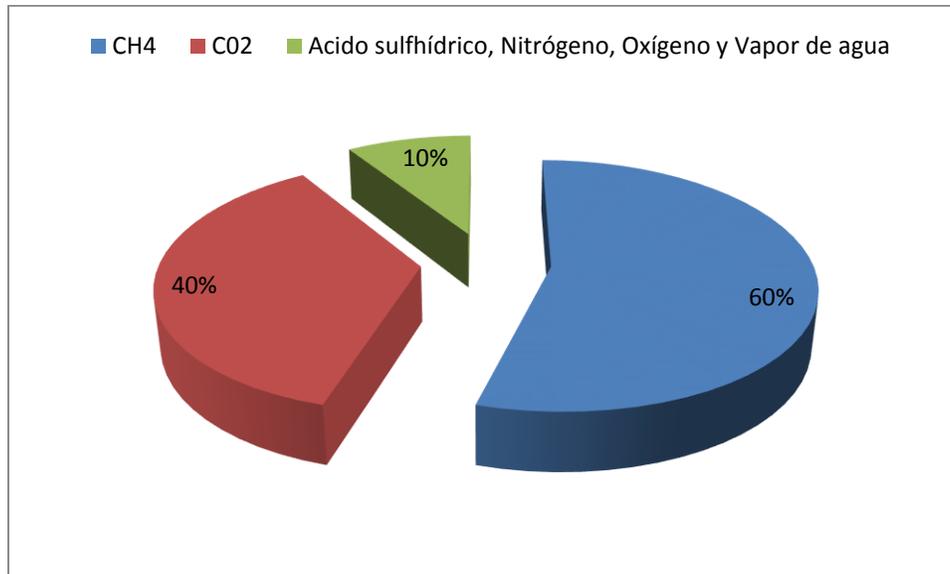


Figura 1. Composición del biogás (Masera, 2006)

De manera general la FAO agrupa a los biocombustibles –o bioenergéticos-, en tres categorías: 1) combustibles de madera; 2) agrocombustibles, y 3) subproductos de origen municipal. En el caso de México se han clasificado siete subcategorías:

- 1) Combustibles de madera (bosques naturales y plantaciones)
- 2) Subproductos de la extracción forestal e industria maderera
- 3) Subproductos agrícolas
- 4) Subproductos pecuarios
- 5) Subproductos agroindustriales
- 6) Cultivos energéticos
- 7) Subproductos de origen municipal

La producción de biocombustibles depende sobre todo del potencial ambiental, social y económico de cada región del mundo (González, 2009).

La digestión anaerobia se está utilizando como una alternativa efectiva para el tratamiento de los residuos lignocelulósicos, incluyendo a los residuos agrícolas y a los cultivos no alimentarios, como una fuente de materia prima para la producción de energía renovable, incluyendo especialmente al biogás (Cysneiros *et al.*, 2010).

Fernández *et al.*, (2010) realizaron pruebas de digestión anaerobia con residuos vegetales para evaluar su potencial energético y su resistencia a la degradación anaerobia. La investigación logró demostrar que los residuos vegetales son una fuente de energía altamente renovable obteniendo bioetanol, biogás y biofertilizantes.

3.4 Tratamientos anaerobios para residuos vegetales

Las características físicas y químicas de los residuos sólidos orgánicos son de gran importancia en cuanto a la correcta selección del tipo de fermentación a emplear. Investigadores sugieren que la digestión anaerobia es el tratamiento más idóneo para el aprovechamiento de los residuos orgánicos y la generación de biogás como fuente de energía (Buenrostro *et al.*, 2000). Es por ello que la digestión anaerobia se aplica como primera etapa en el proceso de tratamiento de dichos residuos, dando a lugar a una reducción de la alta carga orgánica a valores de Demanda Química de Oxígeno (DQO), que puedan emplearse en procesos aerobios adicionales (Gallardo, 2002).

Los tipos de residuos que pueden tratarse en la digestión anaerobia pueden ser según Gallardo (2002) y Hernández (2002):

- Residuos industriales (industria cervecera, lechera, alimentaria, etc.)
- Residuos agrícolas (ganadería porcina, avícola, residuos de granjas, residuos sólidos de cosechas, etc.)
- Residuos domésticos (agua residual bruta, fracción orgánica de los residuos sólidos domésticos).

La digestión anaeróbica aplicada a residuos vegetales y agroindustriales permite reducir su impacto ambiental a partir del reciclado de la materia orgánica y de la energía contenida en los mismos, siempre que su concentración en lignina no sea demasiado elevado, ya que se ha demostrado en niveles superiores al 15 % en peso de lignina que inhiben el proceso (Vereda *et al.*, 2006).

Caballero-Arzápalo *et al.*, (2010) aplicaron la digestión anaerobia a residuos orgánicos como residuos de frutas y vegetales para la producción de biogás. Estos residuos fueron estudiados como sustratos en diferentes bioreactores bajo diferentes condiciones de

operación. Los resultados obtenidos reflejaron una conversión del 70-90 % de la materia orgánica a metano.

En algunas ciudades tropicales y subtropicales con altas producciones de materia orgánica, generada por las actividades de la agricultura, cosecha y comercio en grandes mercados, se ha aplicado el uso efectivo de la digestión anaerobia, especialmente en algunos frutos como el plátano, la papaya y la caña de azúcar. Los residuos del plátano han sido estudiados por Caballero-Arzápalo *et al.*, (2010) en las dos últimas décadas, obteniendo una producción de $9.22 \text{ l kg}^{-1} \text{ ST}$ y un promedio de 72 % de metano (CH_4). Estos autores, también están evaluando el uso de especies de *bacillus*, rumen y combinaciones de rumen y *bacillus*, utilizando los residuos de materia orgánica de los cultivos de papaya como sustrato en reactores anaerobios para generar energía en la forma de biogás, evitando problemas ambientales y disminuyendo los riesgos a la salud humana (Caballero-Arzápalo *et al.*, 2010).

3.5 Fases de la digestión anaerobia en la obtención de biogás

La digestión anaerobia es un proceso biológico en el cual los microorganismos en ausencia de oxígeno pueden descomponer la materia orgánica en partículas menos complejas y obtener como producto final metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2), Sulfuro de Hidrógeno (H_2S) e Hidrógeno (H_2) (Soria *et al.*, 2001; González y Longoria, 2005; Magaña *et al.*, 2006; Mantilla *et al.*, 2007; Casas *et al.*, 2009).

Se lleva a cabo en el tracto digestivo de animales y debajo de aguas estancadas o pantanos pero también puede realizarse de manera controlada en depósitos cerrados herméticamente, llamados digestores (Soria *et al.*, 2001). La digestión anaerobia tiene ciertas ventajas en la producción de pequeñas cantidades de residuos (lodos) utilizados como abono y la generación de biogás que puede ser usado como fuente de energía (Gavala *et al.*, 2003).

De manera convencional la digestión anaerobia es uno de los principales procesos empleados para el tratamiento de residuos agrícolas, aguas residuales industriales y residuos sólidos municipales. Los procesos microbiológicos de la digestión anaerobia son complejos, dado que involucran a varios grupos de bacterias durante la degradación de la biomasa. Se han identificado cuatro fases principales y tres grupos mayoritarios de

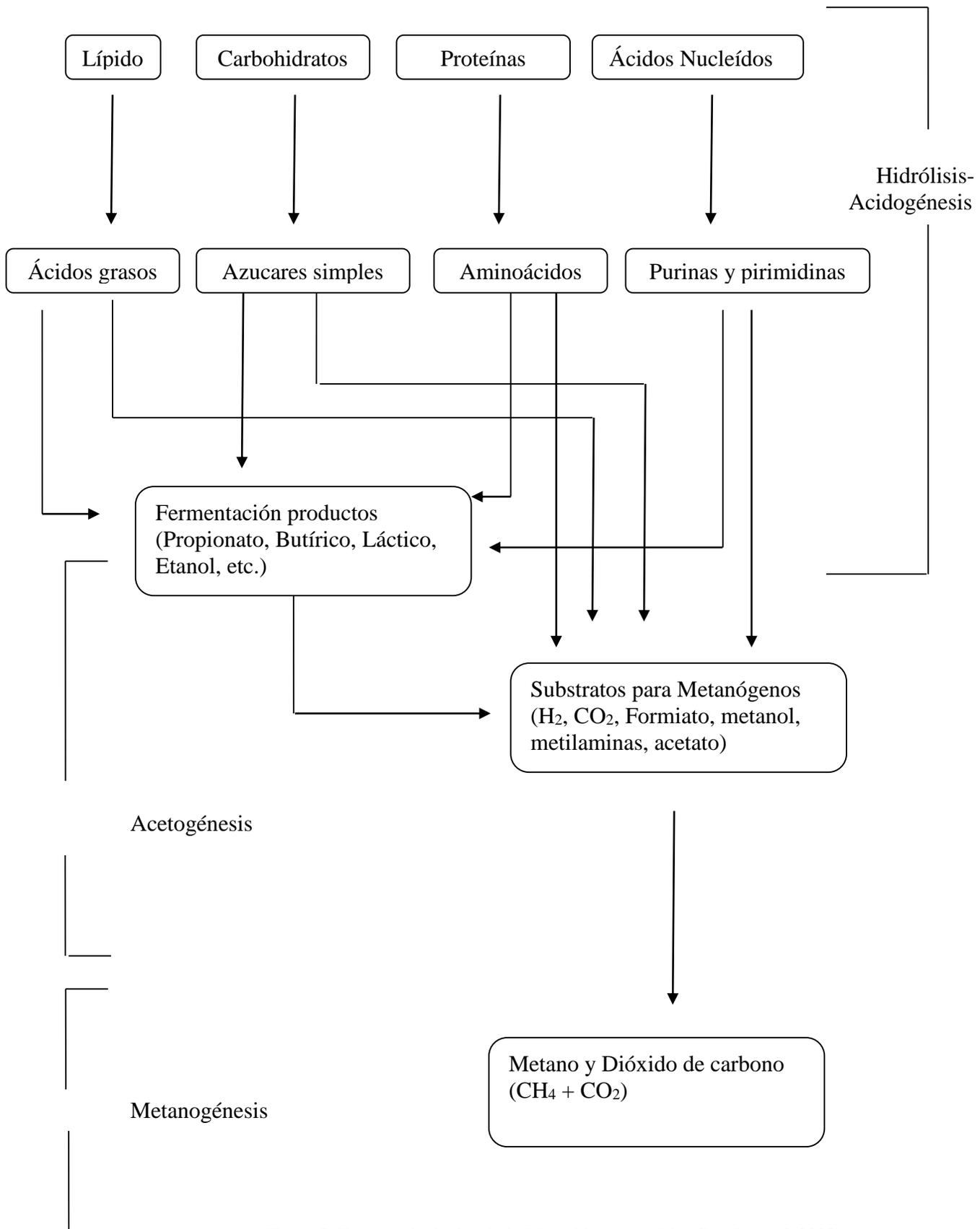


Figura 2. Etapas principales de la Digestión Anaerobia (Gavala *et al*; 2003)

bacterias (Figura 2): las bacterias hidrolíticas-fermentativas que hidrolizan y convierten los compuestos orgánicos a ácidos grasos volátiles con una producción simultánea de hidrógeno (H₂) y dióxido de carbono (CO₂), las bacterias acetogénicas convierten los ácidos grasos volátiles principalmente a ácido acético y finalmente las bacterias metanogénicas que producen metano y CO₂ (Gavala *et al.*, 2003).

3.5.1 Hidrólisis

Es el primer paso en el proceso de la digestión anaerobia, donde materiales orgánicos complejos (carbohidratos, celulosa, hemicelulosa, lignina, proteínas, grasas, aceites, etc.) son adicionados y convertidos por enzimas extracelulares de manera biológica (hidrolasas) o por procesos fisicoquímicos, a material soluble; y materia orgánica biodegradable (monómeros o dímeros), estableciendo un paso para su bioconversión bajo condiciones anaerobias (Gavala *et al.*, 2003). La hidrólisis depende de diferentes parámetros tales como el tamaño de la partícula, pH, producción de enzimas, difusión y adsorción de enzimas particulares. En esta etapa se lleva a cabo una colonización de bacterias sobre la superficie de los sólidos, y por lo cual su velocidad depende del área de contacto disponible. Las enzimas hidrolíticas degradan la superficie de los sólidos con una intensidad constante por unidad de tiempo. Las proteínas se hidrolizan por enzimas extracelulares (proteasas) a polipéptidos y aminoácidos. La velocidad de la hidrólisis depende mucho de la solubilidad de las proteínas, pH y el origen del cultivo anaerobio (Gavala *et al.*, 2003).

3.5.2 Acidogénesis o fermentación

La materia orgánica disuelta es biodegradada principalmente a ácidos grasos volátiles y alcoholes por una población de microorganismos heterogéneos predominando bacterias ya que los protozoarios, hongos y levaduras, son únicamente especies secundarias en el proceso de digestión anaerobia. Estas bacterias se caracterizan por ser anaerobias y facultativas llevando a cabo la conversión fermentativa del sustrato a productos menos complejos (Gavala *et al.*, 2003).

3.5.3 Acetogénesis

En la acetogénesis se presentan la degradación de alcoholes, ácidos grasos y compuestos aromáticos (obtenidos de la fermentación) mediante la hidrogenación acetogénica o la deshidrogenación acetogénica, produciendo ácido acético, CO₂ e H₂. La hidrogenación acetogénica tiene como producto final acetato, mediante la fermentación de hexosas o de CO₂ e H₂ (Gavala *et al.*, 2003).

En el proceso de la deshidrogenación Acetogénica, se lleva a cabo la oxidación anaerobia de moléculas grandes y pequeñas de ácidos grasos volátiles (AGV'S). En esta es obligatoria la producción de hidrógeno por las bacterias que realizan la oxidación anaerobia de los ácidos grasos. Estas pueden inhibirse debido a presiones bajas, no obstante pueden sobrevivir únicamente en asociaciones sintróficas con microorganismos que consumen hidrógeno tales como las metanógenos acetoclásticos (Gavala *et al.*, 2003).

3.5.4 Metanogénesis

Es la etapa final del proceso de digestión anaerobia e inicia después de haberse realizado la fermentación (alcohólica, acética, butírica, propiónica y fórmica) (Larrinaga, 2001). Un número muy limitado de compuestos orgánicos son utilizados para el crecimiento de las bacterias metanogénicas, por ejemplo el carbono como CO₂, CO, ácido fórmico y acético, metanol, metalaminas y el sulfito dimetil. El 65 – 70 % de la producción de la digestión anaerobia proviene del acetato. La metanogénesis del CO₂ y H₂ juega un papel importante, debido a que se mantiene baja la presión de hidrógeno permitiendo el crecimiento bacteriano y como consecuencia la oxidación anaerobia de los ácidos grasos volátiles (Gavala *et al.*, 2003).

3.5.5 Parámetros que influyen en la digestión anaerobia

La digestión anaerobia óptima se obtiene mediante el establecimiento de parámetros propicios para el desarrollo de las bacterias que intervienen en dicho proceso (Gallardo, 2002). Los parámetros que rigen de manera directa la digestión anaerobia se detallan a continuación:

3.5.5.1 pH: Neutralidad y Alcalinidad

Las bacterias que intervienen en la digestión anaerobia se encuentran en un rango de pH de entre 6 y 8, con un valor próximo a 7 para la actividad óptima (Fernández *et al.*, 2008, Raposo *et al.*, 2011). Es importante cuidar que el pH se encuentre dentro del rango mencionado, y que este no disminuya en el sistema, ya que las bacterias formadoras de metano no pueden trabajar en valores de pH debajo de 6, provocando una producción baja de metano (Gallardo, 2002). A valores de pH menores que 6.3 y mayores de 7.8, la cinética de la metanogénesis disminuye notablemente (Fernández *et al.*, 2008). Este proceso de inhibición es originado por la disminución del pH (menor que 6), obteniendo una insuficiente capacidad buffer dentro del reactor (Raposo *et al.*, 2011).

La alcalinidad del sistema es muy importante para mantener la estabilización del digestor anaerobio. Este parámetro determina la capacidad del digestor para neutralizar los ácidos grasos volátiles en el medio (Gallardo, 2002). El factor pH es muy importante en el metabolismo microbiano, pues durante la fase inicial ácida, el pH baja a 6 o menos, mientras que se produce una gran cantidad de CO₂. Conforme prosigue la digestión se produce menos CO₂ y más metano y el pH se eleva lentamente hasta llegar a un valor entre 7 y 8 (Magaña *et al.*, 2006).

Castro *et al.*, (2010) demostró que durante el proceso de digestión anaerobia de bagazo de Figue (fibras naturales) utilizando como inóculo una combinación de fluido ruminal bovino y excremento de cerdo, el rango óptimo de pH fue de 7 a 8.5. Este rango de pH favoreció el crecimiento y la actividad metabólica del consorcio bacteriano, obteniendo una 40 % de gas metano.

Swapnavahini *et al.*, (2010) montaron tres reactores Batch utilizando como sustrato hojas de *Sanctum sanctorum* y excremento de vaca como inóculo para realizar pruebas del proceso de biometanización para la producción de biogás. El rango del pH en esta prueba fue 2.1-5.7 quedando fuera de un rango óptimo para la producción de biogás y la capacidad amortiguadora casi no estuvo presente en el digestor anaerobio debido a la presencia de una mayor cantidad de material celulósico, trayendo consigo la inhibición del proceso

anaerobio y obteniendo solo 800 ml de biogás en el sexto día y después un descenso total del pH durante los 24 días restantes que duro el experimento.

De la Rubia *et al.*, (2011) menciona que el rango óptimo para la producción de gas metano es 7.0-8.5. Además recopiló información sobre pruebas anaerobias para el tratamiento de sustratos con celulosa. Menciona en esta recopilación que el rango de pH (7.0-7.5) utilizado por investigadores obtuvieron una mayor actividad de los microorganismos (rumen) reflejándose en la degradación de la celulosa. De la Rubia *et al.*; (2011) realizaron pruebas con sustratos lignocelulósicos en rangos de pH (7.1-7.8) cercano al mencionado en la literatura, obteniendo producción de gas metano de 186 a 123 mLCH₄g⁻¹SV, lo cual comparó con los datos recopilados, determinando nuevos rangos de pH óptimos para la digestión anaerobia de material lignocelulósico y producción de gas metano.

3.5.5.2 Ácidos grasos volátiles (AGV'S)

Este parámetro indica si existe un equilibrio entre las bacterias acidificantes y las bacterias formadoras de metano. Si no hay una alcalinidad alta en el proceso, la concentración de ácidos grasos volátiles se incrementará y existirá una acidificación dentro del digester anaerobio, provocando a su vez que el pH disminuya considerablemente; dando como resultado un fallo en el sistema (Gallardo, 2002).

Castro *et al.*, (2010) evaluaron el proceso de digestión anaerobia del bagazo Fique (fibras naturales) obteniendo variaciones en la producción de ácidos grasos volátiles los cuales se relacionan con el pH. Esta prueba reportó un rango de pH entre 7 y 8.5, favoreciendo el crecimiento y la actividad metabólica de los consorcios microbianos. Este comportamiento biológico es relacionado con las variaciones en la producción de los Ácidos Grasos Volátiles (AGV'S). En rangos de pH ácidos (2-5) se reporta la producción de AGVs originando una acidificación del reactor (Castro *et al.*, 2010; Cysneiros *et al.*, 2010).

Ficara y Malpei (2010) establecen que el incremento en la concentración de los AGVs durante la digestión anaerobia es un indicio de la actividad acidogénica, en base a sus investigaciones sobre digestión anaerobia con maíz (sustrato) y lodo anaerobio (inóculo). Por el contrario si disminuye la concentración de AGVs, la actividad metanogénica inicia.

Esta investigación reportó concentraciones iniciales de AGVs durante la etapa acidogénica de 250 mg/l y 1200 mg/l. Una vez que inició la fase metanogénica la concentración de AGVs fue en decrecimiento obteniendo un rango entre 50 y 100 mg/l.

Velmurugan y Ramanujam (2011), establecieron pruebas de digestión anaerobia en reactores batch a nivel laboratorio en condiciones mesofílicas (35°C), utilizando residuos vegetales inoculados con un consorcio bacteriano anaerobio. En este tipo de pruebas las bacterias acetogénicas convierten la materia orgánica en ácidos orgánicos, originando una disminución en el pH (5.7) y reduciendo el índice de producción de metano. Debido a la rápida acidificación de los residuos vegetales, se originó una concentración de AGVs lo que produjo una inestabilidad del reactor. Dicha inestabilidad fue controlada con una solución alcalina de 2000-4000 mg CaCO₃/l. La aparición de AGVs durante la fase de digestión anaerobia a partir de sustratos vegetales es un indicio de la conversión de materia orgánica a biogás (gas metano).

3.5.5.3 Temperatura

Este es uno de los parámetros que tiene mayor influencia en el proceso de la digestión anaerobia, ya que altera la actividad de las enzimas, y por tanto, varía la velocidad del proceso de digestión. Estas variaciones de temperatura pueden traer consigo cierta inestabilidad durante la producción de gas metano (CH₄) e incluso influir en el desarrollo de microorganismos (Gallardo, 2002). Las asociaciones bacterianas pueden operar de acuerdo a los siguientes rangos de temperatura:

- Psicrófilos (microorganismos que se desarrollan a menos de 20 °C)
- Mesófilos (microorganismos que se desarrollan entre 35 - 37 °C)
- Termófilos (microorganismos que se desarrollan entre un rango de 40 - 60°C)

Las bacterias metanogénicas mesofílicas tienen una temperatura óptima de desarrollo de 37 ° C alcanzando la máxima tasa de producción de gas. Sin embargo, a temperaturas superiores a 40 °C el proceso es menos estable y se necesita de una supervisión del proceso más compleja. La mayoría de los digestores operan a temperaturas mesofílicas, con buenos resultados de estabilidad y producción de gas (Gallardo, 2002; Del Real, 2007; Raposo *et al.*, 2011).

Cysneros *et al.*, (2010), desarrollaron un trabajo sobre los efectos de tres diferentes rangos de temperatura en un sustrato de hierbas perennes o residuos agrícolas aplicando como inóculo lodos granulares de un reactor anaerobio mesofílico. Las variables medidas fueron los sólidos volátiles, Demanda Química de Oxígeno soluble (DQOs) y Ácidos grasos volátiles (AGVS). Los resultados obtenidos presentaron una degradación total de los sólidos volátiles de 53 %, 34 % y 19 % en 37° C, 15° C, y 10° C. el estado de acidificación no afectó la producción y consumación de AGVs. Por último la producción de metano fue de $0.215 \text{ m}^3 \text{ CH}_4\text{kg}^{-1} \text{ SV}^{-1}$, $0.132 \text{ m}^3\text{CH}_4\text{kg}^{-1}\text{SV}^{-1}$ y $0.068 \text{ m}^3 \text{ CH}_4\text{kg}^{-1}\text{SV}^{-1}$ en 37°C, 15°C y 10°C respectivamente.

3.5.5.4 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La prueba de DQO es usada como una forma de medir concentración de la materia orgánica en los residuos domésticos e industriales. Permite medir en un residuo la cantidad total de oxígeno que se requiere para la oxidación de la materia orgánica a CO_2 y H_2O independientemente de la capacidad biológica de las sustancias para ser asimiladas. Se basa en que todos los compuestos orgánicos, pueden ser oxidados por la acción de agentes oxidantes fuertes en condiciones ácidas. Los nitrógenos aminos se convierten a nitrógeno amoniacal, el nitrógeno orgánico en estados más altos de oxidación se convierte a nitratos (Sawyer *et al.*, 2001).

La principal ventaja de la prueba de la DQO es el poco tiempo que se necesita para la evaluación; la determinación se puede hacer en tres horas; en vez de cinco días necesarios para la medición de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO); por esta razón, en muchos casos se usa como sustituto de la prueba de la DBO. Con frecuencia, los datos de la DQO se pueden interpretar en términos de valores de DBO, después de que se ha acumulado suficiente experiencia para establecer factores de correlación confiables (Sawyer *et al.*, 2001).

Las pruebas para la DBO y la DQO están diseñadas para medir los requerimientos de oxígeno de la materia orgánica presente en las muestras. Por tanto, es importante que no haya materia orgánica procedente de fuentes externas si se desea obtener una medida real de la cantidad presente en la muestra (Sawyer *et al.*, 2001). Resulta importante, realizarlo previo y durante el tratamiento anaerobio, ya que constituye un parámetro útil en el

monitoreo del proceso, permitiendo calcular la eficiencia del tratamiento (Fernández *et al.*, 2008).

Shilpkar, *et al.*, (2009) evaluaron la producción de CH₄ a partir del proceso de biometanización de cáscaras de *Jatropha curcas* L. y excremento de Búfalo para comparar la producción de CH₄ con la DQO. Determinaron una disminución en la DQO de 92.94 % a partir de las pruebas realizadas en los digestores anaerobios, debido a la eficiente actividad microbiológica para degradar la materia orgánica (Sólidos Totales y Sólidos Volátiles Totales) lo cual se reflejó en una producción de 71.74 % de CH₄.

Swapnavahini *et al.*, (2010) realizaron un estudio de digestión anaerobia con las hojas de *Ocimum sanctum* en reactores a escala laboratorio de una capacidad de 2.5 L los cuales tuvieron un periodo de retención de 30 días con temperatura controlada. El inóculo empleado fue excremento de vaca activo en un 10 % (v/v). Los resultados obtenidos demuestran una remoción de 73 % en sólidos totales y 45 % en sólidos volátiles durante 25 días. La producción de biogás en el sexto día fue de 800 ml únicamente y en el transcurso de los 30 días restantes que duró la experimentación se presentó una producción de biogás en un rango de 50 a 100 ml, no presentando aumento en la producción de biogás.

La baja producción de biogás durante el periodo de experimentación puede ser atribuido a la presencia de material lignocelulósico y a la variación del pH que se tornó ácido (3-5) durante el proceso de biodegradación anaerobia. La demanda química de oxígeno (DQO) reportó una reducción en 0 % durante los primeros cinco días y después con el inicio del proceso de desglosamiento de moléculas complejas se presentaron rangos de 30, 40 y 70 % en la reducción de materia orgánica. El proceso anaerobio a partir del día 25 obtuvo un 65 % en la reducción de los sólidos totales dentro de los reactores, presentando una baja producción de biogás debido a la disminución del pH y a la presencia de compuestos lignocelulósicos en el sustrato (pasta comprimida de hojas de *Ocimum*) (Swapnavahini *et al.*, 2010).

Cysneros *et al.*; 2010 realizaron pruebas de digestión anaerobia en reactores batch utilizando fragmentos de centeno (*Secale cereale* L.) entre 1 y 4 cm mezclado con lodo anaerobio como inóculo. Además se establecieron tres rangos de temperatura (37°C, 15°C y 10°C)

para realizar las pruebas anaerobias. El proceso de experimentación duró 150 días obteniendo una DQO soluble inicial de 460 mgDQOI⁻¹ finalizando el proceso en 5 mgDQOI⁻¹ con lo cual se determinó una degradación del 53 % de sólidos volátiles, lo cual se vio reflejado en la producción de 0.215 m³CH₄Kg⁻¹SV⁻¹ para el reactor con una temperatura a 37° C. El reactor a temperatura de 15 °C obtuvo una DQO soluble inicial de 114 mgDQOI⁻¹ finalizando el proceso en 20 mgDQOI⁻¹ con lo cual se obtuvo una degradación del 34 % de sólidos volátiles, lo cual se vio reflejado en la producción de 0.132 m³CH₄Kg⁻¹SV⁻¹. El tercer reactor a temperatura de 10 °C obtuvo una DQO soluble inicial de 261 mgDQOI⁻¹ finalizando el proceso en 50 mgDQOI⁻¹ con lo cual se determinó una degradación del 19% de sólidos volátiles, obteniendo una producción de 0.068 m³CH₄Kg⁻¹SV⁻¹. En esta experimentación, Cysneros *et al.*, 2010 lograron la digestión anaerobia de residuos lignocelulósicos evaluando los reactores anaerobios en base a cuatro variables: temperatura, DQO soluble, Sólidos Volátiles y la producción de CH₄. Obteniendo una eficiente degradación de los fragmentos de centeno (*Secale cereale* L.) sometidos a digestión anaerobia para la producción de gas metano.

La producción de metano y disminución de DQO se ve relacionada también en el trabajo realizado por Cuadros *et al*; (2011) en el cual sometieron a un proceso de biometanización las hojas de *Nicotiana tabacum* L. mezclándolas con bacterias anaerobias para evaluar la producción de biogás. Dichas pruebas fueron elaboradas en dos diferentes mezclas de tabaco/agua en proporción 2:10 y 1:10 para estudiar la influencia de este parámetro en la digestión anaerobia. El reactor con la dilución 2:10 obtuvo una producción de 21 m³CH₄/m³ tabaco relacionado con un bajo porcentaje de DQO (0.091 m³CH₄). En comparación con la segunda dilución de 1:10, la cual reportó una producción de 51 m³CH₄/m³ tabaco y un mayor porcentaje en la DQO de 1.28 m³CH₄.

Los resultados relacionados con la degradación de materia orgánica y producción de gas metano en el proceso de biometanización de las hojas de *Nicotiana tabacum* L. determinaron que la fracción de materia orgánica degradada es mayor cuando menor es la dilución del alimento. En ambos experimentos se observa que la DQO de salida está en 10.000 mg/l. Si las bacterias no son capaces de degradar por debajo de este nivel, es lógico pensar que en el caso del sustrato con mayor concentración, la reducción de DQO será

mucho mayor pues parten de un nivel muy superior de materia orgánica Cuadros *et al.*, (2011).

3.5.5.5 Agitación

El método de mezclado varía considerablemente en los procesos Batch. Los reactores en modo “Batch” pueden estar funcionando con agitación o sin agitación, pero existe otro tipo de reactores que no necesitan el proceso de mezclado. En otros tipos de reactores “Batch”, su contenido es mezclado por un agitador colocado en el centro (diluyendo los residuos relativamente) o existen reactores en los cuales, su contenido es mezclado utilizando una bomba para hacer circular el líquido fermentado (Barnett *et al.*, 1978; Ruiz, 2002).

El proceso de mezclado reduce la estratificación y mejora el contacto entre los organismos y el sustrato, incrementando el índice de descomposición y mejora los procesos de transferencia de masa y energía. En la figura 3, se muestra la estratificación de los materiales en ausencia del proceso de agitación. Es recomendable utilizar el mezclado en caso de utilizar materia vegetal (Barnett *et al.*, 1978; Ruiz, 2002).

En los sistemas de tratamiento anaerobio la agitación tiene un efecto directo sobre el contacto entre la materia orgánica y los microorganismos y, en consecuencia, sobre la cinética del proceso.

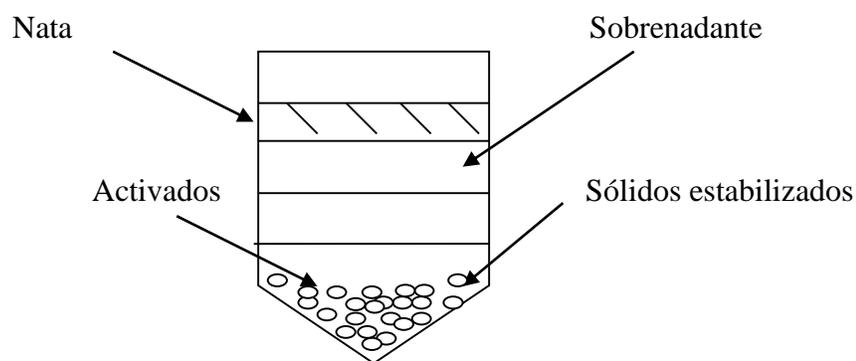


Figura 3. Estratificación del reactor por ausencia de mezclado (Tomado de Barnett *et al.*, 1978).

El sistema debe estar bien agitado y con cierta intensidad para asegurar condiciones uniformes de parámetros tan importantes como la temperatura, el pH y la concentración de sustrato. Esta práctica es importante para establecer un mejor contacto entre las bacterias y el sustrato. No obstante, diversos estudios en ASBR (por sus siglas en inglés: Anaerobic

Sequencing Batch Reactor) indicaron que la agitación intensa podía fragilizar los flóculos bacterianos y dar como resultado un empobrecimiento del rendimiento del sistema (Ruiz, 2002; Raposo *et al.*, 2011).

La agitación promovida por agitadores magnéticos y mecánicos es otra posibilidad utilizada para mejorar la homogenización dentro del reactor y facilitar el proceso de Digestión Anaerobia (Vereda *et al.*, 2006). La agitación puede ser intermitente, con frecuencias de 1 minuto.h⁻¹ o de 6 minutos.h⁻¹, o continúa desde la alimentación hasta el final de la reacción. Investigadores ha realizado pruebas agitando reactores de forma continua a lo largo de la fase de reacción. La influencia de la velocidad de agitación sobre el rendimiento del sistema fue estudiada haciéndola variar entre 50 y 750 rpm. La velocidad de agitación optima en esta prueba fue de 50 rpm debido a que el exceso de velocidad de agitación (750 rpm) puede ocasionar el rompimiento de los flóculos (conjunto de bacterias) ocasionando la disminución del proceso de biodegradación y lo que conduce a una baja generación de biogás (Ruiz, 2002).

3.5.5.6 Tiempo de retención

El tiempo promedio en que la materia orgánica es degradada por los microorganismos. Se ha observado que a un tiempo corto de retención se produce mayor cantidad de biogás, pero un residuo de baja calidad fertilizante por haber sido parcialmente digerido. En tiempos largos de retención se obtiene un rendimiento bajo de biogás, con un efluente (residuo) más degradado y con excedentes característicos como fuente de nutrimentos (Soria *et al.*, 2001).

3.5.5.7 Contenido de sólidos suspendidos totales

Este uno de los criterios decisivos para seleccionar el tipo de reactor anaerobio por emplear. Se han clasificado en sólidos totales, sólidos disueltos, sólidos suspendidos, sólidos fijos y sólidos sedimentales (Fernández *et al.*, 2008).

Los sólidos Totales, se refieren al material residual dejado en la capsula después de la evaporación de una muestra simple y su posterior secado en una estufa a una temperatura definida. Incluyen a los sólidos suspendidos totales (porción de sólidos totales retenida por un filtro), y los sólidos totales disueltos (porción que pasa a través de un filtro) (APHA, 1998).

Los sólidos fijos son los residuos totales, suspendidos o disueltos, después del calentamiento o evaporación por un tiempo específico a una temperatura determinada. El peso perdido en la ignición se denomina “sólido volátil” o también es considerado una porción orgánica de la muestra.

Los sólidos sedimentales, son el material sedimentado fuera de suspensión dentro de un periodo de tiempo definido. Puede incluir material flotante, dependiendo de la técnica empleada (APHA, 1998).

3.5.5.8 Fósforo y nitrógeno total

El crecimiento bacteriano requiere tanto de macronutrientes (principalmente N_2 y P), como de micronutrientes (metales pesados y elementos trazas). Debe resaltarse, que el nitrógeno y el fosforo no son removidos por los sistemas anaerobios, exceptuando la porción que se consume para el crecimiento bacteriano. En muchos casos, se observa un incremento de la concentración de estos elementos debido a los procesos de mineralización bacteriana, lo cual se puede considerar como favorable si se prevé el uso del efluente en el riego de cultivos agrícolas (Fernández *et al.*, 2008).

3.5.5.9 Relación C/N

Un factor importante para la digestión es la relación C/N, es decir la cantidad de carbono dividida entre la cantidad de nitrógeno. Los alimentos principales de las bacterias anaerobias son el carbono (en forma de carbohidratos) y el nitrógeno (en proteínas, nitratos, amoníaco, etc.) El carbono se utiliza para obtener energía y el nitrógeno para la reconstrucción de estructuras celulares. Las bacterias metabolizan el C treinta veces más rápido que el N. La digestión anaerobia, se lleva mejor a cabo cuando las materias primas suministradas a las bacterias contienen ciertas cantidades de C y de N al mismo tiempo. La razón de C a N representa la porción de los dos elementos. Una razón C/N de 30 (30 veces más carbono que nitrógeno) permitirá que la digestión se lleve a cabo a un ritmo óptimo, considerando que las otras condiciones sean favorables (Magaña *et al.*, 2006).

El N es un nutriente esencial para los microorganismos anaerobios junto con el C. El N juega un papel importante en el desarrollo de las bacterias anaerobias pues no inhibe el

proceso de fermentación pero en su forma ion amonio si afecta el proceso de digestión anaerobia (Chen *et al.*, 2008).

3.5.5.10 Toxicidad o efectos inhibitorios

Numerosos compuestos químicos orgánicos e inorgánicos tienen un efecto tóxico reversible o irreversible sobre los microorganismos. Algunas sustancias que provocan toxicidad o inhibición pueden ser producto de la actividad metabólica bacteriana. En la digestión anaerobia dos tóxicos son de particular importancia, (ya que ambos se producen durante el tratamiento) $\text{NH}_4\text{-N}$ y H_2S . El $\text{NH}_4\text{-N}$ puede formarse durante el tratamiento por la biodegradación de compuestos nitrogenados orgánicos (como proteínas y aminoácidos). El H_2S puede formarse durante el tratamiento de aguas que contengan niveles elevados de sulfatos (Larrinaga, 2001).

Las propiedades tóxicas irreversibles están generalmente relacionadas con la presencia de grupos con alta reactividad funcional, tales como aldehídos o grupos nitro. La exposición temporal a elevadas concentraciones de algunos cationes, ácidos orgánicos o valores desfavorables de pH generalmente tiene un efecto tóxico reversible sobre los microorganismos (Kleerebezem y Macarie, 2003).

Los microorganismos anaerobios, son más susceptibles a compuestos tóxicos que las bacterias aerobias, excepto en el caso de hidrocarburos alifáticos clorados. En algunos casos es posible, aplicar tratamientos para aclimatación de la biomasa o por aplicación de diseño de reactores (Kleerebezem y Macarie, 2003).

3.5.5.11 Metales pesados

Metales como el Ni, Fe, Zn, Cd, Co, y Cr o bien compuestos recalcitrantes, órgano-clorados, polímeros o compuestos fenólicos en altas concentraciones provocan efectos que influyen en la actividad de las bacterias (Larrinaga, 2001). Pueden presentarse en concentraciones importantes en los lodos y en las aguas residuales. No son biodegradables y pueden acumularse en concentraciones potencialmente tóxicas. La toxicidad de los metales es una de las principales causas de falla en los digestores (Chen *et al.*, 2008).

El efecto tóxico de los metales pesados en las bacterias encargadas de la digestión anaerobia es atribuido al rompimiento de la estructura y función enzimática por la

vinculación de los metales con moléculas de proteínas o debido al reemplazamiento que ocurre naturalmente de un metal con un grupo enzimático prostético (Chen *et al.*, 2008).

La concentración tóxica de los metales pesados depende de factores fisicoquímicos como diferencias en la composición del sustrato, género de bacterias, y factores ambientales. El 50 % del proceso metanogénico puede ser inhibido como resultado de la acumulación de altas concentraciones de metales pesados, por ejemplo Cu, Zn y Ni (Chen *et al.*, 2008).

Los métodos más importantes para mitigar la toxicidad de los metales pesados son la precipitación, absorción y la quelación por ligandos orgánicos e inorgánicos. El sulfito es el principal agente usado para precipitar metales pesados (Chen *et al.*, 2008).

La quimioadsorción es un mecanismo que se lleva a cabo dentro de los reactores anaerobios mediante una fase sólida y proveen de protección a los microorganismos de la inhibición de metales pesados. El efecto de protección es proporcional al área superficial de los sólidos. También se han propuesto lodos, carbón activado, kaolita, benzonita, diatomita y residuos de materiales como abono, y pulpa de celulosa por su afinidad con los metales para servir como mitigadores de la toxicidad generada (Chen *et al.*, 2008).

El sistema de defensa intracelular de las bacterias incluye ciertas medidas de protección contra la intoxicación por metales pesados como la precipitación o quelación de iones metálicos en la superficie celular. La biometilación, exócitosis (expulsión de metales después de su inactivación dentro de la célula) y resistencia en el plásmido (Chen *et al.*, 2008).

3.6 Inóculo

El inóculo consiste en una población microbiana natural que también puede ser expuesta al compuesto de prueba (Vázquez y Beltrán, 2004). La concentración inicial de lodo definirá la duración del ensayo (Torres y Pérez, 2010). Para ensayos en los que se garantice agitación se recomiendan concentraciones de inóculo entre 2.0 a 5.0 gSVT/L. El inóculo deberá ser caracterizado previamente en términos de los Sólidos Volátiles Totales (gSVT/L). El volumen de lodo a adicionar se calcula considerando que la mezcla de inóculo y sustrato no debe sobrepasar el 90 % del volumen útil del reactor biológico (Torres y Pérez, 2010).

Las características de los microorganismos colectados para usar como inóculo pueden variar dependiendo de la procedencia del inóculo. El tipo de inóculo utilizado en los procesos de digestión anaerobia han sido lodos anaerobios, extracto de suelo, rumen y abono animal. Los lodos digeridos de una planta de biogás pueden ser manejados como inóculo. También los residuos orgánicos una vez digeridos pueden ser empleados como inóculo activo (Raposo *et al.*, 2011).

Los resultados obtenidos de las pruebas de biopotencial metanogénico a partir de diferentes inóculos pueden variar en su actividad microbiana y en la producción de biogás (Raposo *et al.*, 2011). Los sustratos con altos índices de concentración de inóculo permiten una rápida conversión anaerobia del sustrato a gas metano (CH₄) (Raposo *et al.*, 2011). En la tabla 4 se puede observar la aplicación de diferentes tipos de inóculo para evaluar la producción de gas metano a partir de diferentes sustratos de origen vegetal.

Tabla 4. Uso de diferentes inóculos en sustratos de origen vegetal

Autor/Año	Sustrato	Inóculo	Biogás	Metano	Reactor
T. Amon <i>et al</i> (2006)	Granos <i>Zea mays</i> L <i>Triticum</i> spp, <i>Trritcale</i> , <i>Secale</i> <i>cereale</i> L. <i>Helianthus</i> <i>annus</i> L. Pasto	Restos vegetales ensilados (Consortio bacteriano)	*	INkg ⁻¹ SV 390 140 -343 454 – 428 128 – 392	Batch 1 L 38° C

Tabla 4 (continuación)

Autor/Año	Sustrato	Inóculo	Biogás	Metano	Reactor
D. Novarino y M.C. Zanetti (2008)	Residuos orgánicos	Lodo anaerobio NI Residuo orgánico	Nm ² biogás/KgSSV 0.342 – 0.395 P1 no producción P2 0.448 P3 0.227 P4 0.526	(%) 60-65 NP 74.4 62.8-70.1 62.8-70.1	Planta piloto 1 m ³ Modo Batch
Velmorogan y Ramanujam (2011)	Residuos vegetales (Tallo <i>Musa paradisiaca</i> L, <i>Brassica</i> ssp,)	Residuo predigestado vegetales (consorcio bacteriano)	L/día 1.607 0.59 L/g SV	(%) 65 0.387 L CH ₄ /gSV	Batch escala Laboratorio 2 L 35 ° C
Shilpkar <i>et al.</i> , (2009)	Pasta de semilla <i>Jatropha</i>	Excremento de búfalo	(%) 139.20	(%) 71.7	Frascos 5 L
Kamachi <i>et al.</i> , (2010)	Residuos <i>Coffea arabica</i> L. <i>Camellia sinensis</i> L.	Lodos activados	m ³ /d 4 982	(%) 60.6 % 336 m ³ - CH ₄ (NTP) TST(secos)	Tanques fermentadores 2, 100 m ³
Castro <i>et al.</i> , (2010)	Bagazo de fibras vegetales	Fluido Ruminal Bovino Excremento cerdo	*	(%) 35-40 35-40	Fermentador anaerobio 350 ml 20-40 °C
Caballero-Arzapalo <i>et al.</i> , (2010)	Fruto <i>Carica papaya</i> L. 2-5 mm	Mezcla de <i>Bacillus</i> y rumen	(ml) 3.8 -10.3 (94 %)	*	Batch Termofílico 125 ml 55° C

NI: No inóculo (residuo orgánico) NP: No producción de metano (CH₄) P1,2,3: Número de ensayo o prueba

*Dato no mencionado por el autor

3.6.1 Lodos Activados

Es el más utilizado para el tratamiento de aguas residuales, se basa en el crecimiento de una masa de microorganismos que se desarrollan a expensas de los contaminantes contenidos en el agua residual. En los lodos activados se establecen las condiciones adecuadas para favorecer la vida y proliferación de microorganismos, bacterias y protozoos específicos que son los responsables del proceso de biodegradación de la materia orgánica empleada como fuente de carbono (SEAR, 1991).

La depuración biológica se genera espontáneamente, siempre que las condiciones del medio sean las adecuadas para la proliferación de los microorganismos. Los lodos activados son complejos, están compuestos por varias unidades ecológicas (biotipos), que contienen comunidades de organismos específicamente adaptadas. Los microorganismos que podemos encontrar en activados son bacterias dispersas, flagelados, ciliados libres nadadores, ciliados sésiles y protozoos (SEAR, 1991).

3.7 Tamaño de la partícula

La reducción en el tamaño de la partícula generalmente permite un incremento en el índice de la digestión anaerobia viéndose reflejado en la producción de biogás (Dumas *et al.*, 2010). La finalidad de reducir el tamaño de la partícula y la estructura del sustrato es para obtener una mayor superficie de acción para los microorganismos y enzimas. El incremento en la producción de biogás dependerá del tamaño de reducción de la partícula y del tipo de sustrato sometido al proceso de digestión anaerobia (Dumas *et al.*, 2010). En la tabla 5 se puede observar el efecto en la producción de biogás y metano debido al diferente tamaño de partícula.

Tabla 5. Influencia del tamaño de partícula en la producción de gas metano.

Autor/Año	Biomasa	Tamaño partícula	Biogás generado	Metano
Dumas <i>et al.</i> , (2010)	Paja <i>Triticum</i> spp.	(um)	40 %	60 % mlCH ₄ /gMO
		804		302.3+_3.9
		612		304.2+_9.8
		287		312.5+_25.9
		113		303.9+_16.0
		45		327.7+_15.8

Tabla 5 (Continuación)

Ficara y Malpei (2010)	<i>Zea mays</i> L	(mm)	(ml)	(ml)
		2	500	170
		5	480	180
		20	160	90
		50	140	80
Sezun <i>et al.</i> , (2010)	Granos <i>Hordeum vulgare</i> L.	0.25 mm	550lkg-1/SSV	71+-1 (%)
Castro <i>et al.</i> , (2010)	Bagazo de Fique (Fibras vegetales)	(mm)	*	(%)
		5		40
		2.36		44
		0.85		59
Izumi <i>et al.</i> , (2010)	Residuos orgánicos de alimentos	(mm)	mlg-DQO ⁻¹ total	mlg-DQO ⁻¹ total
		0.888	375	245
		0.843	439	270
		0.718	503	330
		0.715	455	290
		0.508	470	310
		0.391	465	300
0.393	404 40 %	260 60 %		
María de la Rubia <i>et al.</i> , (2011)	Pasta flores de <i>Helianthus annuus</i> L.	(mm)	*	mLCH ₄ g ⁻¹ SV
		0.355-0.55		186+_6
		0.710-1.0		
		1.4-2.0		213+-8
Teghammar <i>et al.</i> , (2012)	Paja <i>Oriza sativa</i> , sin tratar Paja <i>Oriza sativa</i> , 1 h Paja <i>Oriza sativa</i> , 3 h Paja <i>Oriza sativa</i> , 15 h Paja <i>Triticum</i> spp, sin tratar Paja <i>Triticum</i> , 1 h Paja <i>Triticum</i> , 3 h Paja <i>Triticum</i> , 15 h	(mm)	*	(%)
		10		11
				79
				79
				22
				13
				6.5
				69
				87
Zhang C.J. Banks (2013)	Residuos sólidos orgánicos	(mm) 2 macerado húmedo	40 % m ³ Kg ⁻¹ SV 0.46 +_0.56	60 % m ³ CH ₄ kg ⁻¹ SV 0.34+_0.35

*Datos no proporcionados por el autor

3.8 Biodigestores Anaerobios

Los biodigestores también son usualmente denominados reactores o fermentadores, en ellos se llevan a cabo los procesos de digestión anaerobia. Pueden ser a pequeña escala (< 5 000 m³) a nivel laboratorio, tipo Chino o Indio y a gran escala (> 5 000 m³) como en los complejos agropecuarios en Dinamarca o Alemania (Masera, 2006; IDAE, 2007; Deublein y Steinhauser, 2008). En la actualidad el biodigestor puede ser un cilindro o contenedor herméticamente cerrado, hecho de fierro-cemento, plástico o de tubería PVC donde ocurre la fermentación de diferentes sustratos vegetales y animales o la combinación de ambos (Jones, 2009).

En el sector rural constituyen una alternativa tecnológica apropiada para pequeños campesinos, lo que contribuye a disminuir problemas sanitarios, por ejemplo, al usar un biodigestor se utilizan los nutrientes contenidos en las excretas y, además, se reduce la contaminación ambiental, ya que convierte las excretas que contienen microorganismos patógenos como bacterias, protozoos, larvas, huevos, pupas de insectos, etc., en residuos útiles y sin riesgo de transmisión de enfermedades (Soria *et al.*, 2001).

La diversidad de beneficios obtenidos de los reactores anaerobios como la obtención de combustible, cocción o iluminación y producción de biofertilizante, así como la reutilización de los residuos orgánicos facilita el control de la contaminación y añade, al mismo tiempo, valor a los desechos orgánicos aprovechados (Masera, 2006).

3.8.1 Clasificación de los reactores químicos

Los reactores químicos, pueden tener una gran variedad de tamaños, formas y condiciones de operación. En su construcción se han probado diversos diseños, buscando una mayor eficiencia en la producción y un menor costo de inversión. (Magaña *et al.*, 2006).

De acuerdo con Blanco y Linarte (1978) los biodigestores son clasificados en base a cuatro criterios: según el intercambio de materia (Figura 4), su geometría, la temperatura de operación y el número de fases.

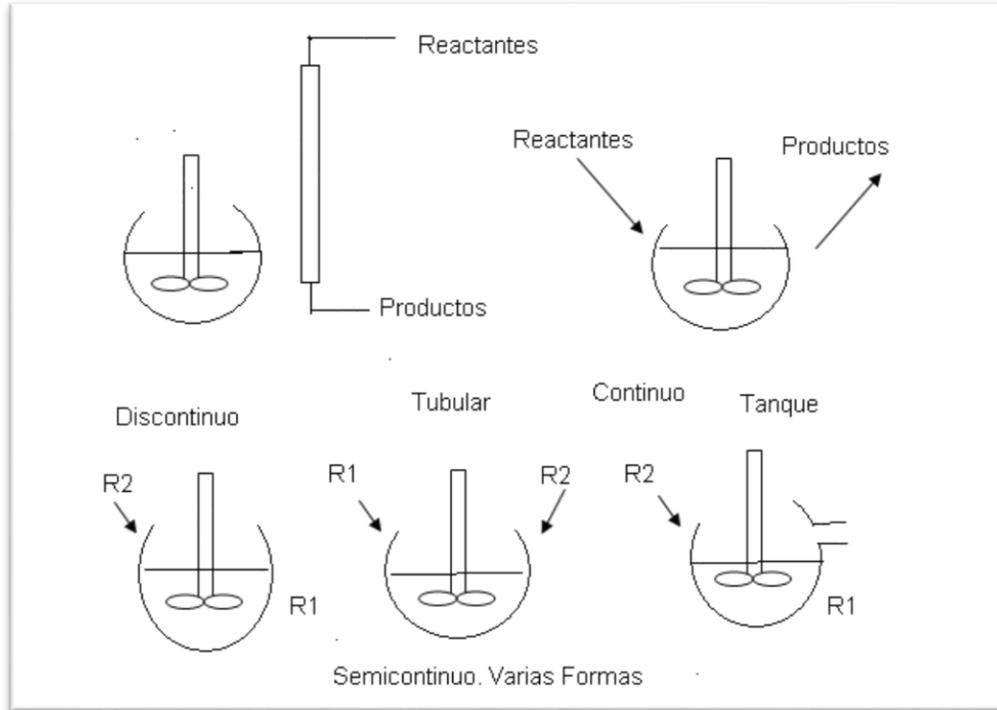


Figura 4. Clasificación de reactores según el intercambio de materia (Tomado de Blanco y Linarte, 1978)

Los reactores químicos clasificados según el intercambio de materia toman en cuenta el posible intercambio de materia entre el sistema y el exterior. Se distinguen así tres tipos de reactores (Blanco y Linarte, 1978; Deublein y Steinhauser, 2008):

- **Discontinuo o por lotes.** Durante la operación del reactor discontinuo o por lotes, no existe intercambio de materia con el exterior. Se alimentan los reactivos y una vez que la reacción se ha efectuado se retira todo el contenido. En este caso, la presión, la temperatura y la concentración varían con el tiempo.
- **Continuos.** La alimentación de los reactivos y la salida del producto se hacen en forma ininterrumpida. En estado estable (tanques), las variables son independientes del tiempo y si el reactor es tubular éstas son dependientes de la longitud del mismo.
- **Semicontinuo.** Los reactivos o productos, alimentan o se extraen continuamente mientras que el resto permanece en el reactor. Este tipo de reactores suelen operar en estado no estacionario y su diseño es complicado.

La clasificación de los reactores químicos según su forma geométrica es importante. Los reactores discontinuos o semicontinuos, por lo general se construyen en forma de tanques provistos con agitadores. Las propiedades en cualquier parte del reactor suelen ser semejantes, debido que se supone que el mezclado en este tipo de reactores es perfecto por lo que también la distribución de temperatura es uniforme (Blanco y Linarte, 1978; Deublein y Steinhauser, 2008).

Otra clasificación podría basarse con las condiciones de operación de estos reactores con respecto a la temperatura. Así, se distinguen tres casos diferentes (Blanco y Linarte, 1978; Deublein y Steinhauser, 2008):

- **Isotérmicos.** Mantienen la temperatura constante de la reacción, de manera que se requieren añadir o eliminar calor al reactor, según la reacción endotérmica o exotérmica, respectivamente. Este es el reactor más fácil de calcular, pero su utilización es limitada.
- **Adiabáticos.** Suponen un aislamiento total del reactor con el medio exterior. Las variaciones de la temperatura, dentro del reactor, vienen determinadas por el calor de reacción.
- **No isotérmicos.** Una cantidad de calor se añade o elimina del reactor, de manera que la temperatura no permanece constante durante el transcurso de la reacción. Este es el tipo de reactor más utilizado en las aplicaciones industriales.

Deublein y Steinhauser (2008) mencionan una clasificación en base al tamaño de los reactores (Tabla 6) utilizados con frecuencia para el tratamiento de residuos orgánicos.

Tabla 6. Tamaño de reactores (Tomado de Deublein y Steinhauser, 2008).

Tamaño (m ³)	Porcentaje de reactores con este volumen de carga	Diámetro (m)	Altura (m)
<200	12	Por lo general cilindros horizontales	
200-400	51	10	5
400-600	24	12	6
600-800	9	14	6
>1000	5	instalados	6

Por último, se tiene la clasificación en base al número de fases que intervienen en la reacción. Así, se pueden tener una, dos o tres fases dentro del mismo reactor. Para que exista la conversión de reactivos a productos es necesario que las fases entren en contacto el mayor tiempo posible y con la mayor área disponible. En los sistemas líquido-gas no hay problema de transferencia de masa y energía, para los sistemas sólido-fluido adquieren enorme importancia las diferentes resistencias a la transferencia (Blanco y Linarte, 1978; Deublein y Steinhauser, 2008).

3.8.2 Reactores a nivel laboratorio

Se caracteriza porque es un pequeño recipiente (matraz, vaso o botella) que se usa en el laboratorio para reacciones, siendo un sistema intermitente o, de flujo continuo, si se le adaptan tubos para la continua adición de reactivos y productos (Smith, 1991).

A nivel laboratorio o de planta piloto se han desarrollado biodigestores pequeños (<200 m³) que permiten a investigadores analizar el comportamiento de gran cantidad de variables involucradas en el proceso de biodigestión (Magaña *et al.*, 2006; Deublein y Steinhauser, 2008).

El uso de reactores anaerobios a nivel laboratorio por los investigadores, es una herramienta eficaz que junto con la digestión anaerobia es útil para el tratamiento de los residuos vegetales o biomasa lignocelulósica, obteniendo energías alternas como el biotanol y biogás. Estas nuevas opciones energéticas están siendo evaluadas actualmente en varios centros de investigación para demostrar la importancia de los diferentes tipos de sustratos que pueden ser utilizados para un mejor aprovechamiento energético (Swapnavahini *et al.*, 2010 y Caballero-Arzápalo *et al.*, 2010). En la tabla 7 se pueden observar algunos tipos de reactores utilizados a nivel laboratorio para aplicar tratamientos anaerobios a residuos agrícolas o lignocelulósicos con el objetivo de obtener gas metano (CH₄).

Tabla 7. Tipos de reactores anaerobios a nivel laboratorio

Autor /Fecha	Reactor	Capacidad
Amon <i>et al.</i> , (2006)	Batch	1 L
Novarino y Zanetti (2008)	Planta piloto Batch	1000 L

Tabla 7 (Continuación)

Autor /Fecha	Reactor	Capacidad
Shilpkar <i>et al.</i> , (2009)	Batch	5 L
Lin J. <i>et al.</i> , (2010)	UASB	500 ml
Kamachi <i>et al.</i> , (2010)	Tanques fermentadores	2.100 m ³
Sezun <i>et al.</i> , (2010)	Batch	30 L
Castro <i>et al.</i> , (2010)	Batch	350 ml
Swapnavahini <i>et al.</i> , (2010)	Batch	2.5 L
Caballero- Arzapalo <i>et al.</i> , (2010)	Batch	125 ml
Velmorogan y Ramanugan (2011)	Batch	2 L
De la Rubia <i>et al.</i> , (2011)	Batch	250 ml
Teghammar <i>et al.</i> , (2012)	Batch	*

* Dato no proporcionado por el autor

3.8.3 Reactores anaerobios discontinuos

A principios del siglo XX empezaron a utilizarse los sistemas de tratamiento biológico empleando los reactores discontinuos o Batch. Este tipo de reactores anaerobios también son conocidos como sistemas periódicos, sistemas de volumen variable o reactores biológicos secuenciados, pero la nomenclatura más conocida es la de SBR del inglés *Sequencing Batch Reactor* (Ruiz, 2002; Deublein y Steinhouser, 2008; Danoso-Bravo *et al.*, 2009).

La tecnología de los SBR fue traída de Europa al continente americano a finales de los años ochenta y principio de los años 90 por Sung y Dague. Estos investigadores realizaron pruebas con el mecanismo de los SBR aplicándolo al tratamiento de residuos solubles y/o con alto contenido de sólidos (Ruiz, 2002; Danoso-Bravo *et al.*, 2009)

3.8.3.1 Descripción del reactor ASBR

Un reactor ASBR, se emplea para el tratamiento de aguas residuales y trabaja por ciclos (Ruiz, 2002; Deublein y Steinhouser, 2008; Danoso-Bravo *et al.*, 2009). Presenta un proceso de llenado-vaciado, de crecimiento fijo o suspendido, no equilibrado, y es operado en modo “Batch”, de forma que en un mismo reactor se lleva cabo el mezclado, tratamiento y clarificación del residuo, a través de una secuencia temporizada (Ruiz, 2002; Danoso-Bravo *et al.*, 2009).

Los sistemas ASBR presentan ciclos compuestos de cuatro fases: alimentación, reacción, asentamiento y descarga (Figura 5). La fase de alimentación consiste en la incorporación del sustrato e inóculo dentro del reactor. La interacción entre el sustrato e inóculo depende de la agitación que se lleve a cabo. El reactor puede ser agitado durante la entrada de la alimentación o detenerse la agitación dando lugar a la acumulación de la materia orgánica sin presentarse índices de degradación elevadas (Ruiz, 2002; Danoso-Bravo *et al.*, 2009).

La segunda fase es la reacción, se inicia inmediatamente cuando entra en contacto el sustrato, el inóculo y las variables a medir como temperatura, pH, agitación, entre otras. La agitación puede ser continua o intermitente. En esta fase se lleva a cabo la degradación de la materia orgánica a biogás (Ruiz, 2002; Danoso-Bravo *et al.*, 2009).

La tercera fase de asentamiento o decantación se presenta con la separación de las partículas del medio líquido o licor, permitiendo la separación de la biomasa y el efluente. El tiempo requerido para la separación de los sólidos puede variar de unos minutos a unas horas. La velocidad de sedimentación de las partículas de biomasa depende de la concentración de los sólidos suspendidos. La fase de vaciado o descarga se caracteriza por la salida del efluente y su duración depende del volumen evacuado. Se evita la entrada de oxígeno y la disminución de la presión dentro del reactor (Ruiz, 2002; Danoso-Bravo *et al.*, 2009).

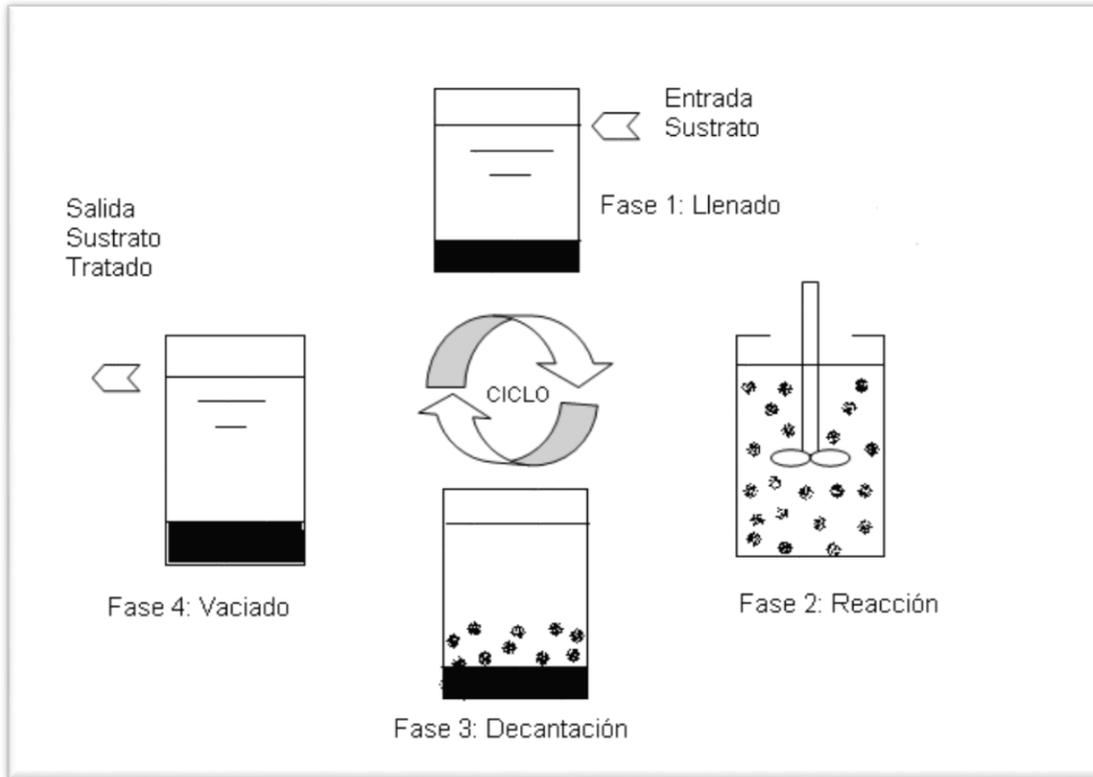


Figura 5. Fases de operación de un reactor anaerobio modo "Batch" (Ruiz, 2002)

La concentración de la materia orgánica (sustrato) en los ASBR es muy alta cuando se inicia la reacción y va disminuyendo conforme avanza el proceso y el reactor nuevamente es alimentado. Las altas y bajas concentraciones de sustrato se ven reflejadas en la producción de biogás (Ruiz, 2002; Doublein y Steinhouser, 2008; Danoso-Bravo *et al.*, 2009).

Los reactores ASBR presentan varias ventajas comparadas con otros tipos de reactores como alto grado de flexibilidad en la duración del ciclo y de cada una de las fases, tiempo de retención hidráulico y en la relación sustrato-inóculo (S/X), la capacidad de funcionar con flujos de producción periódicos, durante cortos periodos de tiempo. Ofrece la posibilidad de cambiar las condiciones ambientales del reactor de forma controlada, presenta gran capacidad de retención de la biomasa cuando se lleva a cabo el vaciado o salida del efluente tratado (sobrenadante) y no se necesita clarificador o decantador externo ni bombas para la recirculación de lodos (Ruiz, 2002; Danoso-Bravo *et al.*, 2009).

3.9 Cultivos energéticos

Los cultivos energéticos son considerados plantas que se cultivan con el propósito de producir biocombustibles, o que se explotan directamente para aprovechar su contenido energético. También es conocido como el uso de la biomasa de plantas para la producción de gas metano (biometanización) (Sims *et al.*, 2006, Braun *et al.*, 2009, Drigo, 2009).

La biomasa utilizada para la producción energética incluye subproductos forestales y agrícolas y otros desechos orgánicos (incluyendo los residuos sólidos municipales), mientras que el resto proviene de los cultivos energéticos, la silvicultura de los bosques y la productividad agrícola (Sims *et al.*, 2006, Braun *et al.*, 2009).

De acuerdo con la FAO (2008^a), la producción de biocombustibles basada en productos agrícolas creció entre 2000 y 2007 a pesar de la escasa importancia de los biocombustibles líquidos en términos del suministro energético mundial, la demanda de materias primas agrícolas (azúcar, maíz, semillas oleaginosas) para obtenerlos seguirá aumentando en la próxima década, incrementando la presión sobre los precios alimentarios. Aunque estudios realizados por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) en el 2008, consideran que el precio de los cultivos alimentarios están basados en el precio del combustible fósil.

En el año 2008, Small, reportó estudios recientes de la FAO en los cuales consideraban que la sustitución de los cultivos locales con monocultivos dedicados a la producción de energía podría amenazar la agro-biodiversidad, así como al conocimiento extensivo y las habilidades tradicionales de los pequeños campesinos en la gestión, selección y almacenamiento de los cultivos locales. En base a estos estudios, la FAO elaboró una serie de estrategias para aplicarlas al desarrollo de los biocombustibles, con lo cual se pretende que sean sostenibles para el medio ambiente y favorezcan a los pobres, integrando las plantaciones de cultivos para energía en los sistemas agroalimentarios locales existentes, de forma que se protejan las actividades agrícolas tradicionales, habilidades y conocimientos especializados de los pequeños campesinos, que son cruciales para la seguridad alimentaria y la capacidad de resistencia a largo plazo de las comunidades rurales.

El establecimiento de plantaciones para la producción de biocombustibles puede crear nuevas oportunidades de empleo en las zonas rurales, especialmente si los pequeños campesinos de escasos recursos reciben ayuda para ampliar su producción y conseguir acceso a los mercados. Fomentar la participación de pequeños agricultores en la producción de cultivos, incluyendo los destinados a biocombustibles, requiere inversiones en infraestructura, investigación, financiación rural, información de los mercados e instituciones y sistemas legales (Northoff, 2008).

Sin embargo, entre los riesgos existentes, predomina la preocupación por la seguridad alimentaria, así como los elevados precios de los productos agrícolas ya están teniendo un impacto negativo en los países en desarrollo que dependen en gran medida de las importaciones para satisfacer sus necesidades alimentarias (Small, 2008).

3.9.1 *Jatropha curcas* L. como cultivo energético

La *Jatropha* o piñoncillo (figura 6) es una planta nativa de México, naturalizada en Centro y Sudamérica, en África y parte de la India y el Sureste Asiático. Crece desde los 10 hasta los 1,500 msnm; y es adaptable a los climas tropicales y subtropicales de todo el mundo. En México existe de manera silvestre en Chiapas, Jalisco, Michoacán, Oaxaca, Sinaloa, Veracruz y Yucatán. Es considerado una planta de usos múltiples, la cual puede adquirir gran importancia económica, en la industria, medicina y en programas para evitar la erosión del suelo (Schmook y Sánchez, 2000).

Investigaciones recientes han revelado los principales aportes e impactos de *Jatropha curcas* L. enmarcándolos en beneficios económicos, sociales y ambientales. Dentro de los beneficios económicos, se encuentra su disposición como cultivo energético para la elaboración de nuevos combustibles renovables (cáscara, leña y el aceite vegetal para producir biodiesel), lo que tendrá una influencia positiva en el mejoramiento de la matriz energética, así como posibilitará una mayor diversificación de los combustibles que participan en la economía energética, en especial, la biomasa. Estas materias primas y productos (residuos) de los procesos industriales (aceite, glicerol, torta, cáscara. etcétera), pueden tener otros empleos económicos (insecticidas, abono, alimento animal, y otros), de acuerdo con la factibilidad económica (Sotolongo *et al.*, 2007).



Figura 6. Planta de *Jatropha curcas* L ó piñoncillo (Fotografía tomada por Landeros).

En el aporte social los subproductos (biodiesel, biogás) de *Jatropha curcas* L. pueden contribuir a la solución de problemas de la energización rural, como un nuevo combustible para las cocinas, lámparas de alumbrado, las maquinarias, etcétera, lo que influye en una elevación de la calidad de la vida (Sotolongo *et al.*, 2007).

Además de las anteriores aplicaciones de *Jatropha curcas* L. como cultivo energético, hay que destacar su importancia en cuanto a los beneficios ambientales que proporciona. Promueve el aumento de áreas boscosas, la reforestación de zonas sin potencialidad alguna para otros tipos de cultivos, estimulando la regeneración de suelos y evitando la desertificación, además favorece el incremento de la biodiversidad y la disminución de las emisiones de gases contaminantes, etcétera (Sotolongo *et al.*, 2007).

Actualmente el piñoncillo está suscitando interés industrial como materia prima para producir biocombustibles como biodiesel y biogás. Al mismo tiempo, se promueve el uso

de la semilla no tóxica como alimento del hombre y el ganado debido a su alto contenido en nutrientes (Sánchez, 2009).

3.10 Pruebas de biodegradabilidad anaerobia.

Estas se basan en medir producción de metano generado por el medio mineral, lodo metanogénico activo y la muestra a analizar; con respecto al tiempo; esto determina si los microorganismos son capaces de llevar a cabo la degradación de la materia orgánica. Evita pérdidas del biogás y representa una forma segura de medir a intervalos regulares de tiempo el biogás producido (Martínez, 2002). Se pueden clasificar en tres tipos de pruebas, de acuerdo al tipo de medición empleado:

- Bioensayo para monitorear el potencial bioquímico de metano y la toxicidad anaerobia, desarrollado por Owen *et al.*, (1979), citado en Martínez (2002):

En esta prueba el muestro del gas producido durante la incubación se lleva a cabo con una jeringa de gas en vidrio, tomándose la lectura por desplazamiento del émbolo (jeringa de 5- 50 ml de capacidad dependiendo del volumen a muestrear). Las lecturas se toman a una temperatura de 35 ° C y las muestras se analizan por cromatografía de gases. La biodegradabilidad se estima a través del monitoreo de la producción acumulada de metano.

- Ensayo anaerobio, desarrollado por Frield *et al.*, (1988), citado en Martínez (2002):

En estos ensayos el volumen de metano producido en reactores de pequeño volumen se estima mediante el desplazamiento de un líquido o usando como sistema de medición un frasco de Mariotte. En este caso el biogás es dirigido al sistema de medición, en donde el CO₂ contenido en el biogás es absorbido en un medio con un pH básico formándose carbonatos y solo el metano alcanza el espacio libre del recipiente de medición, desplazando un volumen equivalente del líquido. El metano producido se puede calcular midiendo el volumen o el peso del líquido desplazado.

- Ensayos anaerobios para la determinación de las actividades de un lodo, desarrollado por Houbron (1995), citado en Martínez (2002):

Se realizan ensayos anaerobios caracterizando las tres etapas de la digestión anaerobia (hidrólisis, acidogénesis, metanogénesis). Se utiliza un digestor de 500 ml agitado continuamente, a una temperatura de 30 ° C, y se mide el volumen de metano con un frasco de Mariotte. El metano producido se calcula midiendo el volumen del líquido desplazado.

3.10.1 Método estandarizado para la Biodegradación Anaerobia, Actividad e Inhibición pertenecientes a la Asociación Internacional del Agua (TG-ABAI Task Group).

Las pruebas de biodegradabilidad y actividad metanogénica desde la década de los 90'S se han utilizado para conocer los índices de producción de metano a partir de diferentes tipos de residuos sólidos utilizándolos como sustratos en estos ensayos, como método valido para estimar la producción de metano (Angelidaki *et al.*, 2009).

Algunos trabajos se han dedicado a estos aspectos: Owens & Chynoweth (1993), Angelidaki & Sanders (2004) y Hansen *et al.*, (2004). Angelidaki *et al.*, (2009), han propuesto protocolos para la determinación del potencial de biometano de residuos orgánicos, mientras que otros autores se enfocan en los problemas específicos como la relación inóculo-sustrato o sustratos muy específicos. La definición de un protocolo estándar es un desafío, dado que el proceso de degradación anaerobia es un sistema dinámico y altamente complejo donde los aspectos microbiológicos, bioquímicos, y físico-químicos están cercanamente ligados (Angelidaki *et al.*, 2009).

La definición de un protocolo en común para el establecimiento de pruebas del potencial de biometano está fuertemente requerido por investigadores y profesionales de todo el mundo, es por ello, que se propuso en el 2001 en Antwerp, Bélgica un equipo de trabajo sobre la biodegradación anaerobia, actividad e inhibición (Angelidaki *et al.*, 2009).

En los últimos 20 años, cierto número de ensayos describen como los estándares de calidad ISO, han sido bien formulados para evaluar los procedimientos de determinación del potencial de biometano. En primera, estos métodos pueden ser compartidos en dos grupos

principales: uno con la definición de biodegradabilidad anaerobia de compuestos químicos o plásticos y otro con la biodegradabilidad de sustratos orgánicos complejos para la producción de biogás. Básicamente estos dos grupos difieren por los diferentes tipos de experimentos que llevan a cabo, por lo cual sus resultados no son comparables. Adicionalmente, los métodos utilizados previamente son reportados en documentos oficiales que aún contienen algunas inconsistencias o errores importantes (Angelidaki *et al.*, 2009).

Los métodos para definir la biodegradabilidad anaerobia de los compuestos orgánicos son usados de diferente manera y a menudo modificados por los investigadores. Por lo tanto, la Asociación en Biodegradación anaerobia, actividad e inhibición (ABAI-TG *siglas en ingles*) elaboró un protocolo estándar que es necesario unificar y estandarizar en las pruebas para obtener resultados comparables. De acuerdo al método propuesto es necesario seguir las siguientes directrices:

- **Sustrato**

El sustrato debe ser caracterizado de manera integral, en particular los Sólidos Totales (ST) y Sólidos Volátiles (SV), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Fósforo y Nitrógeno. La determinación de la DQO para los sustratos sólidos heterogéneos, es siempre difícil y abre paso a ciertas incertidumbres.

Es de fundamental importancia, determinar el contenido de lignina, celulosa y hemicelulosa, especialmente en cultivos energéticos y residuos agro-industriales. En el caso de residuos ácidos, por ejemplo residuos de pollo en putrefacción, debe ponerse atención durante el secado de las muestras pues los componentes volátiles pueden perderse durante la determinación de Sólidos Totales. En este caso los sólidos volátiles pueden ser subestimados debido a la pérdida de AGVS (Ácidos grasos volátiles). Para materiales tales como este, la determinación de Sólidos Totales puede ser hecha después de incrementar el pH de los residuos para disminuir la volatilidad de los ácidos grasos volátiles. Adicionalmente las muestras muy volátiles se secan durante la determinación de los ST que pueden ser realizados a una temperatura de 90 ° C en vez de 105 ° C, hasta obtener un peso constante.

El proceso de la digestión anaerobia se ha probado en diferentes sustratos a los cuales se han aplicado variables controladas como la temperatura (rango mesolítico: 30 ° C), el pH y la medición del metano. Estas variables nos han permitido conocer la capacidad intrínseca del sustrato para ser hidrolizado y degradado por la acción de los microorganismos anaerobios. La mayoría de las investigaciones se han realizado utilizando diferentes tipos de sustratos lignocelulósicos como en el caso de bagazo de caña, cáscara de *Jatropha*, residuos de café, tallo de planta de maíz (milpa), residuos vegetales como hojas, residuos de cereales y residuos de frutas.

Dhanya *et al.*, (2009) realizaron un estudio sobre el potencial de la cáscara de *Jatropha curcas* L. para la obtención de biogás considerando los parámetros esenciales en el establecimiento de ensayos anaerobios como: el sustrato, inóculo, frascos de una capacidad de 2 L (reactor), tiempo de retención, cuantificación de biogás, análisis de biogás, estimación de sólidos volátiles, carbono orgánica y nitrógeno. Algunos parámetros fueron coincidentes con los establecidos por Fernández *et al.*, (2008) y Angelidaki *et al.*, (2009) en sus parámetros establecidos para estimar la viabilidad del tratamiento anaerobio.

Los resultados obtenidos por Dhanya *et al.*, (2009) en su ensayo nos reportan que la combinación de la cáscara de *Jatropha curcas* L con otro sustrato (excretas de ganado) puede reflejarse en una producción de biogás (403.84 L/Kg de materia seca) equivalente a un 58 % de gas metano. También fueron analizados la celulosa, hemicelulosa y lignina al igual que en los ensayos realizados por Dumas *et al.*, (2010), Swapnavahini *et al.*, (2010) y Caballero-Arzápalo *et al.*, (2010) para evaluar la velocidad de degradación en residuos lignocelulósicos aplicando el proceso de digestión anaerobia. Obteniendo una reducción del 5 a 16 % de celulosa después del proceso de digestión anaerobia y un aumento en concentración del 9 a 40 % de hemicelulosa y lignina después del proceso de digestión anaerobia, con lo cual Dhanya *et al.*, (2009) establecieron en su ensayo que la declinación en la producción de gas metano en el tratamiento con solo cáscara de *Jatropha curcas* L fue bajo debido al alto contenido de lignina del sustrato.

- **Tamaño de la partículas del sustrato**

Los residuos vegetales deben ser sometidos a algunos pretratamientos antes de su procesamiento en reactores anaerobios. Se ha comprobado que el tamaño de partícula del residuo tiene una fuerte influencia sobre el proceso metanogénico, tanto en lo que se refiere a rendimiento en metano, como en la disminución del contenido en sólidos volátiles, sobre todo si el residuo se utiliza tal cual. Por lo tanto los residuos deben ser reducidos a pequeños tamaños y homogeneizados para facilitar la digestión. Además debe procederse a su dilución para disminuir la concentración de materia orgánica y poder operar con una velocidad de carga óptima (Vereda *et al.*, 2006).

Por lo anterior, el tamaño de la partícula del sustrato es considerado una pieza fundamental en los estudios cinéticos, además de los estudios de pruebas del potencial de biometano. Sin embargo, algunos trabajos han demostrado que la determinación de pruebas del potencial de biometano puede ser influenciada por este parámetro y una estandarización en el tamaño de las partículas puede ser recomendada para incrementar la reproducibilidad de las pruebas del potencial de biometano para algunos sustratos heterogéneos.

- **Inóculo**

El inóculo debe ser “fresco” de algún reactor anaerobio activo, por ejemplo, lodo de reactores, base madura de reactores con biogás, o lodos de reactores de flujo, tales como los UASB, y una amplia composición microbiológica trófica, para asegurar que los diferentes sustratos puedan no ser alguna limitación. Este puede ser homogéneo y tener otros materiales grandes además de la biomasa removida. En el caso de los reactores donde el inóculo es originalmente de alimento de composición muy simple, el inóculo diferente puede ser mezclado, por ejemplo, las aguas residuales de lodos digeridos junto con los gránulos. Los inóculos mesofílicos o hemofílicos, pueden ser utilizados dependiendo de la temperatura del ensayo a realizar. El inóculo debe ser desgasificado, por ejemplo, pre-incubado en orden para consumir el material orgánico residual biodegradable presente. La pre-incubación estar a la misma temperatura como en la cual el inóculo fue tomado. La desgasificación puede ser prolongada hasta que la producción de metano sea insignificante: típicamente de 2 a 5 días de incubación. En algunos casos cuando el inóculo es tomado de

un reactor alimentado con alta concentración de grasa /aceite, es requerido altos periodos de pre-incubación, para eliminar todo sustrato residual. El inóculo puede no ser necesario lavarlo para remover material residual del sustrato y los compuestos inorgánicos de carbono.

- **Actividad del inóculo**

La calidad del inóculo debe ser revisada mediante la realización de ensayos de actividad en acetato y celulosa. El inóculo debe tener una actividad mínima específica sobre el acetato de 0.1 gCH₄-COD/g VSSd para el lodo y 0.3 gCH₄-COD/g VSS-d para lodos granulares (Angelidaki *et al.*, 2009). De acuerdo a las experiencias de los autores para la determinación de la actividad de diferentes grupos tróficos los sustratos son usualmente elegidos. Se sugieren los sustratos H₂/CO₂ (1 atmósfera de sobrepresión) o 1 gr/l de ácido acético para la determinación de actividad metanogénica genotrófica y acetoclastica respectivamente. Para la estimación de la actividad metanogénica se recomienda 0.5 g/l de ácido butírico y propiónico. Para la estimación de la actividad acidogénica, 1g/l de glucosa puede ser usado como sustrato, mientras que para la actividad hidrolítica 1g/l de celulosa para la actividad celulolítica y 1g/l de caseína para la actividad proteolítica son recomendadas (Angelidaki *et al.*, 2009).

El comportamiento cinético es representado por un modelo orden cero cuando la concentración del inóculo (X₀) es más alta que la biomasa producida durante la actividad de la prueba (Y_{sx}.(S₀.S)). La concentración del inóculo siempre debe ser alta comparada con la del sustrato (en términos de sólidos volátiles) y en la relación sustrato-inoculo (S/I) debe ser reconocido como uno de los principales parámetros que afectan los resultados en los ensayos anaerobios.

El volumen relativo de inóculo a emplear puede variar mucho dependiendo de la actividad, concentración de la biomasa del inóculo, concentración del sustrato, y biodegradabilidad. El volumen relativo del inóculo puede ser bajo cuando se encuentre concentrado/denso o en forma de gránulos, conteniendo una concentración casi total de microorganismos activos. Por el contrario altos volúmenes de inóculo son necesarios en caso de encontrarse menos denso (ejemplo, estiércol digeridos o los lodos de depuradora). En cualquier caso, la

cantidad de inóculo debe ser suficiente para evitar la acumulación de ácidos grasos volátiles y las condiciones ácidas (Angelidaki *et al.*, 2009).

El volumen del inóculo (fórmula 1) también puede ser estimado por un simple balance de la masa estimado en función del índice de hidrólisis y la actividad de la biomasa conocida o estimada. Por ejemplo, de acuerdo a Angelidaki & Sanders (2004) citado por Angelidaki *et al.*, (2009), el volumen del inóculo puede ser determinado con la siguiente fórmula:

$$V \text{ inóculo} = \frac{X_{ss} V_{ww} K_h}{SSV \text{ inóculo } ASM \text{ inóculo}}$$

Fórmula 1. Determinación de volumen de inóculo.

Donde X_{ss} es la concentración del sustrato hidrolizable en los desechos (agua) (g/L), V_{ww} es el volumen del residuo (agua) en los recipientes de ensayo (L), K_h es el primer estado de hidrólisis constante (day^{-1}), $SSV \text{ inóculo}$ es el contenido de sólidos suspendidos volátiles del inóculo (gSSV/L) y $AMS \text{ inóculo}$ es la actividad metanogénica específica del inóculo (g DQO- CH_4 /g SSV-día). La ecuación puede ser eventualmente modificada tomando en cuenta la presencia de la DQO soluble para los sustratos ricos en compuestos orgánicos en la fase líquida.

- **Medio de cultivo**

Para un buen desempeño los microorganismos anaerobios necesitan nutrientes, micronutrientes y vitaminas. Esto es importante para unos tipos de sustratos sólidos y cultivos energéticos que pueden ser deficientes en algunos micronutrientes. El medio nutritivo contiene macronutrientes, buffers y vitaminas etc., esto puede ser añadido a menos que puedan ser documentados en el inóculo o sustrato presente.

- **Blanco y controles**

La base de producción de metano del inóculo es determinado en un ensayo blanco, con medio o agua y no sustrato. El blanco o control es restado de la producción de metano obtenida en los sustratos de prueba. El ensayo blanco puede ser llevado en triplicado para tener un respaldo estadístico. El procedimiento control consiste de uno o más recipientes con sustrato de celulosa o gelatina estándar dependiendo de la naturaleza y prueba del

sustrato. La celulosa puede ser utilizada para cultivos, residuos agrícolas, bio-residuos municipales, mientras que la gelatina es preferible para carne, pescado y otros residuos similares. Los ensayos de control dan una idea de la respuesta del inóculo hacia los sustratos estándar.

- **Replicas**

El número de réplicas debe ser por lo menos tres o más para cada dilución. Dependiendo de la complejidad del sustrato y la reproducibilidad de las pruebas. Esto es respaldado con los análisis estadísticos de los datos colectados y garantiza la reproducibilidad de las pruebas.

- **Mezclado**

El mezclado facilita el contacto entre las bacterias, enzimas y sustrato, previniendo la acumulación del sustrato e intermediarios por ejemplo (ácidos grasos) en el medio y garantiza condiciones homogéneas en los recipientes del ensayo. El mezclado puede ser muy diferente para las pruebas del potencial de biometano. En matraces de gran tamaño subir velocidad hasta una vez al día o continuo para pequeños tubos. El mezclado es un parámetro importante cuando se colectan datos de pruebas del potencial de biometano y estudios cinéticos.

- **Montaje del ensayo experimental**

El ensayo puede ser realizado por triplicado al menos en cada dilución utilizada, dependiendo de la complejidad (homogeneidad) del sustrato y la reproducibilidad de las pruebas. Cuando se utilizan sustratos con más alta heterogeneidad que las tres replicas puede ser utilizado para obtener resultados fiables.

El ensayo se realiza en recipientes cerrados (100 ml a 2 litros) dependiendo de la homogeneidad del sustrato (Figura 7). Para nuevos sustratos con características de degradación desconocida, un número de diferentes diluciones del sustrato (con agua) son requeridas. Las diluciones garantizan que el potencial metanogénico de los sustratos no debe ser subestimado debido a la carga o potencial de inhibición.



Figura 7. Ensayo en recipientes para la prueba de biodegradabilidad anaerobia
(Angelidaki *et al.*, 2009).

Las muestras deben ser puestas a prueba en concentraciones de 5 % a 100 % (muestras sin diluir). Cuando el máximo potencial del metano es el mismo por lo menos en dos diferentes diluciones de la serie de dilución, se puede asumir que el inóculo no está sobrecargado o inhibido. Si el potencial específico continua incrementándose con dilución incrementada (disminución de la concentración del sustrato) son requeridas diluciones adicionales (Angelidaki *et al.*, 2009).

Los ensayos del recipiente deben lavarse continuamente con N_2/CO_2 (con un volumen 80/20 %) antes de transferir el sustrato y el inóculo. El N_2/CO_2 pueden ser agregados dentro de los recipientes en base al volumen o peso. Los recipientes se deben agitar continuamente dependiendo de su consistencia y mantener los recipientes bajo condiciones anaeróbicas durante el proceso de transferencia. Por lo regular, el N_2/CO_2 (80/20% en volumen) se vacían en el espacio superior del recipiente de almacenamiento del inóculo. También los recipientes del ensayo se homogenizan con el mismo gas.

El uso del medio correspondiente permite mantener el pH a la neutralidad en el comienzo de los ensayos. El medio puede ser transferido directamente o diluido con agua. La transferencia del inóculo se realiza empleando una jeringa graduada en 100 ml con un gran orificio para adjuntar tubería y alcanzar el fondo de la botella de almacenamiento de inóculo. En el caso del inóculo granular primero se drenan utilizando un tamiz adecuado,

que tenga un tamaño de malla suficiente para retener los gránulos. Una vez vaciado el líquido, un volumen específico granular se puede transferir mediante una cuchara, asegurando que el mismo volumen se distribuya a cada recipiente de ensayo. Después de transferir el inóculo, el sustrato y el medio a los recipientes del ensayo, se cierran con un tapón de goma de butilo grueso para mantenerlo en su lugar se sella con remalle de aluminio.

- **Colección de datos**

Los resultados de pruebas del potencial de biometano son la definición del metano (o biogás) producido a partir de un cierto peso o sustrato. El volumen de gas puede ser medido a partir de diferentes técnicas: métodos volumétricos (típicamente desplazamiento de agua), manométrico (determinación de la variación de la presión por transductores). La composición del biogás puede medirse mediante el método cromatográfico de gas con ionización de flama (DIF) o detectores de conductividad térmica (TCD) (Angelidaki *et al.*, 2009). En estas directrices el metano acumulado en el espacio superior del recipiente cerrado se mide por cromatografía de gases (CG). Para ello, un volumen de muestra, por ejemplo de 100 ml se debe recoger con una jeringa hermética al gas y se inyecta al cromatógrafo. El área pico obtenido debe ser comparada con el obtenido mediante la inyección del mismo volumen de una mezcla de gas estándar de composición conocida.

- **Interpretación y reportes de datos**

El Potencial de Biometano debe ser siempre acompañado por una clara descripción del inóculo fuente, contenido y actividad de los SSV o SV, la composición del medio, composición o descripción de los residuos (agua) y diluciones empleadas. Los perfiles de producción de metano (Figura 8) por unidad de tiempo, junto con los perfiles para los ensayos en blanco y el control deben ser presentados (Angelidaki *et al.*, 2009). La pendiente deberá ser tomada en el tramo de mayor inclinación de la curva y deberá corresponder a la utilización de al menos el 50 % del sustrato adicionado (Torres y Pérez, 2010).

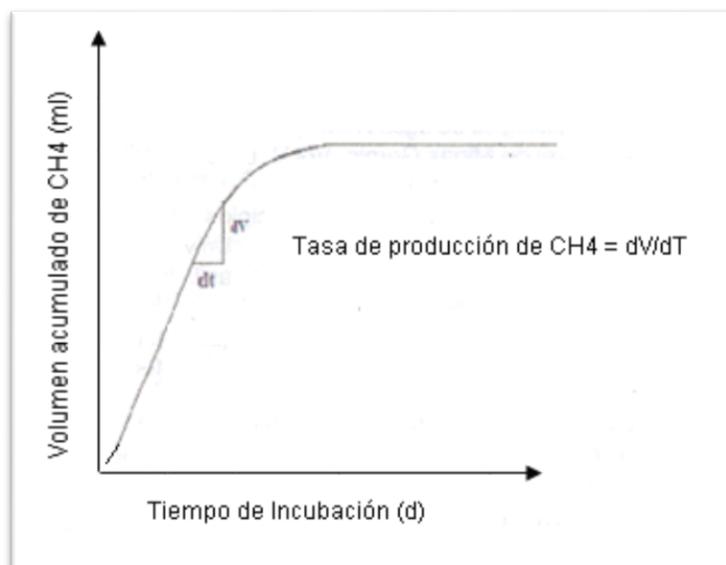


Figura 8. Curva Teórica con el punto de medición de la pendiente (Torres y Pérez, 2010).

En el informe final se deben de tomar en cuenta los siguientes elementos:

- Fecha, hora de inicio y fecha y hora final de la prueba.
- Sustrato evaluado, monto o cantidad, y características fisicoquímicas.
- Inóculo, origen y actividad, monto o cantidad y características fisicoquímicas
- Condiciones del ensayo, temperatura, proporción sustrato/inóculo (S/I), volumen del recipiente, número de repeticiones.
- Resultados de la producción de metano del blanco y controles (reportar graficas).
- Producción de metano en las desviaciones media, relativa y estándar, por triplicado para una revisión estadística completa de los datos obtenidos.
- Producción específica de metano: puede ser reportada como volumen de metano por gramo de SV, o metano por gramo de DQO, o metano por gramo de muestra. Los resultados de las pruebas de PBM si son bien obtenidas y de buena calidad pueden ser utilizadas para obtener información adicional sobre el sustrato estudiado como el índice de la velocidad de hidrólisis, a condición de que la hidrólisis está limitada en los procesos de conversión anaeróbica. De hecho, utilizando la primera parte de la curva

experimental (fórmula 2) para construir la determinación de producción última de metano de un sustrato dado (por ejemplo los primeros cinco días) es posible definir la constante K_h (día^{-1}) para un primer modelo de la hidrólisis (Angelidaki *et al.*, 2009):

$$\frac{ds}{dt} = -KhS$$

Fórmula 2. Obtención de la constante -KhS

Donde S es el sustrato biodegradable, t el tiempo y K_h es la constante de la velocidad de reacción. Una vez que las variables son separadas e integradas, es posible obtener la siguiente ecuación:

$$\frac{\ln B_{\infty} - B}{B_{\infty}} = -Kh t$$

Fórmula 3. Obtención de la constante -Kht

Donde B_{∞} es el valor de la producción última de metano y donde B es el metano producido en un dado tiempo (t).

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

- Conocer el potencial de la biomasa residual del fruto de *Jatropha curcas* L. para la obtención de biogás

4.2 Objetivos particulares

- Caracterizar la biomasa residual del fruto para su empleo como sustrato.
- Implementar un reactor anaerobio experimental para la producción de biogás.
- Medir el volumen de biogás producido y el consumo de carga orgánica expresado como DQO.

5. Hipótesis

- Si la biomasa residual (cáscara seca) de *Jatropha curcas* L. procedente de una plantación es sometida al proceso de digestión anaerobia se produce gas metano (CH₄).

6. Materiales y Método

6.1 Ubicación y descripción del área de colecta

La plantación de *Jatropha curcas* L. de donde se obtuvo el material vegetal (cáscara de fruto) para llevar a cabo los ensayos experimentales, se encuentra ubicada en las coordenadas 19°20'49.10'' de latitud N y 96°30'32.40'' de longitud O, a una altitud de 169 msnm dentro del municipio de Emiliano Zapata (Figura 9) y aproximadamente a 6 km al sur de la comunidad de Rinconada (Figura 10).

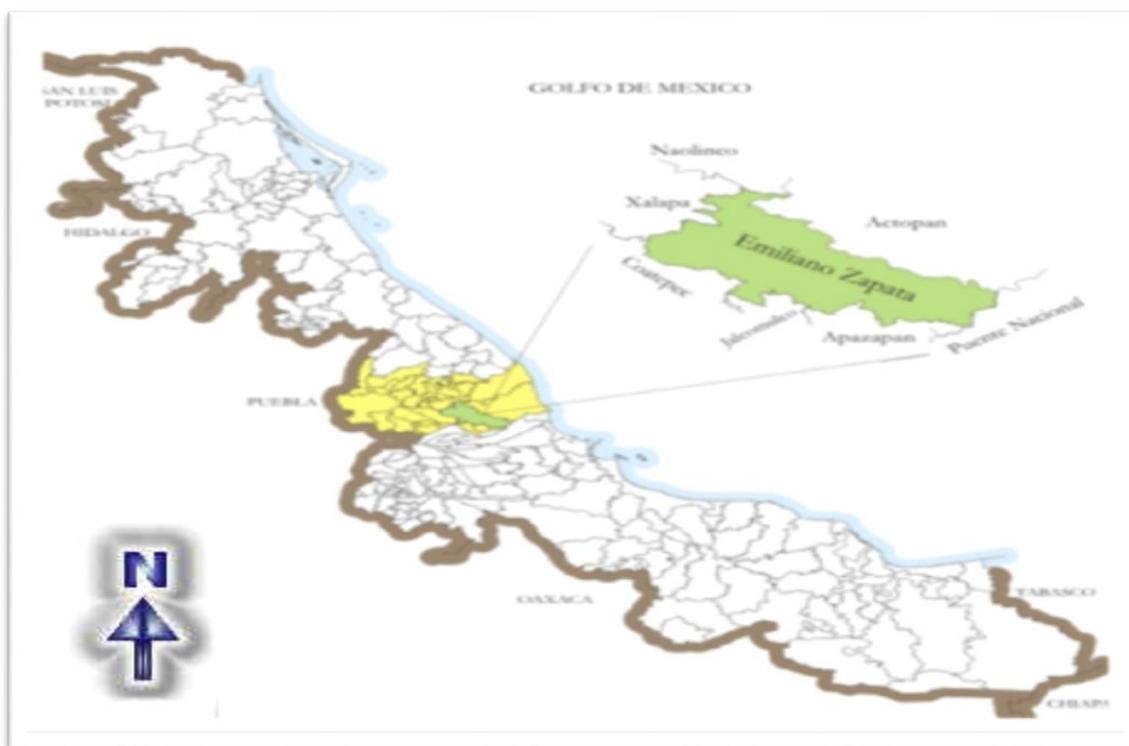


Figura 9. Ubicación del sitio de estudio.

El tipo de suelo que se encuentra en esta zona, corresponde a luvisol presenta acumulación de arcilla en el subsuelo y es susceptible a la erosión. Este tipo de suelo está compuesto por rocas sedimentarias del terciario superior además de rocas ígneas extrusivas (INEGI, 2007^a).

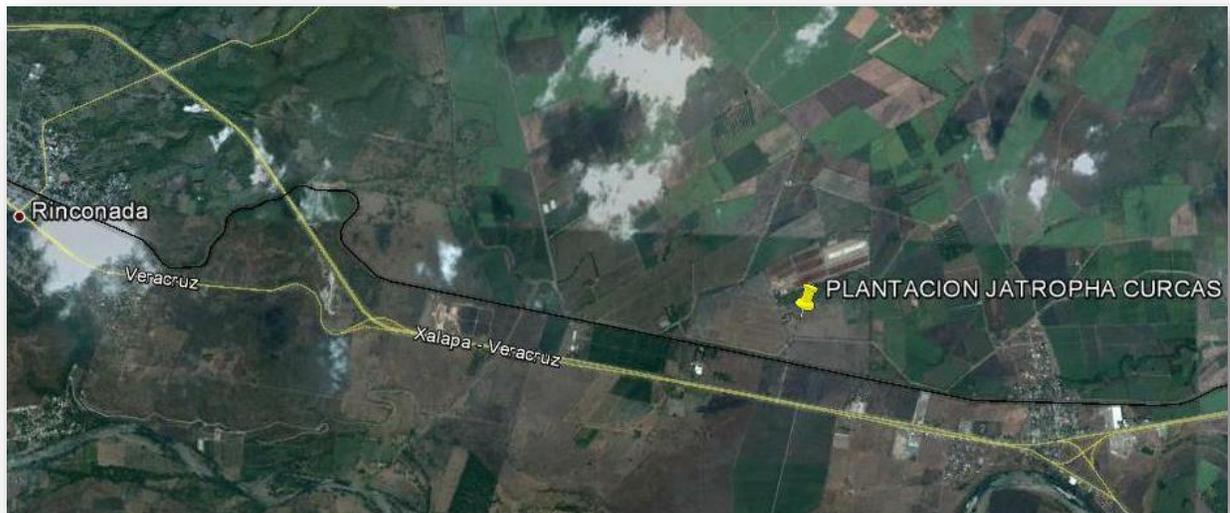


Figura 10. Parcelas donde se colectaron los frutos de *Jatropha curcas* L.

El tipo de vegetación original que caracteriza a esta zona corresponde al de Selva Baja Caducifolia así como asociaciones formadas por *Cecropia obtusifolia* Bertol (Guarambo), *Heliocarpus appendiculatus* L. (Jonote), *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb (Guanacastle) y *Croton draco* Schltdl (Sangrado). Actualmente es una zona de actividad agrícola con cultivos de temporal, anuales y semiperennes como maíz (*Zea mays* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), papaya (*Carica papaya* L.) y mango (*Mangifera indica* L.) (INEGI, 2007^b; INEGI, 2007^c).

6.2 Desarrollo del Trabajo

El presente trabajo tuvo una duración de dos años (Septiembre 2009- Julio 2012), durante el cual se realizó una revisión bibliográfica exhaustiva. El desarrollo de actividades se dividió en cuatro partes: desarrollo del trabajo, metodología, trabajo de laboratorio y metodología experimental (análisis e integración de datos) Ver figura 11.

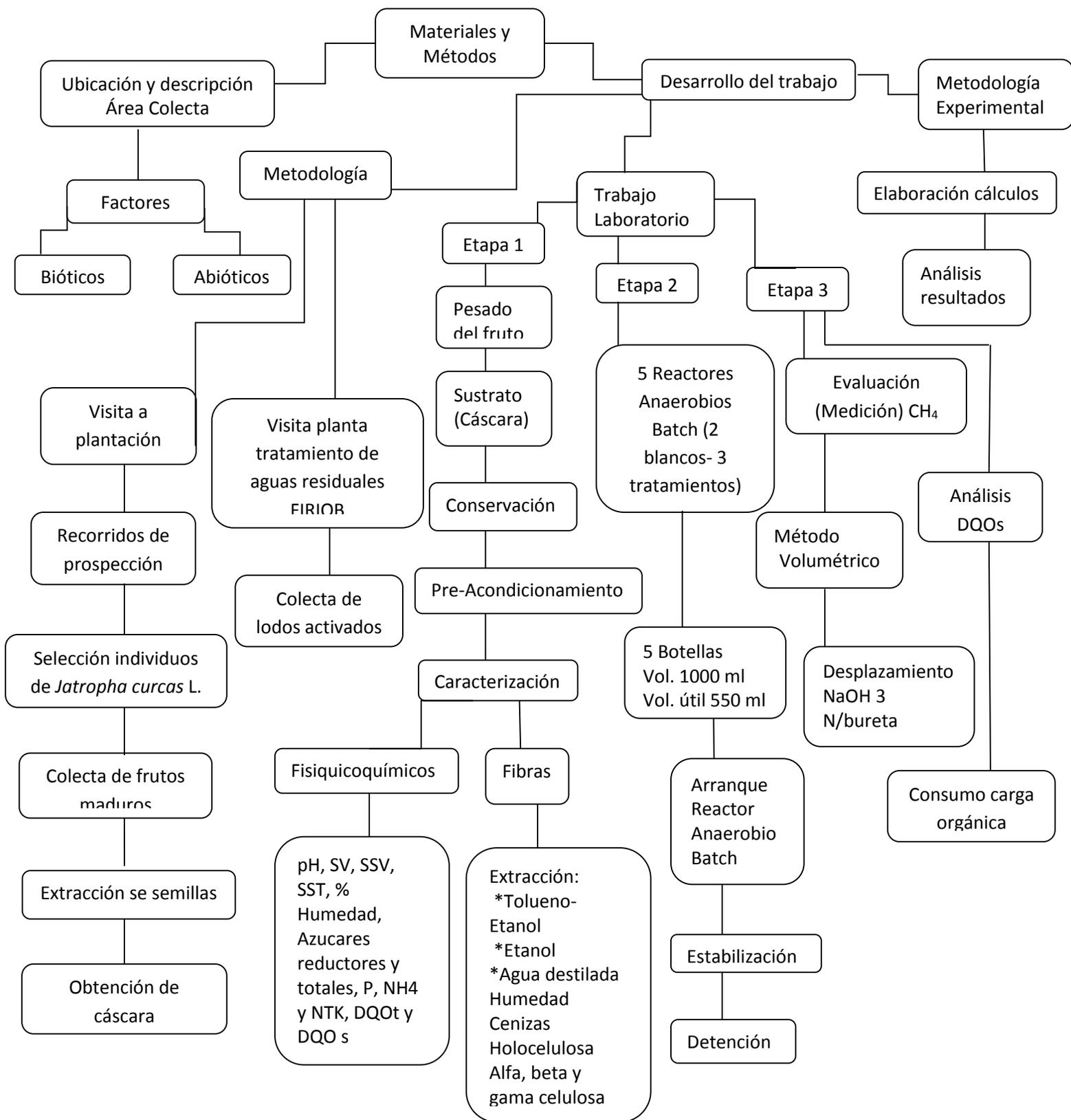


Figura 11. Etapas del Trabajo Experimental

6.3 Metodología del Trabajo

6.3.1 Visita a plantación y Recorridos de prospección

Se realizaron visitas a la plantación para establecer recorridos de prospección en el sitio de colecta (Rancho “Luz del Carmen”, Comunidad Rinconada, Veracruz) para localizar la ubicación de la plantación de *Jatropha curcas* L.

6.3.2 Delimitación del área a muestrear y selección de individuos

La plantación en la cual se realizó el trabajo para el cálculo de la biomasa residual del fruto de *Jatropha curcas* L., posee una superficie de 2 hectáreas. En esta superficie se delimitará un cuadrante de 500 m², conteniendo un total aproximado de 555 plantas. Las plantas fueron marcadas al azar para su fácil identificación durante la colecta. El marcaje del cuadrante con cinta negra se realizó para identificar las esquinas o 4 puntos indispensables para la conformación del cuadrante. También se utilizó cinta roja para el marcaje de las plantas seleccionadas al azar (Franco, 1998).

6.3.3 Recorridos para la colecta de frutos

Una vez marcado el cuadrante se prosiguió a la colecta de racimos de frutos maduros (color amarillo) (Figura 12). La selección de los individuos (plantas) se realizó al azar y los frutos fueron colectados en bolsas de manta para una mejor transpiración del fruto y depositadas en costales de polietileno para su transportación. Los individuos seleccionados fueron marcados con cintas para conocer bien su ubicación y facilitar la colecta (Sánchez, 2008).



Figura 12. Colecta de frutos de *Jatropha curcas* L.

6.3.4 Colecta del inóculo microbiano (lodos anaerobios)

Se visitó la planta de tratamiento de aguas residuales FIRIOB de la ciudad de Ixtaczoquitlán para la colecta de 15 litros de lodos anaerobios en un recipiente (galón) de polietileno de 15 litros con tapa.

6.4 Trabajo de laboratorio

6.4.1 Pesado del fruto

Los frutos maduros de *Jatropha curcas* L fueron pesados en una báscula electrónica marca L-PCR series TOR-REY con una capacidad máxima de 20 kg y mínima de 5 g (Figura 13).



Figura 13. Pesado de frutos maduros de *Jatropha curcas* L.

6.4.2 Obtención de la cáscara

Los frutos maduros con una coloración amarilla (Figura 14) fueron separados del racimo y se retiró la cáscara para su posterior pesado y almacenamiento (Sotolongo *et al.*, 2007; Rucoba *et al.*, 2013).



Figura 14. Cáscara del fruto maduro de *Jatropha curcas* L.

6.4.3 Pesado de la cáscara

La cáscara madura de *Jatropha curcas* L se pesó en una báscula electrónica marca L-PCR series TOR-REY con una capacidad máxima de 20 kg y mínima de 5 g.

6.4.4 Almacenamiento de la cáscara

La cáscara de *Jatropha curcas* L. obtenida fue pesada y depositada en bolsas de polietileno para ser almacenadas en un congelador a -18°C para evitar el crecimiento de microorganismos (bacterias, hongos) y retardar la acción de las enzimas naturales que degradan el tejido vegetal de la cáscara (Larrinaga, 2001)

6.4.5 Secado de la cáscara del fruto

Las cáscaras del fruto de *Jatropha curcas* L. (Figura 15) antes de ser utilizadas para la realización de los análisis fisicoquímicos fueron colocados en bolsas de papel y sometidos a un secado en una estufa marca Heraus a 70°C por un periodo de 5 días para una eliminación de humedad.



Figura 15. Cáscaras secas del fruto de *Jatropha curcas* L.

6.4.6 Pre-acondicionamiento de la cáscara

La cáscara o sustrato fue sometida a un tratamiento mecánico, el cual consistió en un acondicionamiento en 3 estados físicos: cáscara entera (2 cm), cáscara molida (0.6 mm) y cáscara en fragmentos (1.5 cm) (Figura 16). Este tipo de tratamiento mecánico ha sido aplicado en varios ensayos para facilitar el proceso de digestión anaerobia en sustratos compuestos en su mayor parte de biomasa lignocelulósica como residuos vegetales.



Figura 16. Estado físico de la cáscara de *Jatropha curcas* L (A: cáscara entera, B: cáscara molida, C: cáscara en fragmentos).

El tratamiento mecánico favorece el contacto de los microorganismos con el sustrato debido a que se incrementa el área superficial del sustrato en el cual actúan los microorganismos. De acuerdo a estudios realizados por Dumas *et al.*, (2010), con paja de

trigo determinó que el tamaño de la partícula favorecía el proceso de degradación de las partículas en la etapa de hidrólisis.

La cáscara procesada fue utilizada para realizar la caracterización necesaria y conocer los componentes principales de la cáscara. Este procedimiento consistió en realizar análisis fisicoquímico en la cáscara, seguido por un análisis para la determinación de fibras antes y después de la digestión anaerobia.

6.4.7 Lavado de inóculo microbiano (lodo anaerobio)

Los lodos después de ser colectados fueron depositados en probetas de 4000 ml. Se vaciaron en cada probeta un 1/4 de lodo (Figura 17) y se ajustó con 3/4 partes de agua del servicio potable. Posteriormente se mezcló y dejó sedimentar por un lapso de 1 hora. Dicho procedimiento se repitió 3 veces. Por último se eliminó el exceso de agua y se centrifugó a 6000 rpm por 30 minutos como lo recomienda (Larrinaga, 2001; Angelidaki *et al.*, 2009 y Raposo *et al.*, 2011).

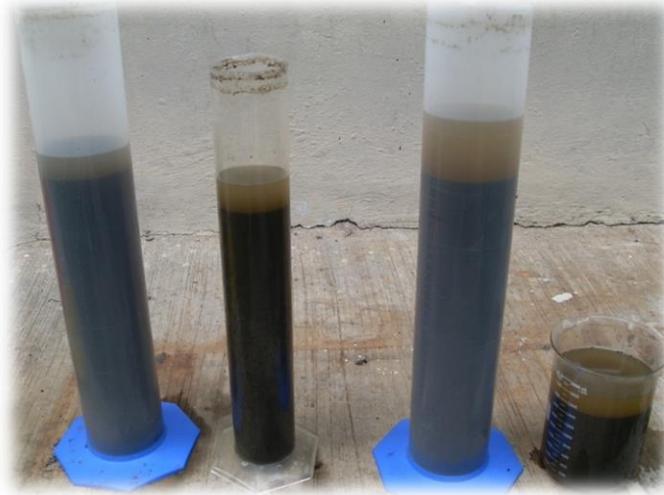


Figura 17. Lavado de lodos anaerobios

6.4.8 Pesado del lodo anaerobio

Una vez centrifugado los lodos se tomaron con una espátula y se agregó la cantidad de 4.4 gSSV/g de lodo (Figura 18) en cada reactor, en base a los criterios propuestos por Angelidaki *et al.*, (2009) y Raposo *et al.*, (2011).



Figura 18. Lodos anaerobios para inocular los reactores anaerobios.

6.5 Metodología Experimental

6.5.1 Caracterización de la biomasa residual de *Jatropha curcas* L.

Para la caracterización de la cáscara del fruto a nivel de sustrato se realizó un análisis fisicoquímico de acuerdo a la metodología propuesta por Andrew y Lenore., (1995), la APHA (1998) y la Norma Oficial Mexicana (tabla 8), para determinar las concentraciones de humedad, cenizas, Nitrógeno Total, Nitrógeno amoniacal, Fósforo, Sólidos y Azúcares totales y reductores.

Tabla 8. Criterios utilizados para el análisis Fisicoquímico

Caracterización de la cáscara (fresca) de <i>Jatropha curcas</i> L.			
Parámetro	Unidad	Método Utilizado	Norma Oficial Mexicana
pH	*pH	Potenciómetro	NMX-AA-008-SCFI-2000
DQO Total	mg/L	Micrométodo (Técnica Colorimétrica)	NMX-AA-030-SCFI-2001
Sólidos Totales Totales (STT)	mgSTT/L	Gravimétrico	NMX-AA-034-SCFI-2001
Sólidos Totales Volátiles (STV)	mgSTV/L	Gravimétrico	NMX-AA-034-SCFI-2001
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	mgSST/L	Gravimétrico	NMX-AA-034-SCFI-2001
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	mgSSV/L	Gravimétrico	NMX-AA-034-SCFI-2001
Sólidos Disueltos Volátiles (SDV)	mgSDV/L	Gravimétrico	NMX-AA-034-SCFI-2001

Tabla 8 (Continuación)

Caracterización de la cáscara (fresca) de <i>Jatropha curcas</i> L.			
Parámetro	Unidad	Método Utilizado	Norma Oficial Mexicana
Porcentaje de humedad	%	Cálculo matemático	NMX-AA-034-SCFI-2001
Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK)	mg/gST	Kjeldahl (NTK)	NMX-AA-026-SCFI-2001
N-NH ₄	mg/gST	Nitrógeno Amoniacal	NMX-AA-026-SCFI-2001
Fósforo Total	mg/gST	Colorimétrico. Técnica de Fiske Subbarow	NMX-AA-029-SCFI-2001
Azúcares Totales	mg/gST	Fehling	NMX-V-006-1983
Azúcares reductores	mg/gST	Ácido Dinitrosalisílico (D.N.S.)	APHA,1998

*Unidades de pH

Los análisis de la caracterización se conformaron por dos etapas la primera comprendió los análisis fisicoquímicos como pH, SV, SSV, SST, % humedad, azúcares reductores-totales, fósforo (P), NH₄ y NTK, DQOt y DQOs. La segunda etapa consistió en el análisis de las fibras antes y después de la digestión anaerobia.

Los análisis realizados a las fibras aplicaron una extracción de ceras, grasas, gomas y resinas con tolueno-etanol por 6 horas en un equipo de extracción Soxhlet y una segunda extracción con Etanol por 4 horas (TAPPI, 2010).

Se determinó la humedad de las fibras libres de extraíbles en una estufa Cole Parmer a 105° C por 2 horas, las cenizas se obtuvieron en una Mufla 47900 Furnace Thermolyne Navatech a 550 °C y los análisis correspondientes a Holocelulosa, Alfa, Beta y Gama celulosa y lignina se obtuvieron por diferencia de peso.

El análisis de fibras se realizó en base a la normatividad propuesta por la TAPPI (2010) ver tabla 9.

Tabla 9. Normas TAPPI (2010) para el análisis de madera y pulpa.

Análisis	Norma
Muestreo y preparación de madera para análisis.	TAPPI T 257-cm-85
Preparación de madera para análisis químico	TAPPI T 264-om-88
Humedad	TAPPI T 264-om-88
Cenizas	TAPPI T 211-om-93
Lignina	TAPPI T 222-om-88
Holocelulosa	“Método Wise”
α - Celulosa	TAPPI T 203-om-93
β y γ –Celulosa o Hemicelulosa	TAPPI T 203-om-93
Extraíbles con Etanol-Tolueno	TAPPI T 264-om-88
Extraíbles con Etanol	TAPPI T 264-om-88
Extraíbles con Agua	TAPPI T 264-om-88

6.5.2 Implementación de un reactor anaerobio para la producción de biogás

El ensayo experimental se basó en el montaje de los reactores anaerobios (figura 19) para evaluar la producción de gas metano (CH_4) mediante la degradación de la cáscara de *Jatropha curcas* L., utilizando lodos anaerobios como inóculo (figura 20). De acuerdo con Guevara (2011), se comprobó que dichos lodos estuviesen conformados por gránulos en un promedio de 0.11 gSSV/g de lodo y un tamaño superior a 1 μm , independientemente (figura 21).

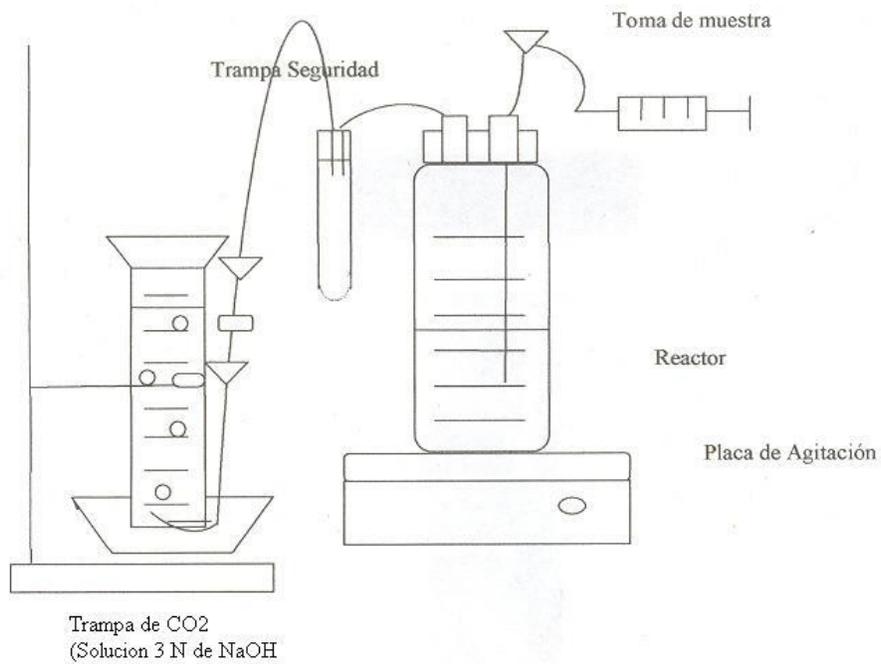


Figura 19. Esquema del montaje experimental de reactores anaerobios.

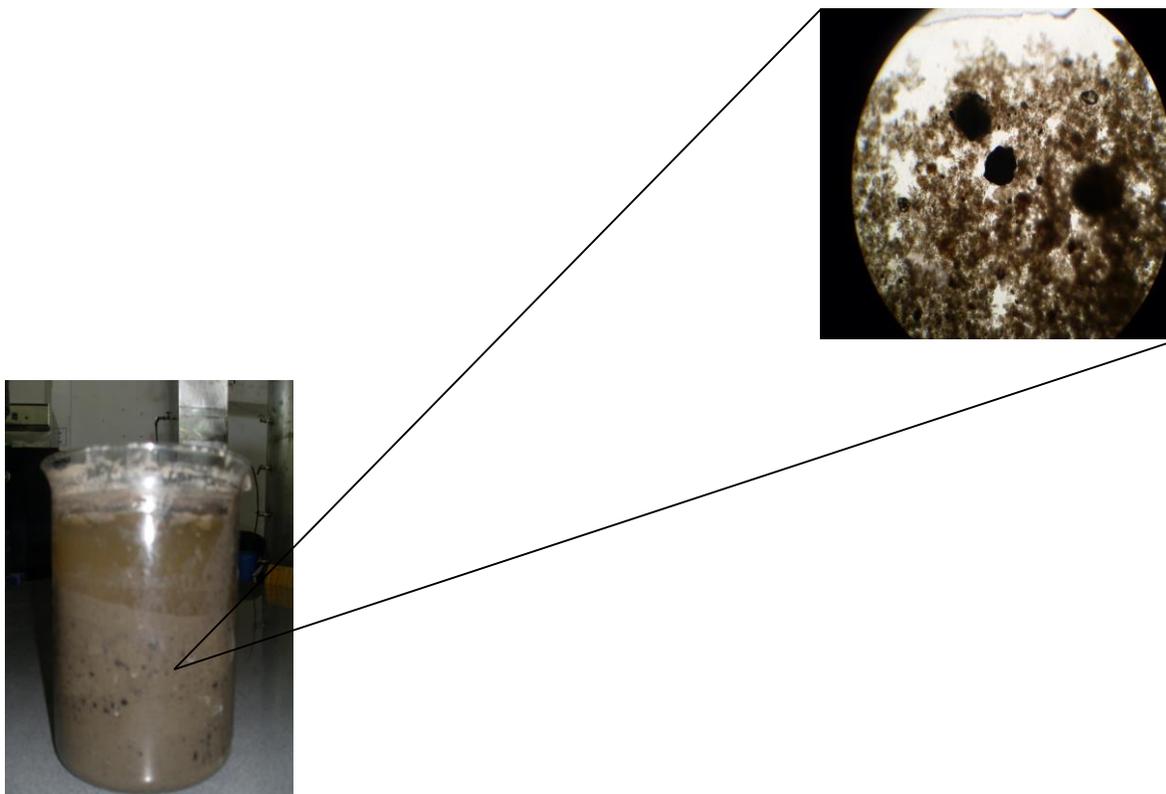


Figura 20. Gránulos de lodos anaerobios a 10 X.

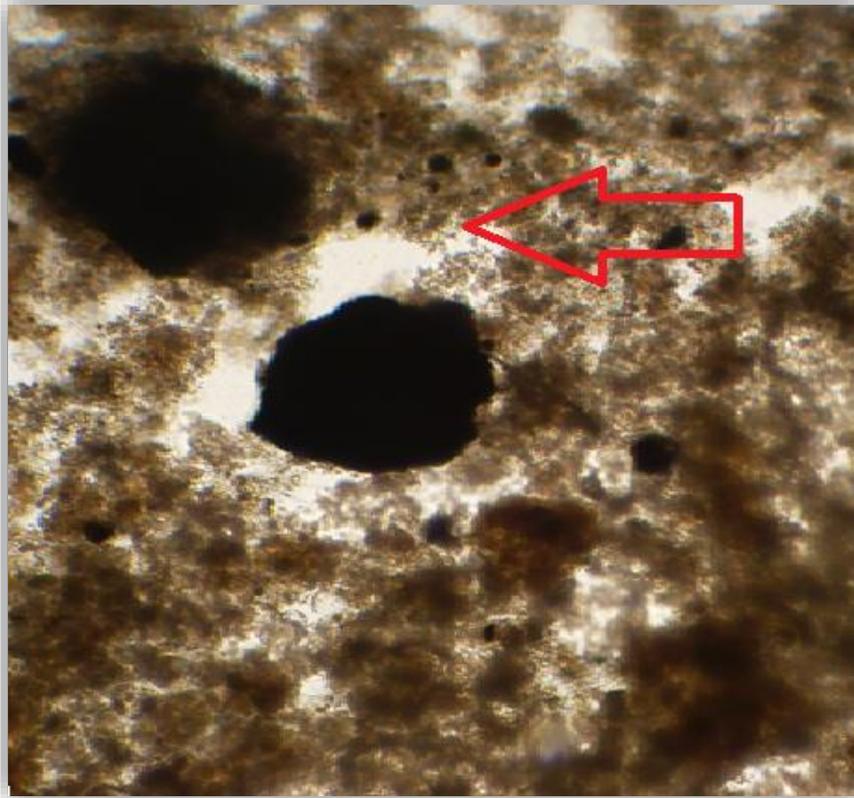


Figura 21. Gránulos de lodos anaerobios

El diseño y montaje de los reactores ha considerado criterios internacionales y se ha respaldado de anteriores investigaciones enfocadas en el área de la digestión anaerobia en las cuales se ha puesto a prueba la eficiencia del proceso anaerobio en reactores a nivel laboratorio. Estos ensayos se han realizado desde los años 90's utilizando frascos de volúmenes menores en los cuales se ha evaluado la biodegradabilidad en diferentes sustratos (Angelidaki *et al.*, 2009).

Se implementó el establecimiento de cinco reactores o biodigestores Batch a nivel de laboratorio, en este caso serán de menor tamaño utilizando frascos de cristal, así como el propio sustrato (cáscara del fruto de *Jatropha*) y el inóculo (lodo activado). Para la implementación de los biodigestores a nivel laboratorio se tomaron en cuenta los criterios propuestos por Magaña *et al.*, (2006) y Angelidaki *et al.*, (2009), considerando lo siguiente:

- **Diseño de los reactores.** Se utilizaran 5 botellas marca SCHOTT Duran (Figura 22) fabricadas en vidrio de borosilicato, resistentes a la acción de químicos (ácidos, soluciones salinas, solventes, alcohol, aceites), esterilizables, con rosca y resistentes a 140 °C a las cuales se realizó dos perforaciones, en una tapa de polipropileno, para la salida de metano y la segunda correspondiente a la toma de muestra. Se utilizó un volumen total de 1000 ml con un volumen útil de 550 ml y correspondiente a una relación inicial de sustrato $S_0/X_0 = 0.25$, 2 g/LDQO y 8 gSSV/L.



Figura 22. Fotografía de los bioreactores empleados.

- **Temperatura controlada**
La temperatura se mantuvo estable y controlada a 30 ° C, un equipo de calefacción marca Pelonis.
- **Agitación constante**
Los 5 reactores se colocaron sobre 4 placas de agitación marca Cimarec 2 /Thermolyne y una placa IKA ° C-MAG MS 7, agitándose a 125 rpm, mediante un

agitador magnético (de 3 cm de largo, recubierto de Teflón) para la homogeneización del contenido.

- **Determinación de biogás formado**

Para determinar la salida de cada reactor se conectó a una probeta graduada invertida llena de NaOH (3 N), como trampa para capturar el CO₂ generado, y dejando únicamente gas metano (CH₄) para su posterior análisis. El volumen de NaOH (3 N) desplazado en la probeta graduada, fue considerado como el volumen de gas producido.

- **pH**

Se mantuvo neutro, cuando la solución se tornó acida se controló con NaOH (5 N). En el caso de que se alcalinizara el biodigestor y se aplicó cuidadosamente una gota de ácido clorhídrico 0.01 N.

- **Toma de muestra**

Se realizó mediante jeringas de plástico de 10 ml Plastipak.

- **Preparación del sustrato**

Una vez obtenida la cáscara de *Jatropha curcas* L., se sometió a un proceso de secado a 70 °C en una estufa Heraeus BeLuften por una semana. Posteriormente se prosiguió a la molienda como se describió anteriormente en el punto 6.4.6. Finalmente se agregaron 1.12 gST de cáscara base seca de *Jatropha curcas* L en cada reactor en base a los criterios propuestos por Angelidaki *et al.*, (2009) y Raposo *et al.*, (2011).

- **Testigos y Tratamientos para la cáscara**

Se llevaron a cabo 3 tratamientos y 2 testigos (Figura 23). La descripción de los tratamientos y testigos se menciona a continuación:

- Testigo: cáscara entera + Solución amortiguadora + agua destilada.
- Blanco: Lodo+ Solución amortiguadora + agua destilada.
- Tratamiento 1: Cáscara en fragmentos + Inóculo (Lodo anaerobio) + Solución amortiguadora + agua destilada.
- Tratamiento 2: Cáscara molida +Inóculo + (Lodo anaerobio) + solución amortiguadora + agua destilada.

- Tratamiento 3: Cascara entera + Inóculo + (Lodo anaerobio) + solución amortiguadora + agua destilada.

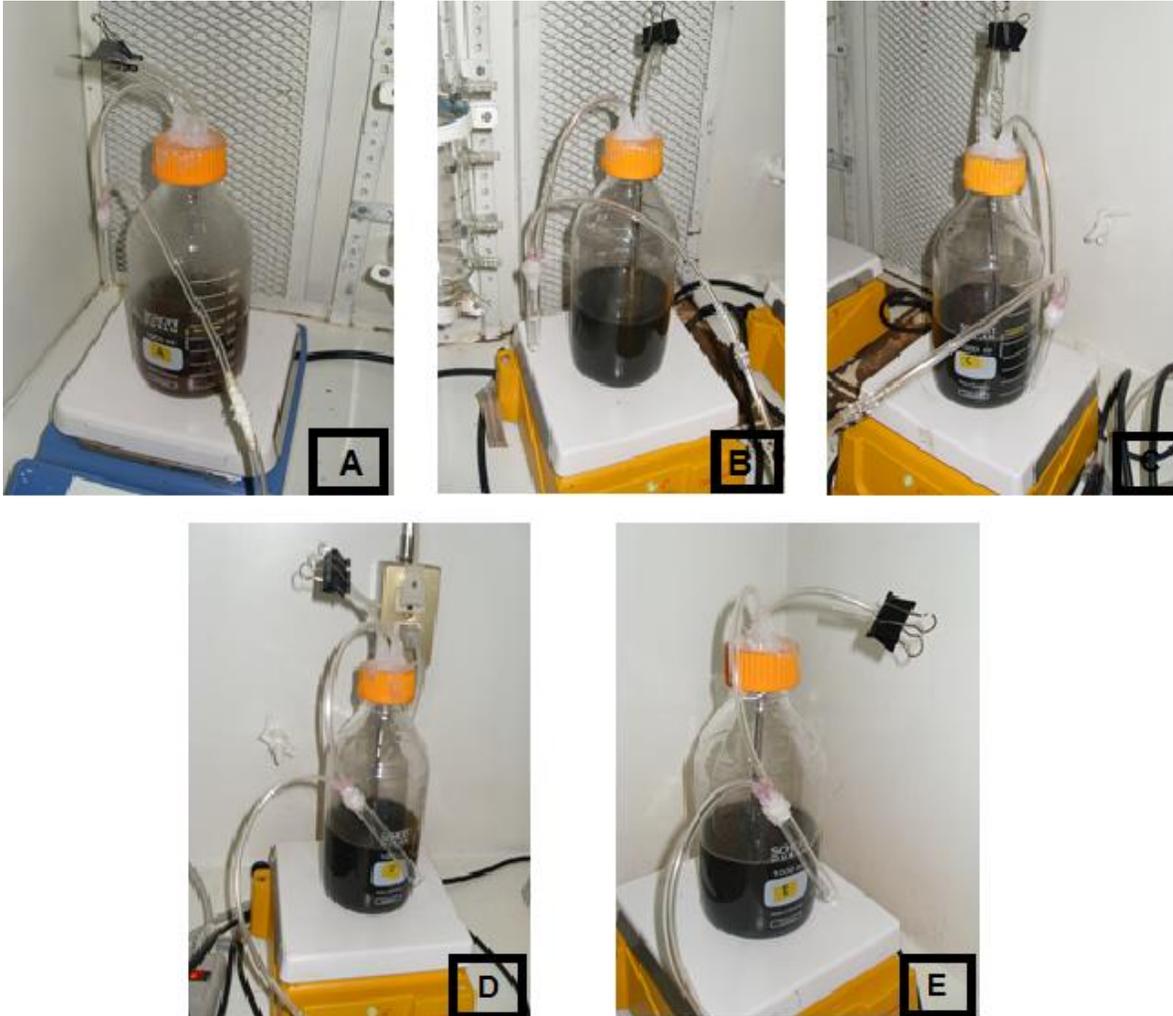


Figura 23. Reactores Anaerobios: A) Testigo, B) Blanco, C) Tratamiento 1, D) Tratamiento 2 y E) Tratamiento 3.

- **Preparación de la solución Buffer o amortiguadora**

Se adaptó con base a la solución Buffer realizada por Kawahara *et al.*, (1999), modificándose en función de las necesidades de la presente experimentación. A continuación en la tabla 10 se muestran las cantidades tomadas por reactor.

Tabla 10. Listado de reactivos para preparar la solución amortiguadora

Solución Buffer	Cantidad 550 ml por Reactor
KH ₂ PO ₄ – 4.05 g/L	82.5 ml
K ₂ HPO ₄ – 8.385	22 ml
NH ₄ CL – 7.95	22 ml
CaCl ₂ – 1.125	22 ml
MgCl ₂ . 6H ₂ O – 1.0	22 ml
FeSO ₄ . 7H ₂ O – 5.6	22 ml
	Total: 192.5 ml

Para cada reactor se agregó 192.5 ml de solución amortiguadora, la cual mantuvo el pH neutro.

- **Arranque del reactor**

Los cinco reactores fueron llenados con su respectiva cantidad de inóculo (lodo), sustrato (cáscara), solución amortiguadora o Buffer y agua destilada. Se homogenizó por 5 minutos y por último se adecuaron a condiciones anaerobias mediante un burbujeo con Helio por 5 minutos para desplazar o sacar todo el aire que este dentro de la botella o reactor, quedando en condiciones anaerobias (ausencia de oxígeno) el contenido del reactor.

- **Análisis Físicoquímicos**

El seguimiento del reactor se llevó a cabo diariamente realizando técnicas de análisis a continuación enlistadas según Métodos Estandarizados (APHA, 1998), y las normas NOM-001-ECOL-1998:

1. **DQO (Demanda Química de Oxígeno) total y soluble**

En el presente experimento se utilizaron 1.12 g de cáscara de *Jatropha curcas* L. en los cinco reactores anaerobios. Se pretende observar la aparición de DQO soluble en fase líquida proveniente de la hidrólisis.

Se determinó la DQO_{total}, mediante la técnica de colorimetría por micro-método de acuerdo a la NMX-AA-030-SCFI-2001 y Fernández *et al.*, 2008. Para realizar la DQO soluble (DQO-sol) se centrifugó 30 ml de muestra durante 30 minutos a 6000 rpm, con una centrifuga Hermlez 200 A, y se analizó el sobrenadante. Las lecturas colorimétricas se realizan en un espectrofotómetro JenWay 6305 a 620 nm. El

análisis de la DQO-sol se aplicó para estudiar la etapa de hidrólisis y solubilización del sustrato dentro de los reactores.

2. Sólidos

Se analizaron los sólidos en sus diferentes formas: Sólidos Totales (ST), Sólidos Volátiles (SV), Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV). Se utilizó una estufa Cole Parmer para el procedimiento de las muestras a 105 ° C durante 12 hrs, y una mufla 47900 FURNACE THERMOLYNE, NAVATECH para la muestra a 550 ° C durante 2 horas. La finalidad de la realización del análisis de los sólidos en la fase líquida se lleva a cabo con la finalidad de seguir la evolución de los sólidos desde el punto de vista de hidrólisis.

3. Metano

El volumen de metano producido se midió con un sistema volumétrico tipo Flask de Mariotte (desplazamiento de columna de NaOH 3 N (Trampa de CO₂)).

4. Temperatura

Se registró diariamente con un termómetro de ambiente rastreando el aumento de temperatura generado por un calefactor Pelonis. La finalidad de medir esta variable fue la verificación de una temperatura constante a 30 ° C.

5. pH

La alcalinidad, acidez y neutralidad de las muestras fue registrada con un potenciómetro pH OAKTON, con la finalidad detectar cambios de pH ligados a una actividad microbiana y más específicamente para verificar la acidificación del medio a consecuencia de los Ácidos Grasos Volátiles (ácido acético (C₂H₄O₂), ácido propiónico (C₃H₆O₂) y ácido butírico (C₄H₈O₂)) en la fase de acidificación.

6. Análisis de Fibras

Se realizó en base a las normas TAPPI (2010) para el análisis de madera y pulpa, observando el impacto de la digestión anaerobia sobre el material lignocelulósico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

6.5.3 Medición del volumen de biogás producido

Se determinó mediante el sistema de Mariotte el cual consiste en el desplazamiento de una columna de NaOH (3 N) en una bureta (Magaña *et al.*, 2006). El biogás producido se midió mediante el registro del volumen de sosa desplazado en la bureta graduada.

7. Resultados y Discusión

7.1 Caracterización de la biomasa residual del fruto

En la tabla 11 se pueden observar los resultados obtenidos en cada uno de los análisis fisicoquímicos esenciales para conocer la composición del sustrato sometida a digestión anaerobia. Dichos parámetros son esenciales para el buen funcionamiento de un reactor anaerobio y la degradación biológica de la biomasa.

Tabla 11. Caracterización de la cáscara de *Jatropha curcas* L. Análisis vía Sólido Seco

Parámetros	Porcentaje (base seca)
*pH	6.47
Sólidos Totales (mg/gST)	92
Sólidos Volátiles (mg/gST)	75
Cenizas (%)	17
Humedad (%)	7
DQO Total (mg/L)	98
N-TKN (mg/gST)	0.015
N-NH4 (mg/gST)	0.010
Fósforo (mg/gST)	0.2
Azúcares Totales (mg/gST)	0.013
Azúcares reductores (mg/gST)	0.011

*Unidades de pH

Los resultados mostrados en la tabla 11 y 12 si los comparamos difieren en sus concentraciones porcentuales en contenido de Sólidos Totales, Sólidos Volátiles y Cenizas esto es debido al proceso de secado en una estufa Heraus a 70 °C por 7 días aplicado a la cáscara fresca o con humedad de *Jatropha curcas* L. La concentración en la tabla 11 nos presenta una cantidad porcentual en ST del 92 % en la cáscara seca en comparación con 10 % de ST de la cáscara humedad o fresca. La cantidad de SV corresponde a 75 % en la cáscara seca contrastando con 8 % de la cáscara humedad. Las cenizas variaron en una concentración de 17 % en la cáscara seca en comparación con 2 % de la cáscara fresca o humedad. El parámetro humedad en la cáscara seca obtuvo un 7 % en comparación con el valor obtenido de la cáscara fresca de 90 %.

Tabla 12. Composición porcentual de la cáscara. Análisis vía Sólido húmedo

Parámetros	Concentración (%)
Sólidos Totales (ST)	10
Sólidos Volátiles (SV)	8
Cenizas	2
Humedad	90

Como se observa en la tabla 13, los análisis fisicoquímicos sobre *Jatropha curcas* L. realizados en otras investigaciones por Makkar y Becker (1998), obtuvieron valores de 90 % en materia seca de la cáscara de *Jatropha curcas* L. comparado con el 92 % de materia seca (ST) obtenido en este estudio. También Singh *et al.*, (2008) reportan un 68.73 % de materia seca como componente principal de la cáscara de *Jatropha*.

Tabla 13. Composición de la cáscara de *Jatropha curcas* L. (Promedios en base seca).

Parámetro (%)	Autor								
	Makkar y Becker (1998)	Jongschaap <i>et al.</i> , (2007)	Sotolongo <i>et al.</i> , (2007)	Singh <i>et al.</i> ; (2008)	Dhanya <i>et al.</i> , (2009)	REDPA, (2009)	Yamamura, <i>et al.</i> , (2012)	Presente estudio de Landeros	
								BS	BH
Materia seca	89.9	90		68.73		11-15		92	10
Proteína cruda	4.4	3.7-4.5 7.80							
Lípidos	0.5	0.7-1.4							
Ceniza	2.8	4-6 13		14.88				17	2
Fibra cruda	89.4	28.8-32.0 83.9-89.4 53.5							
Humedad		83-90	15	12.35		85-90		7	90
Energía (MJKg ⁻¹)		17.2 16.9 19.5	2651	3762					
N		0.19 0.86			3.64			0.015 0.010	
P		0.041 0.051						0.2	
Lignina					28.91		14.32+- 0.91		
Celulosa					13.11				
Hemicelulosa					7.69				

BS: base seca BH: base húmeda

Tabla 13. (Continuación)

Parámetro (%)	Makkar y Becker (1998)	Jongschaap <i>et al.</i> , (2007)	Sotolongo <i>et al.</i> , (2007)	Singh <i>et al.</i> , (2008)	Dhanya <i>et al.</i> , (2009)	REDPA, (2009)	Yamamura, <i>et al.</i> , (2012)	Presente estudio de Landeros BS BH
Azúcares solubles					1.70			
Azúcares Totales								0.013
Azúcares Reductores								0.011

BS: base seca BH: base húmeda

Además el análisis vía sólido húmedo reportó una concentración baja (10 %) de Sólidos Totales al igual que los resultados de 11 % y 15 % de materia seca ó ST reportados por REDPA (2009). También Makkar y Becker (1998), realizaron un análisis sobre el contenido de proteína cruda y el valor de lípidos en la cáscara, reportando concentraciones de 4.4 % y 0.5 %. Jongschaap *et al.*, (2007) reportan rangos de proteína de 3.7 - 4.5 % y 7.80 % para la cáscara de *Jatropha* siendo coincidente el valor reportado de 4.5 % con investigaciones anteriores. Jongschaap *et al.*, (2007) también realizaron aportes pertinentes sobre la baja cantidad de lípidos que forman parte de la cáscara de *Jatropha*, obtuvieron rangos de 0.7-1.4 % de lípidos siendo considerada pobre en grasas.

Makkar y Becker (1998) reportaron el valor de 2.8 % de ceniza en la cáscara de *Jatropha curcas* L., coincidiendo con el 2 % obtenido en el análisis vía sólido húmedo. Jongschaap *et al.*, (2007) obtuvieron rangos de ceniza de 4 – 6 % y 13 % como componente de la cáscara, el cual contrastó con el 17 % de ceniza obtenido en este estudio a partir de la muestra base seca. Además Singh *et al.*, (2008) reportaron la cantidad de 14.88 % de ceniza en la cáscara de *Jatropha* considerando este rango casi similar al obtenido en este estudio.

El valor reportado para el contenido de fibra cruda por Makkar y Becker (1998) fue 89.4 %, valor similar con uno de los reportes realizados por Jongschaap *et al.*, (2007) de 89.4 %

para las fibras que conforman la estructura de la cáscara de *Jatropha*. Aunque también menciona rangos de 28.8 % – 32.0 % y 53.5 % - 83.9 % en cantidad de fibra cruda.

Jongschaap *et al.*, (2007) reportaron en su investigación rangos de humedad de 83 a 90 % de la cáscara de *Jatropha curcas* L., siendo muy similar este resultado con lo reportado por la REDPA, (2009) que menciona haber obtenido un rango de 85 a 90 % de humedad, lo cual coincide con el 90 % de humedad obtenido en el análisis vía sólido húmedo en esta investigación. Sotolongo *et al.*, (2007) obtuvieron un 15 % de humedad, lo cual coincide cercanamente con el 17 % obtenido a partir de la cáscara seca de *Jatropha* en esta investigación. También Singh *et al.*; (2008) reportan un valor menor de humedad en la cáscara, el cual corresponde a 12.35 % y en esta investigación se obtuvo un valor menor de humedad (7 %) correspondiente a la cáscara en base seca (tabla 13), lo cual varía un poco con el rango reportado también por Jongschaap *et al.*, (2007) de 10 – 11 %.

Jongschaap *et al.*, (2007) reportan concentraciones de 0.19 %, 0.70 % y 0.86 % en N obtenido a partir de la cáscara de *Jatropha curcas* L., contrastando con el 0.015 % de N-TKN y 0.010 de N-NH₄ a partir del análisis obtenido en esta investigación, coincidiendo con lo mencionado por Schmook y Sánchez (2000) sobre el poco valor nutritivo de las cáscaras que se pueden utilizar como fuente de energía. Estos resultados anteriores difieren con los obtenidos por Dhanya *et al.*, (2009) que reportan una concentración de 3.64 % de N. La concentración de 0.2 % del nutriente P obtenido en esta investigación varía totalmente en comparación con el 0.051-0.041 % reportado por Jongschaap *et al.*, (2007) para la cáscara de *Jatropha* en su investigación.

La concentración de azúcares solubles reportado por Dhanya *et al.*, (2009) fue mayor (1.70 %) en comparación con los obtenidos en esta investigación, los cuales alcanzaron valores de 0.013 % para azúcares totales y 0.011 % para azúcares reductores.

El valor calórico de la cáscara es reportado por Sotolongo *et al.*, (2007) y Toral *et al.*, (2008) como un dato relevante en la composición de la cáscara porque puede ser empleada como combustible. Singh *et al.*, (2008) mencionan el valor calórico aproximado de la cáscara de *Jatropha* en 3.762 (MJkg⁻¹), dicho valor fue mayor al reportado por Sotolongo

et al., (2007) y Jongschaap., *et al* (2007) los cuales corresponden a 2.651 y 17.2, 16.9, 19.4 (MJKg⁻¹).

En cuanto a la cáscara antes de la digestión anaerobia, se puede decir que el 65.29 % pertenece a la holocelulosa comprendiendo 50.75 % para α -celulosa y 14.54 % para β y γ -Celulosa o también llamadas hemicelulosas y 4.05 % para lignina como se muestra en la tabla 14.

Tabla 14. Análisis Lignocelulósico de la cáscara de *Jatropha curcas* L.

Parámetro	Porcentaje (%)
Extraíbles tolueno-etanol	9.04
Extraíbles etanol	4.49
Extraíbles agua destilada	10.01
Humedad	4.02
Cenizas	3.10
Lignina	4.05
holocelulosa	65.29
α -Celulosa	50.74
β y γ -Celulosa	14.54

Respecto al análisis lignocelulósico de la cáscara, el porcentaje de extraíbles tolueno-etanol fue mayor (9.04 %), si lo comparamos con lo obtenido para los extraíbles con etanol (4.49 %), logrando extraer sustancias como ceras, grasas, resinas y gomas (TAPPI, 2010). Los extraíbles con agua obtuvieron un porcentaje mayor (10.01%) en comparación con los extraíbles con mezclas de solventes etanol-tolueno y extraíbles etanol. El porcentaje mayor de extraíbles con agua destilada caliente puede interpretarse como la obtención de taninos, gomas, azúcares, almidones y materiales colorantes (TAPPI, 2010).

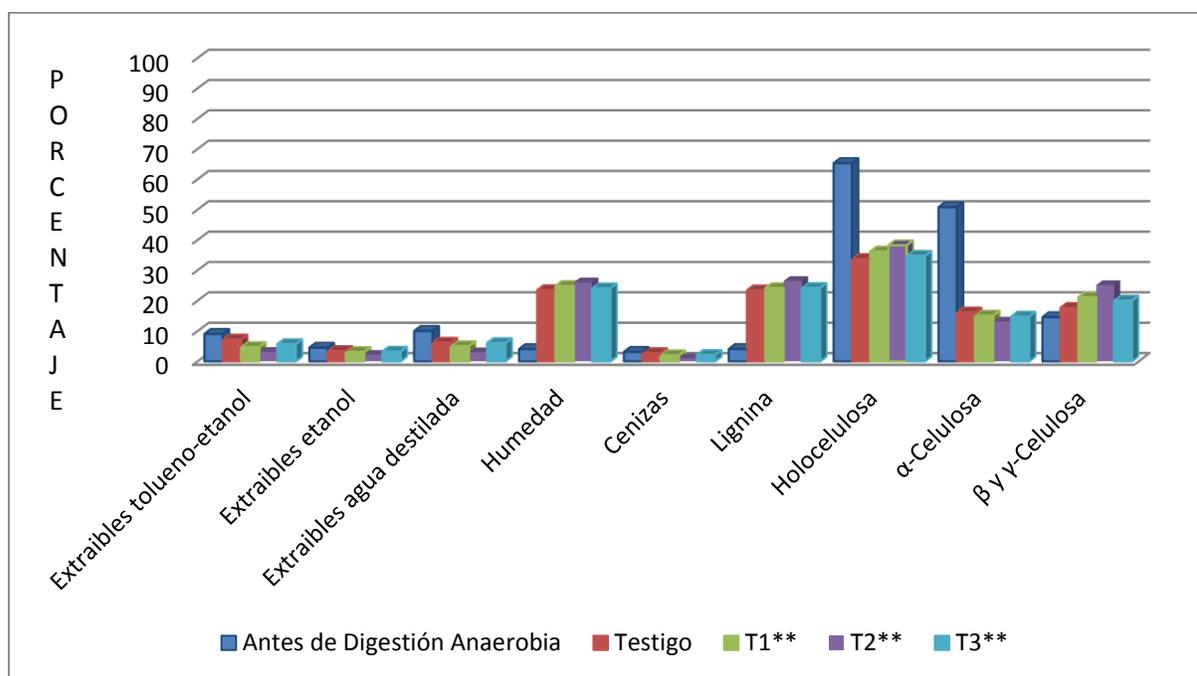
En la tabla 15 se muestran los resultados obtenidos de las fibras lignocelulósicas que conforman la cáscara de *Jatropha curcas* L. después de un proceso de digestión anaerobia con lodos activados. El testigo corresponde a cáscara entera sin inóculo, el tratamiento 1 (T1: cáscara en fragmentos), tratamiento 2 (T2: cáscara molida) y tratamiento 3 (T3: cáscara entera con inóculo) mostraron cambios intrínsecos importantes en su estructura, lo cual nos hace pensar que el proceso de digestión anaerobia afecta la estructura de las fibras lignocelulósicas (Figura 24).

Tabla 15. Fibras Lignocelulósicas de la cáscara de *Jatropha curcas* L. después de Digestión Anaerobia

Parámetro	Porcentaje (%)					
	Antes de D.A.	Después de D.A.				
	Cáscara <i>Jatropha</i>	Testigo	Blanco	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Extraíbles tolueno-etanol	9.04	7.21	*	4.73	3.11	5.67
Extraíbles etanol	4.49	3.38	*	3.09	2.15	3.20
Extraíbles agua destilada	10.01	6.15	*	5.01	3.02	6.03
Humedad	4.02	23.45	*	24.83	26.01	24.05
Cenizas	3.10	2.72	*	2.03	1.03	2.10
Lignina	4.05	23.37	*	24.13	26.47	24.17
Holocelulosa	65.29	33.72	*	36.18	38.21	34.77
α -Celulosa	50.74	16.12	*	15.08	13.11	14.75
β y γ -Celulosa	14.54	17.60	*	21.10	25.10	20.02

*No determinado (ND)

Digestión Anaerobia (D.A.)



** Tratamiento 1-3

Figura 24. Contenido de fibras lignocelulósicas antes y después de la Digestión Anaerobia.

La duración del proceso de digestión anaerobia (DA) es muy prolongado para sustratos compuestos en su mayor parte por fibras lignocelulósicas, como se observa en la gráfica de la figura 24, de tal manera que los microorganismos se adaptaron al sustrato y afectaron o degradaron fibras en un lapso de 126 días.

Las bacterias pueden presentar ciertos inconvenientes al tratar de adaptarse y convertir los polímeros complejos como α -celulosa, β y γ -celulosa (hemicelulosa) en moléculas menos complejas. En nuestro caso los compuestos de α -celulosa, β y γ -celulosa (hemicelulosa) (holocelulosa) conforman el mayor porcentaje de composición de la cáscara del fruto (figura 24), dichos porcentajes pueden ser responsables del lento proceso de digestión anaerobia en los cuatro ensayos realizados.

Después de dejar libre de extraíbles las muestras y analizando la humedad según las normas TAPPI (4.02 % para las fibras de la cáscara de *Jatropha* antes de DA y 23.45 % Testigo, 24.83 % T1, 26.01 % T2 y 24.05 % T3 para las fibras después de DA), se encuentran que los residuos (fibras) de la digestión anaerobia son higroscópicos en comparación con la cáscara de *Jatropha*. Esto es comprobable durante el proceso de pesado para calcular la humedad por diferencia de peso, las fibras de la digestión anaerobia presentan menos estabilidad en la balanza a la hora de pesarse indicando que absorben con facilidad humedad del ambiente.

Los valores de humedad (4.02 % en las fibras antes de DA y 23.45 % en el Testigo) nos muestran claramente que el proceso de DA sí afectó las fibras abriéndolas más mediante la absorción de humedad. Este proceso también se presentó en el T1: 24.83 %, T2: 26.01 % y T3: 24.05 % mostrando un aumento de humedad en las fibras después del proceso de DA en comparación con las fibras antes de digestión anaerobia.

El testigo presentó un aumento de 23.43 %, valor menor si lo comparamos con el T1 y T3 los cuales presentaron rangos de 24 % en humedad y el T2 reportó un 26.01 % de aumento, lo cual nos indica que el proceso de maceración o molienda de la cáscara (tabla 15) tiene un efecto importante en la estructura de las fibras permitiendo una mayor absorción de humedad, lo cual concuerda con los reportes realizados por Dumas *et al.*, 2010.

Con respecto al material inorgánico, el testigo presentó un valor menor de 2.72 % en comparación con el 3.10 % de las fibras antes de DA. El T1 y T2 reportaron valores menores (2.03 % y 1.03 %) en comparación con el T3 que presentó un valor mayor de 2.10 % en comparación con los tratamientos anteriores. Esto nos demuestra que la acción del proceso de DA si afectó ciertos compuestos complejos, viéndose reflejado en la disminución del contenido de ceniza.

Por otra parte, la lignina muestra una variación en el porcentaje de composición entre los tratamientos y el testigo. Al parecer es el resultado de la descomposición de los carbohidratos de la pared celular de la cáscara de *Jatropha* con la digestión anaerobia y esto se refleja en la concentración de lignina que no es afectada por el consorcio de bacterias anaerobias. Este acumulamiento de lignina se debe a que las enzimas hidrolíticas producidas por las bacterias solo tienen acceso hacia los polisacáridos asimilables lo cual no sucede con la lignina por ser un compuesto recalcitrante (Sezun *et al.*, 2010 y Yamamura *et al.*, 2012). Reportando con esto un 4.05 % en las fibras antes de DA y un aumento de 23.47 % en el Testigo después de DA, lo cual coincide con las investigaciones realizadas por Dhanya *et al.*; (2009) en cáscara de *Jatropha curcas* L. que menciona acumulamiento de lignina en sus reactores anaerobios después del proceso de digestión anaerobia en concentraciones de 30 y 40 %.

También se obtuvieron concentraciones elevadas de lignina en el T1: 24.13 % y T3: 24.17 % no mostrando diferencias significativas en la acumulación de lignina entre ambos tratamientos pero si un aumento relativo con el Testigo, el cual obtuvo un valor menor. El T2 obtuvo un porcentaje mayor (26.47 %) de concentración en lignina debido a la maceración de la cáscara de *Jatropha*, logrando una mayor superficie de contacto para las bacterias anaerobias y alcanzando una concentración más elevada de lignina debido a que es insoluble en agua (Chen *et al.*, 2008).

A diferencia de la lignina, las holocelulosas (α -celulosa y β y γ -celulosa) se ven afectadas por las bacterias anaerobias. Las α -celulosas son reducidas de 50.75 % en composición de las fibras de la cáscara de *Jatropha* antes de la digestión anaerobia a 16.12 % que compone las fibras de la cáscara después del proceso de DA en el Testigo. Esta disminución en la composición de la α -celulosa también se ve reflejada en los tres tratamientos (T1: 15.08 %, T2: 15.08 %, T3: 15.08 %).

T2: 13.11 % y T3: 14.75 %). Dicha disminución se muestra más latente en el T2 debido a la cáscara molida lo cual permite mayor acceso la acción de las bacterias anaerobias de acuerdo a lo establecido por Dumas *et al.*, (2010). La disminución de α -celulosa también se presentó en los tratamientos realizados por Dhanya *et al.*, (2009) con cáscara del fruto de *Jatropha curcas* L en rangos de 50-60 % de las fibras.

Por otro lado las hemicelulosas (β y γ -celulosa) mostraron ciertas variaciones en su composición como se puede apreciar en las fibras de la cáscara de *Jatropha* del T1: 21.10%, T2: 25.10 % y T3: 20.02 % indicando con esto una mayor acumulación de fibras de hemicelulosa si lo comparamos con el valor obtenido de 14.54 % de las fibras antes de DA y a su vez se presenta una concentración en el Testigo (17.60 %) debido a la acción del proceso de digestión anaerobia. Este proceso de acumulación de hemicelulosas también se presentó en las investigaciones realizadas por Dhanya *et al.*, 2009 con la cáscara de *Jatropha curcas* L obteniendo un porcentaje de acumulación de 18 a 20 %, lo cual coincide con los tratamientos T1 (21.10 %), T2 (25.10 %) y T3 (20.02 %).

Los extraíbles con la mezcla de solventes etanol-tolueno y los extraíbles con etanol presentaron reducciones significativas en su concentración debido a la digestión anaerobia. La concentración de extraíbles tolueno-etanol en las fibras antes de DA fue mayor presentando un 9.04 % en comparación con el 7.21 % del Testigo después de DA. Esta reducción en el porcentaje de los extraíbles con solventes tolueno-etanol nos indica que la acción del proceso de DA fue atacando ciertas grasas y resinas que forman parte de las fibras.

La acción del proceso de DA también se presentó en los T1 (4.73 %), T2 (3.11 %) y el T3 (5.67%) si los comparamos con las fibras de la cáscara de *Jatropha* antes de la DA, podemos decir que la actividad de las bacterias anaerobias posiblemente metabolizó algunas grasas y resinas de la cáscara, lo cual se ve reflejado en la disminución de las concentraciones en cada tratamiento.

Los extraíbles con solventes etanol reportaron poca disminución en la concentración de las fibras después del proceso de DA. Las fibras de la cáscara de *Jatropha* antes de la DA presentaron un 4.49 % en su concentración de extraíbles etanol. Dicho porcentaje tuvo una

disminución significativa en el Testigo (3.38 %), lo cual también se presentó en el T1 (3.09 %), T2 (2.15) y T3 (3.20 %). Esta disminución notable se debe a la actividad de la DA debido al estado físico de las fibras de la cáscara, comprobando con esto que la maceración o molienda de la cáscara tiene un efecto en las fibras permitiendo una mayor acción de las bacterias anaerobias (Dumas *et al.*, 2010, Raposo *et al.*, 2011) obteniendo como resultado una leve disminución de grasas y resinas.

Con respecto a los extraíbles con agua caliente, la digestión anaerobia los reduce de 10.01 % reportado para las fibras de la cáscara de *Jatropha* antes de la DA a 6.15 % correspondiente al Testigo, el cual nos marca esa diferencia debido a la actividad del proceso de DA sobre las fibras, lo cual nos permite inferir que algunos compuestos orgánicos como azúcares fueron degradados o asimilados por la actividad de las bacterias anaerobias. Los tratamientos 1 (5.01 %) y 2 (3.02 %) presentaron reducciones significativas comparadas con el testigo (6.15 %) debido al estado físico de la cáscara de *Jatropha* combinado con el proceso de DA. El tratamiento 2 obtuvo una mayor reducción (3.02 %) al compararlo con el tratamiento 1 (5.01 %) y el Testigo (6.15 %), debido a la mayor superficie de acción de las bacterias anaerobias sobre la cáscara molida en comparación con la cáscara entera y la cáscara en fragmentos, que presentan menor superficie de acción y contacto para las bacterias anaerobias (Dumas *et al.*, 2010 y Raposo *et al.*, 2011).

En base a los resultados obtenidos anteriormente podemos decir que el proceso de digestión anaerobia afecta la estructura y composición de las fibras de la cáscara de *Jatropha curcas* L. Además el estado físico de la cáscara facilita la actividad de las bacterias anaerobias como sucedió en el T1 (cáscara en fragmentos de *Jatropha*) y T2 (cáscara molida de *Jatropha*) presentando mayor reducción en las fibras y en los compuestos extraíbles, comprobando en esta experimentación que la combinación del proceso de DA y el estado físico de la cáscara de *Jatropha* permite una mayor degradación del sustrato.

Por lo cual podemos establecer que el Tratamiento 1 (cáscara entera) y 2 (cáscara molida) son los más adecuados para asimilar un mayor porcentaje de fibras y compuestos extraíbles como azúcares, grasas, lípidos, resinas, entre otros. El tratamiento 2 obtuvo el mayor porcentaje en reducción de fibras debido a la molienda de la cáscara lo cual permite un mayor contacto de las bacterias con las fibras, de acuerdo a lo mencionado por Dumas *et*

al., (2010) y Raposo *et al.*, (2011). También Teghammar *et al.*, 2012 y Zhang *et al.*, 2013 coinciden con los resultados obtenidos en el tratamiento 2 pues el tamaño de la partícula facilita el proceso de digestión anaerobia y la asimilación de un mayor contenido de fibras.

7.2 Implementación de un reactor anaerobio para la producción de biogás.

El ensayo experimental se basó exclusivamente en el montaje de los reactores anaerobios para evaluar la producción de gas metano (CH₄) mediante la degradación de la cáscara de *Jatropha curcas* L, utilizando lodos anaerobios activados como inóculo. De acuerdo con Guevara (2011), los lodos o inóculo presentan en promedio 0.11 gSSV/g de lodo.

Los criterios establecidos por Angelidaki *et al.*, (2009) para el establecimiento de los reactores anaerobios Batch fueron exitosos debido a la producción de biogás obtenida en los 5 reactores. Estos estudios nos permitieron conocer la importancia de algunas variables como el pH, la temperatura y la Demanda Química de Oxígeno soluble para el buen establecimiento de un ensayo anaerobio, logrando así obtener una degradación lenta del sustrato orgánico y la liberación de material recalcitrante como las fibras lignocelulósicas que son resistentes a la actividad de las bacterias durante la digestión anaerobia.

7.3 Medición del volumen de biogás producido y de la DQOs.

En la tabla 16 podemos observar la comparación antes y después del proceso de digestión anaerobia en fase líquida. En todos los casos podemos observar la ausencia de DQO soluble en la mayoría de los experimentos. Al final en todos podemos observar la presencia de una DQOs residual, proveniente de la hidrólisis solubilización de la cáscara de *Jatropha curcas* L. Esto nos demuestra claramente que todas las fases de la digestión anaerobia ocurrieron. La reducción del pH informa también la acidificación o la aparición de ácidos grasos volátiles (AGVS) producto de la transformación de los monómeros en ácidos.

Tabla 16. Análisis del licor mezclado de los Reactores Anaerobios Batch.

Reactor	Antes de la digestión anaerobia					Después de la digestión anaerobia (126)*				
	DQO s mg/l	SST mg/l	SSV mg/l	% materia orgánica	pH	DQO s mg/l	SST mg/l	SSV mg/l	% materia orgánica	pH
Testigo	116	55.38	33.40	60.39	7.00	571	22.50	22.43	99.5	5.77
Blanco	55	43.55	43.12	99.08	7.00	392	48.60	48.01	98.76	6.34
Tratamiento 1	226	75.31	74.97	99.46	7.03	347	50.63	50.01	98.81	7.77
Tratamiento 2	292	96.89	96.46	99.58	7.05	213	20.14	19.71	98	5.95
Tratamiento 3	111	13.37	13.33	100	7.10	206	79.24	78.55	99.11	7.72

*Indica el número de días

El tratamiento 1 (Figura 25) que corresponde a la experimentación utilizando como sustrato a la cáscara en fragmentos, presentó una hidrólisis acelerada debido a la adición de lodos y a las acciones mecánicas aplicadas a la cáscara. La producción de gas metano (CH_4) fue de 998 ml en un periodo de 126 días lo que representó una cinética máxima de producción de 73.5 mlCH_4/d o 16 $\text{mgDQO}/\text{L.h}$. Después de este periodo la producción se redujo bastante con una cinética del orden de 1.7 ml/d o 0.36 $\text{mgDQO}/\text{L.h}$., si comparamos esta producción al perfil de DQO soluble en la fase líquida, podemos observar una congruencia.

Efectivamente en los primeros 10 días, la tasa de solubilización de la materia orgánica esta elevada hasta alcanzar una concentración del orden de 970 mg/L . El hecho de fragmentar la cáscara, permite a los microorganismos acceder inmediatamente a la materia orgánica de la cáscara es decir a la celulosa (Dumas *et al.*, 2010; Cao *et al.*, 2010). La buena actividad de los microorganismos permite la hidrólisis, solubilización, acidificación y mineralización inmediata.

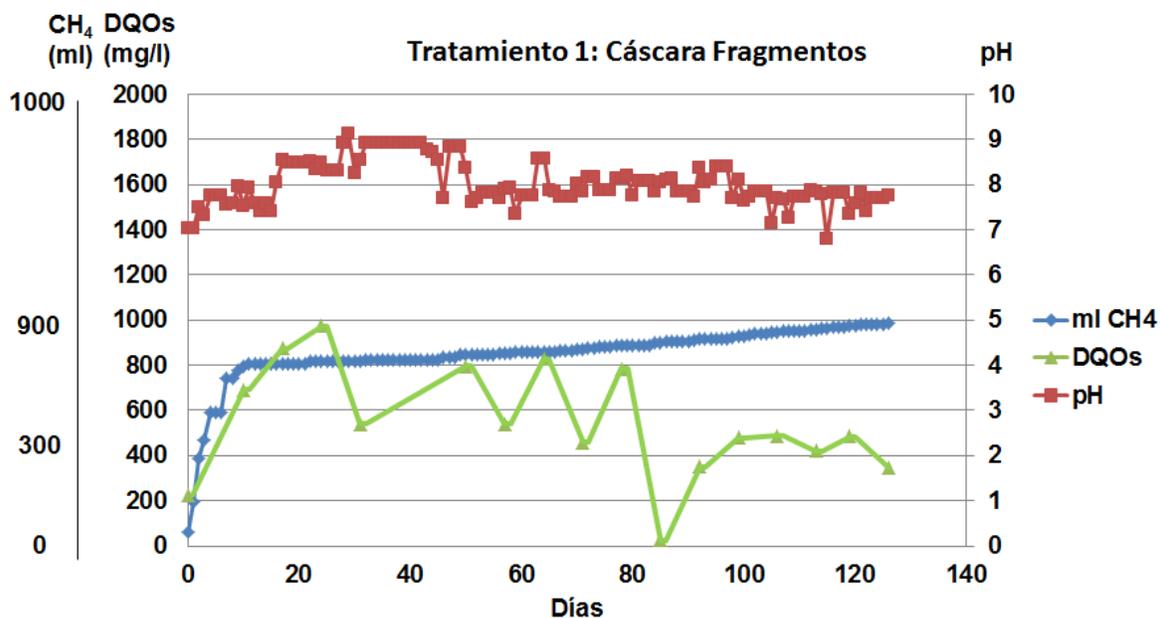


Figura 25. Evolución de la producción de metano (CH₄), pH y DQOs.

El perfil de la DQO soluble confirma el equilibrio entre la producción de DQO soluble por hidrólisis de la cáscara y la transformación de la DQO soluble en CH₄. En esta segunda parte podemos observar como este promedio de desaparición de la DQO soluble corresponde a la fase líquida, a una velocidad de 0.25 mgDQO/L.h. Este valor está bien relacionado a la cinética de producción de CH₄ de 0.36 mgDQO/L.h. observado en el mismo periodo. La tasa de producción diaria de CH₄ corresponde a 1.7 ml/d esto del mismo orden que la cinética de 2.27 mlCH₄/d observado en el experimento del testigo. Esta cinética parece corresponder a la tasa promedio de producción de CH₄ a partir de la fibra bruta. El perfil del pH aumentó en primer tiempo, confirmando la liberación de las proteínas de la cáscara de *Jatropha curcas* L., después el pH se regulariza a valores de 7.

En este ensayo comprobamos que la actividad de los lodos anaerobios es eficiente para inducir la degradación de residuos lignocelulósicos obteniendo como benéfico la producción de biogás, la cual se presentó inmediatamente durante el inicio de este ensayo. Además la acción mecánica aplicada a la cáscara fue exitosa pues con el cortado en fragmentos de la cáscara la superficie de acción para los microorganismos disminuyó originándose una mayor área de ataque facilitando la acción desintegradora de las bacterias, lo que coincide con los reportado por Dumas *et al.*, (2010) y Raposo *et al.*, (2011).

El tratamiento 2 corresponde al experimento alimentado por la cáscara molida al cual se aplicó otro tratamiento mecánico. Este pre-tratamiento consistió en la molienda de la cáscara con una licuadora Hamilton Beach. Se sometió al proceso de digestión anaerobia siendo utilizado con lodo anaerobio. En la figura 26 podemos observar la evolución de la producción de gas metano, la DQO soluble y el pH, en función del tiempo en días.

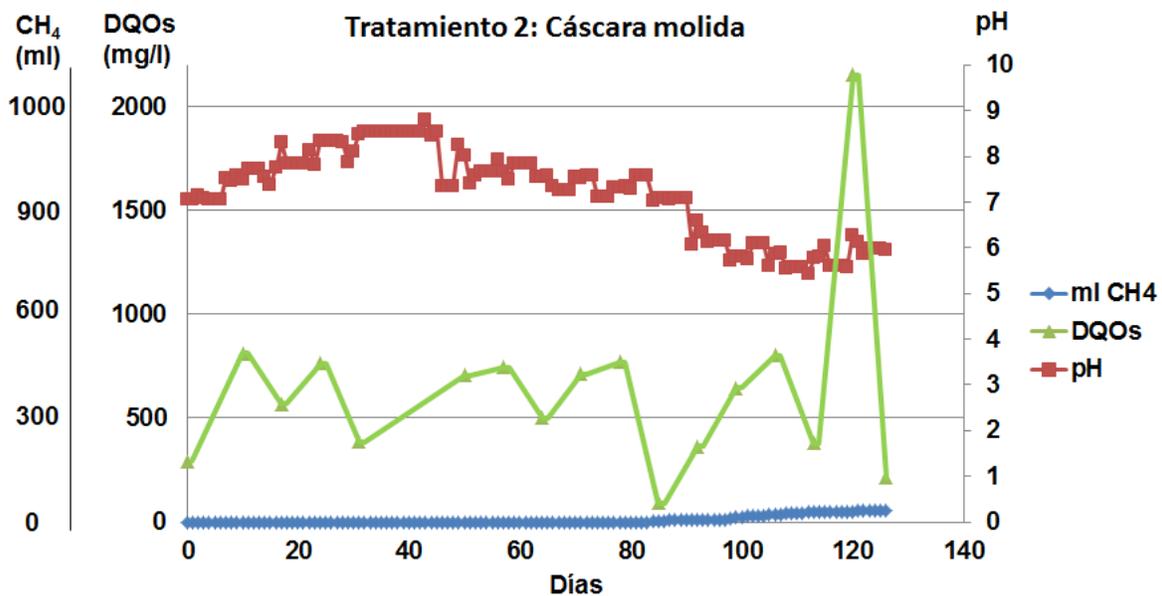


Figura 26. Evolución de la producción de metano en el tratamiento 2.

La evolución de la DQO soluble presentó una aparición rápida, hasta alcanzar una concentración del orden de 800 mg/L. Esta evolución es muy similar a la que se presentó a la cáscara molida, excepto que por una razón desconocida observamos una desaparición notoria de la DQO soluble exclusiva al día 80.

Por otro lado, la producción tardía y lenta de CH₄ nos hace suponer que hubo una fuga de biogás en el reactor. Sin embargo, hasta el día 80, podemos observar una producción promedio de CH₄ del orden de 1.6 ml/d, valor similar a la cinética observada en el experimento del testigo y tratamiento 1, cuando se hidrolizó y se metanizó la cáscara.

El pH en el tratamiento 2 (cáscara molida) inicia estable en una concentración de 7, después la acción de la actividad microbiana sobre la cáscara molida sube el pH hasta 9. El pH

alcalino permanece constante hasta el día 50 pues desciende nuevamente a 7. Este perfil es similar a los observados en los otros experimentos. En el día 100 el pH se torna ácido, esto nos indica que la producción de ácidos grasos volátiles está iniciando y después continuó con la producción de biogás. Estos aumentos de pH son originados por la baja hidrólisis de la celulosa según lo reportado por Fernández *et al.*, (2010) en sus ensayos del efecto de inhibición del proceso de hidrólisis en residuos lignocelulósicos.

De acuerdo a lo reportado por Swapnavahini *et al.*, (2010) en su estudio sobre la factibilidad de la digestión anaerobia del residuo de hojas de *Ocimum sanctum* se presentaron rangos de pH entre 7 y 8. Estos rangos son similares a los obtenidos en nuestro ensayo del tratamiento 2 (cáscara molida).

El rango de pH obtenido en el tratamiento 2 (cáscara molida) fue entre 6 y 8, lo cual coincide con el intervalo del pH de 6.0 - 8.3 necesario para que se lleve a cabo el proceso de la digestión anaerobia reportado por Swapnavahini *et al.*, (2010) en su estudio.

El tratamiento 3 corresponde a la manipulación cual sustrato es la cáscara entera combinada con inóculo y solución amortiguadora como en los tratamientos anteriores. En la figura 28 podemos observar como en la otra experimentación con cáscara, una aparición rápida de DQO soluble en la fase líquida a una concentración del orden de 800 mgDQO/L. Este valor disminuye progresivamente hasta el día 40. Después observamos una nueva liberación de DQO soluble que presenta alcanzar una concentración del orden de 1700 mg/L. Esta concentración disminuye paulatinamente a lo largo del tiempo.

Si observamos la producción de CH₄, tenemos que esperar hasta el día 40 para observar una producción cambiante hasta el final del experimento. La producción de gas metano se puede observar en la gráfica de la figura 27, obteniendo una producción de 800 ml de metano (CH₄). El tratamiento 3 (cáscara entera) presentó un proceso de hidrólisis influenciado por la actividad eficiente de los microorganismos anaerobios, dicha etapa duró 40 días manteniéndose constante. Sobre el periodo del experimento se alcanzó una producción de 798 ml de CH₄. La cinética promedio observada con la cáscara entera es 5 veces superior a la promedio observada tras la estabilización cuando se aplicó en pre tratamiento.

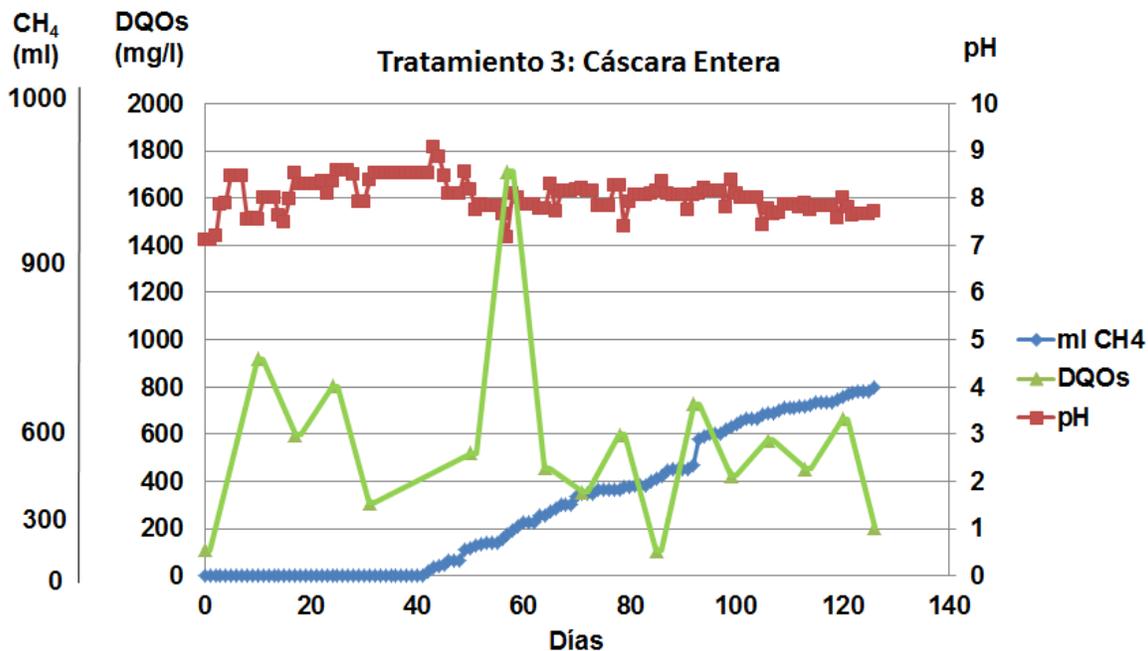


Figura 27. Evolución de la producción de metano (CH₄), pH y DQOs.

La evolución del pH es similar a las observadas anteriormente, con un leve aumento durante los primeros 40 días y una estabilización a 7 una vez que inició la producción de CH₄. Al comparar los resultados obtenidos con los diferentes modos de preparación de la cáscara, podemos observar una rápida aparición de DQO soluble en el medio, resultado de la acción de las bacterias hidrolíticas.

La evolución de los parámetros DQOs, ml de CH₄ y pH obtenido en el experimento con cáscara entera se pueden observar en la figura 28. Durante los 80 primeros días no hay producción de biogás y efectivamente en este reactor no se introdujo inóculo. Sin embargo en los 80 días, unos microorganismos se han desarrollado y han empezado a transformar la materia orgánica. Una fase de hidrólisis-Acidificación empezó durante este periodo de latencia, lo que medianamente sintetizó enzimas permitiendo el desglosamiento de moléculas complejas. Esta fase es reportada por estudios realizados en sustratos lignocelulósicos como el paso limitante en la digestión anaerobia (Fernández *et al.*, 2010).

Después de los 80 días de adaptación al sustrato las bacterias anaerobias iniciaron su producción de gas metano. Se observaron 2 periodos de producción, durante nueve días se observó una cinética de producción promedio de 12.6 ml CH₄/d, es decir la transformación

de 31.9 mgDQO/d o bien la conversión de 2.65 mgDQO/L.h de la fase líquida a la fase gas. Luego se tuvo un segundo periodo de cinética de producción, que se estabilizó a 2.27 mlCH₄/d, es decir 5.75 mgDQO/d o bien 0.48 mgDQO/L.h. La evolución de la Demanda Química de Oxígeno Soluble (DQOs) en la fase líquida se puede observar en la gráfica de la figura 28.

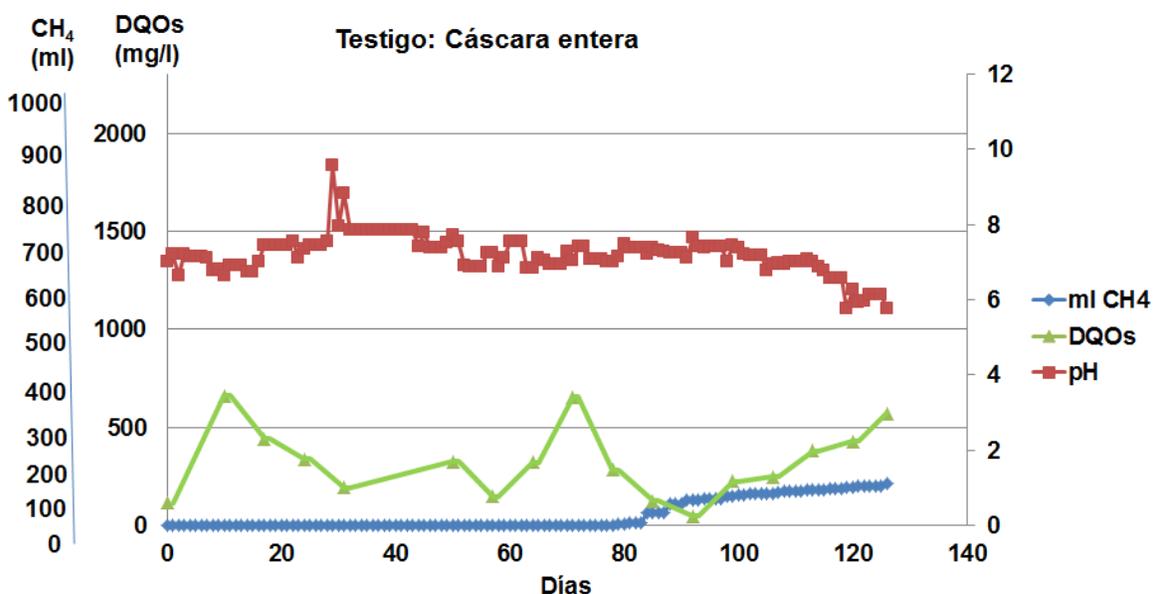


Figura 28. Evolución de la Digestión Anaerobia en la cáscara entera.

Rápidamente podemos observar una aparición de DQO soluble en la fase líquida. Este fenómeno es el producto de la hidrólisis solubilización natural, y permite el desarrollo de diversos microorganismos adaptados al desglosamiento de algunas moléculas complejas. La producción de CH₄ se observó únicamente a partir del día 80, por lo cual podemos imaginar que la DQO soluble liberada abundante corresponde a moléculas complejas.

Únicamente en el transcurso de los 80 días apareció ácido acético, el cual se transformó en CH₄. Además hasta el día 80, la tasa de producción de DQO soluble pasa a acelerarse. Este fenómeno deja pensar que un tiempo de producción más largo permitiría incrementar la tasa de producción de CH₄. Los 214 ml de CH₄ producido provienen de la transformación de 540 mg DQO en medio alcalino.

El perfil observado de la DQO corresponde al balance a la tasa de aparición de la DQO soluble, producto de la hidrólisis, solubilización y acidificación de la celulosa de la cáscara de *Jatropha* y su transformación en CH₄.

Los días 0 hasta 80 no hubo trabajo de bacterias metanogénicas sin embargo durante estos 80 días hubo un desarrollo de una flora de microorganismos de los cuales empezaron alimentarse a partir del día 10 de la DQO soluble liberada por la hidrólisis natural del día 30 al día 80. Estos microorganismos permitieron el desarrollo de un consorcio bacteriano, lo que permitió la aparición y la actividad de bacterias metanogénicas al día 80 asociado a una actividad hidrolítica que se observa claramente del día 90 hasta el día 130.

La gráfica de la figura 29 representa la evolución del pH en el transcurso de 126 días de experimentación. El pH inicia estable en una concentración de 7, la actividad microbiana sube el pH a 9 el día 29 y vuelve a recuperarse a una unidad de 7. Esta variación del pH invita a pensar que hay una actividad microbiana, por lo cual a partir del día 119 al 122 inicia un periodo de acidificación del medio asociada a la aparición de DQOs y de ácidos grasos volátiles (AGV'S), lo que confirma la observación de la DQO soluble y la producción de CH₄.

El blanco corresponde a un experimento sin cáscara, al cual se introdujo inóculo de lodos anaerobios. En la gráfica de la figura 29 podemos observar la evolución de la DQO soluble, el CH₄ y el pH. En el blanco el cual no contiene cáscara durante los 40 primeros días podemos observar la aparición de DQO soluble a una concentración promedio de 800 mg/L. Esta DQO no proviene de la *Jatropha*, por lo cual su origen proviene de la lisis celular de las bacterias (Guo y Xu, 2011). Este fenómeno se confirmó con el aumento del pH a valor de 8 correspondiente a la lisis bacteriana y a la liberación de proteína al medio. Durante este periodo no se observó producción de metano. Tras este periodo la hidrólisis-solubilización natural se puede observar una transformación de la materia orgánica por las bacterias aún existentes. Este fenómeno se acompañó de una reducción progresiva de la DQO soluble, como producción de CH₄ y una reducción de pH.

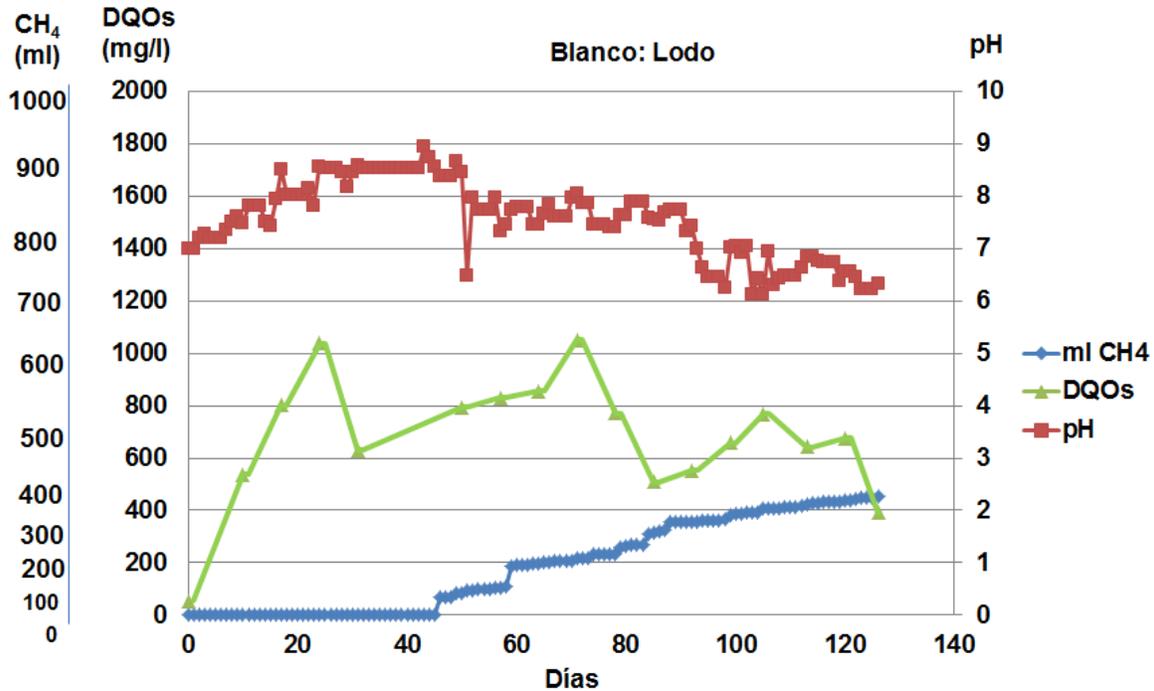


Figura 29. Evolución de la producción de metano (CH₄), pH y DQOs en el blanco.

En la gráfica de la figura 30 podemos observar la producción total de gas metano (CH₄), obtenida en los tres tratamientos, el testigo y el blanco. El tratamiento 1 (cáscara fragmentos) obtuvo la mayor producción de CH₄ (988 ml) en comparación con los dos tratamientos restantes: tratamiento 2 (cáscara molida) y tratamiento 3 (cáscara entera). El tratamiento 3 reportó 798 ml de CH₄, menor que el tratamiento 1 y mayor producción que el tratamiento 2, el cual solo reporta 56 ml de CH₄ deduciendo que el valor bajo en producción de gas metano fue debido a una fuga de gas.

La producción obtenida de gas CH₄ en el testigo (214 ml) y el blanco (452) en un periodo de 126 días nos permite deducir que la bacterias como primer paso se adaptan a las variables del medio circundante y después de 80 días inician su actividad metanogénica. Este fenómeno similar ocurre con el inóculo (lodos activados) contenido en el blanco, en el cual el complejo bacteriano inició su proceso metanogénico a partir del día 40 debido a la lisis celular del complejo bacteriano reflejándose en una producción de gas metano.

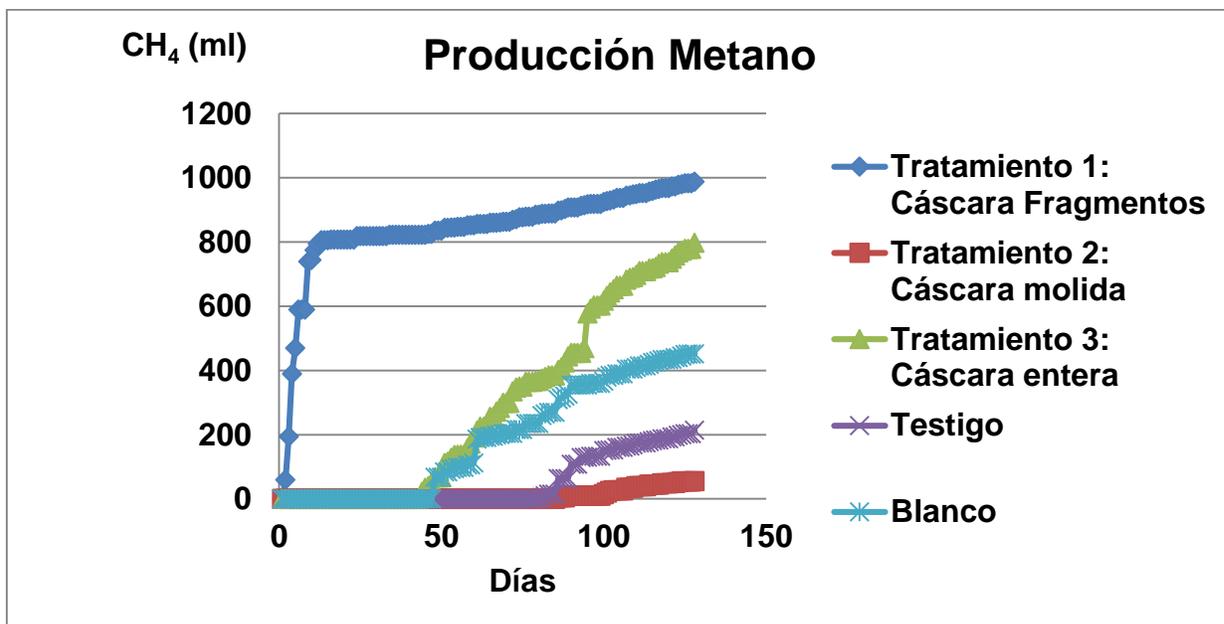


Figura 30. Evolución de la producción de metano (CH₄) en los cinco reactores.

En base a las fibras removidas de α -celulosa por acción de la digestión anaerobia podemos obtener un valor aproximado de la cantidad de CH₄ teórico (ver Tabla 17), que se puede obtener siempre y cuando las condiciones del medio (variables) dentro del reactor anaerobio permitan el desarrollo de las cuatro etapas de la digestión anaerobia: Hidrólisis, Acidogenesis, Acetogenesis y Metanogenesis.

Tabla 17. Potencial metanogénico de las fibras lignocelulosicas removidas.

Parámetro (%)	Tratamiento 1 (Cáscara fragmentada)	Tratamiento 2 (Cáscara molida)	Tratamiento 3 (Cáscara entera)	Testigo (Cáscara entera)
*AD α -celulosa	50.74	50.74	50.74	50.74
*DDA α -celulosa	15.08	13.11	14.75	16.12
ml CH ₄ / g celulosa removida	281	296	283	272

*Antes de Digestión Anaerobia (AD)

*Después de Digestión Anaerobia (DDA)

8. Conclusiones

La caracterización de la biomasa residual del fruto de *Jatropha curcas* L. demostró que la cáscara está compuesta en su mayor parte por fibras lignocelulósicas y posee un bajo porcentaje de nutrientes y moléculas solubles.

Los procedimientos utilizados para el ensamblaje de los reactores anaerobios Batch fueron los adecuados, dado a que en los cinco casos se presentó una producción de gas metano. Esta producción de CH₄ nos permite confirmar que el montaje experimental fue exitoso, tomando en cuenta los criterios establecidos por los programas de tratamiento de aguas residuales así como los estudios actuales sobre degradación de fibras lignocelulósicas (APHA AWWA, 1999), Angelidaki *et al.*, (2009) y Dumas *et al.*, (2010).

La trituración y la molienda permitieron mejorar la acción de las bacterias acidogénicas y metanogénicas sobre la fibra, obteniendo un desempeño eficiente en el desdoblamiento del material lignocelulósico. Sin embargo, la acción de la digestión anaerobia sobre la cáscara de *Jatropha curcas* L. permitió la producción de biogás. La cinética promedio de producción del CH₄ sin tratamiento previo se presenta en dos periodos del orden de 0.48 – 2.65 mgDQOCH₄/L.d. La implementación de un pre tratamiento mecánico permite incrementar este valor durante un periodo hasta 73.5 mlCH₄/d o 16 mgDQO/L.h.

No obstante, si bien el pre-tratamiento mecánico permite un incremento temporalmente de cinética, después de un periodo de estabilización, la cinética promedio de producción del CH₄ se reduce.

La digestión anaerobia permite una acción concreta sobre la fibra permitiendo la hidrolisis-solubilización de la materia orgánica. El pre-tratamiento permite aumentar el acceso a las fibras de manera puntual pero no ofrece una real desnaturalización de las fibras.

9. Recomendaciones

- Realizar estudios sobre pre-tratamiento ácido y alcalino en la cáscara de *Jatropha curcas* L. para obtener una mayor degradación de las fibras, para una producción de biogás.
- Investigar más alternativas para la reutilización de la cáscara de *Jatropha curcas* L. con la finalidad de reincorporar los nutrientes obtenidos a los ciclos biogeoquímicos manteniendo así un equilibrio en el ambiente donde se encuentren las plantaciones.
- Elaborar estudios de co-digestión sobre la cáscara de *Jatropha curcas* L. con otros sustratos e inóculos para establecer el potencial máximo de biodegradación y de actividad metanogénica.
- Profundizar en estudios sobre la eficiencia del sustrato (cáscara seca de *Jatropha*) abarcando aspectos económicos y de rendimiento.

Bibliografía

- Amon, Th., Amon B., Kryvoruchko V., Bodiroza V., Pötsch E., Zollitsch W. (2006). Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure: Effects of dairy systems and of glycerine supplementation. ELSEVIER. International Congress Series 1293, 217-220.
- Angelidaki, I., Alves M., Bolzonella D., Borzacconi L., Campos J.L., Guwy A.J., Kalyuzhnyi S., Jenicek P., y Jenicek P. y Van Lier J. B. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. Water Science & Technology –WST 59.5, 927-934.
- APHA. (1998). Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. 20th edition. American Public Health Association. U.S.A.
- Andrew, D., Lenore, S. (1995). Standard Methods for the examination of water and waste water 19th edition. American Public Health Association. U.S.A.
- Blanco, Á., J., y Linarte Lizano R. (1978). Diseño de reactores químicos. Editorial Trillas. México, D.F.
- Barnett, A., Pyle L., Subramanian S. K. (1978). Biogas Tecnology in the Third World: A Multidisciplinary Rewiew. International Development Research Centre. Ottawa, Ont. IDRC. 132 p.
- Braun, R., Weiland P., y Wellinger A. (2009). Biogas from Energy Crop Digestion. IEA Bioenergy.
- Buenrostro, O., Cram S., Bernache G., y Bocco G. (2000). La Digestión anaerobia como alternativa de tratamiento a los residuos sólidos orgánicos generados en los mercados municipales. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 16 (001), 19-26.
- Caballero-Arzápalo, N., Gamboa-Loira C., y Meyer-Pittroff R. (2010). Biogas-Organic Load Relationship Model for Predicting the Anaerobic Digestion of Papaya Waste (*Carica papaya*) Influenced by Bacillus species and Rumen. In: 12th World Congress on anaerobic Digestion, October 31st- November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- Camps, M., M., y Marcos M., F. (2002). Los Biocombustibles. Colección: Energías Renovables. Ediciones Mundi-Prensa. España, Madrid.

- Cao, G.L., Ren N.Q., Wang A.J., Hang K.Z., Xu C.J. Liu L. H. (2010). Enhanced cellulosic hydrogen production from lime-treated cornstalk wastes by mixed anaerobic cultures. In: 12th World Congress on anaerobic Digestion, October 31st- November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- Casas, P., M., A., Rivas L., B., A., Soto Z., M., Segovia L., A., Morales M., Armando H., Cuevas G., Isela M. y Keissling D., M., C. (2009). Estudio de Factibilidad para la puesta en marcha de los digestores anaeróbicos en establos lecheros en la cuenca de Delicias, Chihuahua. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 18 (24), 745 – 756.
- Castro, I., Quintero M., Velásquez A., Ortiz C., Guzmán C., y Escalante H. (2010). Influence of Particle Size and Temperature on Methane production from Figue's Bagasse. In: 12th World Congress on anaerobic Digestion, October 31st- November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- Cifuentes-Jara, M., y Fallot A. (2010). *Jatropha curcas* como biocombustible: Estado actual del cultivo en Mesoamérica. *Recursos Naturales y Ambiente*, 56-57, 166-171.
- Chaparro, T., R., y Pires E., C. (2010). Removal of removal organic matter and genotoxic effects in a foxed-bed anaerobic reactor treating bleach effluents from kraft pulp plant. In: 12th World Congress on anaerobic Digestion, October 31st- November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- Chen, Y., Cheng J., J., y Creamer K., S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Science Direct, Bioresource Technology* 99, 4044-4064.
- Contreras. L.M., López L., y Romero O. (2006). Producción de biogás con fines energéticos. De lo histórico a lo estratégico. *Revista Futuros* 6, (16).
- Cysnerios, D., Thuillier A., Villemont R., Littlestone A, Mahony T, y Flaherty O. (2010). Temperature effects on the trophic stages of perennial rye grass anaerobic digestion. In: 12th World Congress on anaerobic Digestion, October 31st- November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- Cuadros, B., F., Roldan R., M., J., González G., A., Rubiales B., F., Ruiz C., A., Vizcaino G., A., y López R., F. (2011). Primeros resultados de la Digestión Anaerobia de Tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). In: 15 Congreso Internacional de Ingeniería de Proyectos Huesca, 6-8 de Julio, Extremadura, España, 1774-1781.

- Danoso-Bravo, A., Carballa M., Ruiz-Filippi G., Chamy R. (2009). Treatment of low strength sewage with high suspended organic matter content in an anaerobic sequencing batch reactor and modeling application. *Electronic Journal of Biotechnology*, 12 (3),1-10.
- Dhanya, M.S., Gupta N., Joshi H.C. and Lata. (2009). Biogas Potentiality of Agro-wastes *Jatropha* fruit Coat. In: *Proceedings of International Conference on Energy and Environment*, March 19-21.
- De la Vega, L., J., A. (2008). *Jatropha curcas* L y la Agro-Energía. Consultor Independiente, México. Agro-Proyectos y Agro-Energía.
- Del Real Olvera, J. (2007). Evaluación y modelado de la cinética de depuración anaerobia de vinazas de la industria alcoholera. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, México, D.F.130 p.
- De la Rubia, M.A., Fernández- Cegrí V., Raposo F., y Borja R. (2011). Influence of particle size and chemical composition on the performance and kinetics of anaerobic digestion process of sunflower oil cake in batch mode. *Biochemical Engineering Journal* 58-59, 162-167.
- Deublein, D. and Steinhauser A. (2008). *Biogas from Waste and Renewable Resources. An Introduction.*Wiley-VCH.Federal Republic of Germany. 443 p.
- Drigo, R., Campanero N., Rodríguez F., Broto M., y Larrañaga M., M. (2009). Evaluación de recursos leñosos para usos energéticos: *Wisdom* Castilla y León. Informe Final. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) Departamento Forestal-Dendroenergía. España.
- Dumas, C., Ghizzi D., da S., G., Rouau X., Carrère H., Steyer J-P. (2010). Wheat Straw milling effect on biogas production. In: *12th World Congress on anaerobic Digestion*, October 31st- November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- FAO. (2008^a). *El Estado Mundial de la Agricultura y la Alimentación. Biocombustibles, Perspectivas, Riesgos y Oportunidades*, Organización de las Naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Roma. Italia.
- FAO. (2008^b). *Conferencia de Alto Nivel sobre La Seguridad Alimentaria Mundial: Los desafíos del Cambio Climático y la Bioenergía. Bioenergía, Seguridad y Sostenibilidad Alimentaria: Hacia el Establecimiento de un Marco Internacional.*

- Organización de las naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.
- FAO. (2011). Oferta y demanda de energía: tendencias y perspectivas. Disponible en: <ftp://ftp.faso.org/docrep/fao/010/i0139s/i0139s03.pdf>
- Fernández, B., M., Rodríguez P., S. y Terry B., A. (2008). Principios para el Diseño y Aplicación de Reactores Anaerobios en el Tratamiento de Aguas Residuales Industriales. *Tecnología Química*, 28 (1), 65-69.
- Fernández, T.V., Zeeman G. y Van Lier J.B. (2010). Inhibition of hydrolysis of lignocellulosic waste; the role of ammonia, humic acids and fulvic acids. In: 12th World Congress on anaerobic Digestion, October 31st- November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- Ficara, E., y Malpei F. (2010). Maize mono-digestion efficiency: results from laboratory tests. In: 12th World Congress on anaerobic Digestion, October 31st- November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- Franco, L.J. (1998). Manual de Ecología. Ed. Trillas. Quinta reimpresión. México, D.F.
- Gavala, H., N., Irini A., y Ahring K. B. (2003). Kinetics and Modeling of anaerobic Digestion Process. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology* 81, 57-93.
- Gallardo, O., A., I. (2002). Digestión Anaerobia y Fitorremediación con *Spirodela polyrrhiza* de aguas residuales de beneficios de café. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana. Facultad de Ingeniería Química. Xalapa, Ver. México. 105 p.
- González, Á., E. y Longoria R., R. (2005). Variación del pH durante los procesos anaerobios de emisión de metano por el secado y la fermentación de excretas de ganado bovino en el centro de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 21 (004), 159-170.
- González, Á., M., E. (2009). Producción de bioenergía en el norte de México: Tan lejos y tan cerca...Nota Crítica. *Frontera Norte*, 21, (41), 177-183.
- Guo, J.,-S., y Xu Y.,-F. (2011). Review of Enzymatic Sludge Hydrolysis. *Bioremediation & Biodegradation*, 2 (5), 1-7.

- Guevara, L., M., R. (2011). Biodegradabilidad anaerobia del efluente de una destilería. Tesis de Ingeniería Química. Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas. Orizaba, ver. México. 65 p.
- Hernández, Á., F. (2002). Perspectivas de las energías renovables. En Los Biocombustibles. Colección energías renovables (Camps M. M. y Marcos M., F., eds.). Mundi-Prensa. España, Madrid.
- Hoexter, M. (2007). The Renewable Electron Economy. Part IX: What is Renewable Energy Anyway?. Green Thoughts: Sustainability, Renewable Energy, Energy Efficiency: Policy and Marketing.
- Instituto para la Diversificación y Ahorro de Energía (IDAE). 2007. Biomasa: Digestores anaerobios. Energías Renovables. Energía de la biomasa. BESEL, S.A. (Departamento de Energía). Madrid, España. 48 p.
- INEGI. 2007^a. Carta Geológica 1:250 000 Veracruz E 14-3.
- INEGI.2007^b. Carta Uso de suelo y Vegetación 1:250 000 Veracruz E 14-3.
- INEGI.2007^c. Carta Hidrológica de aguas superficiales 1:250 000 Veracruz E 14-3.
- Izumi K., Okishio Y., Nagao N., Niwa C., Yamamoto S., Toda T. (2010). Effects of particle size on anaerobic digestion of food waste. International Biodeterioration & Biodegradation 64, 601-608.
- Jones, N. (2009). Biodigestores. Organik: Ecología en Acción. (Base de datos). http://www.organi-k.org.mx/nsp/viewpage.php?page_id=9
- Jongschaap, R. E., E., Corré W.,J., Bindraban P.,S., and Brondenburg W., A., (2007). Claims and Facts on *Jatropha curcas* L. Repor 158. Plant Research international Wageningenur, 1- 66.
- Kawahara, K., Yakabe Y., Ohide T., Kida K. (1999). Evaluation of laboratory-made sludge for an anaerobic biodegradability test and its use for assessment of 13 chemicals. Chemosphere 39 (12), 2001-2018.
- Kamachi, K., Tsukamoto Y., Onuma G., y Murakami M. (2010). Methane fermentation of Coffe and Tea waste with excess activated sludge. In: 12th World Congress on anaerobic Digestion, October 31st- November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- Kleerebezem, R., y Herve M. (2003). Treating Industrial Wastewater: Anaerobic Digestion Comes of Age. Chemical Engineering. www.CHE.COM

- Larrinaga, R., A. (2001). Factibilidad de la Hidrólisis-solubilización de la pulpa de café en ácidos grasos volátiles en un reactor anaerobio de acidogénesis. Tesis profesional de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. División de Estudios de Posgrado e Investigación. Orizaba, Ver, México. 82 p.
- Last, S. 2009. Biogas and Biomethane Gains Wider Acceptance. <http://ezinearticles.com/?Biogas-and-Biomethane-GainsWiderAcceptance&id=2200145>
- Lin, J; Zuo J., Gan L., Li P., Liu F., Wang K., Chen L., Gan H. (2010). Effects of Mixture Ratio on Anaerobic co-digestion with fruit and vegetable waste (FVW) and Food Waste (FW). In: 12th World Congress on anaerobic Digestion, October 31st-November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- López, O., Foidl G., Foidl N. 2008. Proyecto Biomasa. Universidad Nacional de Ingeniería, Departamento de Biomasa, Managua, Nicaragua. Sucher & Holzer, Austria. 51 p.
- Mantilla, G., M., J., Duque D., A., C. y Galeano U., C. (2007). Diseño y estudio económico preliminar de una planta productora de biogás utilizando residuos orgánicos de ganado vacuno. Ingeniería e Investigación, 27 (003), 133-142.
- Matthews, C. (2006). La FAO apuesta por el paso a la bioenergía. FAO: Sala de Prensa. <http://www.fao.org/newsroom/es/news/2006/1000282/index.html>
- Martínez, P., C. (2002). Desarrollo de una prueba de biodegradabilidad anaerobia utilizando un prototipo automatizado. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. División de Estudios de Posgrado e investigación. Orizaba, Ver. México, 1-90.
- Masera, C., O. (2006). La Bioenergía en México. Un catalizador del Desarrollo Sustentable. CONAFOR. Grupo Mundi-Prensa. Asociación Nacional de Energía Solar. Red Mexicana de Bioenergía. México, D.F., 119 p.
- Magaña, R., J. L., Torres R. E., Martínez G. M., T., Sandoval J. C., y Hernández C., R. (2006). Producción de Biogás a nivel laboratorio utilizando estiércol de cabras. Acta Universitaria, 16 (002), 27-37.
- Makkar, H.P., S., y Becker K. (1998). Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* L. for Chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. Food Chemistry, 62 (2), 207-215.

- Norma Oficial Mexicana NMX-AA-036-SCFI-2001. Análisis de agua- Determinación de Acidez y Alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-Método de prueba. www.semarnat.gob.mx
- Norma Oficial Mexicana NMX-AA-030-SCFI-2001. Análisis de Agua-Determinación de la demanda Química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas-Método de prueba. www.semarnat.gob.mx
- Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1998. Diario oficial de la Federación. Enero 06. 1997. México. D.F. www.semarnat.gob.mx
- Northoff, E. (2008). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Informe anual sobre las oportunidades y riesgos de los biocombustibles y cultivos energéticos. (Base de Datos) <http://www.fao.org/newsroom/es/news/2008/1000928/>
- Novarino, D., y Zanetti M., C. (2008). Anaerobic digestion of the MSW organic fraction. Proceedings Venice. In: Second International Symposium on Energy from Biomass and Waste, 17-20 November, Venice, Italy, 1-8.
- Posso, F. (2002). Energía y Ambiente: Pasado, Presente y Futuro. Parte Dos: Futuro. Parte Dos: Sistema Energético basado en energías alternativas. Geoenseñanza, Universidad de los Andes, 7 (1-2), 53-73.
- Raheman, H., y Mondal, S. (2012). Biogas production potential of *Jatropha* seed cake. Biomass and bioenergy 32, 25-30.
- Raposo, F., De la Rubia M.A., Fernández-Cegrí V., Borja, R. (2011). Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. Renewable and Sustainable Energy Reviews 16, 861-877.
- REDPA. (2009). Situación de la *Jatropha* y Perspectivas. Consejo Agropecuario del sur (CAS), Red de coordinación de políticas agropecuarias (REDPA) y Grupo de trabajo sobre políticas públicas en agro energía (GT&). América del Sur, 1-28.
- Ruiz, C., M., C. (2002). Aplicación de Digestores Anaerobios Discontinuos en el tratamiento de Aguas residuales Industriales. Tesis Doctoral. Escuela Universitaria Politécnica. Sevilla, España.
- Rucoba, G., A., Munguía G., A., y Sarmiento F., F. (2013). Entre la *Jatropha* y la pobreza: reflexiones sobre la producción de agrocombustibles en tierras de temporal en

- Yucatán. Instituto Tecnológico de Mérida. Departamento de publicaciones, 21 (41), 115-141.
- Swapnavahini, K., Srinivas T., Lokesh P., Shanthi M., and Lakshmi T. (2010). Feasibility study of Anaerobic Digestion of *Ocimum sanctum* leaf wastes generated from *Sanctum sanctorum*. *Bioresources*, 5 (1), 389-396.
- Sawyer, C., N., Perry L., M., y Parkin G., F. (2000). *Química para Ingeniera Ambiental*. 4ta edición. McGrawHill.
- Sociedad de Explotación de Aguas Residuales (SEAR). (1991). *Microscopía de la depuración Biológica*. S.A. EDITA: W Sociedad de Explotación de Aguas Residuales, S.A. 93 p.
- Sánchez-Sánchez, O. (2009). El piñón o piñoncillo *Jatropha curcas* L. Una planta muy importante que todos debemos cuidar. En: *La Xuta se come*. Patrimonio del Totonacapan (Gómez-Pompa et al. Eds). Universidad Veracruzana (UV)-Proyecto Diversificación Productiva en Cafetales de Baja Altitud. DIPROCAFE. Xalapa, Veracruz, México, 1-71.
- Sezun M., Zupancie G. D., Marinsek Logar R. and Grile V. 2010. Anaerobic Digestion of Brewery spent Grain: Inhibition by Phenolic Degradation Products. In: 12th World Congress on anaerobic Digestion, October 31st- November 4th, Jalisco, Guadalajara, Mexico, 1-7.
- Sinbuathong, N; Munakata-Marr J., Sillapacharoenkul B., and Chulalaksananukul S. (2011). Effect of the solid content on biogas production from *Jatropha curcas* seed cake. In: *Proceeding of the Global Conference on Global Warming*, 11-14 July, Lisbon, Portugal, 1-7.
- Sims, H., R., Hastings A., S., Taylors G., and Smith P. (2006). Energy crops: current status and future prospects. *Global Change Biology*. Journal compilation. Blackwell Publishing 12, 2054-2076.
- Singh, R.,N., Vyas D., K., Srivastava N., S., L., and Madhuri N. (2008). SPRERI experience on holistic approach to utilize all parts of *Jatropha curcas* L. fruit for energy. *Renewable Energy*.33: 1867-1873.
- Small, A. (2008). La producción de biocombustibles a gran escala puede aumentar la marginación de las mujeres. Organización de las Naciones Unidas para la

- Alimentación y la Agricultura (FAO). (Base de Datos)
<http://www.fao.org/newsroom/es/news/2008/1000830/index.html>
- Smith, J.M. (1991). Ingeniería de la Cinética Química. Editorial CECSA. 775 p.
- Schmook, B., y Sánchez-Sánchez O. (2000). Usos y potencial de *Jatropha curcas* L en la península de Yucatán, México. Foresta Veracruzana, 2 (2), 7-11.
- Shilpkar, P., Gopal R., Shah M., y Deepti S. (2009). Potencial de Biometanación de *Jatropha curcas* L. con una combinación de excremento de búfalo. African Journal of Agricultural Research, 4 (10), 991-995.
- Solórzano, O., G. (2003). Aportación de gases de efecto invernadero por el manejo de residuos sólidos en México: El caso del Metano. Instituto Nacional de Ecología. Gaceta Ecológica 66, 7-15.
- Staubmann, R., Foidl G., Foidl N., Gübitz G.M., Lafferty R. M., Valencia A.V. and Steiner W. (1997). Biogas Production from *Jatropha curcas* Press-Cake. Applied Biochemistry and Biotechnology. Humana Press Inc., 63 – 65, 457-467.
- Soria, F., M., de J., Ferrera C., R., Etchevers B., J., Alcántar G., G., Trinidad S., J., Borges G., L., y Pereyda P., G. (2001). Producción de Biofertilizantes mediante biodigestión de excreta líquida de cerdo. TERRA Latinoamericana, 19 (004), 353-362.
- Sotolongo, P., J., A., Díaz G., A., A., y Montes de Oca L., S. (2007). Potencialidades energéticas y medioambientales del árbol *Jatropha curcas* L. en las condiciones edafoclimáticas de la región semiárida de la provincia de Guantánamo. Tecnología Química, 27 (2), 76 - 82.
- TAPPI (2010), Technical Association of the Pulp and Paper Industries, TAPPI Test Methods 2010-2011 Atlanta, Georgia, USA.
- Teghammar, A., Chandra R., Saddler J., N., Taherzadeh, and Sárvári H., Ilona. (2012). Substrate characteristic analysis for anaerobic digestion a study on rice and triticale straw. Bioresources.com 7(3), 3921-3934.
- Toral, O., C., Iglesia J.M., Montes de Oca S., Sotolongo J.A., García S., y Torsti M. (2008). *Jatropha curcas* L., una especie arbórea con potencial energético en Cuba. Pastos y Forrajes, 31 (3), 191 - 207.

- Torres, L., P., y Pérez A. (2010). Actividad Metanogénica específica: Una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente*, (9), 5-14.
- United Nation Statistics Division. (2012). Concepts and Methods in Energy Statistics with Special Reference to Energy Accounts and Balances. A Technical. Report Series: F, No. 29.
- Vázquez, G., A. y Beltrán H., R., I. (2004). Pruebas normalizadas para la evaluación de la biodegradabilidad de sustancias químicas: Una revisión. *Interciencia*, 29 (010), 568-573.
- Vereda, A., C., Gómez L., C., García H., F. y Rodríguez M., J.M. (2006). Producción de biogás a partir de residuos vegetales (I). Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Málaga, 432, 114-122.
- Velmurugan, B., and Ramanujan A., R. (2011). Anaerobic Digestion of Vegetable Wastes for Biogas production in a Fed-Batch Reactor. *Int.J.Emerg.Sci.*, 1(3), 478-486.
- Yamamura, M., Akashi k., Yokota A., Hattori T., Suzuki S., Shibata D., and Umezawa T. (2012). Characterization of *Jatropha curcas* lignins. *Plant Biotechnology* 29, 179-183.
- Zhang, Y., and Banks C.J. (2013). Impact of different particle size distributions on anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste. *Waste Management*. 33 (2): 297-307.

