



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral
Regional, Unidad Oaxaca**

CIIDIR-OAXACA

**"Evaluación de biodigestores para la obtención de biogás
y biofertilizante a partir de las vinazas del mezcal"**

T E S I S

Que para obtener el grado académico de:

Doctor en Ciencias en Conservación

y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Presenta:

M. en C. Edwin Alfonso Zelaya Benavidez

Directores de tesis:

Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez

Dr. Isidro Morales García

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México, 2022



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Ciudad de México, 06 de junio del 2022

El Colegio de Profesores de Posgrado de **CIIDIR UNIDAD OAXACA** en su Sesión
(Unidad Académica)

Ordinaria No. CP03-2022 celebrada el 09 de Marzo del 2022, conoció la solicitud presentada por el (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	Zelaya	Apellido Materno:	Benavidez	Nombre (s):	Edwin Alfonso
-------------------	--------	-------------------	-----------	-------------	---------------

Número de registro: B 1 8 0 1 0 9

del Programa Académico de Posgrado: <<Doctorado en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales>>

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

Evaluación de biodigestores para la obtención de biogás y biofertilizante a partir de las vinazas del mezcal

Objetivo general del trabajo de tesis:

Evaluar el funcionamiento de biodigestores para la obtención de biogás y biofertilizante a partir de las vinazas del mezcal

2.- Se designa como Directores de Tesis a los profesores:

Director: Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez 2° Director: Dr. Isidro Morales García
No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

El Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR IPN Unidad Oaxaca)

Que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Director(a) de Tesis

Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez
Aspirante

Zelaya Benavidez Edwin Alfonso

2° Director de Tesis (en su caso)

Dr. Isidro Morales García
Presidente del Colegio

Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD OAXACA



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14
 REP 2017

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca siendo las 12:00 horas del día 20 del mes de junio del 2022 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de: CIIDIR UNIDAD OAXACA para examinar la tesis titulada:

Evaluación de biodigestores para la obtención de biogás y biofertilizante a partir de las vinazas del mezcal del alumno:

Apellido Paterno:	Zelaya	Apellido Materno:	Benavidez	Nombre (s):	Edwin Alfonso
-------------------	--------	-------------------	-----------	-------------	---------------

Número de registro: B 1 8 0 1 0 9

Aspirante del Programa Académico de Posgrado: Doctorado en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene 13 % de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo SI NO **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN: *(Por ejemplo, el % de similitud se localiza en metadatos adecuadamente referidos a fuente original)*

La similitud detectada por el software Turnitin se debe al uso común de palabras en revisión de literatura, materiales y metodología utilizada y referidas adecuadamente en los diferentes capítulos de la tesis.

****Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente, y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR** **SUSPENDER** **NO APROBAR** la tesis por **UNANIMIDAD** o **MAYORÍA** en virtud de los motivos siguientes:

La escritura de la tesis está completa, cuenta con 6 capítulos, de los cuales dos fueron publicados como artículos científicos, otro artículo en proceso de revisión por los autores y los otros capítulos forman parte de la introducción, revisión de literatura y conclusiones, que cumplen con la información suficiente y fundamentada para presentarse como una tesis de Doctorado.

COMISIÓN REVISORA DE TESIS

Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez
 Director de Tesis

Dr. Celeste Rocío Pérez
 Nombre y firma de Sinodal

Dr. Miguel Chávez Gutiérrez
 Nombre y firma de Sinodal

Dr. Isidro Morales García
 2º Director de Tesis

Dr. Cirilo Efraim de la Cruz
 Nombre y firma de Sinodal

Dr. Silvano Isidro Belmonte Jiménez
 Nombre completo y sinodal
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



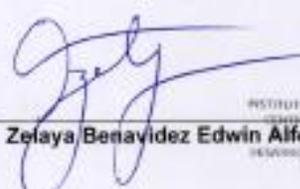


INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN

En la Ciudad de México el día 22 del mes de junio del año 2022, el que suscribe **Zelaya Benavidez Edwin Alfonso** alumno del programa **Doctorado en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales** con número de registro **B180109**, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección del **Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez** y el **Dr. Isidro Morales García** y cede los derechos del trabajo intitulado **"Evaluación de biodigestores para la obtención de biogás y biofertilizante a partir de las vinazas del mezcal"**, al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expresado del autor y/o directores. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección de correo: edwinzelayab@gmail.com. Si el permiso se otorga, al usuario deberá dar agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
Zelaya Benavidez Edwin Alfonso UNIDAD PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD OAXACA

Agradecimiento

A mi madre, María Jesús Benavidez Benavidez, por estar siempre en cada paso

A mis directores de tesis y miembros del comité tutorial por sus valiosas contribuciones a esta tesis: Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez, Dr. Isidro Morales García, Dr. Celerino Robles Pérez, Dr. Miguel Chávez Gutiérrez y Dr. Cirenio Escamirosa Tinoco

A la Red de Biodigestores para Latinoamérica y el Caribe (RedBioLAC) por compartir sus experiencias y conocimientos sobre biodigestores

A CONACYT por la beca 565495, al IPN a través del CIIDIR, unidad Oaxaca y en especial, al pueblo de México por su generosidad al otorgarme la oportunidad para estudiar un doctorado

Dedicatoria

A mi madre, María Jesús Benavidez Benavidez

A Josué y a Ponchito

A todos los maestros y maestras nicaragüenses que iluminaron mi camino hacia la ciencia

*“No dejes apagar el entusiasmo, virtud tan valiosa como necesaria; trabaja, aspira,
tiende siempre hacia la altura”*

Rubén Darío

Contenido

Índice de cuadros	ix
Índice de figuras.....	x
Resumen.....	11
Abstract	12
Capítulo 1. Aspectos generales.....	15
1.1. Introducción general	16
1.1.1. Literatura citada.....	19
1.2. Marco teórico conceptual.....	23
1.2.1. Biodigestores.....	23
1.2.1.1. Definición.....	23
1.2.1.2. Antecedentes	24
1.2.1.3. Usos.....	26
1.2.2. Digestión anaeróbica (DA).....	28
1.2.2.1. Etapas de la DA.....	29
1.2.2.2. Factores que afectan la DA	31
1.2.2.3. Modelación matemática de la DA.....	40
1.2.3. Aprovechamiento de las vinazas del mezcal.....	41
1.2.3.1. Producción de energía limpia (biogás).....	41
1.2.3.2. Usos como biofertilizante.....	45
1.2.4. Literatura citada.....	48
1.3. Hipótesis	59
1.4. Objetivos	59
1.4.1. General	59
1.4.2. Específicos	59
Capítulo 2. Vinazas de mezcal y su efecto biofertilizante en el rendimiento de hortalizas .	60
2.1. Resumen.....	61
2.2. Abstract	62
2.3. Introducción.....	62
2.4. Materiales y métodos	65
2.4.1. Obtención de muestras	65

2.4.2. Experimento 1	65
2.4.3. Experimento 2	67
2.4.4. Análisis de datos.....	69
2.3. Resultados y discusión.....	70
2.3.1. Experimento 1: efecto fitotóxico de las vinazas del mezcal en semillas de hortalizas	70
2.3.2. Experimento 2: efecto de las vinazas en el rendimiento en las hortalizas evaluadas	73
2.4. Conclusiones	78
2.5. Agradecimientos	79
2.6. Literatura citada	79
Capítulo 3. Uso de vinazas de mezcal para producir metano por co-digestión con estiércol de bovino	86
3.1. Resumen.....	87
3.2. Abstract	88
3.3. Introducción	89
3.4. Materiales y métodos	91
3.4.1. Sustratos e inóculo	91
3.4.2. Diseño experimental y medición de variables.....	91
3.4.3. Análisis de datos.....	92
3.5. Resultados y discusión.....	93
3.5.1. Caracterización del inóculo, sustratos y mezclas	93
3.5.2. Cambios de pH.....	95
3.5.3. Producción de metano	96
3.5.4. Cinética de la producción de metano	97
3.5. Conclusiones	99
3.6. Agradecimientos	100
3.7. Literatura citada	100
Capítulo 4. Evaluación de biodigestores tubulares a escala real para producir biogás y biofertilizante a partir de vinazas de mezcal	107
4.1. Resumen.....	108
4.3. Introducción	110

4.4. Materiales y métodos	111
4.4.1. Ubicación y condiciones experimentales	111
4.4.2. Diseño experimental.....	112
4.4.3. Manejo del experimento.....	113
4.4.4. Métodos analíticos.....	114
4.4.5. Análisis de datos.....	115
4.5. Resultados y discusión.....	116
4.5.1. Análisis de varianza	116
4.5.2. Comparación de medias	117
4.5.3. Estabilidad del proceso.....	119
4.5.4. Producción de biogás	122
4.5.5. Producción de biofertilizante	124
4.6. Conclusiones	126
4.7. Agradecimientos	127
4.8. Literatura citada	128
Capítulo 5. Conclusiones generales.....	134
Anexos	136

Índice de cuadros

1. Comunidad de bacterias y arqueas identificadas en la digestión anaeróbica de diferentes sustratos en diferentes partes del mundo.	35
4. Potencial de hidrógeno (pH) y conductividad eléctrica de las diluciones de vinaza del mezcal utilizadas en la prueba de germinación de semillas de lechuga, tomate y pepino. ..	66
5. Tratamientos utilizados en la biofertilización de lechuga, tomate y pepinos cultivados en invernadero y parámetros fisicoquímicos.	68
6. Correlaciones entre CE y los índices de toxicidad IGN e IER en las pruebas de germinación de semillas de lechuga, tomate y pepino.	72
7. Variables evaluadas de lechuga cultivada con diferentes combinaciones de vinazas y solución nutritiva en invernadero.	73
8. Variables de crecimiento y rendimiento de tomate y pepino con diferentes combinaciones de vinazas y solución nutritiva.	75
9. Caracterización fisicoquímica del sustrato, inóculo y mezclas vinazas-estiércol bovino (V-EB) utilizadas en el experimento de co-digestión anaerobia.	93
10. Resultados del modelo de crecimiento de Gompertz para la predicción de la producción de metano en las mezclas de vinazas del mezcal y estiércol de bovino (V-EB) evaluadas.	99
11. Características fisicoquímicas iniciales del inóculo, vinazas y mezclas en digestión utilizadas en biodigestores tubulares alimentados con vinazas del mezcal durante el experimento.	114
12. Significancia y media cuadrática determinada en el análisis de varianza de pH, AGV, AT y Relación AGV/AT en biodigestores tubulares.	116
13. Comparación de medias de acuerdo con el factor de variación de pH, AGV, AT y relación AGV/AT en biodigestores tubulares alimentados con vinazas del mezcal.	118
14. Producción acumulada de biogás y rendimiento de metano en biodigestores tubulares a partir de vinazas de mezcal en condiciones reales.	123
15. Determinación de pH, CE y concentración de macro y microelementos en la vinaza de mezcal fresca y el biofertilizante obtenido de los biodigestores.	124

Índice de figuras

1. Esquema de un biodigestor de flujo continuo de tipo tubular.	24
2. Esquema general del biodigestor cúpula fija o tipo chino (izq.) y de cúpula móvil o tipo indio (derecha).	25
3. a) Biodigestor tubular b) biodigestores tubulares instalados para la producción de biogás y biofertilizante a partir de vinazas de mezcal en Tlacolula de Matamoros, Oaxaca.	26
4. Prueba de llama con biogás obtenido a partir de la digestión anaeróbica de heces humanas en Sasle, Jinotega, Nicaragua.	27
5. Etapas de la digestión anaeróbica.	29
Figura 6. Curva típica del crecimiento bacteriano.	41
7. Efecto de las concentraciones de vinazas del mezcal, sobre: a) índice de germinación residual normalizada (IGN) y b) índice de elongación radical (IER) en semillas de lechuga, tomate y pepino.	71
8. Rendimiento de pepino como respuesta a las combinaciones de vinazas y solución nutritiva en invernadero.	77
9. Cambios de pH de las mezclas de vinazas del mezcal y estiércol de bovino (V-EB) al inicio y al final del experimento.	95
10. Volumen acumulado de metano de las mezclas de V-EB evaluadas.	96
11. Cinética del rendimiento de metano de las mezclas de V-EB durante el periodo experimental.	98
12. Temperatura ambiental y humedad relativa promedio durante el periodo de evaluación de los biodigestores.	112
13. Biodigestores tubulares colocados sobre el suelo a un costado de un palenque mezcalero en Tlacolula de Matamoros, Oaxaca.	113
14. Cambios de pH durante la digestión anaeróbica de vinazas de mezcal en biodigestores tubulares.	120
15. Cambios de la relación de AGV/AT durante la digestión anaeróbica de vinazas de mezcal en biodigestores tubulares.	121
16. Producción de biogás por semana a partir de vinazas de mezcal en biodigestores tubulares.	122

Resumen

En México se producen en promedio seis millones de litros de mezcal por año, de estos, el 92.3% son producidos en el estado de Oaxaca. Por cada litro de mezcal producido, se generan entre 9 y 15 L de vinazas, lo que representan entre 53 y 90 millones de litros de vinazas, de las cuales el 80% son vertidas al ambiente sin tratamiento. Las vinazas presentan; entre otros elementos, alto contenido de materia orgánica y pH ácido, que las vuelve residuos recalcitrantes y difíciles de tratar, así como diversos nutrientes disueltos con potencial para ser reutilizados como biofertilizantes en la agricultura; sin embargo, se desechan en suelos, ríos, lagos, lagunas y drenaje municipal sin aprovecharse. Existen diversas alternativas para su aprovechamiento, entre las que destacan su uso como fuente de nutrientes para fertilizar cultivos agrícolas y la digestión anaeróbica para la obtención de biogás y biofertilizante.

Con el objetivo de evaluar la fitotoxicidad de las vinazas de mezcal, se hizo un primer experimento con semillas de lechuga, tomate y pepino, para lo cual se realizó una prueba de fitotoxicidad, usando diferentes concentraciones de vinaza (2.5, 5, 10, 20, 40, 80 y 100 %); y para evaluar su efecto biofertilizante en el rendimiento de dichos cultivos, se condujo un segundo experimento bajo condiciones de invernadero y como fuente de nutrientes diferentes combinaciones de vinaza del mezcal y solución nutritiva Steiner. Las cuales fueron 100-0, 80-20, 40-60 y 20-80%; respectivamente, y como testigo el 100% de la solución nutritiva. Con el objetivo de evaluar la obtención de metano a partir de las vinazas del mezcal, llevo a cabo un tercer experimento que consistió en una prueba del potencial de biometano mediante la co-digestión anaeróbica de estas vinazas con estiércol de bovino, en donde se usaron cinco mezclas de vinazas y estiércol en diferentes proporciones (v/v): 25-75, 50-50, 75-25, 100-0 y 0-100, en envases de vidrio de 496 mL con sello hermético, con 300 mL de volumen activo en condiciones mesofílicas ($36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante diez días. Finalmente, se evaluó el desempeño de biodigestores tubulares en condiciones reales para producir biogás y biofertilizante a partir de las vinazas del mezcal, utilizando tres biodigestores tubulares de 5,000 L cada uno, con tres puntos de muestreo por biodigestor, tres ciclos de digestión de vinazas y siete semanas de digestión por cada ciclo.

En el experimento 1: los resultados mostraron que la concentración del 2.5% de vinaza del mezcal, fue tóxica para las semillas de lechuga y más del 10% inhibió su germinación. Para

semillas de tomate el 20% resultó tóxico y el 80% inhibió su germinación, mientras que en semillas de pepino el 20% provocó hormesis. En el segundo experimento: la combinación 40 + 60% de vinaza y solución nutritiva aplicada para la nutrición de lechuga y tomate, alcanzó los máximos valores de todas las variables evaluadas. En pepino, el rendimiento disminuyó de forma lineal al aumentar el porcentaje de vinaza como complemento de la solución nutritiva. Para el tercer experimento: la producción y rendimiento de metano a partir de las vinazas fue mayor con las mezclas 0-100 y 75-25, con 286.23 y 286.40 NmL de CH₄, y 28.27 y 22.77 mL CH₄ g⁻¹ SV, respectivamente. El período de adaptación de los microorganismos anaeróbicos a las vinazas fue mayor en comparación con estiércol de bovino. La co-digestión de vinazas y estiércol de bovino en una proporción de 75-25% mejoró la producción de metano 26.7% con respecto a la digestión de vinazas solas y se redujo el tiempo de adaptación de las bacterias a éstas en 4.12 días. En el cuarto experimento: el pH y la relación AGV/AT se mantuvieron dentro de los límites óptimos para la digestión anaeróbica con valores entre 6.80 y 8.20 para el primero y menores a 0.60 para el segundo, tanto al inicio como al final de cada ciclo de digestión. La producción acumulada de biogás al final de cada ciclo de digestión fue en promedio de 9,680.82 L en los tres biodigestores. El porcentaje de metano en el biogás fue de 66.12%. En cuanto al biofertilizante, el contenido de los elementos disueltos, así como los valores de pH y CE, fue mayor que la solución nutritiva comercial. Lo cual indica que el efluente de biodigestores alimentados con vinazas del mezcal puede ser utilizado como biofertilizante para diferentes cultivos.

Palabras clave: residuos de agave, toxicidad, biofertilización, biometano, digestión anaeróbica, relación AGV/AT, agroindustria.

Abstract

In Mexico, about six million liters of mezcal are produced per year, mainly in the state of Oaxaca with 92.3% of the national total. For each liter of distilled mezcal, between 9 and 15 L of stillage are generated, which represents between 53 and 90 million L of polluting stillage per year, of which about 80% is discharged into the environment without treatment. The vinasses have a high content of organic matter and an acidic pH, which makes them recalcitrant and difficult to treat waste. They also contain dissolved nutrients with the potential to be reused as biofertilizers in agriculture; however, they are disposed of in soils,

rivers, lakes, lagoons and municipal drainage without being used. There are several alternatives for the use of these residues, among which its use as a source of nutrients to fertilize agricultural crops and anaerobic digestion to obtain biogas and biofertilizer stand out.

In order to evaluate the phytotoxicity of mezcal vinasses, a first experiment was carried out with lettuce, tomato and cucumber seeds, a phytotoxicity test was carried out on seed germination with different concentrations of vinasse (2.5, 5, 10, 20, 40, 80 and 100%); and to evaluate its biofertilizing effect on the yield of said crops, a second experiment was carried out under greenhouse conditions using combinations of 100-0, 80-20, 40-60 and 20-80% mezcal vinasses and Steiner nutrient solution as fertilizer sources, respectively, and as a control 100% of the nutrient solution. To evaluate the methane production from mezcal vinasses, a third experiment was carried out, which consisted of a biomethane potential test through anaerobic co-digestion of mezcal vinasses with bovine manure. Five mixtures of vinasse and manure were evaluated in different proportions (v/v): 25-75, 50-50, 75-25, 100-0 and 0-100, in 496 mL glass containers with hermetic seal, with 300 mL of active volume under mesophilic conditions ($36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) for ten days. Finally, the performance of tubular biodigesters was evaluated under real conditions to produce biogas and biofertilizer from mezcal vinasses, three tubular biodigesters of 5,000 L each were used, with three sampling points per biodigester, three cycles of digestion of vinasses and seven weeks of digestion for each cycle.

In experiment 1: the results showed that the concentration of 2.5% mezcal vinasses was toxic to lettuce seeds and more than 10% inhibited their germination. For tomato seeds, 20% was toxic and the 80% inhibited its germination, while in cucumber seeds the 20% caused hormesis. In the second experiment: the combination 40 + 60% of vinasse and nutrient solution applied for the nutrition of lettuce and tomato, reached the maximum values of all the variables evaluated. In cucumber, the yield decreased linearly as the percentage of vinasses increased as a complement to the nutrient solution. For the third experiment: the production and yield of methane from the vinasses was higher with the 0-100 and 75-25 mixtures, with 286.23 and 286.40 NmL of CH_4 , and 28.27 and 22.77 mL $\text{CH}_4\text{ g}^{-1}\text{ SV}$, respectively. The adaptation period of the anaerobic microorganisms to the vinasses was

longer compared to bovine manure. The co-digestion of vinasses and bovine manure in a proportion of 75-25% improved methane production by 26.70% with respect to the digestion of vinasses alone and reduced the adaptation time of the bacteria to them by 4.12 days. In the fourth experiment: the pH and VFA/TA ratio were within the optimal limits for anaerobic digestion with values between 6.80 and 8.20 for the first and less than 0.60 for the second, both at the beginning and at the end of each digestion cycle. The accumulated production of biogas at the end of each digestion cycle was an average of 9,680.82 L in the three biodigesters. The percentage of methane in the biogas was 66.12%. Regarding the biofertilizer, the content of dissolved elements, as well as the pH and EC values, was higher than the commercial nutrient solution. This indicates that the effluent from biodigesters fed with mezcal vinasses can be used as biofertilizer for different crops.

Keywords: agave residues, toxicity, biofertilization, biomethane, anaerobic digestion, TFA/TA ratio, agroindustry.

Capítulo 1. Aspectos generales

1.1. Introducción general

En México, el mezcal y el tequila se obtienen a partir de la destilación de los jugos fermentados de *Agave angustifolia* Haw y *Agave tequilana*; respectivamente (Robles-González *et al.*, 2012). El cultivo de agaves en Oaxaca, para el 2015 ocupaba 18,150 ha con crecimiento anual de hasta 30% (CRM, 2019; Palma *et al.*, 2016). Se estima que en el estado de Oaxaca se produce el 92.3% del mezcal del país y en donde están involucrados más de 13 mil productores de maguey y mezcal con alrededor de 655 fábricas de mezcal (Palma *et al.*, 2016), de las cuales el 90% son de tipo artesanal (CRM, 2019). Cada año se generan alrededor de 19 mil empleos directos y 85 mil empleos indirectos relacionados con la producción de mezcal a nivel nacional (CRM, 2019).

A pesar de la importancia social y económica de la agroindustria del mezcal, éste presenta un impacto ambiental negativo. Cada año, se producen cerca de 6 millones de litros de mezcal (CRM, 2018) y se estima que por cada litro de mezcal se generan entre 9 y 15 L de vinazas (Beltrán *et al.*, 2001), lo que genera entre 53.2 y 90 millones de L de residuos contaminantes. De estos, se estima que cerca del 80%; es decir, de 42.5 a 72 millones de L de vinazas son vertidos sin tratamiento al suelo, cuerpos de agua como ríos, arroyos, lagos y lagunas y en el drenaje municipal (Rodríguez y De La Cerna, 2017). Las vinazas representan un riesgo ambiental debido a que presentan pH ácido, sales disueltas, fenoles, compuestos aromáticos (Robles-González *et al.*, 2018) alcoholes, ácidos orgánicos (acético, isobutírico, butírico, valérico, caprónico, enántico, caprílico, láurico, palmítico y otros), furanos, alcanos, aldehídos, ésteres, cetonas, y piranos (Rodríguez-Félix *et al.* 2018). Además, generan la emisión a la atmósfera de gases con efecto invernadero como el metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) por la descomposición al aire libre de dichos residuos (Rodríguez y de La Cerna, 2017).

Se ha demostrado que la disposición sobre el suelo sin tratamiento previo de las vinazas puede tener efectos tóxicos para el crecimiento de plantas sensibles a la salinidad y nocivo para los microorganismos del suelo como las micorrizas (Sánchez-Lizárraga *et al.* 2018). Estos mismos autores, encontraron que la aplicación de vinazas del tequila al suelo disminuyó la población de micorrizas en raíces de plantas hospederas, aumentó la salinidad del suelo y afectó negativamente el crecimiento de plantas araña (*Chlorophytum comosum*,

(Thunb.) Jacques) usadas como modelo de prueba. A la vez, demostraron que el efecto fitotóxico de las vinazas se debe al incremento de la concentración de sales en el suelo provocado por los nutrientes disueltos en este residuo.

No obstante, las vinazas, contienen elementos como nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), azufre (S), hierro (Fe), zinc (Zn) (López-Velarde *et al.* 2020), y materia orgánica (Robles-González *et al.* 2012) con potencial para ser reutilizadas como biofertilizante en la agricultura (dos Santos *et al.*, 2013). Para ello, es necesario realizar pruebas y evaluar la posible fitotoxicidad en diferentes concentraciones en cultivos de interés y evaluar su efecto en el rendimiento de cultivos de interés agronómico (Martínez-Damián *et al.*, 2019). En este sentido, los bioensayos de germinación en semillas son una herramienta para medir la respuesta rápida de las plantas ante sustancias tóxicas contenidas en los residuos (Mendes *et al.*, 2021); así como los ensayos en cultivo establecido (Dos Santos *et al.*, 2013). Con base en lo anterior, se planteó el segundo capítulo de la presente tesis cuyo objetivo fue evaluar la fitotoxicidad de las vinazas de mezcal en la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) y su efecto biofertilizante en estos mismos cultivos, mediante diferentes combinaciones de vinaza y solución nutritiva, en cultivo sin suelo e invernadero. La hipótesis planteada fue que altas concentraciones de vinazas del mezcal son tóxicas para los cultivos, pero su aplicación en diluciones balanceadas es una alternativa viable para su aprovechamiento como biofertilizante en la agricultura.

Por otro lado, es posible la recuperación de energía renovable a partir de las vinazas del mezcal por medio de la digestión anaeróbica (DA), como el biogás, que es una mezcla de gases compuesta principalmente por CH₄ y CO₂ (Garfí *et al.*, 2016). Debido a su contenido de azúcares disueltos relativamente alto, las vinazas del mezcal pueden ser usadas como sustrato eficiente para la DA (López-Velarde *et al.*, 2020), sobre todo en co-digestión simultánea con más sustratos como estiércoles de animales; ya que al combinarse los diferentes sustratos el equilibrio de nutrientes y de propiedades fisicoquímicas mejora las condiciones del medio para llevar a cabo la DA en condiciones óptimas (Akyol *et al.*, 2016). La co-digestión es una técnica que ha demostrado ser una alternativa viable para mejorar la DA de diversos residuos como el estiércol de bovino y rastrojos de maíz (Abdoli *et al.*, 2014);

de estiércol de llama (*Lama glama*), ovino (*Ovis orientalis aries*) y bovino (*Bos primigenius taurus*) (Alvarez y Lidén, 2009), vinazas del mezcal y estiércol de porcino (Gómez *et al.*, 2019). Sin embargo, al ser las vinazas residuos recalcitrantes pueden llegar a tener un efecto inhibitor al aumentar la cantidad de vinazas en la co-digestión con otros sustratos (Gómez *et al.*, 2019). Por lo tanto, es importante evaluar la co-digestión óptima de las vinazas del mezcal con sustratos disponibles en las zonas productoras de mezcal, como el estiércol de bovino. Basado en lo anterior, se presenta el tercer capítulo de esta tesis cuyo objetivo fue investigar la mejor proporción de co-digestión entre la vinaza del mezcal y el estiércol de bovino para obtener metano en laboratorio. La hipótesis planeada fue en que al co-digerir vinazas del mezcal con estiércol de bovino, las propiedades fisicoquímicas serán adecuadas para la DA y la obtención de metano.

Además, de la utilización de las vinazas del mezcal como biofertilizante en la agricultura, así como la obtención de metano por medio de la DA, es necesario evaluar la aplicación de estas soluciones a escala real en las condiciones propias de la agroindustria del mezcal; es decir, a las condiciones donde la tecnología ayude a mitigar el problema de contaminación de estos residuos. Una de las tecnologías que pueden aplicarse a escala real son los biodigestores tubulares con amplia difusión en todo el mundo (Garfí *et al.*, 2016). Su aplicación permite obtener biogás (Lyu *et al.*, 2018) y biofertilizante a partir de los desechos orgánicos (Bruun *et al.*, 2014). Dentro de los biodigestores, los desechos son degradados y los minerales que contienen se vuelven disponibles para las plantas (Lansing *et al.*, 2010).

Se ha reportado el uso de biodigestores industriales de laboratorio y prototipos en el sector tequilero (Arreola-Vargas *et al.*, 2016, 2018), con altos costos y que pueden resultar relativamente complejos para el sector mezcalero en Oaxaca, que típicamente es artesanal y de baja tecnología (Palma *et al.*, 2016). Evaluar los biodigestores a escala real permitirá obtener mayor claridad sobre su funcionamiento (Mukeshimana *et al.*, 2021; Rogers, 1983). La evaluación de biodigestores tubulares de bajo costo a escala real, se han hecho con estiércol de bovinos (Castro *et al.*, 2017), de porcinos (Lansing *et al.*, 2008, 2010) y residuos de mataderos (Martí-Herrero *et al.* 2016), pero aún no se ha reportado su aplicación para la producción de biogás y biofertilizante a partir de vinazas de mezcal. Es por ello que en el quinto capítulo de esta tesis se presenta el estudio sobre la evaluación de biodigestores

tubulares en condiciones reales para producir biogás y biofertilizante a partir de vinazas de mezcal mediante tres biodigestores tubulares de 5,000 L cada uno, alimentados con vinazas del mezcal y se monitorearon parámetros fisicoquímicos durante 21 semanas. La hipótesis planteada fue que es posible realizar la DA de vinazas del mezcal de manera estable en condiciones reales, obteniendo biogás con calidad combustible y biofertilizante con elementos que pueden ser utilizados para la nutrición de cultivos.

1.1.1. Literatura citada

Abdoli, M.A., Amiri, L., Baghvand, A., Nasiri, J. y Madadian, E. (2014), “Methane production from anaerobic co-digestion of maize and cow dung”, *Environmental Progress & Sustainable Energy*, John Wiley and Sons Inc., Vol. 33 No. 2, pp. 597–601.

Akyol, Ç., Ozbayram, E.G., Ince, O., Kleinstaubler, S. y Ince, B. (2016), “Anaerobic co-digestion of cow manure and barley: Effect of cow manure to barley ratio on methane production and digestion stability”, *Environmental Progress & Sustainable Energy*, John Wiley and Sons Inc., Vol. 35 No. 2, pp. 589–595.

Álvarez, R. y Lidén, G. (2009), “Low temperature anaerobic digestion of mixtures of llama, cow and sheep manure for improved methane production”, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 33 No. 3, pp. 527–533.

Arreola-Vargas, J., Jaramillo-Gante, E., N., Celis, B., L., Corona-González, *et al.* (2016), “Biogas production in an anaerobic sequencing batch reactor by using tequila vinasses: Effect of pH and temperature”, *Water Science and Technology*, IWA Publishing, Vol. 73 No. 3, pp. 550–556.

Arreola-Vargas, J., Snell-Castro, R., Rojo-Liera, N.M., González-Álvarez, V. y Méndez-Acosta, H.O. (2018), “Effect of the organic loading rate on the performance and microbial populations during the anaerobic treatment of tequila vinasses in a pilot-scale packed bed reactor”, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, John Wiley and Sons Ltd, Vol. 93 No. 2, pp. 591–599.

- Beltrán, F.J., Álvarez, P.M., Rodríguez, E.M., García-Araya, J.F. y Rivas, J. (2001), “Treatment of High Strength Distillery Wastewater (Cherry Stillage) by Integrated Aerobic Biological Oxidation and Ozonation”, *Biotechnology Progress*, American Chemical Society (ACS), Vol. 17 No. 3, pp. 462–467.
- Bruun, S., Jensen, L.S., Khanh Vu, V.T. y Sommer, S. (2014), “Small-scale household biogas digesters: An option for global warming mitigation or a potential climate bomb?”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Elsevier Ltd.
- Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L.J., Vecino, K., Rojas, G. and Mantilla, L. (2017), “Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality”, *Bioresource Technology*, Elsevier Ltd, Vol. 239, pp. 311–317.
- CRM. (2018), Informe estadístico 2018, Oaxaca de Juárez, available at: http://www.crm.org.mx/PDF/INF_ACTIVIDADES/INFORME2018.pdf (accessed 24 June 2019).
- CRM. (2019), El Mezcal “La cultura líquida de México”. Número 2. Febrero 2019., Oaxaca de Juárez, available at: http://www.crm.org.mx/periodico/PDF/Revista_El_Mezcal2.pdf (accessed 24 June 2019).
- Garfí, M., Martí-Herrero, J., Garwood, A. and Ferrer, I. (2016), “Household anaerobic digesters for biogas production in Latin America: A review”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Pergamon, Vol. 60, pp. 599–614.
- Gómez, A.V., Valdez-Vázquez, I., Caballero-Caballero, M., Chiñas-Castillo, F., Alavéz-Ramírez, R. y Montes-Bernabé, J.L. (2019), “Co-digestion of agave angustifolia haw bagasse and vinasses for biogas production from mezcal industry”, *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Universidad Autónoma Metropolitana, Vol. 18 No. 3, pp. 1073–1083.
- Lansing, S., Martin, J.F., Botero, R.B., Nogueira da Silva, T. y Dias da Silva, E. (2010), “Wastewater transformations and fertilizer value when co-digesting differing ratios

- of swine manure and used cooking grease in low-cost digesters”, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 34 No. 12, pp. 1711–1720.
- Lansing, S., Viquez, J., Martínez, H., Botero, R. y Martin, J. (2008), “Quantifying electricity generation and waste transformations in a low-cost, plug-flow anaerobic digestion system”, *Ecological Engineering*, Elsevier, Vol. 34 No. 4, pp. 332–348.
- López-Velarde, M., Ventura-Ramos, E., Rodríguez-Morales, J.A. y Oliver, H. (2020), “Effect of inoculum source on the anaerobic digestion of mezcal vinasses at different substrate-inoculum ratios”, *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, Centro de Ciencias de la Atmosfera, UNAM, Vol. 36 No. 1, pp. 81–95.
- Lyu, Z., Shao, N., Akinyemi, T. and Whitman, W.B. (2018), “Methanogenesis”, *Current Biology*, Cell Press, Vol. 28 No. 13, pp. R727–R732.
- Martí-Herrero, J., Flores, T., Alvarez, R. and Perez, D. (2016), “How to report biogas production when monitoring small-scale digesters in field”, *Biomass and Bioenergy*, Elsevier Ltd, Vol. 84, pp. 31–36.
- Martínez-Damián, M.T., Cano-Hernández, R., del Carmen Moreno-Pérez, E., del Castillo, F.S. and Cruz-Álvarez, O. (2019), “Effect of preharvest growth bioregulators on physicochemical quality of saladette tomato”, *Revista Chapingo Serie Horticultura*, Universidad Autónoma Chapingo, Vol. 25 No. 1, pp. 29–43.
- Mendes, P.M., Ribeiro, J.A., Martins, G.A., Lucia, T., Araujo, T.R., Fuentes-Guevara, M.D., Corrêa, L.B., *et al.* (2021), “Phytotoxicity test in check: Proposition of methodology for comparison of different method adaptations usually used worldwide”, *Journal of Environmental Management*, *J Environ Manage*, Vol. 291, available at:<https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2021.112698>.
- Mukeshimana, M.C., Zhao, Z.Y., Ahmad, M. y Irfan, M. (2021), “Analysis on barriers to biogas dissemination in Rwanda: AHP approach”, *Renewable Energy*, Elsevier Ltd, Vol. 163, pp. 1127–1137.
- Palma, F., Pérez, P. y Meza, V. (2016), “Diagnóstico de la Cadena de Valor Mezcal en las Regiones de Oaxaca”.

- Robles-González, V., Galíndez-Mayer, J., Rinderknecht-Seijas, N. y Poggi-Varaldo, H.M. (2012), “Treatment of mezcal vinasses: A review”, *Journal of Biotechnology*, Elsevier, Vol. 157 No. 4, pp. 524–546.
- Robles-González, V., Poggi-Varaldo, H.M., Galíndez-Mayer, J. y Ruiz-Ordaz, N. (2018), “Combined Treatment of Mezcal Vinasses by Ozonation and Activated Sludge”, *Water Environment Research*, Vol. 90 No. 11, pp. 1985–1996.
- Rodríguez, A. y De La Cerna, C. (2017), “El mezcal, su producción y tratamiento de residuos”, *Alianzas y Tendencias*, Vol. 2 No. 8, pp. 10–14.
- Rogers, E.M. (1983), *Diffusion of Innovations*, Diffusion of Innovations, Third edit., The free press, New York.
- Dos Santos, J.D., Lopes da Silva, A.L., da Luz Costa, J., Scheidt, G.N., Novak, A.C., Sydney, E.B. y Soccol, C.R. (2013), “Development of a vinasse nutritive solution for hydroponics”, *Journal of Environmental Management*, Vol. 114, pp. 8–12.

1.2. Marco teórico conceptual

A continuación, se presenta una revisión de literatura sobre biodigestores y la digestión anaeróbica (DA). Se mencionan antecedentes históricos del uso de esta tecnología, así como aspectos técnicos relacionados con su funcionamiento. Se hace énfasis en la aplicación de la DA para el tratamiento de vinazas del mezcal, en el uso de estos residuos como biofertilizante en cultivos de interés; así como en la producción de biogás a partir de vinazas, principalmente en estudios a escala de laboratorio y algunas experiencias a escala real que sirve de contexto para los siguientes capítulos de esta tesis.

1.2.1. Biodigestores

1.2.1.1. Definición

Un biodigestor es un contenedor hermético en el que se lleva a cabo la digestión anaeróbica de residuos orgánicos, que son degradados por medio de la acción de microorganismos como bacterias y arqueas, para producir biogás y digestato o biofertilizante (Martí-Herrero, 2019). Puede ser de flujo continuo o discontinuo. Un biodigestor de flujo continuo se compone esencialmente de una cámara de digestión con entrada y salida de materia orgánica disuelta en agua y una salida para el biogás con válvula de seguridad (Figura 1). El flujo discontinuo consiste en un recipiente sellado en el que se vierte la mezcla a digerir, generalmente en una relación sustrato/agua de 1/4; y una vez terminado el proceso se extrae para iniciar un nuevo ciclo (Aguilar y Botero, 2006). Los principios básicos para el óptimo funcionamiento de esta tecnología son principalmente: ausencia de oxígeno, presencia de materia orgánica y agua (Khanal, 2009).

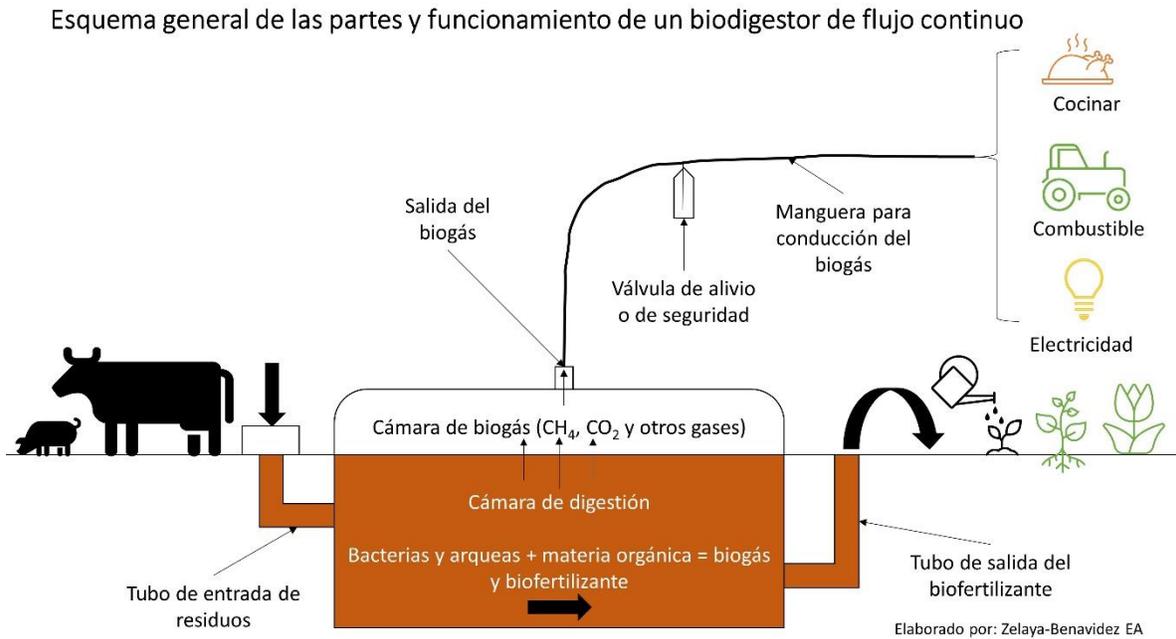


Figura 1. Esquema de un biodigestor de flujo continuo de tipo tubular.

1.2.1.2. Antecedentes

De acuerdo con Rodríguez (2010), las primeras investigaciones sobre biogás se remontan al siglo XVII cuando Robert Boyle observó producción de gases inflamables en el sedimento de los lagos. En 1808, Dalton, Henry y Davy obtuvieron gas metano, principal componente del biogás, en laboratorio a partir del estiércol del ganado. Sin embargo, el primer biodigestor a escala real fue construido en Bombay, India en 1859 y en 1895 se construyó el primer tanque séptico en Exeter, Inglaterra para producir biogás que se usaba como fuente de energía en las lámparas de iluminación pública. Igualmente, en Inglaterra, en 1904 se construyó el primer tanque para sedimentar y tratar lodos en Hampton. La primera patente sobre biodigestores fue publicada en Alemania en 1907, en donde desarrollaron el Tanque Imhoff. Posteriormente, en los años 40 y 50 del siglo XX, se expandió el uso del biodigestor en India y China, respectivamente.

Actualmente, China es el país con mayor número de biodigestores en uso, con más de 31 millones de biodigestores de pequeña escala instalados, seguido de la India con 3.9 millones de aparatos (Bruun *et al.*, 2014). En la década de 1970 se inició a implementar esta tecnología en América Latina, específicamente en Bolivia, Guyana, Haití, Honduras, Jamaica y Nicaragua. Garfí y colaboradores (2016) hicieron una revisión sobre la implementación de

biodigestores para la producción de biogás en esta región. Su revisión aborda las experiencias de difusión de esta tecnología desde los años 1970's hasta los esfuerzos actuales de la Red de Biodigestores para Latino América y el Caribe (www.redbiolac.org) por juntar a actores relacionados con la investigación, difusión y uso de los biodigestores. En dicha revisión, se abordan aspectos técnicos de la DA que se han estudiado en la región, así como los aspectos más relevantes de la difusión y adopción de tres modelos principales de biodigestores: de domo fijo o tipo chino, de cúpula móvil o tipo indio (Figura 2) y modelo tubular, también denominado tipo “salchicha”, modelo taiwanés o de bolsa. Este último es el más usado en la región debido a su relativo bajo costo y facilidad para manejarlo (Figura 3, a y b) (Garfí *et al.*, 2012, 2016; Martí-Herrero, 2019).

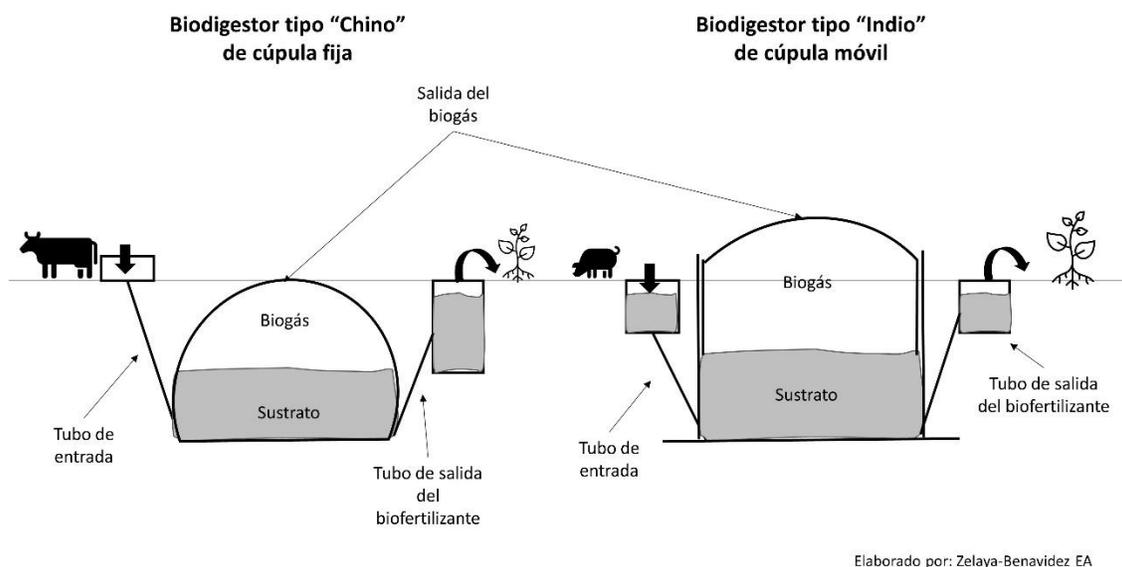


Figura 2. Esquema general del biodigestor cúpula fija o tipo chino (izq.) y de cúpula móvil o tipo indio (derecha) con base en Bruun *et al.* (2014).

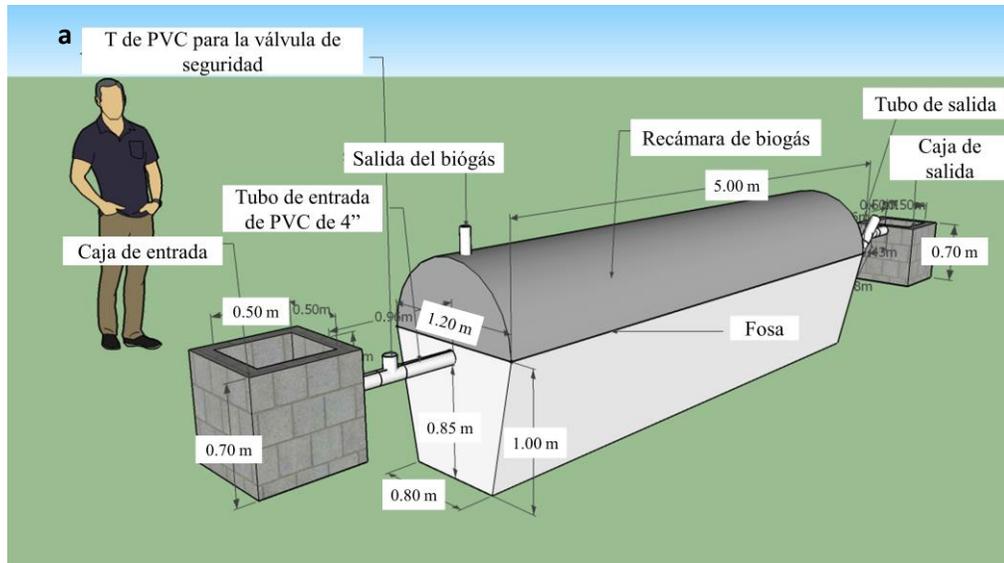


Figura 3. a) Biodigestor tubular con base en las dimensiones utilizadas por Chará y Pedraza (2009), b) biodigestores tubulares instalados para la producción de biogás y biofertilizante a partir de vinazas de mezcal en Tlacolula de Matamoros, Oaxaca.

1.2.1.3. Usos

Históricamente, el biodigestor se ha usado principalmente para producir energía para cocinar en zonas sin acceso a gas natural, diesel, gasolina o electricidad (Martí-Herrero *et al.*, 2014). También se usa para producir fertilizante y como sistema de tratamiento de residuos orgánicos (Lansing *et al.*, 2010). Su versatilidad permite tratar aguas residuales, lodos cloacales, estiércoles animales, residuos vegetales, residuos de agroindustria como las

vinazas del mezcal, entre otras, de tal forma que la carga contaminante de estos residuos es disminuida y su contenido de nutrientes disponibles sirven de fertilizante orgánico para la agricultura (Aguilar y Botero, 2006; Pedraza et al., 2002; Sayara y Sánchez, 2019). A continuación, se resumen tres principales beneficios de esta tecnología.

1.2.1.3.1. Producción de biogás

El biogás es una mezcla de gases producto del proceso de DA de la materia orgánica, en la que predomina el metano (CH_4) con rangos de 55 a 70% de la mezcla, que le confiere propiedades inflamables (Figura 4); también contiene entre 20 y 40% de dióxido de carbono (CO_2), y en menor proporción otros gases como: hidrógeno, nitrógeno, sulfuro de hidrógeno (H_2S) y vapor de agua (Parra-Huertas, 2015). El sulfuro de hidrógeno es corrosivo, mientras que la presencia de los demás gases disminuye el poder calorífico del biogás (Fotidis *et al.*, 2016; Martí-Herrero, 2019).



Figura 4. Prueba de llama con biogás obtenido a partir de la digestión anaeróbica de heces humanas en Sasle, Jinotega, Nicaragua.

En promedio, la obtención de biogás representa entre el 30 al 70% del volumen de la fase líquida del biodigestor; es decir, que de 5 m^3 de su volumen líquido se producen entre 1.5 a 3.5 m^3 de biogás por día (Aguilar y Botero, 2006). No obstante, estos valores pueden variar de acuerdo con diversos factores como el tipo de sustrato que se utilice o la temperatura de operación del aparato. Por ejemplo, Pedraza et al. (2002), observaron una producción de 185 L de biogás por m^3 de biodigestor al evaluar un modelo de biodigestor tubular, alimentado

con estiércol de porcino y funcionando a 23 °C. El valor calórico de 1 m³ de biogás equivale a la energía emitida por la combustión de 0.55 litros de diésel o a 1.65 kg de leña (Walsh, 1988).

1.2.1.3.2. Reducción de la contaminación

La DA ayuda a tratar residuos orgánicos y disminuir la carga contaminante en un 60 a 90% de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) que es el oxígeno que utilizan los microorganismos acuáticos para descontaminar las aguas y en más de 85% de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) (Pedraza *et al.*, 2002). Por otro lado, el uso del biodigestor permite reducir las emisiones de gas metano a la atmósfera, considerado como uno de los principales gases de efecto invernadero, al atraparlo y utilizarlo como fuente de energía renovable. De acuerdo con una estimación que hicieron Aguilar y Botero (2006) sobre los beneficios totales de un biodigestor tubular de flujo continuo de 5 m³, se puede reducir la emisión de 1.2- 1.4 t de CO₂ al año al retener y utilizar el metano producido.

1.2.1.3.3. Producción de biofertilizante

El biofertilizante obtenido del biodigestor, también denominado digestato, es el líquido o lodo al que se le ha extraído el biogás por medio de la DA cuya calidad y contenido de nutrientes depende de la materia prima utilizada para alimentar al biodigestor (Al Seadi *et al.*, 2013). El contenido de elementos del biofertilizante se mantiene igual después de la digestión, lo que cambia es su disponibilidad para las plantas al pasar de una forma orgánica a una inorgánica; ya que durante el proceso el carbono es el único elemento que sale de la mezcla al ser transformado en CH₄; mientras que los nutrientes como el N, P y K mantienen iguales cantidades, pero salen en mayor concentración en el efluente al haber sido mineralizados durante el tratamiento anaeróbico (Aguilar y Botero, 2006). Por ejemplo, el nitrógeno (N) del afluente es liberado de las proteínas para formar amonio (NH₄⁺-N) y la forma orgánica del fósforo (P) se solubiliza a fosfato (PO₄-P) que es asimilable por las raíces de las plantas (Al Seadi *et al.*, 2013). Por lo tanto, el uso del digestato como biofertilizante en la agricultura contribuye a mejorar las propiedades del suelo y provee a las plantas macro y microelementos para su crecimiento (Aguilar y Botero, 2006).

1.2.2. Digestión anaeróbica (DA)

La DA es un proceso de descomposición de materia orgánica por medio de la acción de microorganismos, como bacterias y arqueas, en ausencia de oxígeno creando un ambiente reductor para la síntesis de CH₄ (Murphy y Thamsiriroj, 2013). Consta de cuatro etapas simultáneas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Meegoda et al., 2018; Murphy y Thamsiriroj, 2013) que se describen a continuación (Figura 5):

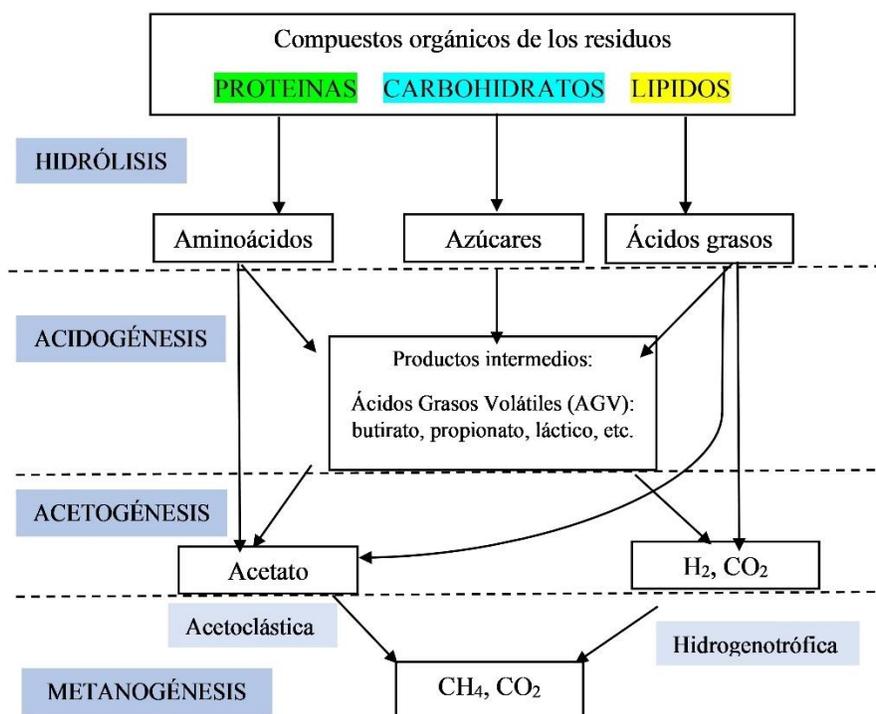


Figura 5. Etapas de la digestión anaeróbica. Elaborado a con base en Ferry (1993); y Xing *et al.*, (2020).

1.2.2.1. Etapas de la DA

1.2.2.1.1. Hidrólisis

En esta etapa las macromoléculas orgánicas como carbohidratos, lípidos y proteínas son degradados a sus respectivos monómeros (glucosa, ácidos grasos y aminoácidos) por bacterias hidrolíticas, cuyas enzimas desdoblán los enlaces de hidrógeno con el carbono. Los productos de esta fase son usados por las bacterias acidogénicas en la siguiente etapa (Meegoda *et al.*, 2018).

1.2.2.1.2. Acidogénesis

Los monómeros resultantes de la hidrólisis son luego difundidos a través de la membrana celular de las bacterias acidogénicas (Meegoda *et al.*, 2018) y convertidos en bicarbonatos, alcoholes, hidrógeno y ácidos orgánicos (ácido acético, propiónico y butírico) por medio de la fermentación (Sharma, 2008).

1.2.2.1.3. Acetogénesis

Consiste en la “oxidación de alcohol y ácidos orgánicos a hidrógeno y acetato” (Sharma, 2008). Los ácidos orgánicos de cadena larga como el propiónico y el butírico, elaborados en la fase anterior, son utilizados para la síntesis de ácido acético o acetato, principal sustrato para la metanogénesis (Thauer, 1998). La función de las bacterias acetogénicas como agentes reductoras es crucial para todo el proceso anaeróbico, ya que convierten los ácidos orgánicos en sustratos metanogénicos como H₂, CO₂, ácido acético y compuestos unicarbonados (Murphy y Thamsiriroj, 2013):

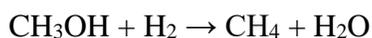
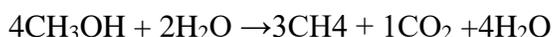
- Formación de acetato:



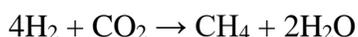
1.2.2.1.4. Metanogénesis

La metanogénesis consiste en una reacción bioquímica en la que un átomo de carbono se reduce al recibir electrones de cuatro átomos de hidrógeno, esta reacción es realizada por las arqueas que sintetizan CH₄ (Kalyuzhnaya *et al.*, 2019). Esta fase se lleva a cabo por dos vías: acetoclástica en la que degradan el ácido acético y la hidrogenotrófica (Ferry, 1993; Lyu *et al.*, 2018), que usa el hidrógeno para reducir al CO₂ como fuente de energía para formar metano (Thauer *et al.*, 1993):

- Metanogénesis acetoclástica:



- Metanogénesis hidrogenotrófica:



1.2.2.2. Factores que afectan la DA

La DA se ve afectada principalmente por el pH, la temperatura, la presencia de inóculo bacteriano y el tipo de sustrato que determina la relación carbono/nitrógeno (C/N) de la mezcla usada.

1.2.2.2.1. pH

Los niveles óptimos de pH para la DA están entre 6.80 y 8.20 (Fotidis *et al.*, 2016), para las bacterias acidogénicas está entre 5.50 y 6.50 (Khanal, 2009), aunque pueden continuar funcionando incluso a pH de 4.50-5.00 (Murphy y Thamsiriroj, 2013). En cambio, las arqueas, responsables de la metanogénesis son sensibles a cambios del pH y su desarrollo se favorece en pH neutro y son inhibidas con pH inferiores a 6.60 y superiores a 8.00 (Murphy y Thamsiriroj, 2013); sin embargo, en condiciones mesofílicas (35 °C) y pH de 6.50, se ha observado mejor producción de metano (Espinoza-Escalante *et al.*, 2009). Parra-Orobio *et al.* (2015) valoraron la influencia del pH (5.50, 6.60, 7.00 y 8.00) sobre la DA de biorresiduos de origen municipal y observaron una disminución de 53% con pH a 5.50 en relación con los demás niveles, así como retraso en el inicio de producción de biogás. Estos autores encontraron “mejores condiciones, tanto de producción de metano como de capacidad buffer, con valores cercanos a la neutralidad”. Por su parte Gómez *et al.* (2019), estudiaron la codigestión de bagazo de agave y vinazas del mezcal y encontraron que la producción de biogás empezó a decaer con pH de 5.80 y se detuvo completamente a 4.60. Por su parte, el amonio en altas concentraciones puede inhibir las reacciones de la DA. Cuando el sustrato es rico en proteínas el contenido de amonio aumenta en el medio y el pH se torna alcalino, lo cual también es un factor limitante de la DA (Meegoda *et al.*, 2018; Murphy y Thamsiriroj, 2013).

1.2.2.2.2. Temperatura

Existen tres regímenes de temperatura para la DA: psicrófilico (15 °C), mesofílico (35 °C) y termofílico (55 °C) (Meegoda *et al.*, 2018). La producción de biogás aumenta a medida que aumenta la temperatura; sin embargo, la actividad metanogénica se ve más favorecida en condiciones mesofílicas (Espinoza-Escalante *et al.*, 2009). La eficiencia del proceso decae por debajo de los 15 °C, por esa razón el uso de biodigestores en zonas templadas o climas fríos ha sido menor que en zonas tropicales (Lorenzo-Acosta y Obaya-Abreu, 2005).

De acuerdo con Deublein y Steinhauser (2011), el control de la temperatura en biodigestores puede realizarse por medio de mecanismos internos de transferencia de calor como tubos serpentines con agua caliente y mecanismos de bombeo y mezcla para homogenizar la temperatura en todo el reactor. Otros mecanismos externos bombean el líquido desde el interior para pasarlo por un sistema de calentamiento en el exterior para su posterior retorno al interior del reactor. Estos sistemas de calentamiento utilizan el equivalente al 10-15% de la energía total producida en forma de biogás para su funcionamiento, pero puede llegar a 22-30% de pérdidas de energía por el funcionamiento de mezcladoras, bombeo y pérdidas de calor al ambiente.

Usualmente, los modelos de biodigestores más usados en el mundo como los modelos chino, indio y tubular (Garfí *et al.*, 2016), se construyen dentro de una fosa en el suelo que sirve como aislante y reduce los cambios bruscos de temperatura respecto al ambiente (Chará y Pedraza, 2009). En el caso de los biodigestores tubulares, pueden ser calentados por mecanismos de calefacción solar pasiva usando invernaderos y aislando la bolsa de las paredes del suelo. Con este mecanismo se ha logrado mantener la temperatura del estiércol en digestión 8.40 °C arriba del promedio de la temperatura ambiental (Perrigault *et al.*, 2012).

1.2.2.2.3. Relación carbono/nitrógeno (C/N)

La digestión anaeróbica es realizada por microorganismos que utilizan el carbono como fuente de energía y el nitrógeno para su reproducción celular (Rashama *et al.*, 2019). La relación óptima de estos dos elementos en la composición de los sustratos a digerir debe estar entre 20 a 30 C/N (Lorenzo-Acosta y Obaya-Abreu, 2005; Wijesinghe *et al.*, 2019). Si la proporción de nitrógeno aumenta la producción de biogás puede disminuir debido a la formación de amonio (NH₄) (Khanal, 2009). Por otro lado, sustratos ricos en carbohidratos aumentan la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) que resultan de la fermentación de los azúcares obtenidos en la etapa de la hidrólisis (Jobling *et al.*, 2014). Esto disminuye el pH a niveles de acidez inferiores a los óptimos para la metanogénesis (Parra-Orobio *et al.*, 2014; Zelaya-Benavidez *et al.*, 2017).

Dos estrategias se pueden usar para ajustar el balance de la relación C/N: 1) Co-digestión de sustratos y 2) eliminación del nitrógeno del sustrato. En cuanto a la co-digestión que consiste

en la combinación de residuos, permite alcanzar un balance adecuado de nutrientes cuando se mezclan residuos complementarios. Por ejemplo, Li et al. (2013), con el objetivo de lograr un balance óptimo en la mezcla de residuos y en la relación C/N, evaluaron la co-digestión anaeróbica de rastrojo de maíz (63/1) y estiércol de pollo (10/1). Al mezclar ambos residuos en una relación rastrojo de maíz y estiércol de pollo de 3/1 obtuvieron una relación C/N de 27/1. Por su parte, Abouelenien et al. (2014), combinaron estiércol de pollo (10/1) con una mezcla de residuos de yuca, coco y café (43/1) para balancear la relación C/N a 21/1 y mejorar la producción de metano. En otro estudio, Wang et al. (2012) optimizaron la relación C/N a 27/1 al combinar estiércol de bovino (22/1) con estiércol de pollo (8/1) y paja de trigo (81/1).

En cuanto a la eliminación del nitrógeno del sustrato, ésta es una alternativa viable para balancear la relación C/N a niveles óptimos cuando no se dispone de otros residuos para co-digerir o su disponibilidad es limitada (Wijesinghe *et al.*, 2019). El uso de minerales como la zeolita o filtros de carbón activado han demostrado ser viables para este fin. La adsorción del nitrógeno mediante la adición de zeolita ha sido probada en la digestión anaeróbica de estiércol porcino con contenido de amonio relativamente alto. Para disminuir la cantidad de este elemento en el residuo, Wijesinghe et al. (2019) agregaron zeolita a un reactor anaeróbico cuya función fue adsorber el amonio y disminuir su efecto inhibitorio en la actividad metanogénica. Al agregar 40 g/L de zeolita aumentó significativamente la producción de biogás y CH₄; mientras que adsorbió una cantidad significativa de NH₄ del medio durante el proceso. Por su parte Xie et al. (2019), evaluaron la desnitrificación de aguas residuales mediante un filtro compuesto de hierro-carbón activado y zeolita integrado a un sistema anaeróbico-aeróbico. La zeolita tiene una fuerte capacidad de intercambio iónico selectivo para el NH₄ y el nitrato (NO₃); mientras que el carbón activado sirve como filtro adsorbente y como superficie de anclaje para los microorganismos que utilizan el nitrógeno en su metabolismo y crecimiento. Dichos autores lograron entre 85 y 95% de remoción del NH₄ y de nitrógeno total, respectivamente.

1.2.2.2.4. Inóculo bacteriano

El inóculo es la semilla microbiana necesaria para iniciar un nuevo proceso de digestión anaeróbica que puede obtenerse del efluente de un biodigestor activo (Angelidaki *et al.*, 2009;

Zelaya-Benavidez *et al.*, 2017), lodos activados de plantas de tratamiento de aguas domésticas (Gómez *et al.*, 2019; López-Velarde *et al.*, 2019; Parra-Orobio *et al.*, 2015), composta de estiércol de bovino (García *et al.*, 2019), estiércol fresco de porcinos (Gómez *et al.*, 2019), contenido ruminal (Bonilla-Cárdenas y Lemus-Flores, 2012), entre otros. El uso de inóculo anticipa el inicio de la DA, así como la calidad del biogás en cuanto a su contenido de metano (Zelaya-Benavidez *et al.*, 2017). Este factor es clave para realizar pruebas en laboratorio en las que se necesita activar la DA, así como para el arranque o reactivación de biodigestores en campo (Castro *et al.*, 2017).

Los microorganismos encargados de la DA poseen plasticidad ecológica y se pueden adaptar a diferentes sustratos y ecosistemas del planeta como pantanos, lagos altamente salinos, pilas de compostaje, hervideros volcánicos, terrenos de cultivos anegados y tracto digestivo de animales (Ferry, 1993). Estudios sobre la diversidad de bacterias y arqueas que participan en la DA han mostrado la similitud de especies que se desarrollan en diferentes sustratos e inóculos en diferentes partes del mundo. En el cuadro 1 se muestra un resumen de seis estudios sobre diversidad de géneros de bacterias y arqueas identificadas en reactores anaeróbicos con diferentes sustratos. Los géneros de bacterias más frecuentes fueron: *Clostridium*, *Ruminofilibacter*, *Ruminococcus*, *Anaerobacter*, *Anaerolinea*, *Treponema*, *Petrimonas*, *Proteiniphilum*, *Syntrophomonas* y *Synergistetes*. Entre las arqueas metanogénicas más repetidas se encontraron los géneros: *Methanoculleus*, *Methanobrevibacter*, *Methanocorpusculum*, *Methanosaeta* y *Methanosarcina*.

Cuadro 1. Comunidad de bacterias y arqueas identificadas en la digestión anaeróbica de diferentes sustratos en diferentes partes del mundo.

Condiciones del trabajo: Sustrato, lugar y temperatura	Grupo/género		Referencia
	Bacterias	Arqueas	
Vinazas del Tequila + lodo granular de reactor anaeróbico para tratar residuos de cervecería; Guadalajara, Jalisco, México; 35 °C	<i>Candidatus cloacamonas</i> , <i>Fastidiosipila</i> , <i>Christensellaceae</i> , <i>Mesotoga</i> , <i>Syntrophobacter</i> , <i>Spirochaeta</i>	<i>Methanocorpusculum</i> , <i>Methanoculleus</i> , <i>Methanofollis</i> , <i>Methanolinea</i> , <i>Methanomethylovorans</i> , <i>Methanosaeta</i> , <i>Methanobacterium</i> ,	(Arreola-Vargas <i>et al.</i> , 2018)
Residuos de fruta de palma de aceite (<i>Elaeis guineensis</i>) + efluente líquido y lodos de reactor anaeróbico con	<i>Ruminococcus</i> , <i>Coprothermobacter</i> , <i>Cellulosibacter</i> , <i>Anaerovibrio</i> , <i>Thermoanaerobacter</i> , <i>Proteoniborus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Anaerobaculum</i>	<i>Methanospirillum</i> , <i>Methanoculleus</i> , <i>Methanothermococcus</i> , <i>Methanosaetha</i> , <i>Methanothermobacter</i> ,	(Suksong <i>et al.</i> , 2019)

Condiciones del trabajo:	Grupo/género		Referencia
Sustrato, lugar y temperatura	Bacterias	Arqueas	
residuos de palma; Krabi, Tailandia; 55 °C y 40 °C	<i>Nitrobacter, Clostridium, Methylobacterium, Aminobacterium, Eubacterium, Desulfonauticus, Tissierella, Anaerobacter</i>	<i>Methanoculleus, Methanobacterium, Methanosaeta</i>	
Estiércol de cerdo + lodos de biodigestor; Qionglai, Sichuan, China; 35 °C	<i>Petrimonas, Proteiniphilum, Sedimentibacter, Ruminofilibacter, Firmicutes, Proteobacteria, Spirochaetae, Fibrobacteres Chloroflexi, Bacterioidetes, Synergistetes, Candidate, Actinobacteria, Cloacimonetes</i>	<i>Methanosaeta, Methanomicrobiales, Methanoculleus, Methanocorpusculum, Methanoplonus, Methanobrevibacter, Methanospirillum, Euryarchaeota, Methanogenium, Methanosarcina, Candidatus methanoregula, Methanobrevibacter</i>	(Zhou <i>et al.</i> , 2019)
Lixiviados de vertedero municipal +	<i>Anaerolinea, Treponema, Desulfovibrio, Clostridium</i>	<i>Methanosaeta, Methanosarcina, Methanobacterium, Methanoculleus,</i>	(Feng <i>et al.</i> , 2019)

Condiciones del	Grupo/género		Referencia
trabajo: Sustrato, lugar y temperatura	Bacterias	Arqueas	
lodos granulares de planta de tratamiento de aguas residuales municipal; Wuxi, China; 50 °C		<i>Methanofollis</i> , <i>Methanomethylovorans</i> , <i>Methanobrevibacter</i> , <i>Methanocella</i> , <i>Candidatus methanoregula</i> , <i>Methanolinea</i> , <i>Methanomassiliicoccus</i> , <i>Methanospirillum</i> ,	
Residuos de comida + inóculo a base de lodos de una planta de tratamiento de aguas; Roma, Italia; 35 °C	<i>Paludibacter</i> , <i>Bacteriodetes</i> , <i>Proteiniphillum</i> , <i>Prolixibacteraeae</i> , <i>Bacterioides</i> , <i>Bacteroidales</i> , <i>Dysgonomodadeae</i> , <i>Paludibacteraceae</i> , <i>Macellibacteroides</i> , <i>Porphyromonadaceae</i> , <i>Polixibacteraceae</i> , <i>Terrimonas</i> , <i>Chitinophagaceae</i> , <i>Saprosiraceae</i> , <i>Chitinophagales</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Lentimicrobiaceae</i> ,	<i>Methanobacterium</i> , <i>Methanobacter</i> , <i>Methanoculleus</i> , <i>Methanolinea</i> , <i>Methanoregula</i> , <i>Methanospirillum</i> , <i>Methanomicrobiales</i> , <i>Methanosaetha</i> , <i>Methanosarcina</i> , <i>Methanomethylovorans</i> , <i>Candidatus</i> <i>methanofastidiosum</i> , <i>Methanossiliicoccus</i>	(Tonanzi <i>et al.</i> , 2020)

Condiciones del	Grupo/género		Referencia
trabajo: Sustrato, lugar y temperatura	Bacterias	Arqueas	
	<i>Sphingobacteriaceae,</i> <i>Sphingobacteriales, Flexilinea,</i> <i>Longilinea, Anaerolineaceae,</i> <i>Ardenticatenales, Christensenellaneae,</i> <i>Alkaliphilus, Peptoniphilus,</i> <i>Clostridiumsessustricto, Clostridiaceae,</i> <i>Blautia, Oribacterium, Lachnospiraceae,</i> <i>Rombustsia, Ruminococcus,</i> <i>Ruminococcaceae, Clostridiales</i>		
Residuos de comida (repollo, carne de cerdo, carne de pollo, huevo, aceite de cocina, papa, zanahoria, arroz, pasta y sal) + estiércol de vaca + inóculo (lodo de	<i>Streptococcus, Clitridium sensy stricto,</i> <i>Ruminococcus, Petrimonas</i> <i>Proteiniphilum, Pseudomonas,</i> <i>Pelotomaculum, Dysgonomonas,</i> <i>Acetobacter, Sedimentibacter,</i> <i>Acinetibacter, Comamonas, Levinea,</i> <i>Clostridium, Candidatus cloacamonas,</i>	<i>Methanimicrococcus,</i> <i>Methanosphaera, Methanosarcina,</i> <i>Methanobacterium,</i> <i>Methanomassillicoccus,</i> <i>Methanoculleus,</i> <i>Methanobrevibacter, Methanotherix</i>	(Xing <i>et al.</i> , 2020)

Condiciones del	Grupo/género		Referencia
trabajo:	Bacterias	Arqueas	
Sustrato, lugar y temperatura			
un reactor anaeróbico de una cervecería); Xi'an, China; 39 °C	<i>Syntrophomonas, Thermogutta, Methanotherix, Lactobacillus</i>		
Estiércol de vaca fresco; Xi'an, China; 39 °C	<i>Syntrophomonas, Candidatus cloacamonas, Clostridium, Sedimentibacter</i>	<i>Methanosarcina, Methanomassiliicoccus</i>	

1.2.2.3. Modelación matemática de la DA

La DA como proceso microbiológico puede ser estudiado por medio de modelos matemáticos que ayuden a describir y analizar las etapas críticas del crecimiento bacteriano. Un ejemplo de ello es el modelo de crecimiento bacteriano de Gompertz, mostrado en la ecuación 1. Ha sido usado con mayor frecuencia en estudios sobre DA para describir el comportamiento de los microorganismos en diferentes condiciones. Su análisis permite detectar las fases críticas de la DA como el inicio de producción de metano y la fase de adaptación. Varios autores lo recomiendan por describir estadísticamente con mayor facilidad el crecimiento bacteriano (Nielfa *et al.*, 2015; Solarte Toro *et al.*, 2017; Ware and Power, 2017; Zwietering *et al.*, 1990).

$$P = A \exp^{-\exp\left(\frac{\mu_m(\lambda-t)e_1}{A}+1\right)} \quad (\text{Ecuación 1})$$

En este modelo, la producción de metano es proporcional a la actividad microbiana. P es la predicción de la producción de metano en determinado periodo de tiempo (t), A es el volumen acumulado de metano en un tiempo determinado (mL CH₄ g⁻¹ SV), μ_m es la tasa máxima de rendimiento de metano (mL CH₄ g⁻¹ SV d⁻¹), definida por la tangente de la pendiente en la fase de crecimiento exponencial de las bacterias, y λ es el periodo de adaptación (d) definido por el intercepto de la recta de la pendiente con el eje x (Figura 6).

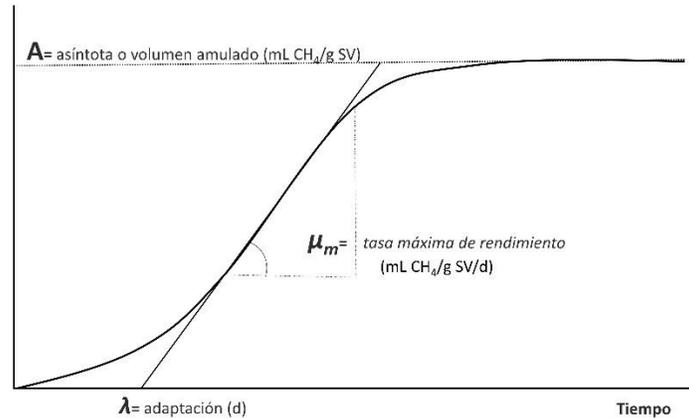


Figura 6. Curva típica del crecimiento bacteriano con base en Zwietering *et al.* (1990).

Al igual que el modelo de Gompertz, otros modelos matemáticos describen el crecimiento microbiano que pueden ser aplicados a la digestión anaeróbica. Entre ellos están los siguientes: Logístico, Richards, Shnute, Stannard, Brody y Bertalanffy. Su uso permite detectar las fases críticas de la digestión anaeróbica como el inicio de producción de biogás y la fase de adaptación de los microorganismos al sustrato; para ello utilizan parámetros biológicos para calcular las predicciones de la curva de crecimiento (Trinidad, 2014; Ware y Power, 2017; Zwietering *et al.*, 1990).

1.2.3. Aprovechamiento de las vinazas del mezcal

La generación de residuos en la agroindustria del mezcal representa un problema de contaminación ambiental y desperdicio de recursos valiosos para los sistemas productivos. El problema se puede atender implementando biodigestores y transformando la energía y nutrientes contenidos en dichos residuos, en biogás y biofertilizante para la agricultura.

1.2.3.1. Producción de energía limpia (biogás)

Algunos estudios han demostrado que la DA es una técnica viable para tratar las vinazas del mezcal. Robles-González *et al.* (2012) hicieron una revisión sobre diferentes métodos de tratamiento y aprovechamiento de vinazas y residuos orgánicos recalcitrantes entre ellos las

vinazas del vino, vinazas de la industria azucarera, aceite de olivo y aguas residuales de la industria de papel. Entre las técnicas más comunes, se encuentran las biológicas y fisicoquímicas. “El principal objetivo de estas técnicas es reducir la carga orgánica, remover o degradar compuestos orgánicos tóxicos a compuestos más susceptibles a la biodegradación con el fin de convertir esos contaminantes en energía y fertilizantes de alto valor” (Robles-González *et al.*, 2012). Algunas de las técnicas descritas por estos autores son: lagunas de deposición, digestión anaeróbica, evaporación, combustión y descarga controlada en el suelo para su uso como fertilizante en la agricultura. De acuerdo con esa revisión, la DA es la técnica que más se ha utilizado debido a los bajos costos de operación, ahorros de aireación, baja producción de lodos y la obtención de subproductos como el biogás.

En sustratos como las vinazas, la producción de biogás es limitada cuando el pH no es regulado, incluso se muestran efectos inhibitorios de la actividad metanogénica cuando el pH es ácido como es el caso de los datos reportados por Gómez *et al.* (2019). El rendimiento diario de biogás por volumen de biodigestor es muy variable de acuerdo con el sistema de tratamiento implementado, continuo o discontinuo. El rango esperado para biodigestores de flujo continuo es $300-700 \text{ L m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (Aguilar y Botero, 2006; Chará, 2002; Martí-Herrero, 2019). A continuación, se presenta un cuadro comparativo con los principales resultados de producción de biogás a partir de vinazas de Agaves (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de la producción de biogás a partir de la DA de vinazas de Agaves

Sustrato/mezcla	Especie de Agave	pH	CH ₄ (%)	RST (mL g ⁻¹ SV)	RV (L m ⁻³)	RVd (L m ⁻³ d ⁻¹)	Referencia
VM (%)							
12		6.2	35	8.5	298	15	
24	<i>A. angustifolia</i>	5.8	22	6.8	279	14	(Gómez <i>et al.</i> , 2019)
36	Haw	4.8	22	0.91	26	1.3	
48		4.5	16	0.63	18	0.9	
100		3.9	0	0	0		
VM + inóculo adaptación	<i>Agave spp.</i>	7	55	217	3162	105	
VM en reactor de lecho fluidizado + inóculo estiércol de vaca + suelo	<i>Agave spp.</i>	7.3	66	NR	1797	227	(Robles-González y Poggi-Varaldo, 2017)
VT reactor a escala Piloto con soporte laminar	<i>A. tequilana</i> Weber	7	65	NR	5933	2966	(Arreola-Vargas <i>et al.</i> , 2018)

Sustrato/mezcla	Especie de Agave	pH	CH ₄ (%)	RST (mL g ⁻¹ SV)	RV (L m ⁻³)	RVd (L m ⁻³ d ⁻¹)	Referencia
VT en reactor de lotes secuenciales + inóculo lodo granular	<i>A. tequilana</i> Weber	7	75	NR	2509	584	(Arreola-Vargas <i>et al.</i> , 2016)
VC	<i>A. americana</i> L.	6.5-8.2	67	NR	4650	450	(Cruz-Salomón <i>et al.</i> , 2017)

RST Rendimiento de biogás por gramo de sólidos totales invertidos en el sistema, RV Rendimiento por volumen del biodigestor, RVd Rendimiento diario de biogás por volumen del biodigestor, VM vinazas del mezcal, VT vinazas del Tequila, VC vinazas del mezcal comiteco, NR no reportado.

Gómez *et al.* (2019) utilizaron mezclas de: 170 g de estiércol de cerdo, 20 g de bagazo de agave angustifolia de 1mm y vinaza de mezcal al 12, 24, 36 y 48% v/v en reactores de 1 L y 0.70 L de volumen de trabajo; usaron agua del grifo para completar el volumen de trabajo en cada mezcla. La temperatura de trabajo fue 35 °C durante 20 días. El tratamiento de vinaza cruda no se mezcló con ningún sustrato. López-Velarde *et al.* (2019) usaron un reactor de 7.40 L de volumen de trabajo, tiempo de retención hidráulica (TRH) de 24 días, reemplazaron el 30% del volumen del biodigestor cada 7 días con vinaza durante 30 días. La mezcla inicial fue una mezcla 7/3 partes de inóculo/vinaza de mezcal. La temperatura de trabajo fue 39 °C. El inóculo fue una combinación de lodo activada de una planta de tratamiento de aguas residuales y vinazas del mezcal colectadas una fábrica artesanal de mezcal en San Luis Potosí.

Robles-González y Poggi-Varaldo (2017) evaluaron el tratamiento de vinazas mezcaleras en un reactor anaerobio de lecho fluidizado, adaptaron un inóculo a las vinazas del mezcal el cual fue preparado a partir de la mezcla de estiércol de vaca, suelo cercano a un palenque donde se descargan vinazas y lodos activados de una planta de tratamiento aerobia, a temperatura mesofílica. Ajustaron el pH a 7.30 con una disolución de NaOH. Los valores de producción de biogás que se muestran en el cuadro corresponden a una carga orgánica de 1.96 mg de O₂ L⁻¹ d⁻¹, con la cual se obtuvieron los mejores resultados.

Arreola-Vargas *et al.* (2016) evaluaron la producción de biogás a partir de vinazas del tequila en un reactor anaerobio de lotes secuenciales y bajo el efecto del pH (7.00 y 8.00) y la temperatura (32 y 35 °C). Usaron lodos granulares de una planta de tratamiento de aguas residuales con proceso aerobio como inóculo. El biodigestor tenía 5.10 L de volumen de trabajo. Los ciclos de digestión duraron de 3 a 9 días, hasta que el grado de remoción de Demanda Química de Oxígeno (DQO) se estabilizó. Ajustaron el pH con una disolución de NaOH y la temperatura fue controlada con “baño de agua”.

Arreola-Vargas *et al.* (2018) estudiaron el efecto de la carga orgánica en el desempeño y la población microbiana de un reactor a escala piloto con soporte laminar y sistema de recirculación. Usaron vinazas del tequila, como inóculo emplearon lodos granulares de una planta de tratamiento de aguas residuales aeróbico.

Cruz-Salomón *et al.* (2017) evaluaron la producción de biogás a partir de vinazas del mezcal Comiteco, para cuya elaboración se utilizó aguamiel fermentado de la planta de agave. Usaron un reactor de flujo ascendente de 4 L y TRH de 10 días. Para su arranque fue inoculado con aguas residuales de una planta de tratamiento. Ajustaron el pH de las vinazas con NaOH en un rango de 6.30-8.20.

1.2.3.2. Usos como biofertilizante

Por sus características fisicoquímicas, las vinazas del mezcal superan los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos de aguas y en el suelo, establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2017 (Diario

Oficial de la Federación, 2018). El pH de las vinazas del mezcal es ácido, inferior a 6.50-8.50 permitido, lo que la hace un sustrato difícil de degradar por medios biológicos y químicos. Su contenido de materia orgánica es alto; por ejemplo, el contenido de demanda química de oxígeno (DQO) ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) supera por mucho los 1,400 $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ permitidos por la ley. En el siguiente cuadro se muestran los valores reportados sobre las características fisicoquímicas de vinazas del mezcal, del tequila y del comiteco a partir de diferentes especies de Agaves (Cuadro 3). El mezcal es elaborado a partir de 51 especies de agave, aunque el 75% usa espadín (*Agave angustifolia* Haw) (CRM, 2019); para el tequila usan Agave azul (*Agave tequilana* Webber) y para el comiteco es un destilado del *Agave americana* L, de la región de Comitán, Chiapas (Cruz-Salomón *et al.*, 2017).

Cuadro 3. Características fisicoquímicas de vinazas del mezcal, del tequila y del mezcal comiteco.

Parámetro	Referencia/valor							
	Villalobos <i>et al.</i> (2009)			López- Velarde <i>et al.</i> (2019)	Gómez <i>et al.</i> (2019)	(Cruz- Salomó n <i>et al.</i> , 2017)	(Morán- Salazar <i>et al.</i> , 2016)	(Sánche z- Lizárraga <i>et al.</i> , 2018)†
pH	3.7	3.6	3.8	4.77	3.8	3.89	3.4-4.5	3.5
CE (dS m^{-1})	2.62	3.88	4.16	NR	NR	4.2	0.00195	3.3
DQO ($\text{g O}_2 \text{ L}^{-1}$)	56.3	60.6	122.9	59.0	107.0	120.2	55.2-66.3	57.8
ST (g L^{-1})	26.8	43.5	94.7	49.2	91.7	71.7	25-50	40.8
SV (g L^{-1})	NR	NR	NR	14.6	72.2	62.9	NR	37.3
Fenoles (mg L^{-1})	478	521	542	NR	NR	476	44-81	806.8
Fructosa (mg L^{-1})	14.8	25.4	50	51	NR	NR	NR	NR
Nitrógeno total (mg L^{-1})	660	843	5,561	126	NR	1600	20-50	200
Fosfato (mg L^{-1})	290	850	1705	300	NR	723	100-700	22.4
K (mg L^{-1})	31.3	77.9	53.9	NR	NR	NR	0.24-0.34	230.8

Parámetro	Referencia/valor							
	Villalobos <i>et al.</i> (2009)			López- Velarde <i>et al.</i> (2019)	Gómez <i>et al.</i> (2019)	(Cruz- Salomó <i>n et al.</i> , 2017)	(Morán- Salazar <i>et al.</i> , 2016)	(Sánchez- Lizárraga <i>et al.</i> , 2018)†
	FI-1	FI-2	FA					
Na (mg L ⁻¹)	7.8	31.8	8.1	NR	NR	NR	NR	10
Mg (mg L ⁻¹)	17.3	42.7	103.7	NR	NR	NR	NR	683.7

FI fábrica industrial 1 Benevía, 2 Fandango, FA fábrica artesanal, CE conductividad eléctrica, DQO demanda química de oxígeno, ST sólidos totales, SV sólidos volátiles, NR no reportado, † Vinazas del tequila.

A pesar de sus características nocivas, debido a la concentración de nutrientes se ha propuesto el uso de vinazas frescas diluidas como fertilizante en soluciones nutritivas para cultivos hidropónicos (Dos Santos *et al.*, 2013). No obstante, a parte de la concentración de elementos en las vinazas para su uso agrícola, el pH y la CE son parámetros que deben regularse. En el caso de que el pH esté fuera de 5.00-6.50, que es el rango para la máxima disponibilidad de nutrientes por las plantas (Urrestarazu, 2015), se puede ajustar mediante sustancias amortiguadoras como el hidróxido de sodio (NaOH) (Gómez *et al.*, 2019) hidróxido de potasio (KOH) (Parra-Huertas, 2015) o hidróxido de calcio (Ca(OH)₂) (Dos Santos *et al.*, 2013). No obstante, si se aplica al suelo éste presenta mayor capacidad amortiguadora. Por ejemplo, Sánchez-Lizárraga *et al.* (2018) evaluaron el efecto de la irrigación de vinazas de tequila en el suelo y en la población de micorrizas. Observaron que el pH del suelo (5.00) disminuyó en el momento de aplicar las vinazas, pero una semana después retornó a su valor original demostrando su capacidad de amortiguamiento.

En cuanto a la CE, su valor aumenta debido a la alta concentración de sales en las vinazas. De acuerdo con Tejada *et al.* (2009), el principal efecto negativo de usar vinazas como fertilizantes es la acumulación de sales y cationes (K, Na, Mg) que incrementan la salinidad

y la toxicidad. Así pues, la concentración de iones contribuirá proporcionalmente a aumentar la CE de la solución nutritiva (Morán-Salazar *et al.*, 2016; Urrestarazu, 2015). Para disminuir la concentración de sales en la solución nutritiva, Sánchez-Lizárraga *et al.* (2018) recomiendan diluir las vinazas para ajustar los requerimientos de cultivos específicos y evitar el exceso de cationes monovalentes. Por otro lado, un proceso de ósmosis inversa es una alternativa para aumentar la concentración de iones en vinazas con el objetivo de utilizar dicha concentración como una solución nutritiva de más fácil manejo y transporte (Silva *et al.*, 2019).

1.2.4. Literatura citada

- Abouelenien, F., Namba, Y., Kosseva, M.R., Nishio, N. y Nakashimada, Y. (2014), “Enhancement of methane production from co-digestion of chicken manure with agricultural wastes”, *Bioresource Technology*, Vol. 159, pp. 80–87.
- Aguilar, F. y Botero, R. (2006), “Los Beneficios Económicos Totales de la Producción de Biogás Utilizando un Biodigestor de Polietileno de Bajo Costo”, *Tierra Tropical*, Vol. 2 No. 1, pp. 15–25.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., *et al.* (2009), “Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays”, *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, Vol. 59 No. 5, pp. 927–934.
- Arreola-Vargas, J., Jaramillo-Gante, E., N., Celis, B., L., Corona-González, *et al.* (2016), “Biogas production in an anaerobic sequencing batch reactor by using tequila vinasses: Effect of pH and temperature”, *Water Science and Technology*, IWA Publishing, Vol. 73 No. 3, pp. 550–556.

- Arreola-Vargas, J., Snell-Castro, R., Rojo-Liera, N.M., González-Álvarez, V. y Méndez-Acosta, H.O. (2018), “Effect of the organic loading rate on the performance and microbial populations during the anaerobic treatment of tequila vinasses in a pilot-scale packed bed reactor”, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, John Wiley and Sons Ltd, Vol. 93 No. 2, pp. 591–599.
- Baena-González, A. (2014), “Aprovechamiento del bagazo de maguey verde (Agave Salmiana) de la agroindustria del mezcal en San Luis Potosí para la producción de hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*)”, *Revista Iberoamericana de Ciencias*.
- Beltrán, F.J., Álvarez, P.M., Rodríguez, E.M., García-Araya, J.F. y Rivas, J. (2001), “Treatment of High Strength Distillery Wastewater (Cherry Stillage) by Integrated Aerobic Biological Oxidation and Ozonation”, *Biotechnology Progress*, American Chemical Society (ACS), Vol. 17 No. 3, pp. 462–467.
- Bonilla-Cárdenas, J.A. y Lemus-Flores, C. (2012), “Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revisión”, *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Vol. 3 No. 2, pp. 215–246.
- Bruun, S., Jensen, L.S., Khanh Vu, V.T. y Sommer, S. (2014), “Small-scale household biogas digesters: An option for global warming mitigation or a potential climate bomb?”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Elsevier Ltd.
- Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L.J., Vecino, K., Rojas, G. y Mantilla, L. (2017), “Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality”, *Bioresource Technology*, Elsevier Ltd, Vol. 239, pp. 311–317.
- Chará, J.D. (2002), “Uso de biodigestores plásticos para el tratamiento de aguas residuales pecuarias en Colombia.”, En: *Biodigestores plásticos de flujo continuo: investigación y transferencia en países tropicales*. Cali, Colombia: Fundación CIPAV, 2002.

Chará, J.D. y Pedraza, G.X. (2009), “Instalación y mantenimiento de biodigestores plásticos”, in Chará, J.D. (Ed.), *Biodigestores Plásticos de Flujo Continuo: Investigación y Transferencias En Países Tropicales*, 2nd ed., Vol. 1, CIPAV, Cali, pp. 79–112.

CRM. (2018), *Informe estadístico 2018*, Oaxaca de Juárez.

CRM. (2019), *El Mezcal “La cultura líquida de México”*. Número 2. Febrero 2019., Oaxaca de Juárez, available at: http://www.crm.org.mx/periodico/PDF/Revista_El_Mezcal2.pdf (accessed 24 June 2019).

Cruz-Salomón, A., Meza-Gordillo, R., Lagunas-Rivera, S. y Ventura-Canseco, C. (2017), “Biogas production potential from a native beverage vinasse of Mexico”, *Waste Technology*, Vol. 5 No. 1, pp. 9–14.

Deublein, D. y Steinhauser, A. (2011), *Biogas from Waste and Renewable Resources*, edited by Second, WILEY, available at: (accessed 25 November 2019).

Diario Oficial de la Federación. (2018), “Proyecto de Modificación de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996”, available at: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5510140&fecha=05/01/2018 (accessed 7 November 2019).

Espinoza-Escalante, F.M., Pelayo-Ortíz, C., Navarro-Corona, J., González-García, Y., Bories, A. y Gutiérrez-Pulido, H. (2009), “Anaerobic digestion of the vinasses from the fermentation of Agave tequilana Weber to tequila: The effect of pH, temperature and hydraulic retention time on the production of hydrogen and methane”, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 33 No. 1, pp. 14–20.

Feng, S., Hou, S., Huang, X., Fang, Z., Tong, Y. y Yang, H. (2019), “Insights into the microbial community structure of anaerobic digestion of municipal solid waste landfill leachate for methane production by adaptive thermophilic granular sludge”,

Electronic Journal of Biotechnology, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Vol. 39, pp. 98–106.

Ferry, J.G. (1993), *Methanogenesis: Ecology, Physiology, Biochemistry & Genetics*, Chapman & Hall, available at: (accessed 29 November 2019).

Fotidis, I.A., Laranjeiro, T.F.V.C. y Angelidaki, I. (2016), “Alternative co-digestion scenarios for efficient fixed-dome reactor biomethanation processes”, *Journal of Cleaner Production*, Elsevier, Vol. 127, pp. 610–617.

García, R., Hernández, S., Ortiz, I. y Cercado, B. (2019), “Use of hydrolysate from agave bagasse for bio-hydrogen production in microbial electrolysis cells”, *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Universidad Autónoma Metropolitana, Vol. 18 No. 3, pp. 865–874.

Garfí, M., Ferrer-Martí, L., Velo, E. y Ferrer, I. (2012), “Evaluating benefits of low-cost household digesters for rural Andean communities”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Elsevier Ltd.

Garfí, M., Martí-Herrero, J., Garwood, A. y Ferrer, I. (2016), “Household anaerobic digesters for biogas production in Latin America: A review”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Pergamon, Vol. 60, pp. 599–614.

Gómez, A.V., Valdez-Vázquez, I., Caballero-Caballero, M., Chiñas-Castillo, F., Alavéz-Ramírez, R. y Montes-Bernabé, J.L. (2019), “Co-digestion of agave *angustifolia* haw bagasse and vinasses for biogas production from mezcal industry”, *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Universidad Autónoma Metropolitana, Vol. 18 No. 3, pp. 1073–1083.

Jobling, B.J., Thai, S.M., Fritz, T., Esteves, S.R., Dindale, R.M. y Guwy, A.J. (2014), “An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food waste”, *Water Research*, Pergamon, Vol. 61, pp. 162–170.

- Kalyuzhnaya, M.G., Collins, D. y Chistoserdova, L. (2019), “Microbial Cycling of Methane”, Reference Module in Life Sciences, Elsevier, available at:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.90670-8>.
- Khanal, S.K. (2009), *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications*, Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications, Wiley-Blackwell, available at:<https://doi.org/10.1002/9780813804545>.
- Lansing, S., Martin, J.F., Botero, R.B., Nogueira da Silva, T. y Dias da Silva, E. (2010), “Wastewater transformations and fertilizer value when co-digesting differing ratios of swine manure and used cooking grease in low-cost digesters”, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 34 No. 12, pp. 1711–1720.
- Li, Y., Zhang, R., Chen, C., Liu, G., He, Y. y Liu, X. (2013), “Biogas production from co-digestion of corn stover and chicken manure under anaerobic wet, hemi-solid, and solid state conditions”, *Bioresource Technology*, Elsevier Ltd, Vol. 149, pp. 406–412.
- López-Velarde, M., Ventura-Ramos, E.J., Rodríguez-Morales, J.A. y Hensel, O. (2019), “Inoculum adaptation for the anaerobic digestion of mezcal vinasses”, *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 35 No. 2, pp. 447–458.
- Lorenzo-Acosta, Y. y Obaya-Abreu, M. (2005), “La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I”, *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, Vol. XXXIX No. 1, pp. 35–48.
- Lyu, Z., Shao, N., Akinyemi, T. y Whitman, W.B. (2018), “Methanogenesis”, *Current Biology*, Cell Press, Vol. 28 No. 13, pp. R727–R732.
- Martí-Herrero, J. (2019), *Biodigestores Tubulares: Guía de Diseño y Manual de Instalación*, edited by RedBioLAC, Ecuador, available at: <http://redbiolac.org/wp-content/uploads/Manual-de-Diseño-e-Instalación-de-Biodigestores-Latinoamericanos-26sep->

color.pdf?utm_source=mailchimp&utm_campaign=0300d482e1f0&utm_medium=p
age (accessed 3 November 2019).

Martí-Herrero, J., Chipana, M., Cuevas, C., Paco, G., Serrano, V., Zymla, B., Heising, K., *et al.* (2014), “Low cost tubular digesters as appropriate technology for widespread application: Results and lessons learned from Bolivia”, *Renewable Energy*, Elsevier Ltd, Vol. 71, pp. 156–165.

Meegoda, J.N., Li, B., Patel, K. y Wang, L.B. (2018), “A review of the processes, parameters, and optimization of anaerobic digestion”, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, MDPI AG, 11 October, available at:<https://doi.org/10.3390/ijerph15102224>.

Morán-Salazar, R.G., Sánchez-Lizárraga, A.L., Rodríguez-Campos, J., Dávila-Vázquez, G., Marino-Marmolejo, E.N., Dendooven, L. y Contreras-Ramos, S.M. (2016), “Utilization of vinasses as soil amendment: consequences and perspectives”, *SpringerPlus*, SpringerOpen, 1 December, available at:<https://doi.org/10.1186/s40064-016-2410-3>.

Murphy, J.D. y Thamsiriroj, T. (2013), “Fundamental science and engineering of the anaerobic digestion process for biogas production”, *The Biogas Handbook: Science, Production and Applications*, Elsevier Inc., pp. 104–130.

Nielfa, A., Cano, R. y Fdz-Polanco, M. (2015), “Theoretical methane production generated by the co-digestion of organic fraction municipal solid waste and biological sludge”, *Biotechnology Reports*, Elsevier B.V., Vol. 5 No. 1, pp. 14–21.

Palma, F., Pérez, P. y Meza, V. (2016), “Diagnóstico de la Cadena de Valor Mezcal en las Regiones de Oaxaca”.

Parra-Huertas, R.A. (2015), “Anaerobic digestión: biotechnological mechanisms in waste water treatments and their application in food industry”, *Producción + Limpia*, Corporación Universitaria Lasallista, Vol. 10 No. 2, pp. 142–159.

- Parra-Orobio, B., Torres-Lozada, P., Marmolejo-Rebellón LF, Cárdenas-Cleves, L., Vásquez-Franco, C., Torres-López, W. y Ordoñez-Andrade, J. (2015), “Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal”, *Ingeniería, Investigación y Tecnología, Universidad Nacional Autónoma de México*, Vol. 16 No. 4, pp. 515–526.
- Parra-Orobio, B.A., Torres-Lozada, P.T., Marmolejo-Rebellón, L.F., Cárdenas-Cleves, L.M., Vásquez-Franco, C., Torres-López, W.A. y Ordóñez-Andrade, J.A. (2014), “Influencia del pH sobre la digestión anaerobia de biorresiduos de origen municipal”, *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, Vol. 17 No. 2 SE-INGENIERÍAS, available at:<https://doi.org/10.31910/rudca.v17.n2.2014.421>.
- Pedraza, G., Chará, J., Conde, N., Giraldo, S. y Giraldo, L. (2002), “Evaluation of polyethylene and PVC tubular biodigesters in the treatment of swine wastewater”, *Livestock Research for Rural Development*, Vol. 14 No. 1, available at: <http://www.lrrd.org/lrrd14/1/Pedr141.htm>.
- Perrigault, T., Weatherford, V., Martí-Herrero, J. y Poggio, D. (2012), “Towards thermal design optimization of tubular digesters in cold climates: A heat transfer model”, *Bioresource Technology*, Vol. 124, pp. 259–268.
- Rashama, C., Ijoma, G. y Matambo, T. (2019), “Biogas generation from by-products of edible oil processing: a review of opportunities, challenges and strategies”, *Biomass Conversion and Biorefinery*, Springer Nature, available at:<https://doi.org/10.1007/s13399-019-00385-6>.
- Robles-González, V., Galíndez-Mayer, J., Rinderknecht-Seijas, N. y Poggi-Varaldo, H.M. (2012), “Treatment of mezcal vinasses: A review”, *Journal of Biotechnology*, Elsevier, Vol. 157 No. 4, pp. 524–546.
- Robles-González, V. y Poggi-Varaldo, H.M. (2017), “Obtención de biometano a partir del tratamiento de vinazas mezcaleras en reactor anaerobio de lecho fluidizado”,

- International Energy Conference, Academia Mexicana de Energía, A.C., Ciudad de México, pp. 323–331.
- Rodríguez, A. y De La Cerna, C. (2017), “El mezcal, su producción y tratamiento de residuos”, *Alianzas y Tendencias*, Vol. 2 No. 8, pp. 10–14.
- Rodríguez, F.J. (2010), Puesta en marcha de un laboratorio para la producción de biogás en Nicaragua, Universidad Carlos III de Madrid, available at: <https://e-archivo.uc3m.es/handle/10016/9951#preview> (accessed 3 November 2019).
- Sánchez-Lizárraga, A.L., Arenas-Montaño, V., Marino-Marmolejo, E.N., Dendooven, L., Velázquez-Fernández, J.B., Dávila-Vázquez, G., Rodríguez-Campos, J., *et al.* (2018), “Vinasse irrigation: effects on soil fertility and arbuscular mycorrhizal fungi population”, *Journal of Soils and Sediments*, Springer Verlag, Vol. 18 No. 11, pp. 3256–3270.
- Dos Santos, J.D., Lopes da Silva, A.L., da Luz Costa, J., Scheidt, G.N., Novak, A.C., Sydney, E.B. y Soccol, C.R. (2013), “Development of a vinasse nutritive solution for hydroponics”, *Journal of Environmental Management*, Vol. 114, pp. 8–12.
- Sayara, T. y Sánchez, A. (2019), “A review on anaerobic digestion of lignocellulosic wastes: Pretreatments and operational conditions”, *Applied Sciences (Switzerland)*, MDPI AG, 1 November, available at: <https://doi.org/10.3390/app9214655>.
- Al Seadi, T., Drosig, B., Fuchs, W., Rutz, D. y Janssen, R. (2013), “Biogas digestate quality and utilization”, *The Biogas Handbook: Science, Production and Applications*, Elsevier Inc., pp. 267–301.
- Sharma, K.R. (2008), “Kinetics and Modeling in Anaerobic Processes”, *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production*, Wiley-Blackwell, Oxford, UK, pp. 65–92.
- Silva, G.A., Ferreira, S.L., de Souza, G.R., da Silva, J.A. y Pagliuso, J.D. (2019), “Utilization of a new approach for the potassium concentration of sugarcane vinasse by reverse

osmosis: case study”, *International Journal of Environmental Science and Technology*, Center for Environmental and Energy Research and Studies, Vol. 16 No. 10, pp. 6441–6446.

Solarte Toro, J.C., Mariscal Moreno, J.P., Aristizábal Zuluaga, B.H., Solarte Toro, J.C., Mariscal Moreno, J.P. y Aristizábal Zuluaga, B.H. (2017), “Evaluación de la digestión y co-digestión anaerobia de residuos de comida y de poda en bioreactores a escala laboratorio”, *Revista Ion, Investigación, Optimización y Nuevos Procesos En Ingeniería*, Universidad Industrial de Santander, Vol. 30 No. 1, pp. 105–116.

Suksong, W., Mamimin, C., Prasertsan, P., Kongjan, P. y O-Thong, S. (2019), “Effect of inoculum types and microbial community on thermophilic and mesophilic solid-state anaerobic digestion of empty fruit bunches for biogas production”, *Industrial Crops and Products*, Elsevier B.V., Vol. 133, pp. 193–202.

Tejada, M., García-Martínez, A.M. y Parrado, J. (2009), “Effects of a vermicompost composted with beet vinasse on soil properties, soil losses and soil restoration”, *Catena*, Vol. 77 No. 3, pp. 238–247.

Thauer, R.K. (1998), “Biochemistry of methanogenesis: a tribute to Marjory Stephenson.”, *Microbiology* (Reading, England).

Thauer, R.K., Hedderich, R. y Fischer, R. (1993), “Reactions and Enzymes Involved in Methanogenesis from CO₂ and H₂”, *Methanogenesis*, Springer US, Boston, MA, pp. 209–252.

Tonanzi, B., Braguglia, C.M., Gallipoli, A., Montecchio, D., Pagliaccia, P., Rossetti, S. y Gianico, A. (2020), “Anaerobic digestion of mixed urban biowaste: The microbial community shift towards stability”, *New Biotechnology*, Elsevier B.V., Vol. 55, pp. 108–117.

Trinidad, A. (2014), “Modelos de crecimiento en biología, su significado biológico y selección del modelo por su ajuste”. Universidad Autónoma Metropolitana-

- Iztapalapa, available at: http://mat.izt.uam.mx/mcmai/documentos/tesis/Gen.11-O/Adalberto_Trinidad.pdf.
- Urrestarazu, M. (2015), Manual Práctico Del Cultivo Sin Suelo e Hidroponía, available at: <https://www.mundiprensa.mx/catalogo/9788484766681/manual-practico-del-cultivo-sin-suelo-e-hidroponia> (accessed 4 December 2019).
- Walsh, J. (1988), Handbook on Biogas Utilization, Environment Health and Safety Division Georgia Tech Research Institute, Atlanta Ga., available at: (accessed 1 June 2022).
- Wang, X., Yang, G., Feng, Y., Ren, G. y Han, X. (2012), “Optimizing feeding composition and carbon-nitrogen ratios for improved methane yield during anaerobic co-digestion of dairy, chicken manure and wheat straw”, *Bioresource Technology*, Vol. 120, pp. 78–83.
- Ware, A. y Power, N. (2017), “Modelling methane production kinetics of complex poultry slaughterhouse wastes using sigmoidal growth functions”, *Renewable Energy*, Elsevier Ltd, Vol. 104, pp. 50–59.
- Wijesinghe, D.T.N., Dassanayake, K.B., Sommer, S.G., Scales, P. y Chen, D. (2019), “Biogas Improvement by Adding Australian Zeolite During the Anaerobic Digestion of C:N Ratio Adjusted Swine Manure”, *Waste and Biomass Valorization*, Springer Netherlands, Vol. 10 No. 7, pp. 1883–1887.
- Xie, Y., Wan, A., Wang, X., Dong, H. y Wu, Y. (2019), “An iron-carbon-activated carbon and zeolite composite filter, anaerobic-aerobic integrated denitrification device for nitrogen removal in low C/N ratio sewage”, *Water Science and Technology*, IWA Publishing, Vol. 80 No. 2, pp. 223–231.
- Xing, B.S., Han, Y., Wang, X.C., Ma, J., Cao, S., Li, Q., Wen, J., *et al.* (2020), “Cow manure as additive to a DMBR for stable and high-rate digestion of food waste: Performance and microbial community”, *Water Research*, Elsevier Ltd, Vol. 168, available at: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115099>.

- Zelaya-Benavidez, E., Toledo, N., Palacios, Y., Andino, F. y Ortiz, W. (2017), “Producción de biogás a partir de la codigestión de estiércol bovino, melaza e inóculo bacteriano”, REDBIOLAC, Vol. 1, pp. 52–57.
- Zhou, M., Yang, H., Zheng, D., Pu, X., Liu, Y., Wang, L., Zhang, Y., *et al.* (2019), “Methanogenic activity and microbial communities characteristics in dry and wet anaerobic digestion sludges from swine manure”, *Biochemical Engineering Journal*, Elsevier B.V., Vol. 152, available at:<https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107390>.
- Zwietering, M., Jongenburger, I., Rombouts, F. y Van 'T Riet, K. (1990), “Modeling of the bacterial growth curve”, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 56 No. 6, pp. 1875–1881.

1.3. Hipótesis

Altas concentraciones de vinazas del mezcal son tóxicas para los cultivos, pero su aplicación en diluciones balanceadas es una alternativa viable para su aprovechamiento como biofertilizante en la agricultura.

Al co-digerir vinazas del mezcal con estiércol de bovino, las propiedades fisicoquímicas serán adecuadas para la DA y la obtención de metano.

Es posible realizar la DA de vinazas del mezcal de manera estable en condiciones reales, obteniendo biogás con calidad combustible y biofertilizante con elementos que pueden ser utilizados para la nutrición de cultivos.

1.4. Objetivos

1.4.1. General

Evaluar el efecto de las vinazas del mezcal en la germinación de semillas de hortalizas y en el rendimiento de cultivos hortícolas, así como su co-digestión anaeróbica con mezclas de estiércol de bovino utilizando biodigestores a escala real, para la obtención de biogás y biofertilizante.

1.4.2. Específicos

Evaluar la fitotoxicidad de las vinazas del mezcal en la germinación de semillas y su efecto biofertilizante en el rendimiento de hortalizas.

Determinar la mejor proporción de co-digestión entre la vinaza del mezcal y el estiércol de bovino para obtener metano en un sistema por lotes.

Evaluar biodigestores tubulares en condiciones reales para producir biogás y biofertilizante a partir de vinazas del mezcal.

**Capítulo 2. Vinazas de mezcal y su efecto biofertilizante en el
rendimiento de hortalizas**

Vinazas de mezcal y su efecto biofertilizante en el rendimiento de hortalizas

Zelaya-Benavidez EA, Martínez-Gutiérrez GA, Escamirosa-Tinoco C, Morales I

Instituto Politécnico Nacional-Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Oaxaca. Hornos No. 1003, Col. Nochebuena, Santa Cruz Xoxocotlán. CP. 71230. Oaxaca, México.

Autor de correspondencia: imoralesg@ipn.mx

Publicado en la revista Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 2021: 8(3)

2.1. Resumen

Las vinazas de mezcal son residuos líquidos recalcitrantes con alta carga orgánica y elementos disueltos, la cual puede ser utilizada en la nutrición de plantas. El objetivo del trabajo fue evaluar la toxicidad de las vinazas de mezcal en la germinación de semillas y su efecto biofertilizante en el rendimiento de hortalizas. Se realizaron dos experimentos en lechuga, tomate y pepino: 1) prueba de fitotoxicidad en la germinación en semillas con diferentes concentraciones de vinaza (2.5, 5, 10, 20, 40, 80 y 100%); y 2). Se evaluó el efecto biofertilizante de las combinaciones de 100-0, 80-20, 40-60 y 20-80% de vinaza y solución nutritiva Steiner, y como testigo el 100% de la solución nutritiva; en ambos experimentos se utilizó un diseño completamente al azar. La concentración del 2.5% de vinaza del mezcal, fue tóxica para las semillas de lechuga a y más del 10% inhibió su germinación. Para semillas de tomate el 20% resultó tóxico y el 80% inhibió su germinación, mientras que en semillas de pepino, el 20% provocó hormesis. La combinación: 40 + 60% de vinaza y solución nutritiva aplicados en la nutrición de lechuga y tomate, alcanzó los máximos valores de todas las variables evaluadas. En pepino, el rendimiento disminuyó de forma lineal al aumentar el porcentaje de vinaza como complemento de la solución nutritiva.

Palabras clave: Biofertilización, fitotoxicidad, residuos de agave, sustrato, solución nutritiva.

2.2. Abstract

Mezcal vinasses are recalcitrant liquid wastes with a high organic load and dissolved elements, which can be used for plant nutrition. The aim of this work was to evaluate the toxicity of mezcal vinasses on seed germination and its biofertilizing effect on vegetable yield. Two experiments were carried out on lettuce, tomato and cucumber: 1) phytotoxicity test on seed germination with different concentrations of vinasses (2.5, 5, 10, 20, 40, 80 and 100%); and 2). The biofertilizing effect of the combinations of 100-0, 80-20, 40-60 and 20-80% of vinasse and Steiner nutrient solution was evaluated, and 100% of the nutrient solution as a control. In both experiments, a completely randomized design was used. The 2.5% concentration of mezcal vinasses was toxic to lettuce seeds and more than 10% inhibited their germination. For tomato seeds, 20% was toxic and 80% inhibited its germination, while in cucumber seeds, 20% caused hormesis. The combination: 40 + 60% of vinasses and nutritive solution applied in the nutrition of lettuce and tomato, reached the maximum values of all the evaluated variables. In cucumber, the yield decreased linearly as the percentage of vinasses increased as a complement to the nutrient solution.

Keywords: Biofertilization, phytotoxicity, agave waste, substratum, nutrient solution.

2.3. Introducción

En los nueve estados de la República Mexicana con denominación de origen del mezcal, se producen anualmente cinco millones de litros de mezcal, de los cuales 4.5 millones (92.3%), son producidos en Oaxaca (CRM 2019). Cada litro de mezcal producido artesanal o industrialmente genera, como subproducto de la fermentación y destilación del agave (Rodríguez y De La Cerna 2017), entre 9 y 15 litros de vinazas (Beltrán *et al.* 2001). Lo que indica que, se vierten al medio ambiente anualmente y sin tratamiento alguno, entre 45 y 54

millones de litros de vinazas, las cuales son residuos líquidos recalcitrantes, con pH ácido y alta carga orgánica (Robles-González *et al.* 2018).

El vertido al suelo de este residuo sin tratamiento, tal como sale del palenque, puede tener efectos tóxicos para el crecimiento de plantas sensibles a la salinidad y nocivo para los microorganismos del suelo como las micorrizas (Sánchez-Lizárraga *et al.* 2018). Al respecto, Sánchez-Lizárraga *et al.* (2018) evaluaron los efectos de la aplicación de vinazas del tequila al suelo con efectos adversos en la población de micorrizas, aumento de la salinidad y disminución del crecimiento de plantas araña (*Chlorophytum comosum*, (Thunb.) Jacques), encontrando que el efecto fitotóxico de las vinazas se debe al incremento de la concentración de sales en el suelo.

Las vinazas presentan propiedades que pueden resultar nocivas como pH ácido, alta concentración de sales, fenoles, compuestos aromáticos (Robles-González *et al.* 2018), alcoholes, ácidos orgánicos (acético, isobutírico, butírico, valérico, caprónico, enántico, caprílico, láurico, palmítico y otros), furanos, alcanos, aldehídos, ésteres, cetonas, y piranos (Rodríguez-Félix *et al.* 2018). Pero también se ha demostrado que las vinazas del mezcal y del tequila contienen elementos como calcio, fósforo, magnesio, nitrógeno y azufre (López-Velarde *et al.* 2020), además de materia orgánica (Robles-González *et al.* 2012). Por lo que, se aplican en el suelo (Morán-Salazar *et al.* 2016) o para el mejoramiento nutricional de compostas (López-López *et al.* 2010). De igual manera, el uso de vinazas del etanol de caña de azúcar diluida al 10% como complemento de una solución nutritiva en el cultivo hidropónico de lechuga, mostró resultados positivos en su crecimiento (Dos Santos *et al.* 2013).

Para reutilizar las vinazas como complemento en la nutrición de cultivos de interés económico, es necesario evaluar su posible fitotoxicidad en diferentes concentraciones. Los bioensayos de germinación en semillas ofrecen indicadores de la respuesta ante sustancias tóxicas contenidas en los residuos (Mendes *et al.* 2021), lo cual puede inhibir o estimular puntos de crecimiento vegetal y elongación o disminución de la raíz (López-Diazguerrero *et*

al. 2013). Al respecto, Da Ros *et al.* (2018), con el fin de determinar el potencial del digestato procedente de precipitados del vino para su uso como fertilizante agrícola, evaluaron su fitotoxicidad en macrófitas dicotiledóneas (*Lepidium sativum* L. y *Sinapis alba* L.) y una monocotiledónea (*Sorghum saccharatum* L.). También, Viveros-Legorreta *et al.* (2018) determinaron la fitotoxicidad de fenoles en lechuga (*Lactuca sativa* L.) liberados por *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. en agua, con efecto estimulante u hormesis en la elongación radical de esta especie. En tanto que Castro-Rivera *et al.* (2020) determinaron el efecto fitotóxico en lechuga del digestato de un biodigestor alimentado con estiércol de bovino y residuos de la cosecha de tomate. Mientras que Rodríguez-Romero *et al.* (2014) al evaluar la calidad del agua de un río contaminado con aguas residuales municipales mediante un ensayo de fitotoxicidad en lechuga encontraron que la elongación radicular fue mayor ante altas concentraciones de nutrientes; sin embargo, la germinación fue inhibida por la presencia de nitrógeno amoniacal. En tanto que Sousa *et al.* (2019) al evaluar la fitotoxicidad de vinazas del vino en ajo (*Allium cepa* L.), lechuga (*L. sativa* L.), berro (*Lepidium sativum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Z. mays* L.) encontraron que concentraciones de vinazas superiores al 20% fueron tóxicas. Mientras que Castro-Lizazo *et al.* (2021) estimaron el efecto fitotóxico y fertilizante de vinazas del vino en el cultivo de tomate. Pero el efecto fitotóxico y biofertilizante de las vinazas de mezcal, en cultivos hortícolas de importancia económica como el tomate (*S. lycopersicum* L.) (Martínez-Damián *et al.* 2019), sensible y tolerante a la salinidad como lechuga (*L. sativa* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) (Urrestarazu, 2004) en zonas mezcaleras del sur de México, aún permanece sin evaluarse. Con base en lo anterior, el objetivo del estudio fue evaluar la toxicidad de las vinazas de mezcal en la germinación de semillas y su efecto biofertilizante en el rendimiento de lechuga, tomate y pepino, en cultivo sin suelo e invernadero.

2.4. Materiales y métodos

Se realizaron dos experimentos independientes. El primero consistió en una prueba de germinación en semillas de lechuga (*L. sativa* L.) cv. Roma[®], tomate (*S. lycopersicum* L.) cv. Pony express F1 (Harris Moran[®]) de habito de crecimiento determinado y pepino (*C. sativus* L.) cv. Americano[®], utilizando diferentes diluciones de vinaza de mezcal y agua. En el segundo, se evaluó la vinaza como complemento de la solución nutritiva en el rendimiento de tomate, pepino y lechuga. Los dos experimentos se hicieron en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, del Instituto Politécnico Nacional (CIIDIR IPN, Unidad Oaxaca), en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México (17° 01 '30.3'' LN y 96° 43' 12.5'' LO, a 1,530 msnm).

2.4.1. Obtención de muestras

La vinaza se obtuvo de la fábrica de mezcal San Pablo (Anexo 1), en el municipio de San Pablo Villa de Mitla, Oaxaca, México (16° 55' LN y 96° 22' LO, a 1 680 msnm), como sale del palenque y depositada en un contenedor de 600 L para su posterior uso.

2.4.2. Experimento 1

De la vinaza colectada, se tomaron 2 L, que se homogenizaron y filtraron en papel filtro Whatman grado 1, de este filtrado se tomó una muestra de 800 mL para su análisis. Se determinó el pH y la conductividad eléctrica (CE) con un potenciómetro y conductímetro integrado digital marca Hanna (Hanna Instruments[®]) mediante la metodología propuesta por Visconti y De Paz (2018). Los resultados fueron: pH 3.84 y CE 3.22 dS m⁻¹. El contenido de nutrientes de la vinaza se obtuvo por los métodos de la AOAC (AOAC 2003), en meq L⁻¹ con valores de: NO₃⁻ 0.68, H₂PO₄ 2.20, K⁺ 1.10, Ca²⁺ 43.30 y Mg²⁺ 20.80.

El efecto fitotóxico de la vinaza se determinó en función de los índices de germinación normalizado (IGN) e índice de elongación radical (IER), así como con los valores de fitotoxicidad, propuestos por Bagur-González *et al.* (2011). Los IGN e IER se obtuvieron con las siguientes ecuaciones (ecuaciones 2 y 3, respectivamente):

$$IGN = \frac{\text{Germx} - \text{GermTestigo}}{\text{GermTestigo}} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde: Germx: es el porcentaje promedio de semillas germinadas en cada dilución de vinaza y GermTestigo: es el porcentaje de semillas germinadas en el testigo.

$$IER = \frac{\text{Elongx} - \text{ElongTestigo}}{\text{ElongTestigo}} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde: Elongx: es la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en dilución de vinaza y ElongTestigo: es la longitud promedio de la radícula de las semillas germinadas en el testigo.

El rango de fitotoxicidad fue de acuerdo con Bagur-González *et al.* (2011) y consistió en: mayor que 0, hormesis o estimula el crecimiento, de 0 a -0.25 baja toxicidad, de -0.25 a -0.50 moderadamente tóxico, de -0.50 a -0.75 muy tóxico de -0.75 a -1.00 altamente tóxico. Para esta prueba, las semillas de las tres especies se depositaron en placas Petri sobre papel filtro grado 1 (Whatman) humedecido con 7 mL de cada dilución (Anexo 2). Se hicieron seis diluciones de vinaza en agua que correspondieron a los tratamientos (Cuadro 4) y como testigo absoluto; únicamente agua destilada y testigo relativo, la vinaza al 100% sin diluir, con cuatro repeticiones por tratamiento y 15 semillas por repetición de acuerdo con Wang (1991).

Cuadro 2. Potencial de hidrógeno (pH) y conductividad eléctrica de las diluciones de vinaza del mezcal utilizadas en la prueba de germinación de semillas de lechuga, tomate y pepino.

% de vinaza	pH	Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)
0	5.46 ± 0.11	0.01 ± 0.00
2.5	3.88 ± 0.01	0.53 ± 0.01
5	3.83 ± 0.01	0.97 ± 0.07
10	3.82 ± 0.01	1.49 ± 0.03

% de vinaza	pH	Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)
20	3.78 ± 0.01	2.51 ± 0.06
40	3.75 ± 0.01	5.59 ± 0.13
80	3.72 ± 0.02	9.14 ± 0.10
100	3.67 ± 0.01	10.91 ± 0.26

±: desviación estándar.

2.4.3. Experimento 2

Se utilizaron semillas de *L. sativa* L., *S. lycopersicum* L. y *C. sativus* L., de las variedades utilizadas en el experimento 1, que se germinaron en charolas de poliestireno expandido de 200 cavidades, utilizando como sustrato una mezcla de turba *Sphagnum* + Agrolita (70:30 v/v); treinta días después de la germinación, se realizó el trasplante a bolsas de polietileno negro de 18 L que tenían como sustrato bagazo de agave mezcalero compostado y cribado, cuyo tamaño de partícula fue de 0.42 - 1.18 mm, CE 1.37 dS m⁻¹ y pH 5.32, de acuerdo a lo recomendado por Martínez-Gutiérrez *et al.* (2013). Las bolsas se colocaron en un invernadero tipo multicapilla de 10 x 20 x 4.50 m de ancho largo y alto, respectivamente. La densidad de siembra fue de 5, 4 y 2.5 plantas m⁻², para la lechuga, tomate y pepino, en el mismo orden. Por presentar diferentes métodos de manejo de cultivo, cada hortaliza se agrupó de manera independiente y las tres especies estudiadas estuvieron contiguas. En cada grupo, la distribución fue completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento, cada unidad experimental consistió en dos plantas por bolsa para tomate y lechuga, y una para pepino (Anexo 3).

El contenido de elementos de la vinaza y del agua de riego se determinó por los métodos de la AOAC (AOAC 2003) y fueron: pH 3.84, CE 3.22 dS m⁻¹, NO₃⁻ 1.50, H₂PO₄⁻ 2.20, Ca²⁺ 43.30, K⁺ 1.10 y Mg²⁺ 20.80 meq L⁻¹; y pH 7.82 y CE 0.64 dS m⁻¹, NO₃⁻ 1.60, K⁺ 1.18, Ca²⁺ 4.51, Mg²⁺ 1.56 y SO₄⁻ 0.05 meq L⁻¹; B 0.31, Fe 0.11, Mn 0.034, Cu 0.002 y Zn 0.02 mg L⁻¹; respectivamente. Los resultados del análisis de agua se utilizaron para realizar el ajuste de nutrientes de la solución nutritiva de acuerdo con Steiner (1961).

Los tratamientos fueron cuatro combinaciones de vinazas diluidas en agua de riego, suministrados mediante fertirriego con goteros de 8 L h⁻¹, suministrando 3.2 L bolsa⁻¹ por día en tomate y pepino, y 2.4 L bolsa⁻¹ por día en lechuga, con sus respectivos porcentajes de la solución nutritiva Steiner (Steiner, 1961) y su equivalente de KNO₃⁻ (Cuadro 5) y como testigo el 100% de la solución nutritiva (NO₃⁻ 12, H₂PO₄⁻ 1, K⁺ 7, Ca²⁺ 9 y Mg²⁺ 4, SO₄²⁻ 7 meq L⁻¹.) La concentración del 100% de vinaza en el tratamiento 1 y; en los otros tres tratamientos que contenían vinazas, se refiere al volumen máximo de vinaza agregado y que se obtuvo de acuerdo con la concentración de nitrógeno, que fue el elemento menos abundante en la vinaza. Para el tratamiento 1, el volumen de vinaza fue de 208 L y se aforó con 792 L de agua para el volumen final de 1000 L. Debido al bajo contenido de nitrógeno y potasio en la vinaza, en los cuatro tratamientos se agregó el correspondiente de nitrato de potasio y se ajustaron los valores de pH con ácido nítrico de acuerdo con Urrestarazu (2004) a un rango entre 5.5 y 6.5.

Cuadro 3. Tratamientos utilizados en la biofertilización de lechuga, tomate y pepinos cultivados en invernadero y parámetros fisicoquímicos.

Tratamiento	Dilución (L)		SN (%)	KNO ₃ (g)	pH	CE (dS m ⁻¹)
	Vinaza	Agua				
1	208 (100)*	792	0	693.87	6.56	0.92
2	166 (80)	834	20	556.71	6.96	1.19
3	83 (40)	917	60	280.78	6.74	1.14
4	42 (20)	958	80	140.79	6.56	1.01
Testigo	-	1000	100	303	6.81	1.85

CE: conductividad eléctrica; SN: Solución nutritiva (Steiner, 1961): *fuera de paréntesis, indica los litros de vinaza y entre paréntesis el porcentaje de vinaza utilizado en cada tratamiento.

El volumen de riego aplicado dependió de la etapa fenológica de cada cultivo y de las condiciones climáticas en el interior del invernadero (temperatura diurna promedio 27 °C,

nocturna 20 °C y humedad relativa de 62.8 %). Las variables climáticas se registraron durante todo el ciclo de cultivo cada 5 min las 24 h del día, con sensores HOBO® ProV2 (Onset, EUA). También, se procuró un drenaje de 20 a 30% respecto al volumen aplicado.

Se realizaron las siguientes prácticas de manejo: eliminación de malezas de forma manual una vez por semana, podas de formación en pepino y tomate; además, control de mildiu polvoriento (*Pseudoperonospora cubensis*) en pepino y tizón tardío (*Phytophthora infestans*) en tomate con oxiclورو de cobre (Cupravit®) en dosis de 3 kg ha⁻¹, el control de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en tomate se realizó con bifentrina (Binder®) en dosis de 0.5 L ha⁻¹. Las enfermedades y plagas se controlaron de acuerdo con las recomendaciones de Carrasco y Sandoval (2016) para lechuga, Nieto y Velasco (2006) para tomate y López-Elías *et al.* (2011) en pepino.

2.4.4. Análisis de datos

Las variables evaluadas se midieron a las 12 semanas después del trasplante (sdt) y fueron; en lechuga, altura de la planta (cm), con una cinta métrica flexible marca Truper®, número de hojas por conteo directo antes del corte, peso fresco y seco (g), mediante una estufa de aire forzado a 70 °C hasta peso constante y rendimiento total (kg m⁻²). En tomate, la altura de la planta se midió en cm con una cinta métrica flexible marca Truper® y se cosecharon siete racimos. El rendimiento total fue la suma de los siete racimos (kg m⁻²). En pepino, el peso del fruto (g) y rendimiento total (kg m⁻²) se obtuvo en seis cortes, con una balanza analítica digital (modelo MS-L, Marca Metter Toledo®) (Anexo 4).

Se realizó un análisis descriptivo del efecto fitotóxico por medio de los índices de toxicidad de IGN e IER y una prueba de correlación de Pearson para comprobar la relación entre la CE y los valores de IGN e IER. Se comprobaron los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (prueba de Levene) de los datos previo al análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias entre tratamientos en cada cultivo; posteriormente se realizó un análisis de comparación de medias para las variables evaluadas en el cultivo de

lechuga, tomate y pepino (Tukey, $\alpha \leq 0.05$) (García-Villalpando *et al.* 2001). En todos los análisis, se usó el paquete estadístico SPSS versión 23 (IBM 2015).

2.3. Resultados y discusión

2.3.1. Experimento 1: efecto fitotóxico de las vinazas del mezcal en semillas de hortalizas

En semillas de lechuga, la concentración de 2.5% de vinaza del mezcal tuvo baja toxicidad, pero con concentraciones superiores a 5%, mostraron toxicidad moderada en el índice de germinación normalizada (IGN) (Figura 7a) y toxicidad baja para el índice de elongación radical normalizado (IER) (Figura 7b). A partir del 10% de concentración de vinaza, el nivel de toxicidad para lechuga fue alto con inhibición completa de la germinación, lo que indica que la vinaza del mezcal en 2.5 y 5% de concentración disminuye el IGN e IER para las semillas de esta especie, y a partir del 10% de concentración las inhiben de forma completa.

Para el tomate, las concentraciones menores o igual al 10% de vinaza, presentaron baja toxicidad, mientras que concentraciones entre 20 y 40% fueron moderadamente tóxicas y muy tóxicas, respectivamente; mientras que las concentraciones del 80 y 100% inhibieron la germinación. Para las semillas de pepino, las bajas concentraciones de vinazas no tuvieron un comportamiento claro, pero la concentración al 40 % de vinaza fue muy tóxica. Tanto en los valores de IGN (Figura 7a) como de IER (Figura 7b) el comportamiento fue similar. En las concentraciones de 80 y 100% de vinaza hubo germinación de las semillas de pepino, pero el índice IGN y IER fueron altamente tóxico y muy tóxico, respectivamente.

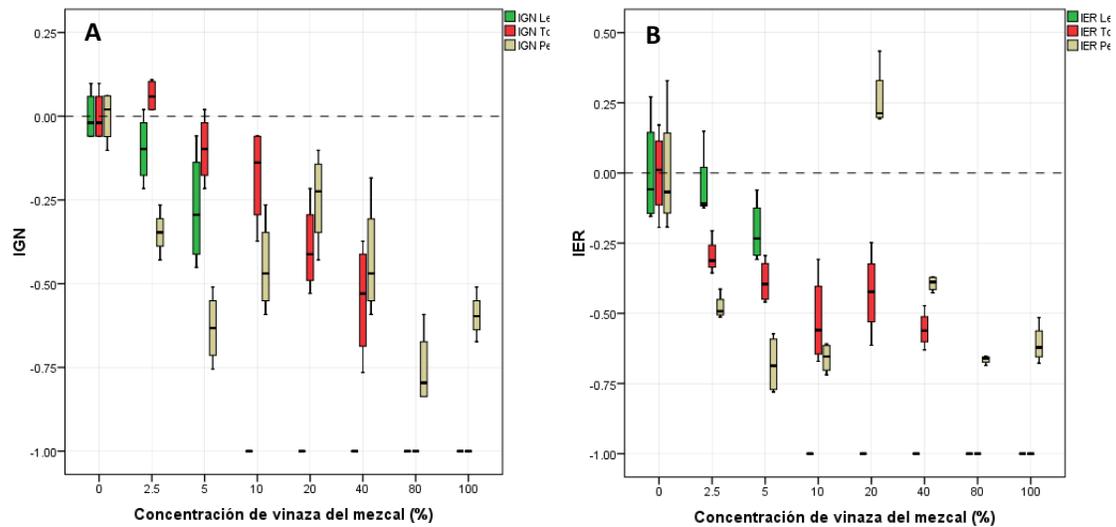


Figura 7. Efecto de las concentraciones de vinazas del mezcal, sobre: a) índice de germinación residual normalizada (IGN) y b) índice de elongación radical (IER) en semillas de lechuga, tomate y pepino.

Las semillas evaluadas tuvieron comportamientos diferentes en el índice de toxicidad, las semillas de lechuga fueron las más afectadas, seguidas del tomate y el pepino. Para la lechuga, la afectación se tuvo con 2.5% de vinaza, mientras que para el tomate y pepino fue al 5%. La inhibición de la germinación de las semillas por la vinaza, se debe al elevado contenido de sales, que impiden la imbibición de las semillas por la presión osmótica que ejercen en el medio (Meza *et al.* 2007), por lo que el embrión puede tardar más tiempo en activar enzimas como la arginina, encargada de romper la latencia (Goykovic y Saavedra 2007). Sin embargo, en pepino la activación de arginina se da incluso ante estrés por salinidad, el cual es clave para formar enzimas que hidrolizan carbohidratos, lípidos y proteínas presentes en los cotiledones, que nutren a la plántula en su etapa pre-autótrofa (Du *et al.* 2021). Por otro lado, la tolerancia a la salinidad es menor en semillas de lechuga (Gerber *et al.* 2017), lo cual explica las diferencias en los valores de los índices de germinación y elongación radical obtenidos en este estudio.

Para el pepino, el IER indica estimulación del crecimiento radicular u hormesis al 20% de concentración de vinazas (Figura 1B). Al respecto, el contenido de fenoles y ácidos orgánicos

de las vinazas del mezcal (Robles-González *et al.* 2018) pueden actuar como estimuladores de crecimiento en dosis bajas (Jasso-de Rodríguez *et al.* 2019) y tóxicas en dosis altas (López-Diazguerrero *et al.* 2013, Sousa *et al.* 2019), sobre todo en los puntos de crecimiento radical (Viveros-Legorreta *et al.* 2018). Por el contrario, la concentración de sales puede tener un efecto inhibitorio en la germinación de semillas de algunas especies (Da-Ros *et al.* 2018) y estimulante en otras, dependiendo de su tolerancia a la salinidad (Urrestarazu 2004). El índice más sensible fue el IER con menor variabilidad en los resultados, como se ha demostrado en otros estudios (Bagur-González *et al.* 2011). Las vinazas en concentraciones superiores al 2.5% son tóxicas para las tres especies, siendo el pepino la especie más tolerante y la lechuga la más sensible.

2.3.1.1. Correlación entre la CE y los índices de toxicidad

El IGN de las tres especies estudiadas mostró correlación negativa con la CE ($p \leq 0.01$). Para el IER de lechuga y tomate se observó una correlación negativa con la CE ($p \leq 0.01$). Para el pepino la correlación entre IER y CE fue baja y no significativa ($p \leq 0.060$), explicado por la hormesis ante el 20% de concentración (Figura 7b). El coeficiente de correlación entre CE y ambos índices fue mayor en el tomate que en lechuga y pepino (Cuadro 6). Estos resultados indican que a medida que aumentó la concentración de sales en el medio de germinación, la emergencia y la elongación radical disminuyeron.

Cuadro 4. Correlaciones entre CE y los índices de toxicidad IGN e IER en las pruebas de germinación de semillas de lechuga, tomate y pepino.

Correlación		IGN			IER		
		Lechuga	Tomate	Pepino	Lechuga	Tomate	Pepino
CE (dS m ⁻¹)	Correlación de Pearson	-0.665**	-0.955**	-0.576**	-0.663**	-0.893**	-0.336
	Sig. (bilateral)	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.060

Correlación	IGN			IER		
	Lechuga	Tomate	Pepino	Lechuga	Tomate	Pepino

**La correlación es significativa en el nivel 0.01 (2 colas). IGN: Indicador de germinación residual normalizado, IER: Indicador de elongación radical residual normalizado, *. La correlación es significativa en el nivel 0.05. n=32

2.3.2. Experimento 2: efecto de las vinazas en el rendimiento en las hortalizas evaluadas

2.3.2.1. Lechuga

Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos, para todas las variables de lechuga evaluadas. La altura de la planta fue significativamente mayor en T3, que contenía 40% de vinaza más 60% de SN. A la vez, este mismo tratamiento, no mostró diferencia significativa con el testigo (100% SN) para número de hojas, peso fresco y seco por planta y el rendimiento (Cuadro 7). Fue en los tratamientos T1 y T4 (100-0 y 20-80% vinaza y SN, respectivamente, en los que se obtuvieron los valores más bajos en las variables evaluadas.

Cuadro 5. Variables evaluadas de lechuga cultivada con diferentes combinaciones de vinazas y solución nutritiva en invernadero.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Número de hojas	Peso fresco	Peso seco	Rendimiento (kg m ⁻²)
			g planta ⁻¹		
1	29.92 ± 1.44 ^b	15.12 ± 0.66 ^{ab}	392.74 ± 50.05 ^b	28.14 ± 4.04 ^b	1.96 ± 0.73 ^b
2	31.57 ± 1.75 ^b	22.32 ± 0.66 ^a	434.60 ± 71.70 ^b	30.84 ± 7.11 ^{ab}	2.18 ± 0.49 ^b
3	39.93 ± 2.26 ^a	21.60 ± 1.34 ^a	485.76 ± 54.79 ^{ab}	36.22 ± 5.51 ^{ab}	2.42 ± 0.68 ^{ab}
4	30.25 ± 2.83 ^b	13.68 ± 1.07 ^b	392.10 ± 45.99 ^b	26.44 ± 3.97 ^b	1.96 ± 0.53 ^b
Testigo	31.57 ± 2.73 ^b	15.72 ± 2.00 ^{ab}	558.78 ± 46.78 ^a	40.02 ± 4.05 ^a	2.80 ± 0.56 ^a
DMS	2.79	1.54	124.34	11.23	0.62

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Número de hojas	Peso fresco	Peso seco	Rendimiento (kg m ⁻²)
			g planta ⁻¹		
CV (%)	12.96	21.52	22.17	32.71	22.17

n= 5.0. ±: desviación estándar. Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). DMS= diferencia mínima significativa. CV= coeficiente de variación.

La altura de la planta de lechuga alcanzó 39.93 cm a las 12 sdt, superior a los 32.00 cm reportado por Martínez *et al.* (2015) en lechugas cv. Roma cultivadas sobre el suelo con fertilización convencional bajo invernadero a las 11 sdt, y también superior a los resultados obtenidos por Dos Santos *et al.* (2013), al evaluar el efecto de las vinazas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) con fertilización hidropónica de lechuga, con altura de 13.90 cm a las seis sdt al aplicar una dilución del 10% de vinazas. Esto último se puede deber a que en el presente experimento se tuvo el doble de semanas que el reportado por Dos Santos *et al.* (2013). Las 21.60 hojas obtenidas en el tratamiento 3, fue menor a las 45 hojas alcanzado por Martínez *et al.* (2015) con fertilización convencional bajo invernadero a las 11 sdt. El mayor peso fresco (558.78 y 485.76 g planta⁻¹), obtenidos con el tratamiento testigo y con el T3, respectivamente, fue menor a lo reportado por Martínez *et al.* (2015) para lechuga (810.91 g planta⁻¹) a las 11 sdt; mientras que el rendimiento de 2.80 y 2.42 kg m⁻² con estos mismos tratamientos, fueron menores al obtenido por Martínez *et al.* (2015) con 7.80 kg m⁻² con la misma densidad de siembra. Estas diferencias en el rendimiento se deben, evidentemente, al mayor peso fresco por planta que dichos autores obtuvieron en cultivo sobre suelo con fertilización convencional, en invernadero con control pasivo del clima y en un ambiente más favorable para el cultivo de lechuga. Estos resultados evidencian la viabilidad de utilizar las vinazas de la agroindustria del mezcal, en diluciones del 40 % para el cultivo de lechuga, combinada con el 60% de la solución nutritiva.

2.3.2.2. Tomate

En el cultivo de tomate, se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos en la altura de planta y el rendimiento. El testigo y los tratamientos 2 y 3, con 80-20 y 40-60% de vinaza y solución nutritiva, respectivamente, las plantas fueron más altas sin diferencias significativas entre estos tratamientos. Contrariamente, la menor altura se obtuvo con el tratamiento 1, que contenía el 100% de vinaza, sin solución nutritiva (Cuadro 8). El mayor rendimiento del tratamiento 3, sin diferencia estadística con el testigo, indica que se puede usar la vinaza hasta el 40% sin afectar el rendimiento del tomate.

Cuadro 6. Variables de crecimiento y rendimiento de tomate y pepino con diferentes combinaciones de vinazas y solución nutritiva.

Tratamientos	Tomate		Pepino	
	Altura de planta (cm)	Rendimiento (kg m ⁻²)	Peso de fruto ⁻¹ (g)	Rendimiento (kg m ⁻²)
1	95.80 ± 10.12 ^b	7.74 ± 0.62 ^b	254.71 ± 27.22 ^b	6.39 ± 2.31 ^c
2	110.40 ± 10.48 ^{ab}	7.93 ± 0.48 ^b	267.09 ± 31.92 ^b	9.10 ± 2.75 ^c
3	104.00 ± 11.04 ^{ab}	9.14 ± 0.55 ^a	318.41 ± 46.87 ^{ab}	14.84 ± 1.99 ^b
4	100.00 ± 12.02 ^b	7.56 ± 0.76 ^b	376.82 ± 72.80 ^a	15.70 ± 2.21 ^b
Testigo	121.20 ± 18.94 ^a	8.58 ± 0.59 ^a	283.98 ± 27.88 ^b	19.72 ± 1.45 ^a
DMS	19.10	2.48	66.08	7.23
CV (%)	14.24	19.89	20.20	35.32

n= 5.0. ±: desviación estándar. Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). DMS= diferencia mínima significativa. CV= coeficiente de variación.

Los tratamientos 2 y 3, que contenían 80-20 y 40-60% de vinaza y solución nutritiva, respectivamente, estimularon que las plantas de tomate alcanzaran alturas de 110.40 y 104.00 cm, valores que son estadísticamente similares al testigo que tuvo 121.20 cm. Siendo estos resultados similares a lo reportado por Jasso-de Rodríguez *et al.* (2019) para tomate tipo

saladette en el mismo periodo de tiempo después del trasplante (120 cm) y mayor a lo reportado por Roque-Enríquez *et al.* (2021) quienes tuvieron 86.80 cm de altura en plantas de tomate cultivadas en bolsas de polietileno de 10 L con una mezcla de peat moss y perlita, irrigadas con solución nutritiva Steiner. Para el rendimiento se cosecharon siete racimos, los mayores resultados se tuvieron con los tratamientos T3 y el testigo, los cuales produjeron 9.14 y 8.58 kg m⁻² equivalente a 2.40 y 2.15 kg planta⁻¹, respectivamente; resultados que fueron similares a los 9.30 kg m⁻² obtenidos por Jasso-de Rodríguez *et al.* (2019) en cultivo hidropónico de tomate sobre bolsas de plástico con perlita y peat moss 1:1, pero inferiores a los 11.17 y 13.60 kg m⁻² obtenidos por García-León *et al.* (2018) en tomates de variedades tradicionales de crecimiento indeterminado cultivados sobre suelo y fertilizados de manera convencional. Estas diferencias se deben al tipo de variedades y el sustrato utilizado ya que en el presente estudio se usó una variedad de crecimiento determinado y sustrato a base de bagazo de agave compostado en bolsas de polietileno. Los resultados obtenidos, muestran la posibilidad de utilizar la combinación del 40% de vinazas con 60% de solución nutritiva para el cultivo de tomate sin afectar el rendimiento.

2.3.2.3. Pepino

Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre tratamientos para el peso del fruto y rendimiento de pepino. Los tratamientos 3 y 4, con 40-60 y 20-80% de vinaza y solución nutritiva, respectivamente; no presentaron diferencias significativas. Los tratamientos 3 y 4 tuvieron los frutos de mayor peso en relación con los demás tratamientos con 318 y 376 g, respectivamente. El mayor rendimiento de frutos lo tuvo el tratamiento testigo que fue diferente estadísticamente a los tratamientos con vinaza, observándose que el rendimiento disminuyó con el incremento en la cantidad de vinaza (Figura 8).

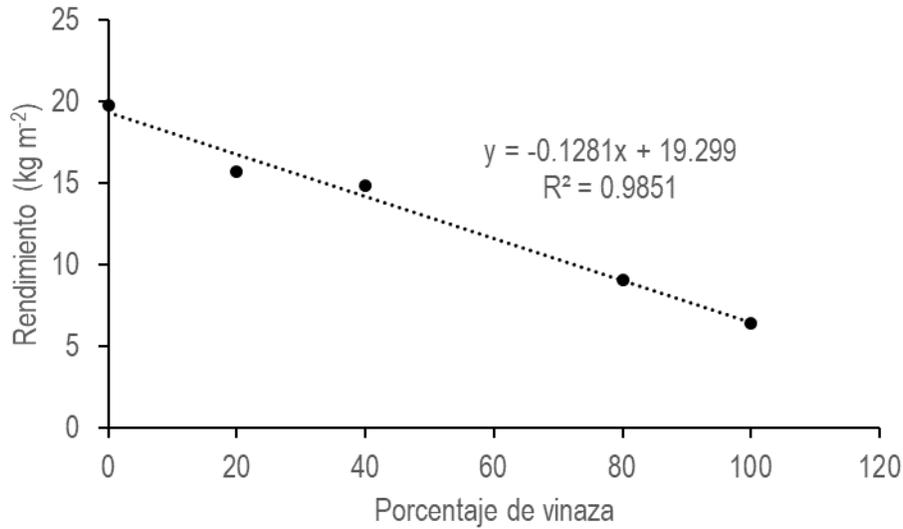


Figura 8. Rendimiento de pepino como respuesta a las combinaciones de vinazas y solución nutritiva en invernadero.

El mayor peso de frutos se obtuvo con los tratamientos 3 y 4 con 318.71 y 376.82 g, respectivamente; los cuales son similares a lo reportado por López-Elías *et al.* (2011) con 337.00 g en pepino del mismo tipo que el presente estudio cultivado en suelo bajo invernadero y fertilizado de manera convencional, pero superiores a los 205.50 g alcanzado por Del Busto *et al.* (2018). El rendimiento de esta hortaliza fue significativamente superior para el testigo, que produjo 19.72 kg m⁻². Para los tratamientos que contenían vinazas en su solución nutritiva, se tuvieron dos grupos significativamente diferentes entre T3 y T4, y entre T1 y T2, con rendimientos intermedios (14.84 y 15.70 kg m⁻²) y bajos (6.39 y 9.10 kg m⁻²), respectivamente. Los rendimientos de pepino de los tratamientos T3 y T4, estuvieron cercanos a los 16.30 kg m⁻² encontrados por López-Elías *et al.* (2011) en siembra directa bajo invernadero. Si bien, el tratamiento T2 que contenía 80% de aporte de nutrientes de vinazas de mezcal obtuvo rendimiento bajo en el presente estudio, se acerca a lo reportado por Del Busto *et al.* (2018) con 11.38 kg m⁻² de pepino americano en siembra directa y fertilizado de manera convencional. De manera general, el rendimiento de esta especie vegetal disminuyó

de forma lineal ($R^2 = 0.98$, $p \leq 0.01$) y proporcional al aumento del porcentaje de vinaza en la solución nutritiva.

Los nutrientes disueltos en las vinazas, liberados de las estructuras orgánicas del agave durante la cocción y fermentación, como nitrógeno (Robles-González *et al.* 2018), potasio (Silva *et al.* 2019), calcio, sodio, magnesio, cobre, hierro, zinc (Sánchez-Lizárraga *et al.* 2018) se presentan en forma asimilable por las plantas y contribuyeron a complementar las soluciones nutritivas utilizadas en el cultivo de lechuga, tomate y pepino de este estudio. Pero al aumentar la concentración de vinaza, como en los tratamientos T1 y T2, los compuestos fenólicos, alcoholes y ácidos orgánicos presentes (Sánchez-Lizárraga *et al.* 2018) pueden afectar los puntos de elongación radical, como lo obtenido en el experimento 1 y reportado por Sousa *et al.* (2019), así como afectar el desarrollo del cultivo y su rendimiento. Para reducir los efectos adversos de la vinaza del mezcal en hortalizas, sería recomendable realizar un pretratamiento para eliminar o disminuir la concentración de dichos compuestos nocivos; ya sea por medios físicos como la ósmosis inversa (Silva *et al.* 2019) o por medios biológicos como la digestión anaeróbica (Morán-Salazar *et al.* 2016).

2.4. Conclusiones

La concentración del 2.5% de vinaza del mezcal fue tóxica para las semillas de lechuga y mayor del 10% inhibió su germinación. Para las semillas de tomate y pepino el 20% fue tóxico, mientras que el índice de germinación y de elongación radicular, disminuyen al aumentar la concentración de vinazas. En semillas de tomate y pepino el 2.5 y 20%, respectivamente provocaron hormesis; mientras que concentraciones mayores del 10% inhiben la germinación de las semillas de lechuga. El mayor rendimiento de lechuga y tomate se tuvo con 40 + 60% de vinazas y solución nutritiva, mientras que, en pepino, se encontraron los mayores rendimientos con 40 + 60 y 20 + 80% de vinazas y solución nutritiva, pero fue menor que el que tuvo el testigo. El rendimiento de pepino disminuyó de forma lineal y

proporcional al aumentar el porcentaje de vinazas del mezcal como complemento de la solución nutritiva.

2.5. Agradecimientos

Al Instituto Politécnico Nacional, por el financiamiento otorgado al proyecto SIP- 20200681, al CONACYT por la beca 565495 para estudios Doctorales, a la Ing. Gabriela Robles por apoyar en establecimiento del experimento y al señor Valeriano Ortega por proveer las vinazas y el bagazo de agave utilizado en este estudio.

2.6. Literatura citada

AOAC (2003), “Official Methods of Analysis”. 17th edn. Vol.I.17th ed. Association of Analytical Washington, DC, USA.

Bagur-González M.G., Estepa-Molina C., Martín-Peinado F., y Morales-Ruano S. (2011), “Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn in soluble-in-water saturated soil extracts from an abandoned mining site”. *Journal of Soils and Sediments* 11: 281-289.

Beltrán F.J., Alvarez P.M., Rodríguez E.M., García-Araya J.F., y Rivas J. (2001), “Treatment of high strength distillery wastewater (Cherry stillage) by integrated aerobic biological oxidation and ozonation”. *Biotechnology Progress* 17: 462-467. DOI: 10.1021/bp010021c.

Carrasco G., y Sandoval C. (2016),” Manual práctico del cultivo de la lechuga”. Mundi-prensa. México. 148p.

Castro-Lizazo I., Díez-Rojo M.A., González-López M.R., y López-Pérez J.A. (2021), Germinación, fitotoxicidad y efecto nematocida de la vinaza de vino, un subproducto de

la industria vinícola. Revista de Protección Vegetal 36.

Castro-Rivera R., Solís-Oba M.M., Chicatto-Gasperín V., y Solís-Oba A. (2020), Biogas production through co-digestion of cattle waste and agricultural residues of tomato cultivation (*Solanum lycopersicum L.*). Revista Internacional de Contaminacion Ambiental 36: 529-539.

CRM (2019), “El Mezcal. La cultura líquida de México”. Número 2. Febrero 2019. Oaxaca de Juárez. http://www.crm.org.mx/periodico/PDF/Revista_El_Mezcal2.pdf. Fecha de consulta: 25 de junio de 2019.

Da Ros C., Libralato G., Ghirardini A.V., Radaelli M., y Cavinato C. (2018), “Assessing the potential phytotoxicity of digestate from winery wastes”. Ecotoxicology and Environmental Safety 150: 26-33.

Del Busto A.C., Santana B.Y., González B.F., Dominguez G.J., López Q.Y., Diaz B.M., Hidalgo V.Y., y Cabrera J.E. (2018), “Agronomic evaluation of cucumber hybrids under house of culture”. Pinar del Río, Cuba. Centro Agrícola 45: 88-91.

Dos Santos J.D., Lopes da Silva A.L., da Luz Costa J., Scheidt G.N., Novak A.C., Sydney E.B., y Soccol C.R. (2013), “Development of a vinasse nutritive solution for hydroponics”. Journal of Environmental Management 114: 8-12.

Du C., Li H., Liu C., y Fan H. (2021), “Understanding of the postgerminative development response to salinity and drought stresses in cucumber seeds by integrated proteomics and transcriptomics analysis”. Journal of Proteomics 232: 104062. DOI: 10.1016/J.JPROT.2020.104062.

García-León Á., Robledo-Torres V., Mendoza-Villarreal R., Ramírez-Godina F., Valdez-Aguilar L.A., y Gordillo-Melgoza F.A. (2018), “Producción de variedades tradicionales de tomate con acolchado en invernadero”. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 5: 303-308.

- García-Villalpando J.A., Castillo-Morales A., Ramírez-Guzmán M.E., Rendón-Sánchez G., y Larqué-Saavedra M.U. (2001), “Comparación de los procedimientos de Tukey, Duncan, Dunnett, Hsu y Bechhofer para selección de medias”. *Agrociencia* 35: 79-86.
- Gerber M.D., Lucia T., Correa L., Neto J.E.P., y Correa É.K. (2017), “Phytotoxicity of effluents from swine slaughterhouses using lettuce and cucumber seeds as bioindicators”. *Science of The Total Environment* 592: 86-90.
- Goykovic V., y Saavedra G. (2007), “Algunos efectos de la salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo”. *Idesia* 25: 47-58.
- IBM Corp. Released (2015), “IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0”. Armonk, NY: IBM Corp.
- Jasso-de Rodríguez D., Alfonso-Cuevas C.F., Rodríguez-García R., Ramírez H., Díaz-Jiménez L., Villarreal-Quintanilla J.A., y Juárez-Maldonado A. (2019), “Extractos de plantas del semidesierto en la inducción del crecimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)”. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 7: e2342. DOI: 10.19136/era.a7nl.2342.
- López-Diazguerrero, N.E., González V.Y., Hernández-Bautista R.J., Alarcón-Aguilar A., Luna-López A., y Mina K.F. (2013), “Hormesis: lo que no mata, fortalece”. *Gaceta Médica de México* 149: 438-447.
- López-Elías J., Rodríguez J.C., Huez M.A., Garza O.S., Jiménez L.J., y Leyva E.I. (2011), “Production and quality of cucumber (*Cucumis sativus* L.) under greenhouse conditions using two pruning systems”. *Idesia* 29: 21-27.
- López-López A., Dávila-Vázquez G., León-Becerril E., Villegas-García E., y Gallardo-Valdez J (2010), “Tequila vinasses: Generation and full scale treatment processes”. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 9: 109-116.
- López-Velarde S.M., Ventura-Ramos E., Rodríguez-Morales J.A., y Oliver H. (2020),

“Effect of inoculum source on the anaerobic digestion of mezcal vinasses at different substrate-inoculum ratios”. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental* 36: 81–95. DOI: 10.20937/RICA.2020.36.53276

Martínez-Damián M.T., Cano-Hernández R., Moreno-Pérez E., Del Castillo F.S., y Cruz-Álvarez O. (2019), “Effect of preharvest growth bioregulators on physicochemical quality of saladette tomato”. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 25: 29-43. DOI: 10.5154/R.RCHSH.2018.06.013.

Martínez-Gutiérrez G.A., Ñíguez-Covarrubias G., Ortiz-Hernández Y.D., López-Cruz J.Y., y Bautista-Cruz M.A. (2013), “Tiempos de apilado del bagazo del maguey mezcalero y su efecto en las propiedades del compost para sustrato de tomate”. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 29: 209-216.

Martínez C.G., Lara H.A., Padilla L.E., Luna F.M., Avelar J.J., y Lamas J.J. (2015), “Evaluación técnica y financiera del cultivo de lechuga en invernadero, como alternativa para invierno”. *Terra Latinoamericana* 33: 251-260.

Mendes P.M., Ribeiro J.A., Martins G.A., Lucia T., Araujo T.R., Fuentes-Guevara M.D., y Corrêa É.K. (2021), “Phytotoxicity test in check: proposition of methodology for comparison of different method adaptations usually used worldwide”. *Journal of Environmental Management* 291. DOI: 10.1016/J.JENVMAN.2021.112698.

Meza N., Arizaleta M., y Bautista D., (2007), “Efecto de la salinidad en la germinación y emergencia de semillas de parchita (*Passiflora edulis f. flavicarpa*)”. *Revista de la Facultad de Agronomía* 24: 69-80.

Morán-Salazar R.G., Sánchez-Lizárraga A.L., Rodríguez-Campos J., Davila-Vázquez G., Marino-Marmolejo E.N., Dendooven L., y Contreras-Ramos S.M. (2016), “Utilization of vinasses as soil amendment: consequences and perspectives”. *SpringerPlus* 6: 1007. DOI: 10.1186/s40064-016-2410-3.

Nieto A., y Velasco H. (2006), “Cultivo de Jitomate en Hidroponía e Invernadero”. Segunda

- ed. México. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma de Chapingo. 130 p.
- Robles-González V., Galindez-Mayer J., Rinderknech-Seijas N., y Poggi-Varaldo H.M. (2012), “Treatment of mezcal vinasses: A review”. *Journal of Biotechnology* 157: 524-546. DOI: 10.1016/J.JBIOTEC.2011.09.006.
- Robles-González V., Poggi-Varaldo H.M., Galíndez-Mayer J., y Ruiz-Ordaz N. (2018), “Combined treatment of mezcal vinasses by ozonation and activated sludge”. *Water Environment Research* 90: 1985-1996. DOI: 10.2175/106143017x15054988926433.
- Rodríguez-Félix E., Contreras-Ramos S.M., Dávila-Vázquez G., Rodríguez-Campos J., y Marino-Marmolejo E.N. (2018), “Identification and quantification of volatile compounds found in vinasses from two different processes of Tequila production”. *Energies* 11: 490. DOI: 10.3390/en11030490.
- Rodríguez A., y De La Cerna C. (2017), “El mezcal, su producción y tratamiento de residuos”. *Alianzas y Tendencias* 2: 10-14.
- Rodríguez-Romero J.A., Robles-Salazar A.C., Ruíz-Picos R.A., López-López E., Sedeño-Díaz E.J., y Dorantes-Rodríguez A. (2014), “Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* L en el biomonitorio de la calidad del agua del río chalma”. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 30: 307-316.
- Roque-Enríquez A., Delgado-Ortiz J., Beltrán-Beache M., Ochoa-Fuentes Y., y Cerna-Chávez E. (2021), “Parámetros agronómicos del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculado con “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” y tratados con fosfitos”. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 8: e2552. DOI: 10.19136/ERA.A8N1.2552.
- Sánchez-Lizárraga A.L., Arenas-Montañó V., Marino-Marmolejo E.N., Dendooven L., Velázquez-Fernández J.B., Dávila-Vázquez G., y Contreras-Ramos S.M. (2018), “Vinasse irrigation: effects on soil fertility and arbuscular mycorrhizal fungi population”. *Journal of Soils and Sediments* 18: 3256–3270. DOI: 10.1007/s11368-018-1996-1.

- Silva G.A., Ferreira S.L., de Souza G.R., da Silva J.A., y Pagliuso J.D. (2019), "Utilization of a new approach for the potassium concentration of sugarcane vinasse by reverse osmosis: case study". *International Journal of Environmental Science and Technology* 16: 6441–6446. DOI: 10.1007/s13762-019-02209-6.
- Sousa R.M., Amaral .C, Fernandes M.C., Fraga I., Semitela S., Braga F., y Sampaio A. (2019), "Hazardous impact of vinasse from distilled winemaking by-products in terrestrial plants and aquatic organisms". *Ecotoxicology and Environmental Safety* 183: 109493. DOI: 10.1016/J.ECOENV.2019.109493.
- Steiner A.A. (1961), "A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition". *Plant and Soil* 15: 134-154. DOI: 10.1007/BF01347224.
- Urrestarazu M. (2004), "Tratado de cultivo sin suelo". 3ra edición. Mundiprensa. Almería, España. 914p.
- Visconti F., y De Paz J.M. (2018), "Cómo conocer la salinidad del suelo mediante medidas de conductividad eléctrica". *Levante Agrícola*. 441: 98-103.
- Viveros-Legorreta J.L., Sarma S., Guerrero-Zúñiga L.A., y Rodríguez-Dorantes A. (2018), "Bioassay of the effect of phenols produced by *Myriophyllum aquaticum* culture on *Lactuca sativa*". *Hidrobiologica* 28: 109-119. DOI: 10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2018v28n1/rodriguez.
- Wang W. (1991), "Literature review on higher plants for toxicity testing". *Water, Air, and Soil Pollution* 59: 381-400. DOI: 10.1007/BF00211845.

Vinazas de mezcal y su efecto biofertilizante en el rendimiento de hortalizas

Mezcal vinases and their fertilizing effect on the yield of vegetables

Edwin Alfonso Zelaya-Benavidez¹ 
 Gabino Alberto Martínez-Gutiérrez¹ 
 Cireno Escamirosa-Tinoco¹ 
 Isidro Morales^{1*} 

¹Instituto Politécnico Nacional - Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Oaxaca. Hornos No. 1003, Col. Nochebuena, Santa Cruz Xoxocotlán. CP. 71230. Oaxaca, México.

*Autor de correspondencia: imoralesg@ipn.mx

Artículo científico

Recibido: 20 de octubre 2021

Aceptado: 09 de diciembre 2021

Como citar: Zelaya-Benavidez EA, Martínez-Gutiérrez GA, Escamirosa-Tinoco C, Morales I (2021) Vinazas de mezcal y su efecto biofertilizante en el rendimiento de hortalizas. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 8(3): e3159. DOI: 10.19136/era.a8n3.3159

RESUMEN. Las vinazas de mezcal son residuos líquidos recalcitrantes con alta carga orgánica y elementos disueltos, la cual puede ser utilizada en la nutrición de plantas. El objetivo del trabajo fue evaluar la toxicidad de las vinazas del mezcal en la germinación de semillas y su efecto biofertilizante en el rendimiento de hortalizas. Se realizaron dos experimentos en lechuga, tomate y pepino: 1) prueba de fitotoxicidad en la germinación en semillas con diferentes concentraciones de vinaza (2.5, 5, 10, 20, 40, 80 y 100%); y 2). Se evaluó el efecto biofertilizante de las combinaciones de 100-0, 80-20, 40-60 y 20-80% de vinaza y solución nutritiva Steiner, y como testigo el 100% de la solución nutritiva; en ambos experimentos se utilizó un diseño completamente al azar. La concentración del 2.5% de vinaza del mezcal, fue tóxica para las semillas de lechuga y más del 10% inhibió su germinación. Para semillas de tomate el 20% resultó tóxico, mientras que en semillas de pepino provocó hormesis. La concentración del 80% de vinazas inhibió la germinación en semillas de tomate. La combinación: 40 + 60% de vinaza y solución nutritiva aplicados en la nutrición de lechuga y tomate, alcanzó los máximos valores de todas las variables evaluadas. En pepino, el rendimiento disminuyó de forma lineal al aumentar el porcentaje de vinaza como complemento de la solución nutritiva.

Palabras clave: Biofertilización, fitotoxicidad, residuos de agave, sustrato, solución nutritiva.

ABSTRACT. Mezcal vinasses are recalcitrant liquid waste with a high organic load and dissolved elements that can be used in plant nutrition. The objective work was to evaluate the toxicity of mezcal vinasse on seed germination and its biofertilizing effect on vegetable yield. Two experiments were carried out on lettuce, tomato and cucumber: 1) germination phytotoxicity test in seeds with different concentrations of vinasse (2.5, 5, 10, 20, 40, 80 and 100%); and 2) The biofertilizing effect of the combinations of 100-0, 80-20, 40-60 and 20-80% vinasse and Steiner nutrient solution was evaluated, and 100% of the nutrient solution as a control. A completely randomized design was used in both experiments. The 2.5% concentration of mezcal vinasse was toxic to lettuce seeds and greater than 10% inhibited their germination. For tomato seeds the 20% was toxic, while in cucumber seeds it caused hormesis. The 80% concentration of vinasses inhibited germination in tomato seeds. The combination: 40 + 60% vinasse and nutrient solution applied in the nutrition of lettuce and tomato, reached the maximum values of all the variables evaluated. In cucumber, the yield decreased linearly with increasing the vinasse percentage as a supplement to the nutrient solution.

Key words: Agave residues, biofertilization, phytotoxicity, nutrient solution, substrate.

**Capítulo 3. Uso de vinazas de mezcal para producir metano por
co-digestión con estiércol de bovino**

Uso de vinazas de mezcal para producir metano por co-digestión con estiércol de bovino

Zelaya-Benavidez Edwin Alfonso [§]; Martínez Gutiérrez Gabino Alberto Robles Celerino; Morales García Isidro.

¹Instituto Politécnico Nacional - Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-IPN-OAXACA). Hornos No. 1003, Col. Noche Buena, Municipio de Santa Cruz Xoxocotlán C.P. 71230, Oaxaca, México. Teléfono: (951) 5170610 Ext. 82786. [§]Autor para correspondencia: edwinzelayab@gmail.com

Publicado en la revista Biotecnia 2022, 4(2).

3.1. Resumen

La industria del mezcal en México genera entre 53 y 90 millones de litros de vinazas contaminantes al año, aproximadamente, el 80% son vertidas al ambiente sin tratamiento. Este estudio plantea la obtención de metano a partir de la co-digestión anaeróbica de vinazas del mezcal con estiércol de bovino (EB) para su posible aprovechamiento. Se compararon cinco mezclas de vinazas con estiércol en diferentes proporciones (v/v): 25-75, 50-50, 75-25, 100-0 y 0-100%, con seis repeticiones. Como reactores se utilizaron envases de vidrio de 496 mL con sello hermético, con 300 mL de volumen activo en condiciones mesofílicas ($36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante diez días. Se determinaron por triplicado el pH, sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV). Se midió el volumen (mL) de metano producido por día y acumulado, y el rendimiento metano ($\text{mL CH}_4\text{ g}^{-1}\text{ SV}$), normalizado a condiciones estándar ($273.15\text{ }^{\circ}\text{K}$, 101 kPa). Los datos se analizaron por medio de ANOVA, prueba de Tukey y regresión no lineal para modelar el crecimiento bacteriano de Gompertz. El volumen acumulado de metano fue mayor con las mezclas 0-100 y 75-25 con 286.23 y 286.40 de CH_4 , respectivamente. El rendimiento de metano fue mayor en las mezclas 100-0 y 75-25 con 28.27 y 22.77 $\text{mL CH}_4\text{ g}^{-1}\text{ SV}$, respectivamente. El modelo de crecimiento bacteriano de Gompertz mostró que el

período de adaptación de los microorganismos a las vinazas fue mayor en comparación con EB. La co-digestión de vinazas y estiércol de bovino en una proporción de 75-25% mejoró la producción de metano 26.7% con respecto a la digestión de vinazas solas y redujo el tiempo de adaptación de las bacterias a éstas en 4.12 días.

Palabras clave: agave, residuos agroindustriales, biogás, biometano.

3.2. Abstract

The mezcal industry in Mexico generates between 53 and 90 million liters of polluting vinasses per year, approximately 80% is discharged into the environment without treatment. This study proposes obtaining methane from the anaerobic co-digestion of mezcal vinasses with bovine manure (BM) for possible use. Five mixtures of vinasses with manure were compared in different proportions (v/v): 25-75, 50-50, 75-25, 100-0 and 0-100%, with six repetitions. As reactors, 496 mL hermetically sealed glass containers were used, with 300 mL of active volume under mesophilic conditions ($36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) for ten days. The pH, total solids (TS) and volatile solids (VS) were determined in triplicate. The volume (mL) of methane produced per day and accumulated, and the methane yield ($\text{mL CH}_4\text{ g}^{-1}\text{ VS}$), normalized to standard conditions ($273.15\text{ }^{\circ}\text{K}$, 101 kPa), were measured. Data were analyzed by ANOVA, Tukey's test, and nonlinear regression to model Gompertz bacterial growth. The accumulated volume of methane was higher with the mixtures 0-100 and 75-25 with 286.23 and 286.40 NmL of CH_4 , respectively. The methane yield was higher in the 100-0 and 75-25 mixtures with 28.27 and 22.77 $\text{mL CH}_4\text{ g}^{-1}\text{ VS}$, respectively. The Gompertz bacterial growth model showed that the adaptation period of the microorganisms to the vinasses was longer compared to BM. The co-digestion of vinasses and bovine manure in a proportion of 75-25% improved methane production by 26.7% with respect to the digestion of vinasses alone and reduced the adaptation time of the bacteria to them by 4.12 days.

Keywords: agave, agroindustrial waste, biogas, biomethane.

3.3. Introducción

En México, el cultivo de cultivos de Agave como *A. angustifolia* Haw. y *A. tequilana* Weber para producir mezcal y tequila, respectivamente, tiene relevancia socioeconómica y ambiental. El estado de Oaxaca produce el 92.3% del mezcal en México; en 2018, la cadena productiva agave-mezcal generó 19,000 empleos directos y 85,000 indirectos, lo que la convierte en la mayor actividad económica del estado (CRM, 2019). Sin embargo, los subproductos que genera esta agroindustria, bagazo y vinazas, tienen un fuerte impacto ambiental cuando son vertidos sin tratamiento. Por cada litro de mezcal producido en una fábrica con tecnología intermedia se generan de 9 a 15 L de vinazas (Beltrán *et al.*, 2001; Jiménez *et al.*, 2006). En 2018, los estados mexicanos que fabricaban aguardientes de especies de Agave con denominación de origen protegida produjeron 5,914,200 L de mezcal (CRM, 2019), generando al mismo tiempo entre 53,2 y 90 millones de L de vinazas. Se estima que cada año el 80% de vinazas se vierte directamente a ríos, lagos y reservas de agua o sistemas de drenaje municipal, así como tierras agrícolas, sin tratamiento (Rodríguez y de La Cerna, 2017). Así, en México, anualmente se vierten al ambiente entre 42,582,240 y 70,979,400 L de vinazas con efectos nocivos por su recalcitrancia, resistencia a la degradación biológica o química, y propiedades corrosivas y contaminantes (Cervantes-Carrillo, 2008).

Por lo tanto, es urgente el tratamiento y aprovechamiento de este residuo. La recuperación de energía como metano a través de la digestión anaeróbica (DA) es una opción (Arreola-Vargas *et al.*, 2016; Robles-González *et al.*, 2012). Sin embargo, el pH ácido y el alto contenido de compuestos fenólicos y ferúlicos derivados de la hidrólisis térmica de la lignina, presente en las vinazas, podrían inhibir la metanogénesis (Chávez-Sifontes y Domine, 2010; Paul *et al.*, 2018). Investigaciones recientes han demostrado que, por su contenido de azúcar, la vinaza del mezcal inoculada con estiércol de bovino es un sustrato eficiente para la DA (López-Velarde *et al.*, 2020)

Dado esto, la co-digestión o digestión simultánea de dos o más sustratos mejora la DA y el rendimiento de metano, utilizando el equilibrio de nutrientes y la mejora de la capacidad amortiguadora del medio en digestión (Akyol *et al.*, 2016); por ejemplo, la co-digestión de estiércol de bovino y residuos de maíz en reactores discontinuos mejoró la producción de biogás en un 92% cuando se utilizó una proporción de estiércol de vaca/residuos de maíz de 10/5 en comparación con una proporción de 10/1 (Abdoli *et al.*, 2014); la co-digestión de estiércol de llama (*Lama glama*), ovino (*Ovis orientalis aries*) y bovino (*Bos primigenius taurus*) en un sistema semicontinuo incrementó la producción de metano en más del 50% en comparación con el estiércol de llama solo (Álvarez y Lidén, 2009). López-Velarde *et al.* (López-Velarde *et al.*, 2019) mejoraron la capacidad amortiguadora de la mezcla utilizando lodos activados y ajustando el pH a 7.00 para evaluar la adaptación de vinazas a la inoculación en un reactor de flujo semicontinuo; ellos obtuvieron hasta 85.50 mL CH₄ g⁻¹ SV de vinazas. Sin embargo, quedan algunas dudas, especialmente cuando aumenta el contenido de vinazas en las mezclas, sobre todo porque puede existir un efecto inhibitorio al aumentar la cantidad de vinazas en la co-digestión con otros sustratos. Al respecto, Gómez *et al.*, (2019) evaluaron la co-digestión de vinazas del mezcal y dos granulometrías de bagazo de agave (1 y 100 mm), inoculados con estiércol de cerdo y lodo granular, en reactores de flujo discontinuo. La producción de metano con 100 mm de bagazo disminuyó 76% al sustituir 12% del volumen de trabajo del reactor por vinazas y se detuvo después de 24% de sustitución.

Por lo tanto, es importante estudiar otras opciones para la co-digestión de las vinazas del mezcal con sustratos abundantes localmente y disponibles en las zonas productoras de mezcal, como el estiércol de bovino en diferentes proporciones, para determinar su nivel óptimo de uso en biodigestores. El objetivo del presente trabajo fue investigar la mejor proporción de co-digestión entre la vinaza de mezcal y el estiércol de bovino para obtener metano en un sistema por lotes.

3.4. Materiales y métodos

3.4.1. Sustratos e inóculo

El estudio se realizó de enero a mayo de 2019 en el Laboratorio de Suelos del CIIDIR Oaxaca, en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México (17° 01' 30.3' 'N y 96° 43' 12.5' 'W, a 1530 msnm). El estiércol de bovino fue donado por el matadero municipal de Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca (Anexo 5). La vinaza se obtuvo al finalizar el proceso de destilación en la fábrica de mezcal “Don Agave”, ubicada en el municipio de Tlacolula de Matamoros, Oaxaca (Anexo 6). La especie de agave utilizada fue *Agave angustifolia* Haw. Ambos sustratos se almacenaron a 4 °C hasta su uso. El inóculo se preparó a partir del efluente de un biodigestor activo de una granja porcina en Santa Ana Zegache, Oaxaca. Una mezcla del efluente, agua, vinazas y estiércol de bovino en relación volumen/volumen (v/v) 4/2/1/1 respectivamente, fue preparada para su adaptación (Angelidaki *et al.*, 2009) e incubada en condiciones mesófilas (36 °C ± 1 °C) en baño maría en dos recipientes plásticos herméticos de 10,1 L cada uno, con 9 L de volumen líquido por recipiente, durante 25 días hasta que cesó la producción de gas. El pH, ST y SV de los sustratos e inóculo se determinaron por triplicado según APHA (APHA, 2012). El pH se determinó con un potenciómetro digital marca Hanna (Hanna Instruments®), los ST y SV se determinaron en estufa a 105 °C y 550 °C, respectivamente, hasta peso constante con balanza analítica digital (modelo MSL, Marca Metter Toledo®).

3.4.2. Diseño experimental y medición de variables

Se utilizó un diseño completamente al azar con seis repeticiones por tratamiento. Se utilizaron cinco mezclas de vinazas del mezcal y estiércol de bovino (V-EB) en diferentes proporciones porcentuales (v/v) como tratamientos sin ajuste de pH ni balance de ST para reproducir las condiciones lo más normales posible: 25-75, 50-50, 75-25, 100-0 y 0 -100. La unidad experimental fue un frasco de vidrio con tapa metálica y cierre hermético de 496 mL, con 300 mL de volumen activo, compuesto por 75 mL de mezcla V-EB, según las proporciones descritas anteriormente, 75 mL de agua para evitar la sobrecarga y mantener el

contenido de ST por debajo del 10% que es óptimo para el desempeño de la DA (Angelidaki et al., 2009; Lorenzo-Acosta y Obaya-Abreu, 2005), y 150 mL de inóculo previamente preparado, y sumergido baño maría en condiciones mesófilas ($36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 10 días para promover la actividad metanogénica (Abdoli *et al.*, 2014; Espinoza-Escalante *et al.*, 2009). El experimento se detuvo en el momento en que el volumen de biogás producido por día durante los últimos tres días era $<1\%$ del total de biogás acumulado (Holliger *et al.*, 2016) (Anexo 7).

El biogás producido por día y acumulado durante el período de evaluación, normalizado (NmL) a temperatura y presión estándar ($273.15\text{ }^{\circ}\text{K}$, 101.33 kPa), se obtuvo mediante la ecuación de la ley de los gases ideales (Holliger *et al.*, 2016). El contenido de metano del biogás se determinó por el método de desplazamiento volumétrico de una solución de NaOH al 5% (Viquez, 2017). El rendimiento de metano se obtuvo con la ecuación 4:

$$Y_{CH_4} = \left(\frac{V_A \cdot \%CH_4}{SV_R} \right) \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Dónde Y_{CH_4} es el rendimiento de metano ($\text{NmL CH}_4\text{ g}^{-1}\text{ SV}$), V_A es el volumen acumulado de biogás durante el periodo del experimento (NmL CH_4) y SV_R es la cantidad de sólidos volátiles agregada al reactor. El rendimiento de metano diario se calculó al dividir el rendimiento acumulado entre 10 días que duró el experimento.

3.4.3. Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de diferencias mínimas de Tukey ($p < 0.05$) para las variables producción acumulada de metano y rendimiento de metano; así como una regresión no lineal ($p < 0.05$) para ajustar el rendimiento de metano experimental al modelo de crecimiento bacteriano de Gompertz, mostrado en la ecuación 1, con el objetivo de identificar las fases críticas de la DA como el inicio de producción de metano y la fase de adaptación (Zwietering *et al.*, 1990). El análisis estadístico se realizó usando el programa SPSS en un nivel de confianza del 95% y $p < 0.05$.

En este modelo se asume que la producción de metano es proporcional a la actividad microbiana. P es la predicción de la producción de metano en determinado periodo de tiempo (t), A es el volumen acumulado de metano en un tiempo determinado ($\text{NmL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV}$), μ_m es la tasa máxima de rendimiento de metano ($\text{NmL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV d}^{-1}$), definida por la tangente de la pendiente en la fase de crecimiento exponencial de las bacterias, y λ es el periodo de adaptación (d) definido por el intercepto de la recta de la pendiente con el eje x (Figura 6).

3.5. Resultados y discusión

3.5.1. Caracterización del inóculo, sustratos y mezclas

En el Cuadro 9 se muestran los resultados de la caracterización fisicoquímica del inóculo, sustratos y mezclas usadas. La vinaza fresca presentó pH ácido en comparación con el EB. El pH del inóculo fue ligeramente alcalino, mayor que la vinaza. El contenido de ST y SV de la vinaza fue inferior al del inóculo y EB. Las mezclas de V-EB con mayor contenido de vinaza presentaron pH más ácido que aquellas con mayor contenido de estiércol. La mezcla 100-0 presentó el menor contenido de ST y SV; mientras que la mezcla 0-100 el mayor contenido.

Cuadro 7. Caracterización fisicoquímica del sustrato, inóculo y mezclas vinazas-estiércol bovino (V-EB) utilizadas en el experimento de co-digestión anaerobia.

Parámetros	Inóculo / sustratos						Mezclas de V-EB (%)									
	I		V		EB		100-0		75-25		50-50		25-75		0-100	
	X	DE	X	DE	X	DE	X	DE	X	DE	X	DE	X	DE	X	DE
pH	4.75	0.05	3.52	0.04	7.98	0.11	5.49	0.03	6.39	0.03	6.77	0.03	7.19	0.04	7.74	0.03
ST (%)	6.55	0.14	4.93	0.17	21.8	0.59	3.8	0.11	5.38	0.23	6.2	0.18	7.51	0.18	8.79	0.13
ST (g L^{-1})	64.7	0.72	46.2	2.01	243	8.23	37	0.57	54.6	3.04	62.4	1.57	72.1	3.94	90.6	3.99
SV (g L^{-1})	54.4	0.68	42.3	1.60	193	6.02	26.7	0.60	42	2.07	48.2	1.23	56.8	3.16	66.2	5.00

I inóculo, V vinazas, EB estiércol de bovino, X media, DE desviación estándar, ST sólidos totales, SV sólidos volátiles.

La acidez de las vinazas está determinada por el contenido de ácidos orgánicos, como el acetato, que se sintetiza durante la fermentación de los azúcares del agave para obtener alcohol; por lo tanto, a medida que aumenta la vinaza en la mezcla, el pH se vuelve ácido. Por otro lado, la adición de estiércol bovino a la mezcla aumentó el pH a un nivel adecuado para la metanogénesis. El pH de la V fresca (3.52) fue similar a lo reportado por otros estudios (Gómez *et al.*, 2019; Villalobos *et al.*, 2009) para vinazas del mezcal con valores entre 3.50 y 3.80, pero menor a lo reportado por (Gómez *et al.*, 2019) con 3.90 y por (López-Velarde *et al.*, 2019) con 4.77. El pH inicial de las mezclas estudiadas se encontraba en los niveles óptimos para la DA (6.8 y 7.4). Por otro lado, Gómez *et al.* (2019), quienes estudiaron la producción de metano a partir de la co-digestión de bagazo de *A. angustifolia* y vinazas del mezcal, inoculado con estiércol de porcino y lodo granular; obtuvieron producción de metano con pH ligeramente ácidos, observaron inhibiciones a la DA con pH inferior a 5.00. Por su parte Espinoza-Escalante *et al.* (2009), plantean que la DA de vinazas del tequila, que son similares a las del mezcal, puede realizarse con ligeros ajustes del pH de 3.50 a 5.80. Se necesitan más pruebas para conocer los niveles inhibitorios del pH en la DA de vinazas del mezcal, y si dicho efecto se ve disminuido al usar inóculos adaptados al sustrato.

El contenido de ST de las vinazas estudiadas (46.18 g L^{-1}) coincide con el contenido de ST en vinazas (43.4 g L^{-1}) obtenidas de una fábrica de mezcal de tipo industrial de Oaxaca (Villalobos *et al.*, 2009) e inferior al de una fábrica de tipo artesanal ($91- 94.7 \text{ g L}^{-1}$), (Gómez *et al.*, 2019). Por su parte (López-Velarde *et al.*, 2019) reportaron 49.17 g L^{-1} de ST en vinazas del mezcal de una fábrica de San Luis Potosí, similar a lo encontrado en este estudio. En cambio, el contenido de SV de la vinaza fresca (42.32 g L^{-1}) fue inferior a lo reportado por Gómez *et al.* (2019) en vinazas de mezcal (72 g L^{-1}) de una fábrica artesanal y por Cruz-Salomón *et al.* (2017) en vinazas de licor Comiteco (62.90 g L^{-1}), destilado de *Agave americana* L. En cuanto al contenido de ST, éste fue menor al 10% en todas las mezclas de V-EB, valor debajo del cual la DA “suele operar en mejores condiciones” (Lorenzo-Acosta y Obaya-Abreu, 2005); aunque, en contraste, Yi *et al.* (2014) encontraron que el desempeño

de la DA mejoró al aumentar el contenido de ST de 5 al 20% en reactores alimentados con residuos de comida. Se deben hacer más estudios para evaluar el efecto del incremento de ST en la co-digestión de V-EB. Así mismo, el contenido de SV de dichas mezclas se encontró en el rango de 20 y 60 g L⁻¹, recomendado por Holliger *et al.* (2016) para este tipo de estudios, excepto por el tratamiento 0-100 que estuvo ligeramente por arriba de ese nivel (66.24 g L⁻¹).

3.5.2. Cambios de pH

El pH del medio disminuyó significativamente ($p < 0.0001$) al final del experimento (5.64, ± 0.87) en comparación con el pH inicial (6.70, ± 0.78) en todas las mezclas en estudio. La mayor disminución se observó en las mezclas con mayor contenido de EB (Figura 9).

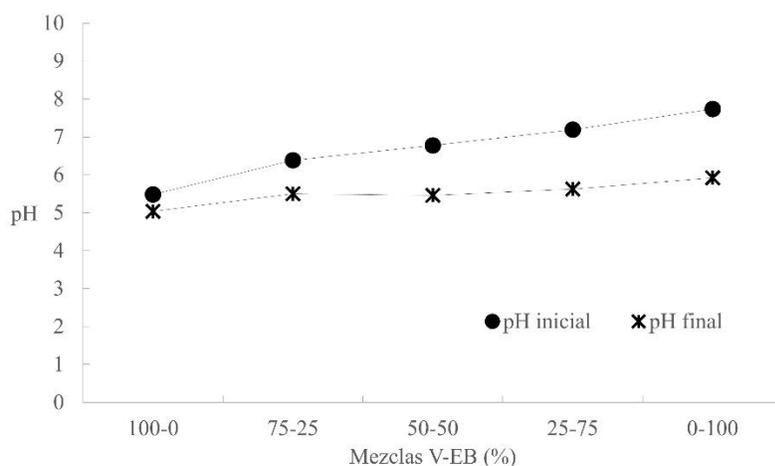


Figura 9. Cambios de pH de las mezclas de vinazas del mezcal y estiércol de bovino (V-EB) al inicio y al final del experimento.

Las bacterias sintetizan AGV durante la etapa acidogénica para la síntesis de metano por parte de las arqueas, por lo que es normal que los valores de pH de las mezclas durante la digestión anaeróbica disminuyan (Khanal, 2009; Pibul y Towprayoon, 2015). La variación de pH al final del proceso de digestión anaeróbica es esperable cuando no se agrega acondicionador de pH (Gómez *et al.*, 2019), como en el presente estudio. La mayor y más significativa variación de pH en las mezclas con mayor contenido de estiércol bovino podría

deberse a una mayor producción de AGV, asociada a un mayor contenido de sólidos totales fácilmente biodegradables utilizados para su síntesis, como los azúcares disueltos (Parra-Orobio *et al.*, 2015).

3.5.3. Producción de metano

El volumen acumulado de metano fue significativamente diferente ($p < 0,05$) entre las mezclas de V-EB. El mayor volumen se obtuvo con las mezclas 0-100 y 75-25, sin diferencia significativa entre ellas, y el menor volumen con las mezclas 25-75 y 50-50. La mezcla 100-0 produjo un volumen intermedio de metano (Figura 10).

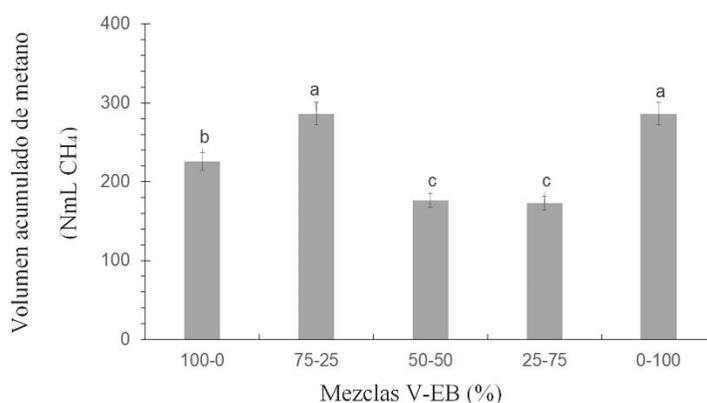


Figura 10. Volumen acumulado de metano de las mezclas de V-EB evaluadas. Letras distintas en la misma serie indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

Los sustratos como la vinaza con materia orgánica disuelta y azúcares altamente degradables permiten obtener mayores rendimientos de metano (Yi *et al.*, 2014). Esto se observó en los resultados de rendimiento de metano de la mezcla 100-0. Las piñas de agave son ricas en fructanos (Chávez-Parga *et al.*, 2016; Vera-Guzmán *et al.* (2009) que durante el cocimiento, son hidrolizados en azúcares fermentables principalmente fructosa, glucosa, xilosa y maltosa en diferentes concentraciones de acuerdo al grado de madurez de la planta, susceptibles a la acción microbiana durante la fermentación para la síntesis de alcohol (Michel-Cuello *et al.*,

2008); sin embargo, una porción de azúcares no logran ser fermentados y pasan a las vinazas; por ejemplo, Vera-Guzmán *et al.* (2009) encontraron 77.1 mg g⁻¹ de azúcares totales (14% del total inicial) en el mosto posterior a la fermentación, y López-Velarde *et al.* (2019) reportaron 51 mg g⁻¹ de azúcares totales en las vinazas. Estos azúcares que están presentes en la vinaza (Espinoza-Escalante *et al.*, 2009) son utilizados por las bacterias durante la DA como fuente de energía, al igual que otros compuestos orgánicos suspendidos, para la obtención de metano. En el caso de la mezcla V-EB 75-25, la comunidad bacteriana presente en el estiércol bovino utiliza estos azúcares y las condiciones de pH optimizado para producir metano. Las mezclas 75-25 y 0-100 tuvieron la mayor producción acumulada de metano con 286.40 y 286.23 NmL de CH₄, respectivamente. La mezcla 100-0 produjo 225.98 NmL de CH₄, ocupando el tercer lugar; la mezcla 75-25 produjo 26.70% más metano que la mezcla 100-0, lo que indica que la co-digestión vinazas-estiércol de bovino puede utilizarse para mejorar la producción de metano a partir de las vinazas de mezcal.

3.5.4. Cinética de la producción de metano

La curva cinética bacteriana coincidió con el crecimiento del modelo de predicción de Gompertz. Las mezclas con mayor contenido de vinazas obtuvieron un mayor rendimiento de metano acumulado, mientras que las mezclas con mayor contenido de EB presentaron rendimientos menores; además, produjeron el 80% del metano producido en los primeros cuatro días, mientras que la mezcla 100-0 obtuvo esa producción a los seis días, lo que indica que la co-digestión con EB redujo en dos días el tiempo de digestión de las vinazas (Figura 11).

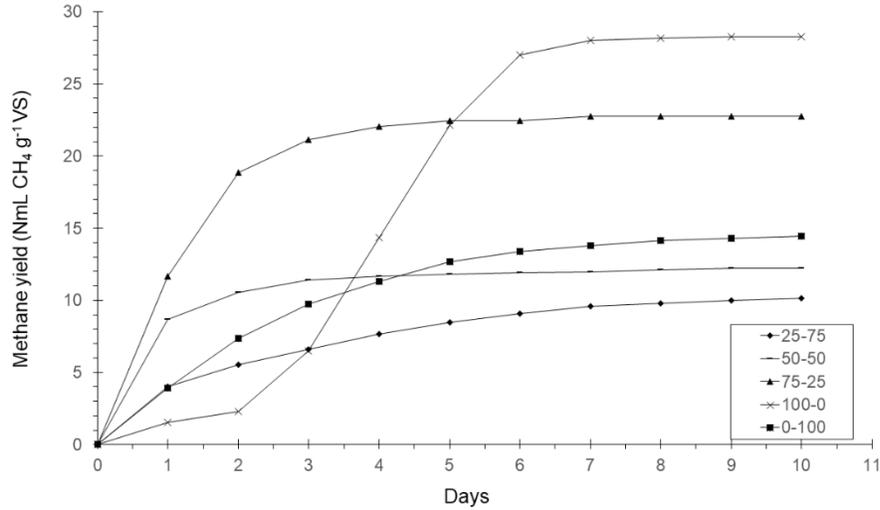


Figura 11. Cinética del rendimiento de metano de las mezclas de V-EB durante el periodo experimental.

El rendimiento de metano expresa el volumen de metano producido por gramo de sólidos volátiles invertidos en el sistema; esto explica que a pesar de tener menor producción acumulada (Figura 11), en el tratamiento 100-0 el rendimiento de metano fue mayor (28.27 NmL CH₄ g⁻¹ SV) en comparación con la mezcla 0-100 (14.43 NmL CH₄ g⁻¹ SV). En cuanto al comportamiento de la curva de rendimiento, la tasa de conversión de sustratos complejos como las vinazas con pH ácido presenta una etapa de hidrólisis más prolongada al inicio de la digestión anaerobia, lo que se evidenció en la curva de rendimiento de metano en forma de “S”. En cambio, sustratos más simples con propiedades más equilibradas, como pH neutro en mezclas con estiércol bovino, tienen periodos de incubación más cortos, como se evidencia en la curva en forma de “L” invertida (Ware y Power, 2017).

El rendimiento acumulado de metano estimado por el modelo de Gompertz se ajustó a los resultados obtenidos en el experimento con valores de R² cercanos a 1 (Cuadro 10). La cinética bacteriana para cada una de las mezclas de V-EB describió el comportamiento de crecimiento bacteriano esperado por el modelo teórico. La combinación 100-0 tuvo la tasa de rendimiento acumulada y diaria más alta; sin embargo, tuvo la mayor fase de adaptación debido al menor valor de pH (Figura 9). Esto implica la necesidad de considerar un mayor

tiempo de retención hidráulica y reactores más grandes, o en el mejor de los casos, ajuste de pH. Por otro lado, en las mezclas con EB, la degradación comenzó antes de su preparación, indicado por los valores negativos de λ . Este fenómeno posiblemente sea causado por la actividad microbológica presente en el estiércol antes de iniciar la digestión anaeróbica en el reactor, lo que podría iniciar la digestión de las vinazas en un tiempo más corto, es decir, el período de adaptación de la mezcla 75-25 fue -1.83, lo que significa que la producción de metano comenzó 4.12 días antes que en la mezcla 100-0 y tuvo el mejor desempeño con respecto a la tasa máxima de producción de metano por día y la producción acumulada de metano, comparable a la mezcla 100-0. Esto indica que la co-digestión de vinazas con estiércol de bovino en la proporción 75-25 favorece mejor el proceso de tratamiento de digestión anaerobia de las vinazas de mezcal.

Cuadro 8. Resultados del modelo de crecimiento de Gompertz para la predicción de la producción de metano en las mezclas de vinazas del mezcal y estiércol de bovino (V-EB) evaluadas.

Mezclas V-EB	A (NmL CH ₄ g ⁻¹ SV)	μ_m (NmL CH ₄ g ⁻¹ SV d ⁻¹)	λ (d)	R ² ajustado
100-0	28.97	9.03	2.29	0.994
75-25	22.64	10.09	-1.83	0.998
50-50	12.08	3.68	-1.56	0.992
25-75	10.54	1.44	-0.17	0.999
0-100	14.44	3.02	-0.37	0.998

V-EB vinazas-estiércol de bovino, A volumen acumulado de metano, μ_m tasa máxima del rendimiento de metano por día, λ periodo de adaptación.

3.5. Conclusiones

La co-digestión de vinazas del mezcal y estiércol de bovino elevó el pH y anticipó el inicio de la digestión anaerobia en 2 días. La mezcla 75-25 vinazas-estiércol bovino obtuvo la

mayor producción acumulada de metano, con 286.40 NmL CH₄, lo que fue 26.7% más metano que las vinazas solas.

El mayor rendimiento de metano se produjo con la mezcla 100-0, con 28.27 NmL CH₄ g⁻¹ SV, seguida de la mezcla 75-25 con 22.8 NmL CH₄ g⁻¹ SV. La mezcla 100-0 presentó el período de adaptación más prolongado de la digestión anaerobia, 2.29 días.

La co-digestión de vinazas y estiércol de bovino en la proporción 75-25 fue la mejor mezcla para mejorar el proceso de digestión anaeróbica de las vinazas de mezcal y acortó el período de adaptación bacteriana a 4.12 días.

3.6. Agradecimientos

Al CONACYT por la beca 565495 para estudios de doctorado y al Instituto Politécnico Nacional (IPN)-CIIDIR-OAXACA por el uso de sus instalaciones y apoyo durante la fase experimental de esta investigación.

3.7. Literatura citada

Abdoli, M.A., Amiri, L., Baghvand, A., Nasiri, J. y Madadian, E. (2014), “Methane production from anaerobic co-digestion of maize and cow dung”, *Environmental Progress & Sustainable Energy*, John Wiley and Sons Inc., Vol. 33 No. 2, pp. 597–601.

Akyol, Ç., Ozbayram, E.G., Ince, O., Kleinstuber, S. y Ince, B. (2016), “Anaerobic co-digestion of cow manure and barley: Effect of cow manure to barley ratio on methane production and digestion stability”, *Environmental Progress & Sustainable Energy*, John Wiley and Sons Inc., Vol. 35 No. 2, pp. 589–595.

- Alvarez, R. y Lidén, G. (2009), “Low temperature anaerobic digestion of mixtures of llama, cow and sheep manure for improved methane production”, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 33 No. 3, pp. 527–533.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., *et al.* (2009), “Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays”, *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, Vol. 59 No. 5, pp. 927–934.
- APHA. (2012), *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, Washington, DC, USA.
- Arreola-Vargas, J., Jaramillo-Gante, E., N., Celis, B., L., Corona-González, *et al.* (2016), “Biogas production in an anaerobic sequencing batch reactor by using tequila vinasses: Effect of pH and temperature”, *Water Science and Technology*, IWA Publishing, Vol. 73 No. 3, pp. 550–556.
- Beltrán, F.J., Álvarez, P.M., Rodríguez, E.M., García-Araya, J.F. y Rivas, J. (2001), “Treatment of High Strength Distillery Wastewater (Cherry Stillage) by Integrated Aerobic Biological Oxidation and Ozonation”, *Biotechnology Progress*, American Chemical Society (ACS), Vol. 17 No. 3, pp. 462–467.
- Cervantes Carrillo, F.J. (2008), “Comunicación, AMC - Reconoce la AMC al líder del proyecto que estudia catalizadores para acelerar la degradación de contaminantes en acuíferos”, available at: <http://www.comunicacion.amc.edu.mx/comunicados/reconoce-la-amc-al-lider-del-proyecto-que-estudia-catalizadores-para-acelerar-la-degradacion-de-contaminantes-en-acuiferos> (accessed 25 November 2018).
- Chávez Sifontes, M. y Domine, M.E. (2010), “Lignina, estructura y aplicaciones métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial”,

Avances En Ciencias e Ingeniería, ISSN-e 0718-8706, Vol. 4, No. 4, 2013, Págs. 15-46, Executive Business School, Vol. 4 No. 4, pp. 15–46.

Chávez-Parga, M.D.C., Pérez Hernández, E. y González Hernández, J.C. (2016), “Revisión del agave y el mezcal”, Revista Colombiana de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Vol. 18 No. 1, available at:<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n1.49552>.

CRM. (2019), “El Mezcal la cultura líquida de México”. Número 2. Febrero 2019., Oaxaca de Juárez, available at: http://www.crm.org.mx/periodico/PDF/Revista_El_Mezcal2.pdf (accessed 24 June 2019).

Cruz-Salomón, A., Meza-Gordillo, R., Lagunas-Rivera, S. y Ventura-Canseco, C. (2017), “Biogas production potential from a native beverage vinasse of Mexico”, Waste Technology, Vol. 5 No. 1, pp. 9–14.

Espinoza-Escalante, F.M., Pelayo-Ortíz, C., Navarro-Corona, J., González-García, Y., Bories, A. y Gutiérrez-Pulido, H. (2009), “Anaerobic digestion of the vinasses from the fermentation of Agave tequilana Weber to tequila: The effect of pH, temperature and hydraulic retention time on the production of hydrogen and methane”, Biomass and Bioenergy, Vol. 33 No. 1, pp. 14–20.

Gómez, A.V., Valdez-Vázquez, I., Caballero-Caballero, M., Chiñas-Castillo, F., Alavéz-Ramírez, R. y Montes-Bernabé, J.L. (2019), “Co-digestion of agave angustifolia haw bagasse and vinasses for biogas production from mezcal industry”, Revista Mexicana de Ingeniería Química, Universidad Autonoma Metropolitana, Vol. 18 No. 3, pp. 1073–1083.

Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., Bougrier, C., *et al.* (2016), “Towards a standardization of biomethane potential tests”, Water Science and Technology, Vol. 74 No. 11, pp. 2515–2522.

- Jiménez, A.M., Borja, R., Martín, A. y Raposo, F. (2006), “Kinetic analysis of the anaerobic digestion of untreated vinasses and vinasses previously treated with *Penicillium decumbens*”, *Journal of Environmental Management*, Academic Press, Vol. 80 No. 4, pp. 303–310.
- Khanal, S.K. (2009), *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications*, *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications*, Wiley-Blackwell, available at:<https://doi.org/10.1002/9780813804545>.
- López-Velarde, M., Ventura-Ramos, E., Rodríguez-Morales, J.A. y Oliver, H. (2020), “Effect of inoculum source on the anaerobic digestion of mezcal vinasses at different substrate-inoculum ratios”, *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Centro de Ciencias de la Atmosfera, UNAM, Vol. 36 No. 1, pp. 81–95.
- López-Velarde, M., Ventura-Ramos, E.J., Rodríguez-Morales, J.A. y Hensel, O. (2019), “Inoculum adaptation for the anaerobic digestion of mezcal vinasses”, *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 35 No. 2, pp. 447–458.
- Lorenzo-Acosta, Y. y Obaya-Abreu, M. (2005), “La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I”, *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, Vol. XXXIX No. 1, pp. 35–48.
- Michel-Cuello, C., Juárez-Flores, B.I., Aguirre-Rivera, J.R. y Pinos-Rodríguez, J.M. (2008), “Quantitative characterization of nonstructural carbohydrates of mezcal agave (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 56 No. 14, pp. 5753–5757.
- Parra-Orobio, B., Torres-Lozada, P., Marmolejo-Rebellón LF, Cárdenas-Cleves, L., Vásquez-Franco, C., Torres-López, W. y Ordoñez-Andrade, J. (2015), “Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal”, *Ingeniería, Investigación y Tecnología*, Universidad Nacional Autónoma de México, Vol. 16 No. 4, pp. 515–526.

- Paul, S., Dutta, A. y Defersha, F. (2018), “Biocarbon, biomethane and biofertilizer from corn residue: A hybrid thermo-chemical and biochemical approach”, *Energy*, Pergamon, Vol. 165, pp. 370–384.
- Pibul, P. y Towprayoon, S. (2015), “Acid-stressed control of market waste anaerobic digestion using pH adjustment”, *Environmental Progress & Sustainable Energy*, John Wiley and Sons Inc., Vol. 34 No. 1, pp. 132–138.
- Robles-González, V., Galíndez-Mayer, J., Rinderknecht-Seijas, N. y Poggi-Varaldo, H.M. (2012), “Treatment of mezcal vinasses: A review”, *Journal of Biotechnology*, Elsevier, Vol. 157 No. 4, pp. 524–546.
- Rodríguez, A. y De La Cerna, C. (2017), “El mezcal, su producción y tratamiento de residuos”, *Alianzas y Tendencias*, Vol. 2 No. 8, pp. 10–14.
- Vera Guzmán, A.M., Santiago García, P.A. y López, M.G. (2009), “Compuestos volátiles aromáticos generados durante la elaboración de mezcal de *Agave angustifolia* y *Agave potatorum*”, *Revista Fitotecnia Mexicana*, Sociedad Mexicana de Fitogenética A.C., Vol. 32 No. 4, pp. 273–279.
- Villalobos, F., Robles, V. y Poggi, H. (2009), Disminución de La Materia Orgánica Biodegradable Presente En Vinazas Mezcaleras Mediante Digestión Anaerobia, Universidad Tecnológica de la Mixteca, available at: http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10960.pdf (accessed 28 February 2019).
- Víquez, J. (2017), “Medición de metano a bajo costo”, available at: www.viogaz.com (accessed 24 October 2019).
- Ware, A. y Power, N. (2017), “Modelling methane production kinetics of complex poultry slaughterhouse wastes using sigmoidal growth functions”, *Renewable Energy*, Elsevier Ltd, Vol. 104, pp. 50–59.

Yi, J., Dong, B., Jin, J. y Dai, X. (2014), “Effect of increasing total solids contents on anaerobic digestion of food waste under mesophilic conditions: Performance and microbial characteristics analysis”, PLoS ONE, Public Library of Science, Vol. 9 No. 7, available at:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102548>.

Zwietering, M., Jongenburger, I., Rombouts, F. y Van 'T Riet, K. (1990), “Modeling of the bacterial growth curve”, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 56 No. 6, pp. 1875–1881.



Use of mezcal vinasses to produce methane by co-digestion with bovine manure

Uso de vinazas de mezcal para producir metano por co-digestión con estiércol de bovino

Zelaya-Benavidez EA*, Martínez-Gutiérrez GA, Robles C, Morales I

Instituto Politécnico Nacional – Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIDIR) Unidad Oaxaca. Hornos No. 1003, Col. Nochebuena, CP 71230, Santa Cruz Xoxocotlan, Oaxaca, Mexico.

RESUMEN

Se investigó la mejor proporción de co-digestión entre vinazas de mezcal y estiércol de bovino para producir metano. Se compararon cinco mezclas de vinazas con estiércol en diferentes proporciones (v/v): 25-75, 50-50, 75-25, 100-0 y 0-100, con seis repeticiones. Como reactores se utilizaron envases de vidrio de 496 mL con sello hermético, con 300 mL de volumen activo en condiciones mesofílicas (36 ± 1 °C) durante 10 días. El pH, los sólidos totales y los sólidos volátiles de vinazas, estiércol de bovino y sus mezclas se determinaron por triplicado. El volumen acumulado de metano fue mayor con 0-100 y 75-25, seguido por el 100-0; con 286.23, 286.40 y 225.48 NmL de CH_4 , respectivamente. El rendimiento de metano fue mayor con 100-0 y 75-25 con 28.27 y 22.77 NmL de CH_4 g⁻¹ sólidos volátiles, respectivamente. El modelo de crecimiento bacteriano de Gompertz mostró que el período de adaptación de los microorganismos en las vinazas fue mayor que en el estiércol de bovino. La co-digestión de vinazas y estiércol de bovino en una proporción de 75-25 % mejoró la producción de metano 26.7 % con respecto a la digestión de vinazas solas y redujo el tiempo de adaptación de las bacterias a éstas en 4.12 días.

Palabras clave: agave, residuos agroindustriales, biogás, biometano.

ABSTRACT

The best co-digestion ratio between mezcal vinasses and bovine manure was investigated to produce methane. Five vinasses and bovine manure mixtures in different proportions were compared (v/v): 25-75, 50-50, 75-25, 100-0, and 0-100, with six replications. As reactors, 496 mL glass containers with hermetic seal were used, with 300 mL of active volume under mesophilic conditions (36 ± 1 °C) for 10 days. The pH, total solids, and volatile solids of vinasses, bovine manure, and their mixtures were determined in triplicate. The methane accumulated volume was greater with the 0-100 and 75-25, followed by the 100-0, with 286.23, 286.40, and 225.48 NmL CH_4 , respectively. Methane yield was higher with 100-0 and 75-25 with 28.27 and 22.77 NmL CH_4 g⁻¹ volatile solids, respectively. The Gompertz bacterial growth model showed that the micro-organisms adaptation period in vinasses was longer than in bovine manure. Co-digestion of vinasses and bovine manure in proportion 75-25 % improved the methane production by 26.7 % with respect to the

digestion of vinasses alone, and reduced the adaptation time of bacteria to vinasses by 4.12 days.

Key words: agave, agro-industrial waste, biogas, biomethane.

INTRODUCTION

In Mexico, the growing of Agave crops such as *A. angustifolius* Haw. and *A. tequilano* Weber to produce mezcal and tequila, respectively, has socioeconomic and environmental relevance. The state of Oaxaca produces 92.3 % of mezcal in Mexico; in 2018, the agave-mezcal production chain generated 19,000 direct jobs and 85,000 indirect jobs, making it the greatest economic activity in the state (CRM, 2019). However, the by-products that this agro-industry generates, bagasse and vinasses, have a strong environmental impact when discharged without treatment. For every liter of mezcal produced in a factory with intermediate technology, 9 to 15 L of vinasses are generated (Beltrán et al., 2001; Jiménez et al., 2006). In 2018, the Mexican states that manufactured spirits from Agave species with a protected designation of origin, produced 5,914,200 L of mezcal (CRM, 2019), generating at the same time between 53,227,800 and 88,713,000 L of vinasses. It is estimated that each year 80 % of vinasses is discharged directly into rivers, lakes, and water reserves or municipal drainage systems, as well as agricultural land, without treatment (Rodríguez and De La Cerna, 2017). Thus, in Mexico, annually between 42,582,240 and 70,979,400 L of vinasses are spilled into the environment with harmful effects due to its recalcitrance, resistance to biological or chemical degradation, and corrosive and contaminating properties (Cervantes-Carrillo, 2008; Heredia-Solis et al., 2014).

Therefore, the treatment and use of this residue are urgently needed. Energy recovery as methane through anaerobic digestion (AD) is one option (Robles-González et al., 2012; Ameola-Vargas et al., 2016). However, the acidic pH and high content of phenolic and ferulic compounds derived from the thermal hydrolysis of lignin, which is present in vinasses, might inhibit methanogenesis (Chávez and Domine, 2010; Paul et al., 2018). Recent research has shown that due to its sugar content, mezcal vinasses inoculated with bovine manure is an efficient substrate for AD (López-Velarde et al., 2020).

Given this, co-digestion or simultaneous digestion of two or more substrates, improves AD and methane yield,

*Autor para correspondencia: Edwin Alfonso Zelaya Benavidez
Correo electrónico: edwinzelayab@gmail.com

Recibido: 31 de mayo de 2021

Aceptado: 8 de marzo de 2022

**Capítulo 4. Evaluación de biodigestores tubulares a escala real
para producir biogás y biofertilizante a partir de vinazas de
mezcal**

Evaluación de biodigestores tubulares a escala real para producir biogás y biofertilizante a partir de vinazas de mezcal

Zelaya-Benavidez, EA; Morales, I; Martínez-Gutiérrez, GA*

Instituto Politécnico Nacional - Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR-IPN-OAXACA). Hornos No. 1003, Col. Noche Buena, Municipio de Santa Cruz Xoxocotlán C.P. 71230, Oaxaca, México. Teléfono: (951) 5170610 Ext. 82786. * Autor para correspondencia: gamartinezg@ipn.mx

4.1. Resumen

Los biodigestores tubulares son una tecnología apropiada para tratar y aprovechar los desechos orgánicos como las vinazas del mezcal, que son residuos con alta carga orgánica y propiedades recalcitrantes, pero que tiene el potencial para obtener biogás y biofertilizante. El objetivo de este estudio fue evaluar el desempeño de biodigestores tubulares en condiciones reales para producir biogás y biofertilizante a partir de vinazas del mezcal. Se usó un diseño de arreglo factorial anidado de $3 \times 3 \times 3 \times 7$, que corresponden a tres biodigestores tubulares de 5,000 L cada uno, tres puntos de muestreo por biodigestor, tres ciclos de digestión de vinazas y siete semanas de digestión por cada ciclo. La estabilidad de la digestión anaeróbica se evaluó por medio de la relación de AGV/AT y el pH. Se midió la producción de biogás por semana y acumulada. Se determinaron las características fisicoquímicas y el contenido de nutrientes del biofertilizante obtenido al final del tercer ciclo. Se realizó un análisis de varianza factorial y una prueba de comparación de medias (Tukey, $p < 0.05$). En todos los puntos de muestro de los tres biodigestores durante los tres ciclos de digestión evaluados, el pH se mantuvo dentro de los límites óptimos para la metanogénesis que son 6.80 y 8.20. Los valores de la relación AGV/AT se mantuvieron por debajo de 0.60, óptimo para la digestión anaeróbica, tanto al inicio como al final de cada ciclo de digestión; pero superaron ese nivel en las primera y segunda semana después de la alimentación de los biodigestores. La producción de biogás fue mayor durante las semanas 1

y 2 de digestión después de realizada la carga de las vinazas y disminuyó a partir de la tercera semana. La producción acumulada de biogás al final de cada ciclo de digestión fue en promedio de 9,680.82 L en los tres biodigestores. El porcentaje de metano en el biogás fue de 66.12%, siendo un gas combustible. En cuanto al biofertilizante producido en los tres biodigestores, a excepción del S, en promedio el contenido de los elementos aportados, así como los valores de pH y CE, fue mayor que las concentraciones requeridas para la solución nutritiva universal de Steiner. La utilización de biodigestores de 5,000 litros puede ser una alternativa para la producción de biogás y biofertilizantes a partir de vinazas de mezcal en los palenques artesanales de producción de mezcal.

Palabras clave: agaves, digestión anaeróbica, relación AGV/AT, residuos, agroindustria

4.2. Abstract

Tubular biodigesters are an appropriate technology to treat and take advantage of organic waste such as mezcal vinasses, which are waste with a high organic load and recalcitrant properties, but which has the potential to obtain biogas and biofertilizer. The objective of this study was to evaluate the performance of tubular biodigesters in real conditions to produce biogas and biofertilizer from mezcal vinasses. A nested factorial arrangement design of 3x3x3x7 was used, corresponding to three tubular biodigesters of 5,000 L each, three sampling points per biodigester, three cycles of vinasse digestion and seven weeks of digestion for each cycle. The stability of the anaerobic digestion was evaluated by means of the VFA/TA ratio and the pH. Biogas production per week and accumulated was measured. The physicochemical characteristics and the nutrient content of the biofertilizer obtained at the end of the third cycle were determined. A factorial analysis of variance and a mean comparison test (Tukey, $p < 0.05$) were performed. At all the sampling points of the three biodigesters during the three digestion cycles evaluated, the pH remained within the optimal limits for methanogenesis, which are 6.80 and 8.20. The VFA/TA ratio values were kept below 0.60, optimal for anaerobic digestion, both at the beginning and at the end of each

digestion cycle; but they exceeded that level in the first and second week after feeding the biodigesters. Biogas production was higher during weeks 1 and 2 of digestion after the vinasses were loaded and decreased from the third week. The accumulated production of biogas at the end of each digestion cycle was an average of 9,680.82 L in the three biodigesters. The percentage of methane in the biogas was 66.12%, being a fuel gas. Regarding the biofertilizer produced in the three biodigesters, with the exception of S, on average the content of the elements provided, as well as the pH and EC values, was higher than the concentrations required for Steiner's universal nutrient solution. The use of 5,000 L biodigesters can be an alternative for the production of biogas and biofertilizers from mezcal vinasses in the artisan palenques of mezcal production.

Keywords: agaves, anaerobic digestion, VFA/TA ratio, wastes, agroindustry

4.3. Introducción

Los biodigestores tubulares están siendo implementados en diferentes regiones del mundo como tecnología apropiada para tratar y aprovechar los desechos orgánicos generados en la agricultura y la ganadería (Garfí *et al.*, 2016). Su implementación contribuye a disminuir la emisión de gases de efecto invernadero como el metano (Bruun *et al.*, 2014) al convertir la materia orgánica en biogás por medio de la digestión anaeróbica (Lyu *et al.*, 2018). Dicha digestión reduce la carga contaminante de los desechos y permite la mineralización de nutrientes para su aprovechamiento en la agricultura como biofertilizante (Lansing *et al.*, 2010). Su aplicación en sectores como la agroindustria del mezcal que genera residuos como las vinazas con alta carga orgánica y propiedades recalcitrantes, tiene el potencial para ser aprovechadas en la producción de biogás y digestato, también denominado biofertilizante. Se estima que cerca de 90 millones de litros de vinazas son generadas cada año (CRM, 2019) y el 80% de éstas son vertidas al suelo y fuentes de agua sin tratamiento ni aprovechamiento (Rodríguez y De La Cerna 2017), con efectos nocivos para la flora y la fauna (Sánchez-

Lizárraga *et al.*, 2018), por lo que su tratamiento y posterior aprovechamiento de manera segura es especialmente relevante.

Las vinazas, tanto las de mezcal como las de tequila, tienen potencial para producir biogás por medio de co-digestión anaeróbica con estiércol de ganado como estrategia para estabilizar el proceso (Gómez *et al.*, 2019) y conseguir una adecuada adaptación de las bacterias y arqueas a sus condiciones fisicoquímicas (López-Velarde *et al.*, 2019, 2020). Sin embargo, el uso de biodigestores debe adaptarse también a las condiciones del usuario final. Al respecto, se han evaluado para el sector tequilero, modelos de biodigestores industriales a escala de laboratorio y de prototipo que pueden resultar relativamente costosos y técnicamente complejos, por lo que implica el control de la temperatura y de la carga orgánica de las vinazas (Arreola-Vargas *et al.*, 2016), así como mecanismos de fijación de biomasa en el interior de los reactores como el reactor de lecho empacado (Arreola-Vargas *et al.*, 2018).

Por otro lado, la evaluación de biodigestores en condiciones reales permite conocer la eficiencia y limitaciones de los biodigestores con el objetivo de mejorar los planes de intervención y políticas públicas sobre este tema (Mukeshimana *et al.*, 2021; Rogers, 1983). Se ha reportado la evaluación de biodigestores tubulares de bajo costo a escala real para producir energía y obtener fertilizante a partir de estiércol de bovinos (Castro *et al.*, 2017), de porcinos (Lansing *et al.*, 2008, 2010) y residuos de mataderos (Martí-Herrero *et al.* 2016). No obstante, la evaluación de biodigestores tubulares en campo para la producción de biogás y biofertilizante a partir de vinazas de mezcal permanece sin ser reportada.

Con base en lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el comportamiento de biodigestores tubulares en condiciones reales para obtener biogás y biofertilizante a partir de las vinazas del mezcal.

4.4. Materiales y métodos

4.4.1. Ubicación y condiciones experimentales

El experimento duró 21 semanas, del 6 de noviembre de 2021 al 31 de marzo del 2022. Se estableció en la fábrica de mezcal de “Productores magueyeros de agave azul de los Valles de Tlacolula S.P.R. de R.I.”, en las coordenadas 16° 56' 38'' N y -96° 25' 19'' O; a una altitud de 1600 msnm (Anexo 8). Durante el periodo del estudio la temperatura ambiental promedio fue 18.1 °C, con temperatura diurna promedio 23.9 °C, nocturna 12.3 °C y humedad relativa de 59.7% (Figura 12). Las variables climáticas se registraron en el sitio del experimento durante todo el periodo del estudio cada 10 min las 24 h del día, con sensores HOBO® ProV2 (Onset, EUA) (Anexo 9). En dicha fábrica, destilan mezcal a partir de agave espadín (*Agave angustifolia* Haw) cada 45 días, generando 5,000 L de vinazas en cada lote de producción, las cuales depositaban en un foso de infiltración en un extremo de su terreno (Anexo 10).

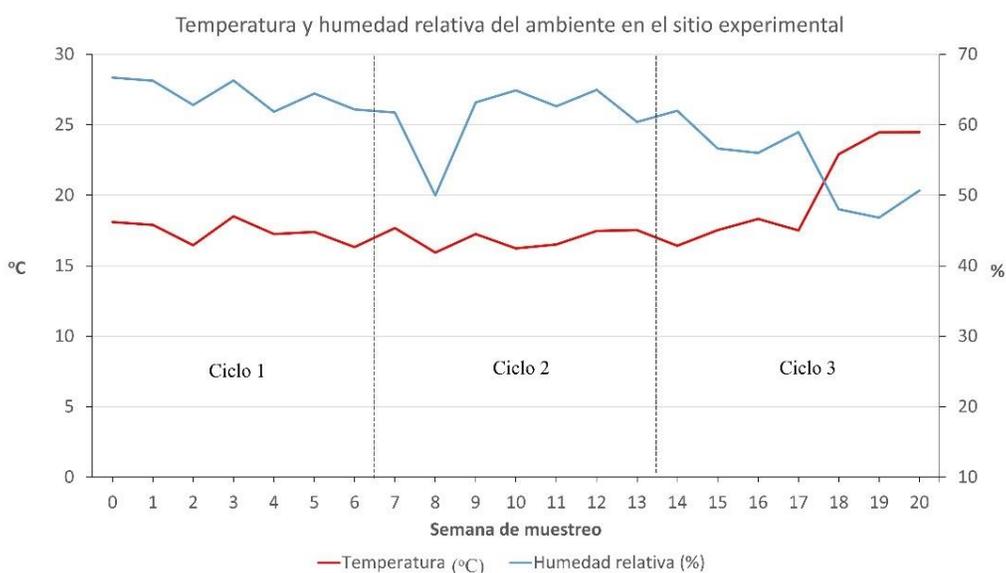


Figura 12. Temperatura ambiental y humedad relativa promedio durante el periodo de evaluación de los biodigestores.

4.4.2. Diseño experimental

El diseño utilizado fue un arreglo factorial anidado de 3x3x3x7, que corresponden a tres biodigestores, tres puntos de muestreo por biodigestor, tres ciclos de digestión y siete semanas de digestión por cada ciclo. Los ciclos corresponden al periodo de digestión o

tiempo de retención de las vinazas dentro de los biodigestores de acuerdo con lo recomendado por Martí-Herrero (2019); y considerando los ciclos de producción de vinazas en la fábrica. Se instalaron tres biodigestores tubulares en fosas excavadas en el suelo de 1x1x5 m de anchura, profundidad y longitud; respectivamente (Anexo 11-14). El volumen líquido de cada unidad fue de 5,000 L cada uno funcionando en flujo discontinuo de manera independiente entre sí, sin agitación interna ni control de temperatura; fabricados con lona de PVC reforzada con poliéster, tubos de PVC de 101.60 mm de diámetro para la entrada y salida de los residuos y del biofertilizante, respectivamente; manguera de polietileno de 12.70 mm de diámetro para la conducción del biogás, una válvula para controlar el flujo del gas, un medidor de gas y una válvula de alivio de la presión (Martí-Herrero, 2019) (Anexo 15). Los tres puntos de muestreo del sustrato en digestión por biodigestor se ubicaron en el nivel superior (1), medio (2) e inferior (3) (Figura 13).

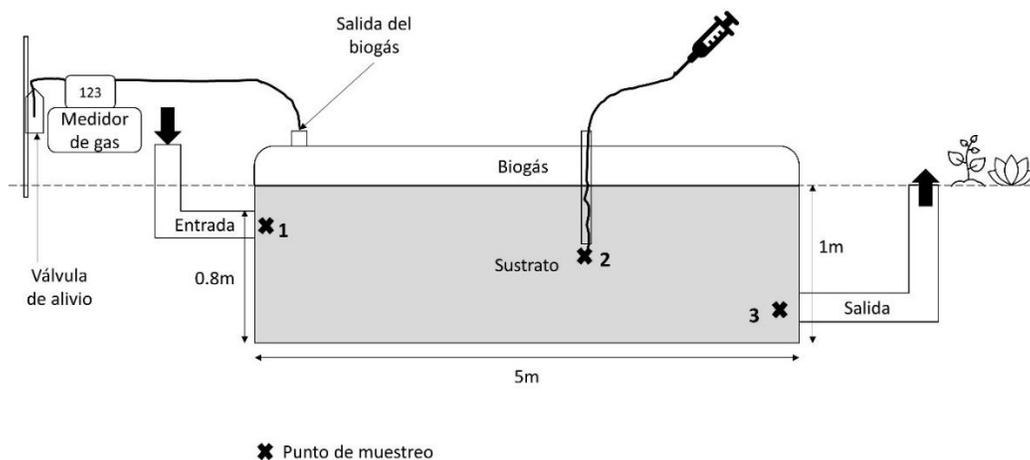


Figura 13. Biodigestores tubulares colocados sobre el suelo a un costado de un palenque mezcalero en Tlacolula de Matamoros, Oaxaca.

4.4.3. Manejo del experimento

Cada biodigestor fue inoculado con una mezcla de estiércol fresco de bovino (López-Velarde *et al.*, 2020) y agua en proporción 1:3 (Anexo 16 y 17) para garantizar el arranque y lograr la población microbiana encargada de la digestión anaeróbica, durante 30 días (Castro *et al.*,

2017). En el momento de la alimentación de los biodigestores con las vinazas del mezcal, denominado semana cero, se sustituyó 1/3 del volumen líquido en cada biodigestor (1,666 L) con vinazas para iniciar cada ciclo de digestión y lograr la adaptación del microbiota a este sustrato de acuerdo con López-Velarde *et al.*, (2019). Para regular el pH de las vinazas antes de introducir las a cada biodigestor, se agregó 25 kg de cal (CALIDRA®) (Anexo 18 y 19) para elevar el pH a 7.71, considerado dentro del rango óptimo para la digestión anaeróbica entre 6.80 y 8.20 (Fotidis *et al.*, 2016). La vinaza se introdujo a los biodigestores por medio de mangueras de 50.8 mm de diámetro y 20 m de longitud usando una motobomba a gasolina marca Honda®, con caudal de 200 L/min (Anexo 20). Después de concluidas las siete semanas de evaluación de cada ciclo, se repitió el procedimiento anteriormente descrito hasta completar los tres ciclos de digestión evaluados.

4.4.4. Métodos analíticos

Se determinó el contenido de sólidos totales (ST) y de sólidos volátiles (SV) por el método gravimétrico del inóculo (AOAC, 2003), de las vinazas y las mezclas utilizadas dentro de cada biodigestor en cada ciclo de alimentación; así como el pH y la CE (AOAC, 2003) (Cuadro 11).

Cuadro 9. Características fisicoquímicas iniciales del inóculo, vinazas y mezclas en digestión utilizadas en biodigestores tubulares alimentados con vinazas del mezcal.

Parámetro	Inóculo	Vinazas frescas	Sustrato en biodigestores		
			1	2	3
ST (%)	7.26 ±0.04	1.84 ±0.14	3.84 ±2.50	1.37 ±0.06	2.08 ±0.08
ST (g L ⁻¹)	75.19 ±0.04	18.40 ±1.51	36.93 ±1.59	13.60 ±0.60	20.60 ±1.00
SV (g L ⁻¹)	41.40 ±1.74	5.06 ±0.90	11.46 ±0.83	6.20 ±0.20	9.93 ±0.76
pH	6.45 ±0.07	4.07 ±0.01	7.69 ±0.02	7.80 ±0.02	7.74 ±0.04
CE (dS m ⁻¹)	3.06 ±0.04	2.38 ±0.02	3.95 ±0.03	3.85 ±0.02	3.90 ±0.08

ST sólidos totales, SV sólidos volátiles, CE conductividad eléctrica.

Durante las siete semanas de monitoreo de cada ciclo de digestión, se recolectaron una vez por semana 400 mL de mezcla en digestión por cada punto de muestreo (Anexo 21). La muestra fue transportada en una hielera a 4 °C para ser analizada en el laboratorio de suelos del CIIDIR-IPN-Oaxaca el mismo día en que fue recolectada (Anexo 22 y 23). Se midió el pH con un potenciómetro digital marca Hanna (Hanna Instruments®) (AOAC, 2003). Por titulación con ácido sulfúrico 0.1N (Jobling *et al.*, 2014), se midieron los ácidos grasos volátiles (AGV) en mg ácido acético L⁻¹ y la alcalinidad total (AT) en mg CaCO₃ L⁻¹. Todos los análisis se realizaron por triplicado. La estabilidad de la digestión anaeróbica se evaluó por medio de la relación de AGV/AT y el pH (Jobling *et al.* 2014).

Se midió la producción de biogás acumulada por semana y la producción acumulada por ciclo utilizando un medidor de gas de diafragma de baja presión analógico comercial marca KEUK DONG KI JEONG®; así como el contenido de metano del biogás por medio del desplazamiento volumétrico con una solución de KOH al 20% (Abdel-Hadi, 2008) (Anexo 24). La producción de biogás fue normalizada a condiciones estándar (273.15 °K y 101.33 kPa) de acuerdo con Holliger *et al.* (2016).

Al inicio del tercer ciclo de digestión, se recolectó un litro de vinazas frescas; mientras que al final de dicho ciclo se recolectó un litro de biofertilizante por cada biodigestor (Anexo 25). Las muestras fueron refrigeradas a 4 °C para su posterior análisis y determinación de sus características fisicoquímicas; así como de su contenido de macro y microelementos en el laboratorio de análisis de suelos y nutrición de Fertilab de Suelos S. de R.L. En el biofertilizante y en la vinaza fresca, se determinó el pH según la NMX-FF-109-SCFI-2007, la CE según la NMX-FF-109-SCFI-2008. El nitrógeno se determinó por el método de Dumas. Para determinar P, K, Ca, Mg, Na, S, Fe, Cu, Mn, Zn y B se utilizó el método de digestión en microondas/ICP (inductive coupling plasma). La humedad se determinó por el método gravimétrico; la materia orgánica, cenizas y carbono por calcinación y la relación C/N se determinó en base seca (Anexo 26).

4.4.5. Análisis de datos

Los factores de variación que se consideraron fueron: biodigestor, punto de muestreo, ciclo de digestión y semana de muestreo. Para comprobar los supuestos de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianzas (prueba de Levene), se realizó una transformación de los datos de pH, AGV, AT y relación de AGV/AT mediante la función inversa de rangos medios; ya que los originales no cumplían con una distribución normal de la varianza. Posteriormente, se hizo un análisis de varianza (ANOVA) factorial para identificar el efecto de los factores de variación y su interacción. Se realizó un análisis de comparación de medias para las variables antes mencionadas (Tukey, $\alpha \leq 0.05$). En todos los análisis se usó el paquete estadístico SPSS versión 25 (IBM, 2017). Se usó el programa Excel para generar las gráficas de producción semanal de biogás.

4.5. Resultados y discusión

4.5.1. Análisis de varianza

No se encontraron diferencias significativas en pH, AGV y AT entre los puntos de muestreo, biodigestores y ciclos de digestión; respectivamente. Hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en la relación AGV/AT entre biodigestores y altamente significativa ($p < 0.01$) entre los puntos de muestreo, ciclos de digestión, semanas de medición. Hubo diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) para todos los parámetros antes mencionados en la interacción de todos los factores de variación (Cuadro 12).

Cuadro 10. Significancia y media cuadrática determinada en el análisis de varianza de pH, AGV, AT y Relación AGV/AT en biodigestores tubulares alimentados con vinazas del mezcal.

Fuente de variación	Parámetro							
	pH		AGV		AT		Relación AGV/AT	
Biodigestores	1.98	**	2300004.08	ns	27062920.47	**	0.99	*
Puntos de muestreo	0.06	ns	160249024.13	**	82242851.43	**	2.15	**

Fuente de variación	Parámetro							
	pH		AGV		AT		Relación AGV/AT	
Ciclos de digestión	2.72	**	102162828.71	**	1771721.73	ns	11.22	**
Semanas de medición	0.84	**	174178114.52	**	80177068.98	**	10.77	**
Interacción ⁺	0.08	**	1184471.37	**	803126.82	**	0.06	**
Error	0.02		93.56		68.41		0.02	
CV (%)	6.00		86.00		49.00		67.00	

AGV: ácidos grasos volátiles, AT: alcalinidad total, CV: coeficiente de variación, **diferencia estadística significativa $p < 0.01$, * $p < 0.05$, ^{ns}no significativo, $n=567$, ⁺Biodigestor x Punto de muestreo x Ciclo de digestión x Semana de medición.

Las diferencias encontradas en los parámetros evaluados en relación con los diferentes factores de variación se explican por la heterogeneidad de las vinazas del mezcal, las cuales varían de una fábrica a otra, e incluso, de un ciclo de destilación a otro (Villalobos *et al.*, 2009), sobre todo en fábricas artesanales como la del presente estudio. Por otro lado, la etapa de acidogénesis, de la digestión anaeróbica, genera cambios significativos en el pH y en la capacidad buffer del biodigestor (Lyu *et al.*, 2018; Zinder, 1993), lo que se vio evidenciado en las diferencias encontradas en las diferentes semanas de medición. Sin embargo, la estabilidad del proceso, tanto por los valores de pH (Khanal, 2009); así como la relación de AGV/AT se mantuvo dentro de los parámetros aceptables para el desarrollo de la digestión anaeróbica (Lossie y Putz 2009; Castro et al. 2017).

4.5.2. Comparación de medias

El pH de la vinaza de mezcal en digestión fue mayor a 7.00 en el segundo biodigestor, durante el tercer ciclo de digestión. El valor más bajo de pH se observó en el primer biodigestor durante el segundo ciclo de digestión. La concentración de AGV fue mayor en la parte inferior de los biodigestores durante el segundo ciclo. La menor concentración de AGV se observó en la entrada de cada biodigestor durante el primer ciclo. La AT fue mayor en la

parte inferior del primer biodigestor en comparación con los demás puntos de muestreo y biodigestores y fue similar entre los tres ciclos evaluados. En cuanto a la relación AGV/AT, esta fue superior en el segundo biodigestor, en la parte inferior y durante los dos últimos ciclos de digestión. Los valores más bajos de este parámetro se observaron en el punto de muestreo superior del primer biodigestor, durante el primer ciclo (Cuadro 13).

Cuadro 11. Comparación de medias de acuerdo con el factor de variación de pH, AGV, AT y relación AGV/AT en biodigestores tubulares alimentados con vinazas del mezcal.

Fuente de variación	Repetición	Parámetro			
		pH	AGV (mg ácido acético L ⁻¹)	AT (CaCO ₃ mg L ⁻¹)	Relación AGV/AT
Biodigestor	1	6.88 c	2727.6 a	3765.37 a	0.69 c
		±0.36	±2279.56	±1840.17	±0.40
	2	7.06 a	2550.45 a	3094.02 b	0.83 a
		±0.46	±2465.12	±1385.90	±0.62
	3	6.91 b	2492.14 a	3082.86 b	0.78 b
		±0.41	±1904.11	±1541.34	±0.50
Punto de muestreo	1	6.95 a	1691.01 c	2626.76 c	0.67 c
		±0.44	±1892.67	±1423.35	±0.57
	2	6.97 a	2601.96 b	3395.37 b	0.76 b
		±0.39	±2020.97	±1518.13	±0.46
	3	6.93 a	3486.61 a	3927.33 a	0.88 a
		±0.43	±2355.68	±1664.18	±0.48
Ciclo de digestión	1	6.92 b	1763.09 b	3416.44 a	0.49 b
		±0.53	±1697.96	±1297.06	±0.42
	2	6.86 c	3025.64 a	3316.32 a	0.90 a
		±0.38	±2522.44	±1929.20	±0.51
	3	7.09 a	2983.68 a	3210.61 a	0.92 a
		±0.30	±2142.94	±1599.10	±0.50

AGV ácidos grasos volátiles, AT alcalinidad total, ±desviación estándar, letras distintas en una misma categoría indican grupos estadísticamente diferentes ($p < 0.05$), $n=567$. Punto de muestreo= 1 superior, 2 medio, 3 inferior.

En todos los puntos de muestro de los tres biodigestores durante los tres ciclos de digestión evaluados, el pH se mantuvo dentro de los límites óptimos para la metanogénesis que son 6.80 y 8.20 (Castro *et al.*, 2017), aunque la digestión anaeróbica puede funcionar de manera adecuada hasta un pH de 6.0, sobre todo en la etapa acidogénica (Khanal, 2009). La capacidad de amortiguar los cambios de pH del medio por la digestión de las vinazas se observó en los valores de la relación AGV/AT que se mantuvieron mayormente por debajo de 0.60 (Castro *et al.*, 2017). Al contar con sustratos como las vinazas que provienen de agroindustrias artesanales con mínimo control de procesos (Palma *et al.*, 2016), la heterogeneidad de los subproductos como la vinaza genera resultados heterogéneos. Es por ello por lo que la variación entre un ciclo a otro se vio reflejado en este estudio. Por otro lado, las diferentes concentraciones de sólidos en cada uno de los biodigestores podrían explicar la diferencia en los resultados entre ellos.

4.5.3. Estabilidad del proceso

4.5.3.1. pH

El pH de las vinazas se reguló a niveles entre 6.80 y 8.20 para favorecer la digestión anaeróbica. Su valor descendió a niveles ligeramente ácidos durante la semana 1 y 2 de cada ciclo de digestión en los tres biodigestores, siendo el tercer ciclo de digestión en el que más descendió el pH. En cada ciclo, a partir de la semana tres de digestión los valores de pH se mantuvieron por arriba de 6.80 hasta el final de cada ciclo de digestión. Se pudo observar que los cambios en el pH del sustrato fueron similares en los tres biodigestores durante los tres ciclos evaluados (Figura 14).

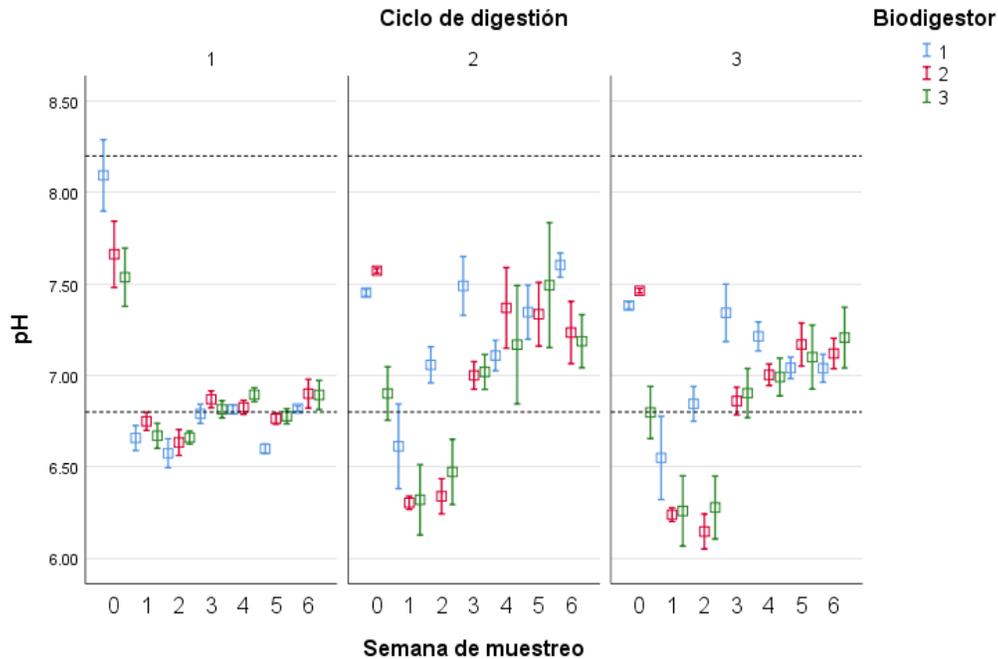


Figura 14. Cambios de pH durante la digestión anaeróbica de vinazas de mezcal en biodigestores tubulares.

Cuando el pH es menor a 6.50 provoca la inhibición de las arqueas metanogénicas (Arreola-Vargas *et al.*, 2018); sin embargo, la capacidad de amortiguamiento de los cambios de pH del medio en digestión para recuperarse a niveles óptimos, que se encuentran entre 6.80 y 8.20 para la digestión anaeróbica permite la continuidad del proceso (Castro *et al.*, 2017). En la figura anterior se observa una disminución del pH en las dos semanas siguientes a la alimentación con las vinazas, esto es debido a que coincide con la etapa de hidrólisis y acidogénesis (Thauer, 1998), etapas en las que los azúcares contenidos en las vinazas fueron transformados en AGV y subsecuentemente éstos en biogás (Jobling *et al.*, 2014); sin embargo, la reposición del pH a valores óptimos fue posible, en parte, debido a la presencia del inóculo en el inicio del proceso (Angelidaki *et al.*, 2009; López-Velarde *et al.*, 2019) y a la adición de cal para regular el pH (López-López *et al.*, 2010; Robles-González *et al.*, 2012).

4.5.3.2. Relación de AGV/AT

Los valores de este parámetro cambiaron en sentido opuesto a los valores de pH observados en la figura anterior. Los valores ascendieron en las semanas 1 y 2 de digestión de cada ciclo, pero empezaron a descender en la semana 3 hasta regresar a valores similares a los iniciales en la sexta semana de digestión (Figura 15). El primer ciclo de digestión fue el más estable, en comparación con los demás.

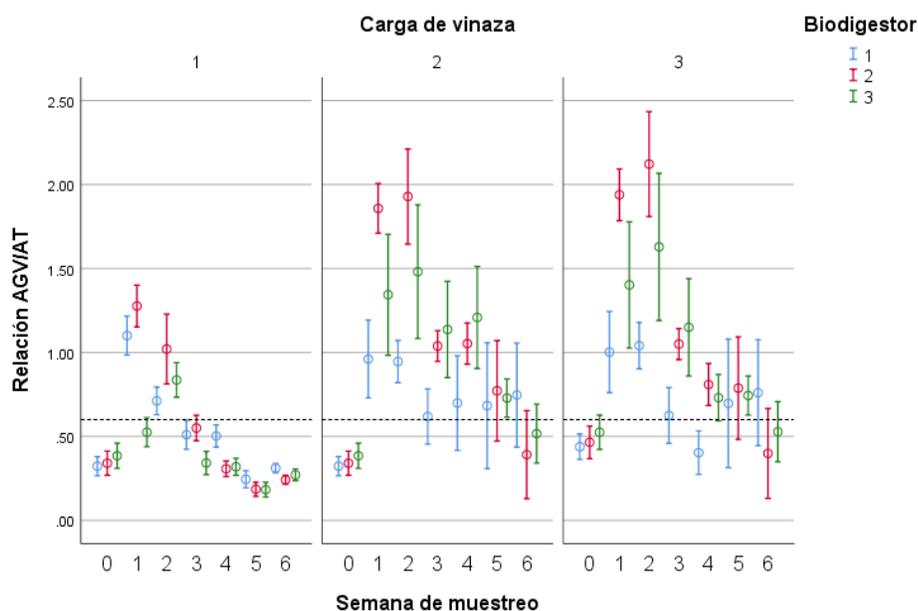


Figura 15. Cambios de la relación de AGV/AT durante la digestión anaeróbica de vinazas de mezcal en biodigestores tubulares.

La capacidad de neutralizar a los AGV con los carbonatos agregados en la cal y grupos OH^+ liberados durante la digestión anaeróbica permiten mantener los valores de pH controlados y a estabilizar el proceso (Lossie y Putz 2009). Los valores de la relación de AGV/AT se mantuvieron por debajo de 0.60, que es el nivel óptimo para la digestión anaeróbica (Castro *et al.*, 2017), tanto al inicio como al final de cada ciclo de digestión. Este parámetro puede servir como indicador para monitorear el funcionamiento de biodigestores de pequeña escala como los evaluados en este estudio, permitiendo realizar las correcciones a tiempo y a bajo

costo (Jobling *et al.*, 2014). Estos resultados muestran que es posible conseguir la estabilidad del proceso de digestión anaeróbica y la viabilidad para utilizar estos biodigestores tubulares en el tratamiento de las vinazas del mezcal.

4.5.4. Producción de biogás

4.5.4.1. Producción semanal de biogás

La producción de biogás fue mayor durante las semanas 1 y 2 de digestión después de realizada la carga de las vinazas y disminuyó a partir de la tercera semana, parando completamente en la quinta semana. En la semana 6 no se obtuvo producción de biogás (Figura 16). El contenido promedio de metano fue de 68.5%.

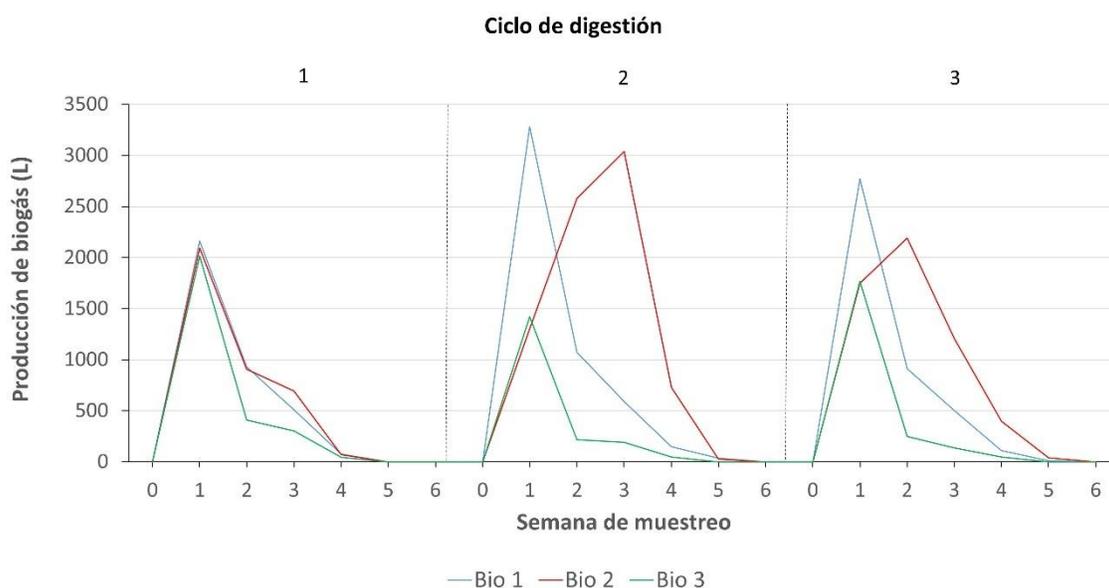


Figura 16. Producción de biogás por semana a partir de vinazas de mezcal en biodigestores tubulares.

La producción de biogás es una muestra indirecta de la actividad microbiana (Zwietering *et al.*, 1990), que al mismo tiempo coincidió con el patrón mostrado por los datos en las figuras anteriores, tanto de pH y AGV. Durante la etapa de crecimiento bacteriano exponencial, en las semanas 1 y 2 de digestión la producción de biogás fue mayor, disminuyendo

gradualmente hasta la semana 5, en un rango de 2,000 a 3,200 L de biogás por semana, equivalente a 250 y 457 L de biogás por día, lo cual es inferior a 900 L de biogás por día, reportado por Castro *et al.*, (2017) para biodigestores de tamaño similar en flujo continuo, alimentados con estiércol de vaca en un clima cálido, pero similar a lo reportado por Martí-Herrero *et al.*, (2016) para biodigestores de 8 m³, alimentados en flujo continuo con desechos de matadero en un clima templado. A diferencia de sistemas en flujo continuo en los que la carga diaria de residuos provoca turbulencia al entrar en contacto con la mezcla en digestión, en los de flujo discontinuo presenta desventajas debido a que la mezcla no es agitada diariamente, lo cual facilita el contacto de las bacterias con el sustrato (Martí-Herrero, 2019).

4.5.4.2. Producción total de biogás y metano

La producción acumulada de biogás al final de cada ciclo de digestión fue en promedio de 9,680.82 L. La mayor producción de biogás y metano se obtuvo con el biodigestor 2 durante el ciclo 2. El contenido de metano fue en promedio de 66.12 % y el rendimiento de metano fue de 1.28 L de CH₄ L⁻¹ de vinaza (Cuadro 14).

Cuadro 12. Producción acumulada de biogás y rendimiento de metano en biodigestores tubulares a partir de vinazas de mezcal.

Ciclo de digestión	Producción de biogás acumulada (L)				Contenido de metano (%)	Metano acumulado (L)	Rendimiento de metano por L de vinaza (L)
	Biodigestor						
	1	2	3	Total			
1	2885.99	2950.91	2174.43	8011.33	68.51	5488.38	1.10
2	4042.20	6040.93	1476.78	11559.92	65.58	7580.87	1.52
3	3376.70	4369.82	1724.70	9471.22	64.27	6086.90	1.22
Promedio	3434.97	4453.88	1791.97	9680.82	66.12	6400.77	1.28

La producción acumulada de biogás en promedio de los tres ciclos y los tres biodigestores fue de 9,680.82 L, equivalente a 1.92 L de biogás por L de vinaza introducida en los

biodigestores. Los valores más altos del contenido de metano estuvieron dentro del rango esperado para el biogás con propiedades inflamables (Martí-Herrero 2019). En cuanto a metano, el rendimiento obtenido por litro de vinaza fue en promedio de 1.28 L. Considerando que 1 m³ de biogás con 65 % de metano equivale a 1.65 kg de leña (Walsh, 1988), la producción total de biogás por ciclo en los tres biodigestores equivalió a 15.85 kg de leña, cantidad marginal en comparación con los aproximadamente 5000 kg de leña en la cocción y destilación que usan por ciclo de producción de mezcal. Es por ello que el biogás obtenido a partir de las vinazas del mezcal, deben orientarse para uso doméstico en el que el consumo energético para cocinar es menor que el que demanda una fábrica.

4.5.5. Producción de biofertilizante

La concentración de N, P, K, Mg, Mn y B fue mayor en el biofertilizante de los tres biodigestores en comparación con las vinazas de mezcal frescas. En el biodigestor 2 se observó mayor concentración de N, Ca, S, Fe, Cu y B; así como de materia orgánica, cenizas, carbono orgánico y relación C/N en comparación con las otras dos unidades. El contenido de materia orgánica, carbono orgánico y la relación C/N fue menor en el biofertilizante de los tres biodigestores en relación con las vinazas. A excepción del S, en promedio el contenido de los elementos aportados por el biofertilizante, así como los valores de pH y CE, fue mayor que lo requerido para la solución nutritiva Steiner (Cuadro 15).

Cuadro 13. Determinación de pH, CE y concentración de macro y microelementos en la vinaza de mezcal fresca y el biofertilizante obtenido de biodigestores a partir de vinazas del mezcal.

Determinación	Unidades	Vinaza	Biofertilizante			Steiner ⁺
			B1	B2	B3	
pH		4.55	7.72	7.69	7.94	5.50-6.50
CE	(dS m ⁻¹)	3.40	5.60	5.70	6.00	1.50-3.00
*Nitrógeno total	mg L ⁻¹	500.00	700.00	1100.00	600.00	168.00 ⁺
*P	mg L ⁻¹	21.00	56.00	40.00	36.00	30.98
*K	mg L ⁻¹	200.00	1000.00	900.00	1000.00	273.67

Determinación	Unidades	Vinaza	Biofertilizante			Steiner ⁺
			B1	B2	B3	
*Ca	mg L ⁻¹	1000.00	900.00	1100.00	800.00	180.36
*Mg	mg L ⁻¹	93.00	200.00	200.00	200.00	48.64
*Na	mg L ⁻¹	200.00	200.00	200.00	300.00	-
*S	mg L ⁻¹	95.00	57.00	72.00	57.00	224.00
*Fe	mg L ⁻¹	44.60	40.30	67.50	42.70	3.00
*Cu	mg L ⁻¹	3.02	0.53	1.72	0.92	0.08
*Mn	mg L ⁻¹	1.04	2.13	3.06	2.07	0.70
*Zn	mg L ⁻¹	3.43	2.96	1.40	0.86	0.40
*B	mg L ⁻¹	1.04	2.30	1.86	1.99	0.50
Humedad	%	98.50	99.00	97.70	99.10	-
*Materia Orgánica	%	1.21	0.45	1.09	0.42	-
*Cenizas	%	0.30	0.53	1.26	0.49	-
*Carbono orgánico	%	0.70	0.26	0.63	0.24	-
Relación C/N		13.20	3.89	5.64	3.86	-

*resultados reportados en base húmeda. ⁺El valor para nitrógeno representa nitratos (Steiner, 1961). B1, B2, B3 biodigestores 1, 2 y 3.

El pH de la vinaza fue similar a lo reportado por otros estudios para fábricas de mezcal artesanal (López-Velarde *et al.*, 2019; Villalobos *et al.*, 2009). En cuanto al biofertilizante, el pH se ubicó alrededor del nivel neutro, similar a otros estudios en los que usaron estiércol de cerdo con 7.50 (Lansing *et al.*, 2010). En cuanto a la CE, el efluente presentó valores superiores al rango óptimo de una solución nutritiva en el que las plantas pueden absorber los nutrientes, por lo que sería necesario realizar diluciones en agua para su uso en el fertirriego de cultivos. En la digestión anaeróbica se liberan los minerales contenidos en la materia orgánica de los residuos (Aguilar y Botero 2006) dejándolos disponibles para las raíces de las plantas. Al degradar los carbohidratos, proteínas y lípidos, las bacterias utilizan

el carbono como fuente de energía y el nitrógeno para replicarse (Aguilar y Botero, 2006), así como elementos traza para sus funciones enzimáticas (Fermoso *et al.*, 2019; González y Stres, 2019); no obstante, la mayor parte de dichos elementos son solubilizados en el agua que pueden ser utilizados para el aprovechamiento de las plantas (Al Seadi *et al.*, 2013; Castro *et al.*, 2017). El contenido de nitrógeno, tanto en vinazas crudas como en el efluente de los tres biodigestores, se presenta como nitrógeno total, debido a que no se determinó el contenido de nitrógeno mineral y de nitrógeno orgánico; mientras que en la solución nutritiva Steiner se presentan como nitratos (NO_3), por lo tanto, la concentración del nitrógeno cuantificado en las vinazas y el efluente no puede tomarse como un indicador de concentración de nitrógeno para efectos de la nutrición de las plantas. El contenido de Na, Mg y K encontrado en el biofertilizante, fue similar a lo reportado por Castro *et al.*, (2017), quienes encontraron 114, 390, 150, 1,580 mg L^{-1} ; respectivamente. En cambio, el contenido de Ca en el biofertilizante del presente estudio fue superior al reportado por los autores anteriores (150 mg L^{-1}), mientras que el de P fue inferior (114 mg L^{-1}). El alto contenido de Ca en el biofertilizante se puede deber a la adición de cal para regular el pH al momento de alimentar las vinazas del mezcal. Es necesario evaluar el efecto del biofertilizante sobre las propiedades del suelo y en el crecimiento de cultivos de importancia agronómica como el agave, hortalizas y cereales.

4.6. Conclusiones

Se encontró diferencia significativa entre los puntos de muestro de los biodigestores durante las semanas de digestión de los tres ciclos evaluados en pH, AGV, AT y relación de AGV/AT. El pH descendió a valores menores a 6.80 durante las semanas 1 y 2, y subió al rango óptimo (<8.20) para la digestión anaeróbica a partir de la semana 3 hasta estabilizarse al final de cada ciclo de digestión. En cuanto a la CE, el efluente obtenido al final de la digestión anaeróbica tuvo valores entre 5.60 y 6.00, superiores a 3.00, límite superior del rango óptimo de una solución nutritiva.

La relación AGV/AT aumentó a niveles superiores a 0.60, superior al óptimo, durante las semanas 1 y 2 y descendió hasta niveles cercanos a dicho nivel a partir de la semana 3, lo que evidenció la capacidad del sistema para estabilizar el proceso de digestión anaeróbica de las vinazas de mezcal en los biodigestores evaluados.

La producción de biogás semanal y acumulada se llevó a cabo durante las semanas 1 y 2, lo que evidencia la etapa de mayor actividad microbológica en los biodigestores. La producción acumulada de biogás en promedio por ciclo y por biodigestor fue de 9,680.82 L, con 66.12 % de metano; equivalente a 1.92 L de biogás por L de vinaza introducida en los biodigestores y a 1.28 L de CH₄ L⁻¹ de vinaza.

El contenido de nutrientes disueltos el efluente de los tres biodigestores obtenido al final del experimento superó los requerimientos de una solución nutritiva comercial, excepto por el S que presentó los menores valores relativos a dicha solución. La materia orgánica disminuyó en el biofertilizante en comparación con las vinazas frescas.

4.7. Agradecimientos

Al CONACYT por la beca 565495 para estudios de doctorado y al Instituto Politécnico Nacional (IPN)-CIIDIR-OAXACA por el uso de sus instalaciones y apoyo durante la fase experimental de esta investigación. Al Ing. Roberto García Chagoya por: facilitar su fábrica de mezcal, donar las vinazas, donar los materiales para la construcción de los biodigestores y realizar la excavación para su instalación. Al Ing. César Abraham López García por apoyar en la fabricación e instalación de los biodigestores. Al técnico Francisco Sebastián Reyes Méndez por su apoyo en la operación de los biodigestores.

4.8. Literatura citada

- Abdel-Hadi, M.A. (2008), A simple apparatus for biogas quality determination, *Misr J. Ag. Eng.*, Vol. 25 No. 3, pp. 1055–1066.
- Aguilar, F. y Botero, R. (2006), “Los Beneficios Económicos Totales de la Producción de Biogás Utilizando un Biodigestor de Polietileno de Bajo Costo”, *Tierra Tropical*, Vol. 2 No. 1, pp. 15–25.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., *et al.* (2009), “Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays”, *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, Vol. 59 No. 5, pp. 927–934.
- AOAC. (2003), *Official Methods of Analysis*, 17th ed., Vol.I.17th ed. Association of Analytical Washington, DC, USA.
- Arreola-Vargas, J., Jaramillo-Gante, E., N., Celis, B., L., Corona-González, *et al.* (2016), “Biogas production in an anaerobic sequencing batch reactor by using tequila vinasses: Effect of pH and temperature”, *Water Science and Technology*, IWA Publishing, Vol. 73 No. 3, pp. 550–556.
- Arreola-Vargas, J., Snell-Castro, R., Rojo-Liera, N.M., González-Álvarez, V. y Méndez-Acosta, H.O. (2018), “Effect of the organic loading rate on the performance and microbial populations during the anaerobic treatment of tequila vinasses in a pilot-scale packed bed reactor”, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, John Wiley and Sons Ltd, Vol. 93 No. 2, pp. 591–599.
- Bruun, S., Jensen, L.S., Khanh Vu, V.T. y Sommer, S. (2014), “Small-scale household biogas digesters: An option for global warming mitigation or a potential climate bomb?”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Elsevier Ltd.

- Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L.J., Vecino, K., Rojas, G. y Mantilla, L. (2017), “Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality”, *Bioresource Technology*, Elsevier Ltd, Vol. 239, pp. 311–317.
- CRM. (2019), El Mezcal “la cultura líquida de México”. Número 2. Febrero 2019., Oaxaca de Juárez, available at: http://www.crm.org.mx/periodico/PDF/Revista_El_Mezcal2.pdf (accessed 24 June 2019).
- Fermoso, F.G., Hullebusch, E. van, Collins, G., Roussel, J., Mucha, A.P. y Esposito, G. (2019), *Trace Elements in Anaerobic Biotechnologies*, IWA Publishing, available at: <http://hdl.handle.net/10261/185257> (accessed 29 November 2019).
- Fotidis, I.A., Laranjeiro, T.F.V.C. y Angelidaki, I. (2016), “Alternative co-digestion scenarios for efficient fixed-dome reactor biomethanation processes”, *Journal of Cleaner Production*, Elsevier, Vol. 127, pp. 610–617.
- Garfí, M., Martí-Herrero, J., Garwood, A. y Ferrer, I. (2016), “Household anaerobic digesters for biogas production in Latin America: A review”, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Pergamon, Vol. 60, pp. 599–614.
- Gómez, A.V., Valdez-Vazquez, I., Caballero-Caballero, M., Chiñas-Castillo, F., Alavéz-Ramírez, R. y Montes-Bernabé, J.L. (2019), “Co-digestion of Agave angustifolia Haw bagasse and vinasses for biogas production from mezcal industry”, *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Universidad Autonoma Metropolitana, Vol. 18 No. 3, pp. 1073–1083.
- González, J. y Stres, B. (2019), “Trace element enzymes in reactions essential for anaerobic digestion”, in IWA Publishing (Ed.), *Trace Elements in Anaerobic Biotechnologies*, pp. 51–72.

- Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., Bougrier, C., *et al.* (2016), “Towards a standardization of biomethane potential tests”, *Water Science and Technology*, Vol. 74 No. 11, pp. 2515–2522.
- IBM. (2017), “IBM SPSS Statistics for Windows”, IBM Corp., Armonk, NY.
- Jobling, B.J., Thai, S.M., Fritz, T., Esteves, S.R., Dindale, R.M. y Guwy, A.J. (2014), “An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food waste”, *Water Research*, Pergamon, Vol. 61, pp. 162–170.
- Khanal, S.K. (2009), *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications*, *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications*, Wiley-Blackwell, available at:<https://doi.org/10.1002/9780813804545>.
- Lansing, S., Martin, J.F., Botero, R.B., Nogueira da Silva, T. y Dias da Silva, E. (2010), “Wastewater transformations and fertilizer value when co-digesting differing ratios of swine manure and used cooking grease in low-cost digesters”, *Biomass and Bioenergy*, Vol. 34 No. 12, pp. 1711–1720.
- Lansing, S., Viquez, J., Martínez, H., Botero, R. y Martin, J. (2008), “Quantifying electricity generation and waste transformations in a low-cost, plug-flow anaerobic digestion system”, *Ecological Engineering*, Elsevier, Vol. 34 No. 4, pp. 332–348.
- López-López, A., Dávila-Vázquez, G., León-Becerril, E., Villegas-García, E. y Gallardo-Valdez, J. (2010), “Tequila vinasses: Generation and full-scale treatment processes”, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, June.
- López-Velarde, M., Ventura-Ramos, E., Rodríguez-Morales, J.A. y Oliver, H. (2020), “Effect of inoculum source on the anaerobic digestion of mezcal vinasses at different substrate-inoculum ratios”, *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, Centro de Ciencias de la Atmosfera, UNAM, Vol. 36 No. 1, pp. 81–95.

- López-Velarde, M., Ventura-Ramos, E.J., Rodríguez-Morales, J.A. y Hensel, O. (2019), “Inoculum adaptation for the anaerobic digestion of mezcal vinasses”, *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 35 No. 2, pp. 447–458.
- Lossie, U. y Putz, P. (2009), Targeted Control of Biogas Plants with the Help of FOS/TAC, available at: <https://www.scienceopen.com/document?vid=9d68043b-884f-4d73-afa2-c69ab288f7fe> (accessed 26 December 2021).
- Lyu, Z., Shao, N., Akinyemi, T. y Whitman, W.B. (2018), “Methanogenesis”, *Current Biology*, Cell Press, Vol. 28 No. 13, pp. R727–R732.
- Martí-Herrero, J. (2019), *Biodigestores Tubulares: Guía de Diseño y Manual de Instalación*, edited by RedBioLAC, Ecuador, available at: http://redbiolac.org/wp-content/uploads/Manual-de-Diseño-e-Instalación-de-Biodigestores-Latinoamericanos-26sep-color.pdf?utm_source=mailchimp&utm_campaign=0300d482e1f0&utm_medium=page (accessed 3 November 2019).
- Martí-Herrero, J., Flores, T., Álvarez, R. y Pérez, D. (2016), “How to report biogas production when monitoring small-scale digesters in field”, *Biomass and Bioenergy*, Elsevier Ltd, Vol. 84, pp. 31–36.
- Mukeshimana, M.C., Zhao, Z.Y., Ahmad, M. y Irfan, M. (2021), “Analysis on barriers to biogas dissemination in Rwanda: AHP approach”, *Renewable Energy*, Elsevier Ltd, Vol. 163, pp. 1127–1137.
- Palma, F., Pérez, P. y Meza, V. (2016), “Diagnóstico de la Cadena de Valor Mezcal en las Regiones de Oaxaca”.
- Robles-González, V., Galíndez-Mayer, J., Rinderknecht-Seijas, N. y Poggi-Varaldo, H.M. (2012), “Treatment of mezcal vinasses: A review”, *Journal of Biotechnology*, Elsevier, Vol. 157 No. 4, pp. 524–546.

- Rodríguez, A. y De La Cerna, C. (2017), “El mezcal, su producción y tratamiento de residuos”, *Alianzas y Tendencias*, Vol. 2 No. 8, pp. 10–14.
- Rogers, E.M. (1983), *Diffusion of Innovations*, Diffusion of Innovations, Third edit., The free press, New York.
- Sánchez-Lizárraga, A.L., Arenas-Montaño, V., Marino-Marmolejo, E.N., Dendooven, L., Velázquez-Fernández, J.B., Dávila-Vázquez, G., Rodríguez-Campos, J., *et al.* (2018), “Vinasse irrigation: effects on soil fertility and arbuscular mycorrhizal fungi population”, *Journal of Soils and Sediments*, Springer Verlag, Vol. 18 No. 11, pp. 3256–3270.
- Al Seadi, T., Drosig, B., Fuchs, W., Rutz, D. y Janssen, R. (2013), “Biogas digestate quality and utilization”, *The Biogas Handbook: Science, Production and Applications*, Elsevier Inc., pp. 267–301.
- Steiner, A.A. (1961), “A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition”, *Plant and Soil* 1961 15:2, Springer, Vol. 15 No. 2, pp. 134–154.
- Thauer, R.K. (1998), “Biochemistry of methanogenesis: a tribute to Marjory Stephenson.”, *Microbiology* (Reading, England).
- Villalobos, F., Robles, V. y Poggi, H. (2009), *Disminución de La Materia Orgánica Biodegradable Presente En Vinazas Mezcaleras Mediante Digestión Anaerobia*, Universidad Tecnológica de la Mixteca, available at: http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10960.pdf (accessed 28 February 2019).
- Walsh, J. (1988), *Handbook on Biogas Utilization*, Environment Health and Safety Division Georgia Tech Research Institute, Atlanta Ga., available at: (accessed 1 June 2022).
- Zinder, S.H. (1993), “Physiological Ecology of Methanogens”, *Methanogenesis*, Springer US, Boston, MA, pp. 128–206.

Zwietering, M., Jongenburger, I., Rombouts, F. y van 'T Riet, K. (1990), "Modeling of the bacterial growth curve", Applied and Environmental Microbiology, Vol. 56 No. 6, pp. 1875–1881.

Capítulo 5. Conclusiones generales

Conclusiones generales

Experimento 1 y 2: las vinazas del mezcal en una concentración del 2.5% resultaron tóxicas para las semillas de lechuga y mayor del 10% inhibió su germinación. Sin embargo, las semillas de tomate y pepino mostraron mayor tolerancia, resultando tóxico a partir del 20% de concentración. El índice de germinación y de elongación radicular disminuyen al aumentar la concentración de vinazas. Es posible utilizar las vinazas del mezcal como fuente de nutrientes para el cultivo de hortalizas, con rendimientos mayores en lechuga y tomate con la mezcla 40 + 60% de vinazas y solución nutritiva; mientras que, en pepino, se encontraron los mayores rendimientos con 40 + 60 y 20 + 80% de vinazas y solución nutritiva. Al aumentar el porcentaje de vinazas en la solución nutritiva, el rendimiento de pepino disminuyó de forma lineal y proporcional a dicho aumento.

Experimento 3: es posible obtener metano en condiciones de laboratorio a partir de la co-digestión de vinazas del mezcal y estiércol de bovino, la mayor producción acumulada de metano se obtuvo con la mezcla 75-25 vinazas-estiércol bovino, que representó 26.7% más metano que las vinazas solas. La inclusión de estiércol en dicha mezcla mejoró el proceso de digestión anaeróbica de las vinazas y acortó el período de adaptación bacteriana a estos residuos en 4.12 días.

Experimento 4: durante la evaluación de biodigestores a escala real, la digestión anaeróbica de las vinazas del mezcal logró estabilizarse. El pH descendió a valores menores a 6.80 durante las semanas 1 y 2, y se ubicó en el rango óptimo (<8.20) para la digestión anaeróbica a partir de la semana 3. La relación AGV/AT se estabilizó en los valores adecuados, tanto al inicio como al final de cada ciclo de digestión. La producción acumulada de biogás en promedio por ciclo y por biodigestor fue de 9,680.82 L, con 66.12 % de metano; equivalente a 1.92 L de biogás por L de vinaza introducida en los biodigestores y a 1.28 L de $\text{CH}_4 \text{ L}^{-1}$ de vinaza. En cuanto al contenido de elementos esenciales en el biofertilizante obtenido, la mayoría de los nutrientes superaron los valores requeridos por la solución nutritiva universal de Steiner, lo cual indica el potencial para ser usado como biofertilizante.

Anexos

Anexo 1. Recolección de vinazas del mezcal en el palenque artesanal San Pablo, en el municipio de San Pablo Villa de Mitla, Oaxaca.



Anexo 2. Placas Petri con semillas de hortalizas ubicadas en la cámara de germinación correspondientes al experimento 1, para evaluar la fitotoxicidad de las vinazas del mezcal en semillas de lechuga, tomate y pepino.



Anexo 3. Establecimiento de cultivo de lechuga, tomate y pepino en cultivo hidropónico en invernadero para el experimento 2.



Anexo 4. Medición de variables relacionadas con el rendimiento de frutos de tomate y pepino cosechados en el experimento 2 en el laboratorio de agronomía del CIIDIR, Oaxaca.



Anexo 5. Recolección de estiércol de bovino en el matadero municipal de Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca para el experimento 3.



Anexo 6. Recolección de vinazas del mezcal frescas del palenque artesanal Don Agave para el experimento 3.



Anexo 7. Incubadora en baño maría de los reactores usados para el establecimiento del experimento 3.



Anexo 8. Entrada a la fábrica de mezcal de “Productores magueyeros de agave azul de los Valles de Tlacolula S.P.R. de R.I”, donde se instalaron los biodigestores tubulares para el experimento 4.



Anexo 9. Sensor de temperatura y humedad relativa HOBO usado en el sitio del experimento con biodigestores tubulares a escala real.



Anexo 10. Foso de infiltración de las vinazas del mezcal ubicado en el terreno donde se instalaron los biodigestores tubulares del experimento 4.



Anexo 11. Excavación de las tres fosas para la instalación de los biodigestores tubulares del experimento 4.



Anexo 12. Instalación de los biodigestores tubulares en el sitio experimental.



Anexo 13. Inflado de los biodigestores para su ubicación en el suelo.



Anexo 14. Biodigestores tubulares instalados en el sitio del experimento 4.



Anexo 15. Manguera de polietileno para la conducción del biogás, válvula para controlar el flujo del gas, medidor de gas de diafragma y válvula de alivio de la presión.



Anexo 16. Carga inicial de los biodigestores con la mezcla de estiércol de bovino y agua.



Anexo 17. Alimentación del biodigestor con la mezcla de estiércol de bovino y agua.



Anexo 18. Preparación de la mezcla de cal y vinazas del mezcal para su aplicación en la fosa de infiltración.



Anexo 19. Recirculación de las vinazas del mezcal en el foso de infiltración para mezclar con la cal y regular el pH, previo a su introducción a los biodigestores.



Anexo 20. Motobomba a gasolina marca Honda® utilizada para alimentar las vinazas en ellos biodigestores.



Anexo 21. Recolección de muestras del sustrato en el punto 2 de muestreo durante el periodo de evaluación en los biodigestores tubulares.



Anexo 22. Transporte de las muestras en hieleras para su análisis en laboratorio.



Anexo 21. Determinación de ST y SV de las muestras de sustratos en el laboratorio de suelos del CIIDIR, Oaxaca.



Anexo 24. Recolección de muestras de biogás para determinar su contenido de metano.



Anexo 25. Recolección de muestra de efluente del biodigestor para su análisis fisicoquímico.



Anexo 26. Resultados de los análisis de laboratorio del efluente de los biodigestores del experimento 4.

FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Pioniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx
Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

FOLIO: CP-5212

Cliente: Edwin A. Zelaya Benavidez
Localización: Tlacolula, Tlacolula De Matamoros, Oaxaca
Identificación: 03
Emisión: 2022/03/03

Estado Físico: Líquido
Nombre: Vinaza De Mezcal

Determinación	Método	Unidades	Resultados
pH	NMX-FF-109-SCFI-2007		4.85
Cond. Eléctrica	NMX-FF-109-SCFI-2007	ds/m	3.40
* Nitrógeno total	Dumas	%	0.55
* Fósforo (P)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.0021
* Potasio(K)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.02
* Calcio(Ca)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.10
* Magnesio(Mg)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.0093
* Sodio(Na)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.02
* Azufre(S)	Digestión en microondas / Turbidometría	%	0.0055
* Hierro(Fe)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	44.6
* Cobalto(Co)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	3.02
* Manganeso(Mn)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	1.04
* Zinc(Zn)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	3.43
* Boro(B)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	1.04
Humedad	Método Gravimétrico	%	98.5
* Materia Orgánica	Calcínación	%	1.21
* Cenizas	Calcínación	%	0.30
* Carbono Orgánico	Calcínación	%	0.30
Relación C/N	Base Seca		13.2

* Resultados reportados en BASE HÚMEDA

FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Pioniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx
Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

FOLIO: CP-5213

Cliente: Edwin A. Zelaya Benavidez
Localización: Tlacolula, Tlacolula De Matamoros, Oaxaca
Identificación: 04
Emisión: 2022/03/03

Estado Físico: Líquido
Nombre: Digestato B1

Determinación	Método	Unidades	Resultados
pH	NMX-FF-109-SCFI-2007		7.72
Cond. Eléctrica	NMX-FF-109-SCFI-2007	ds/m	5.60
* Nitrógeno total	Dumas	%	0.07
* Fósforo (P)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.0056
* Potasio(K)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.10
* Calcio(Ca)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.09
* Magnesio(Mg)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.02
* Sodio(Na)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.02
* Azufre(S)	Digestión en microondas / Turbidometría	%	0.0027
* Hierro(Fe)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	40.3
* Cobalto(Co)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	0.53
* Manganeso(Mn)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	2.13
* Zinc(Zn)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	2.96
* Boro(B)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	2.30
Humedad	Método Gravimétrico	%	99.5
* Materia Orgánica	Calcínación	%	0.45
* Cenizas	Calcínación	%	0.53
* Carbono Orgánico	Calcínación	%	0.26
Relación C/N	Base Seca		3.89

* Resultados reportados en BASE HÚMEDA

FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Pioniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx
Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

FOLIO: CP-5215

Cliente: Edwin A. Zelaya Benavidez
Localización: Tlacolula, Tlacolula De Matamoros, Oaxaca
Identificación: 05
Emisión: 2022/03/03

Estado Físico: Líquido
Nombre: Digestato B2

Determinación	Método	Unidades	Resultados
pH	NMX-FF-109-SCFI-2007		7.89
Cond. Eléctrica	NMX-FF-109-SCFI-2007	ds/m	5.70
* Nitrógeno total	Dumas	%	0.11
* Fósforo (P)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.0040
* Potasio(K)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.09
* Calcio(Ca)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.11
* Magnesio(Mg)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.02
* Sodio(Na)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.02
* Azufre(S)	Digestión en microondas / Turbidometría	%	0.0072
* Hierro(Fe)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	67.5
* Cobalto(Co)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	1.42
* Manganeso(Mn)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	3.06
* Zinc(Zn)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	1.40
* Boro(B)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	1.06
Humedad	Método Gravimétrico	%	97.7
* Materia Orgánica	Calcínación	%	1.09
* Cenizas	Calcínación	%	1.26
* Carbono Orgánico	Calcínación	%	0.63
Relación C/N	Base Seca		5.64

* Resultados reportados en BASE HÚMEDA

FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.
 Pioniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P. 38010
 www.fertilab.com.mx
Laboratorio de Análisis de Suelos y Nutrición

FOLIO: CP-5214

Cliente: Edwin A. Zelaya Benavidez
Localización: Tlacolula, Tlacolula De Matamoros, Oaxaca
Identificación: 06
Emisión: 2022/03/03

Estado Físico: Líquido
Nombre: Digestato B3

Determinación	Método	Unidades	Resultados
pH	NMX-FF-109-SCFI-2007		7.54
Cond. Eléctrica	NMX-FF-109-SCFI-2007	ds/m	6.00
* Nitrógeno total	Dumas	%	0.06
* Fósforo (P)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.0036
* Potasio(K)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.10
* Calcio(Ca)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.08
* Magnesio(Mg)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.02
* Sodio(Na)	Digestión en microondas/ ICP	%	0.03
* Azufre(S)	Digestión en microondas / Turbidometría	%	0.0037
* Hierro(Fe)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	42.7
* Cobalto(Co)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	0.92
* Manganeso(Mn)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	2.07
* Zinc(Zn)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	0.86
* Boro(B)	Digestión en microondas/ ICP	ppm	1.99
Humedad	Método Gravimétrico	%	99.1
* Materia Orgánica	Calcínación	%	0.42
* Cenizas	Calcínación	%	0.49
* Carbono Orgánico	Calcínación	%	0.24
Relación C/N	Base Seca		3.86

* Resultados reportados en BASE HÚMEDA