

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD OAXACA

PROGRAMA:
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y
APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES.

T E S I S

“PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE BAGAZO Y
VINAZA DEL *Agave angustifolia* Haw GENERADA
COMO RESIDUO EN LA ELABORACIÓN DE MEZCAL”

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO
DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:
AGUSTÍN VIDAL GÓMEZ GUERRERO

DIRECTORES DE TESIS:
DR. MAGDALENO CABALLERO CABALLERO.
DR. LUIS HÉCTOR HERNÁNDEZ GÓMEZ.





INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez siendo las 13:00 horas del día 14 del mes de noviembre del 2014 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR-OAXACA)** para examinar la tesis de grado titulada: "Producción de biogás a partir del bagazo y vinaza del *Agave angustifolia* Haw, generados como residuos en la elaboración de mezcal",

Presentado por el alumno:

<u>Gómez</u>	<u>Guerrero</u>	<u>Agustín Vidal</u>							
<small>Apellido paterno</small>	<small>materno</small>	<small>nombre(s)</small>							
Con registro: <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px 5px;">B</td> <td style="padding: 2px 5px;">1</td> <td style="padding: 2px 5px;">2</td> <td style="padding: 2px 5px;">0</td> <td style="padding: 2px 5px;">0</td> <td style="padding: 2px 5px;">1</td> <td style="padding: 2px 5px;">0</td> </tr> </table>			B	1	2	0	0	1	0
B	1	2	0	0	1	0			

aspirante al grado de: **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES**

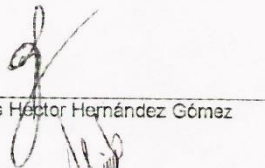
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA


Directores de tesis



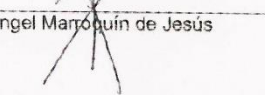
Dr. Magdaleno Caballero Caballero




Dr. Luis Héctor Hernández Gómez



Dr. Prisciliano Felipe de Jesús Cano Barrita

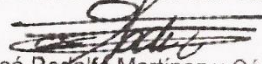


Dr. Ángel Marroquín de Jesús



Dra. Lucilla Lagüez Rivera

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



Dr. José Rodolfo Martínez y Cárdenas
Encargado de la Dirección





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez el día 14 del mes noviembre del año 2014, el (la) que suscribe Gómez Guerrero Agustín Vidal, alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES** con número de registro B120010, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Magdaleno Caballero Caballero y Luis Héctor Hernández Gómez cede los derechos del trabajo titulado: "Producción de biogás a partir del bagazo y vinaza del *Agave angustifolia* Haw, generados como residuos en la elaboración de 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 expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **Calle Hornos 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca**, e-mail: posgradoax@ipn.mx ó agustinvidal86@gmail.com Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Gómez Guerrero Agustín Vidal



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACION PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
IPN



AGRADECIMIENTOS.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. (CONACYT), por el apoyo económico que me brindó para realizar mis estudios de maestría.

Al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Regional Integral, (CIIDIR IPN - Unidad Oaxaca) por el apoyo económico brindado, pero sobre todo por la formación académica de gran calidad que en sus aulas se imparte, y a todo el personal que ahí labora, que de alguna manera me apoyó.

Muy en especial quiero expresar mi agradecimiento a los directores de esta tesis: Al Dr. Magdaleno Caballero Caballero por su invaluable apoyo y experiencia, al compartir su tiempo y conocimientos y gran dosis de paciencia para la redacción de esta tesis y, sobre todo, por brindarme su amistad. Al Dr. Luis Héctor Hernández Gómez, por la experiencia y apoyo que me brindo en la elaboración de esta investigación.

Quiero expresar un profundo agradecimiento a toda mi familia, en especial a mi **madre**, que siempre me apoyo, confió y creyó en mí, impulsando en todo momento mi crecimiento profesional. A mi **padre**, que en todo momento ha tenido la palabra de apoyo adecuada e inspiración para saber qué camino tomar.

Reciban todos y todas esta tesis, producto del esfuerzo y pasión por mi profesión.

A TODOS GRACIAS.



RESUMEN.

En este trabajo se presenta la evaluación del porcentaje de biogás producido a partir de los residuos de la producción del mezcal en el estado de Oaxaca, empleando el bagazo y las vinazas del *Agave angustifolia* Haw, dichos elementos fueron recolectados en un palenque artesanal ubicado en San Baltazar Chichicapam localizado en la parte central del estado de Oaxaca al sureste de la capital. Se realizó un pretratamiento mecánico de reducción de tamaño al bagazo de agave, buscando así lograr una mejor accesibilidad bacteriana, eficientando el proceso.

Posteriormente dichas muestras fueron sometidas a un sistema de tratamiento anaerobio a nivel laboratorio empleando excretas porcinas como inóculo, el proceso experimental consto de diferentes combinaciones de bagazo y vinaza, el proceso se llevó a cabo en un rango termofílico de 35 °C constantemente durante todo el experimento.

Los resultados obtenidos de este estudio muestran un aumento en el porcentaje de metano cuando la relación de excreta es mayor a la vinaza y con un tamaño de fibra de 1 mm, se determinó un punto máximo de producción de 34.7%. Por el contrario el experimento que se realizó con un fibra sin pretratamiento mecánico obtuvo un máximo de producción del 21.7%, se pudo determinar que el incremento fue de 13% con solo modificar el tamaño de partícula del bagazo de *agave angustifolia* Haw.

Palabras clave: Digestión anaerobia, Bagazo, Vinaza, *Agave angustifolia* Haw, Biogás, pretratamiento mecánico.



ABSTRACT.

In this paper the evaluation of the percentage of biogas produced comes from the waste from the production of mescal in the state of Oaxaca was made, we using bagasse and vinasse *Agave angustifolia* Haw, these items were collected in a craft arena located in San Baltazar Chichicapam located in the central part of the state of Oaxaca southeast of the capital. A mechanical pretreatment size reduction agave bagasse was performed pretending, bacterial achieve a better accessibility, to streamline the process.

Subsequently the samples were subjected to a system of anaerobic treatment at laboratory using swine faeces as inoculum, the experimental process consist in a different combinations of bagasse and vinasse, the process is carried out in a thermophilic range 35 ° C constant throughout all the experiment.

The results of this study show an increase in the methane concentration when the ratio excreted is greater than vinasse with a fiber size of 1 mm, a peak production of 34.7% was determined. By contrast the experiment was performed with a fiber without mechanical pretreatment scored a maximum production of 21.7%, it was determined that the increase was 13% with only modify the particle size bagasse *agave angustifolia* Haw.

Keywords: Anaerobic digestion, bagasse, vinasse, *Agave angustifolia* Haw, Biogas, mechanical pretreatment



ÍNDICE DE TABLAS.

	Pág
Tabla 1 - Reacciones de la digestión anaeróbica (Pavlostathis & Giraldo-Gomez, 1991).....	3
Tabla 2 - Clasificación de sustratos para la Digestión Anaeróbica.....	10
Tabla 3 - Rangos de temperatura y tiempos de retención (Lagrange, 1979).....	12
Tabla 4 - Características principales de las vinazas mezcaleras (Jiménez et al. 2006).....	22
Tabla 5 - Características del material empleado en la investigación.....	26
Tabla 6 - Experimentos realizados.....	31
Tabla 7 - Volúmenes de operación.....	33
Tabla 8 - Condiciones iniciales para experimento 1A.....	34
Tabla 9 - Resultados del experimento 1A.....	34
Tabla 10 - Condiciones iniciales para experimento 2B.....	35
Tabla 11 - Resultados del experimento 2B.....	35
Tabla 12 - Condiciones iniciales para experimento 3C.....	36
Tabla 13 - Resultados del experimento 3C.....	36
Tabla 14 - Condiciones iniciales para experimento 4D.....	37
Tabla 15 - Resultados del experimento 4D.....	37
Tabla 16 - Condiciones iniciales para experimento 5E.....	38
Tabla 17 - Resultados del experimento 5E.....	38
Tabla 18 - Condiciones iniciales para experimento 6F.....	39
Tabla 19 - Resultados del experimento 6F.....	39
Tabla 20 - Condiciones iniciales para experimento 7G.....	40
Tabla 21 - Resultados del experimento 7G.....	40
Tabla 22 - Condiciones iniciales para experimento 8H.....	41
Tabla 23 - Resultados del experimento 8H.....	41
Tabla 24 - Condiciones iniciales para experimento 9I.....	42
Tabla 25 - Resultados del experimento 9I.....	42
Tabla 26 - Condiciones iniciales para experimento 10J.....	43
Tabla 27 - Resultados del experimento 10J.....	43



ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.

	Pág.
Ilustración 1 - Producción de biogás en función de la temperatura (weijma & stams, 2001).....	13
Ilustración 2 - Dependencia del ph en la actividad metanogénica (speece, 1996)....	15
Ilustración 3 - Esquema del pretratamiento mecánico en fibras lignocelulósicas.....	18
ilustración 4 - Acondicionamiento de fibra de agave angustifolia haw mediante pretratamiento mecánico realizado durante la investigación visto a 40x.....	19
Ilustración 5 - Depósito de descarga para las vinazas en un palenque artesanal.....	21
Ilustración 6 - Vinazas en un palenque artesanal.....	22
Ilustración 7 - Zona de muestreo.....	26
Ilustración 8 - Proceso de molienda del agave angustifolia Haw.....	27
Ilustración 9 - Colecta de bagazo de agave angustifolia Haw.....	27
Ilustración 10 - Depósito de vinaza de agave angustifolia Haw.....	28
Ilustración 11 - Excretas de cerdo.....	29
Ilustración 12 - Bagazo después del proceso de secado.....	29
Ilustración 13 - Pretratamiento mecánico del bagazo de agave angustifolia Haw....	30
Ilustración 14 - Tamizado del bagazo de agave pre tratado mecánicamente.....	30
Ilustración 15 - Esquema de experimentación propuesto.....	32
Ilustración 16 - Arreglo realizado durante la experimentación.....	32
Ilustración 17 - Preparación de mezclas en los matraces.....	44
Ilustración 18 - Lectura de biogás en cada matraz.....	44
Ilustración 19 - Porcentaje de metano generado por cada experimento.....	45
Ilustración 20 - Porcentaje de metano generado en las pruebas 1a y 3c.....	45
Ilustración 21 - Relación entre la producción de co2 y gas metano para 1a.....	46
Ilustración 22 - Relación entre la producción de co2 y gas metano para 2b.....	47
Ilustración 23 - Porcentaje de metano generado en las pruebas 3c y 4d.....	47
Ilustración 24 - Relación entre la producción de co2 y gas metano para 3c.....	48
Ilustración 25 - Relación entre la producción de co2 y gas metano para 4d.....	48



CONTENIDO.

RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	5
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	6
INTRODUCCIÓN.....	I
PROBLEMÁTICA.....	III
JUSTIFICACIÓN.....	IV
OBJETIVOS.....	VI
GENERAL.....	VI
ESPECÍFICOS.....	VI
HIPÓTESIS.....	VI
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 - ANTECEDENTES DEL BIOGÁS.....	1
1.2 - DIGESTIÓN ANAERÓBICA.....	2
1.2.1 - Etapa hidrolítica.....	4
1.2.2 - Etapa acidogénica.....	5
1.2.3 - Etapa acetogénica.....	5
1.2.4 - Etapa metanogénica.....	6
1.3 - VENTAJAS DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA.....	7
1.3.1 - Productos finales de la digestión anaerobia.....	8
1.4 - FACTORES DETERMINANTES EN LA DIGESTIÓN ANAERÓBICA.....	8
1.4.1 - Naturaleza y composición bioquímica de la materia prima.....	8
1.4.2 - Relación Carbono/Nitrógeno de la materia prima.....	10
1.4.3 - Niveles de sólidos totales y sólidos volátiles.....	11
1.4.4 - Temperatura.....	12
1.4.5 - Rangos de pH.....	14



1.5 - CONSIDERACIONES EN LA ELECCIÓN DEL INOCULO PARA EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD Y RENDIMIENTO.....	16
1.5.1 - Uso de excretas en la digestión anaerobia.	16
1.5.2 - Efecto del tamaño de partícula del bagazo de Agave.	17
1.6 - BAGAZO Y VINAZA DEL <i>Agave angustifolia</i> Haw.....	19
1.6.1 - Bagazo de <i>Agave angustifolia</i> Haw.....	19
1.6.1.1 - Características químicas del bagazo de <i>Agave angustifolia</i> Haw.....	19
1.6.1.2 - Usos del bagazo de <i>Agave angustifolia</i> Haw.	19
1.6.2 - Vinaza mezcalera del <i>Agave angustifolia</i> Haw.....	20
1.6.2.1 - Características químicas de la vinaza mezcalera.....	23
1.6.2.2 - Usos de las vinazas mezcaleras.....	23
1.7 - PROBLEMÁTICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	24
CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
2.1 - METODOLOGÍA.....	25
2.2 - LOCALIZACIÓN.....	25
2.3 - MUESTREO.....	26
2.3.1. - Bagazo de <i>Agave angustifolia</i> Haw.....	26
2.3.2. - Vinazas de <i>Agave angustifolia</i> Haw.....	27
2.3.3. - Inoculo.....	27
2.4 - ADECUACIÓN DEL BAGAZO DE <i>Agave angustifolia</i> Haw.....	28
2.5 - ARREGLO EXPERIMENTAL.....	29
2.6 - MONTAJE EXPERIMENTAL.....	30
CAPÍTULO III. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	31
3.1 - PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	31
3.2 - CONDICIONES INICIALES Y TABLAS DE RESULTADOS.....	32
CAPÍTULO IV. RESULTADOS.....	42
4.1 - RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	46



CONCLUSIONES	48
RECOMENDACIONES	50
REFERENCIAS	52



INTRODUCCIÓN.

A lo largo de la historia, se ha considerado que la producción de energía ha sido uno de los factores decisivos para el desarrollo del ser humano. El petróleo y sus derivados han sido la fuente más utilizada, sin embargo estos recursos no son renovables y se están agotando. Durante la década de los setentas surgió una crisis energética, los precios de los combustibles fósiles se elevaron y esta situación hizo buscar nuevas alternativas de energía renovable. A finales de esa década los precios del petróleo se estabilizaron y el interés por las nuevas tecnologías disminuyó.

El Agave a través de sus especies y ubicación regional, ha sido una fuente generadora de bienes económicos, sociales y ecológicos. Entre las bebidas que se generan de esta planta están el pulque, la bacanora, el tequila y el mezcal.

Por otro lado, el tratamiento y disposición de los residuos generados por la producción de mezcal representan una problemática en cuanto al número y tamaño de los sitios de disposición final, a los impactos ambientales y efectos sanitarios que estos generan. En los valles centrales del estado de Oaxaca, se encuentra la principal región del mezcal, donde se cultivan 15,503 Ha. de *Agave angustifolia* Haw, cuya producción es de 130,240 ton, la cuales se emplean para la elaboración de 2.9 millones de litros de mezcal (Chagoya & Méndez, 2013). Entre los residuos derivados se encuentra el bagazo proveniente de la extracción de los azúcares fermentables de la piña, el cual representa entre un 14 y 20% del peso total de la planta (Silva *et al.* 2003).

La industria del mezcal produce aproximadamente 4,807,275 ton de bagazo anualmente y en su mayoría se disponen en terrenos al aire libre, creando un problema ambiental grave para las poblaciones aledañas (Gutiérrez *et al.* 2012).



Al igual que el bagazo se generan entre 10 y 15 litros de vinaza por cada litro de mezcal obtenido (Villalobos, 2009). Anualmente según una estimación, se generan aproximadamente 43,500,000 litros de vinaza.

Martínez *et al.* (2013) mencionaron que a excepción del pH, la vinaza y el bagazo de *Agave angustifolia* Haw tienen buenas propiedades físicas y químicas, posibilitando su uso para ser sometidos a un proceso anaerobio y generar biogás para ser empleado como biocombustible y de esta forma ofrecer una solución a las problemáticas planteadas y así contribuir en la disminución del volumen de residuos sólidos orgánicos hasta en un 80% en los sitios de disposición. Mientras que varios estudios han indicado que la digestión anaerobia está probada, la realidad es que todavía hay muchos problemas operacionales, no sólo en la composición de la materia base, sino también con los problemas de control del pH y la temperatura, la relación C:N, el tiempo de retención hidráulico (TRH), la carga orgánica, la competencia bacteriana, los contenidos de nutrientes, la presencia de sustancias tóxicas y el contenido de sólidos. Estos factores pueden causar un proceso lento de degradación de materia orgánica disminuyendo el rendimiento de la digestión y la generación de biogás.

El presente trabajo tuvo por objetivo obtener, a nivel laboratorio, biogás mediante el proceso de digestión anaerobia de residuos de la producción de mezcal. Se plantearon etapas experimentales para estimular la producción de biogás tomando en consideración el control de los principales parámetros limitantes como fueron pH, temperatura, relación Carbono-Nitrógeno (C:N) e inoculación.

Actualmente, en el estado de Oaxaca, los estudios para la generación de un biocombustible utilizando el bagazo y la vinaza provenientes de la industria mezcalera son escasos. El presente trabajo permitió demostrar la factibilidad de poder utilizar dichos residuos para generar biogás, posibilitando su uso en las pequeñas comunidades, donde se produce el mezcal artesanal.



PROBLEMÁTICA.

Los residuos agroindustriales constituyen un problema contaminante en gran parte del mundo debido a dos factores principales: un aumento en su generación y al surgimiento de leyes ambientales más estrictas. Los principales impactos negativos de la agroindustria se relacionan con la contaminación de suelos, acuíferos, así como a la emisión de gases que contribuyen al efecto invernadero, entre los más perjudiciales se encuentra gas metano (CH₄) y el dióxido de carbono (CO₂).

El bagazo es considerado como el residuo resultante del proceso de fermentación en la producción del mezcal, posee cualidades que lo hace resistente a la acción de microorganismos debido a su composición química (Navarro, 2006). En conjunto con el bagazo, se generan líquidos remanentes llamados *vinazas*, dicho residuo es altamente contaminante y provocan un cambio serio en el ecosistema cuando son descargadas en suelos llegando a los mantos acuíferos a través de la infiltración, provocando infertilidad en los suelos por un periodo de 3 a 4 años, es por eso que es considerado un problema ambiental (Benítez *et al.* 2003). Por lo anterior, es necesaria la aplicación de tratamientos que aprovechen los residuos antes mencionados. Existen diferentes métodos, clasificados en fisicoquímicos, que incluyen el uso de electrolitos, ozono, luz ultravioleta, etc., y biológicos, los cuales se pueden subdividir en aerobios y anaerobios.

La digestión anaerobia presenta eficiencias de remoción de materias orgánicas biodegradables de un 70 a 91 %, es por eso que se recomienda para el tratamiento de las vinazas y de materias orgánicas de difícil degradación como lo es el bagazo, debido a que soportan cargas orgánicas altas, poseen requerimientos bajos de energía y nutrientes, existe poca producción de lodos y las bacterias anaerobias son capaces de transformar la materia orgánica en metano, que se usa como fuente de energía en algunas destilerías, ayudando a mitigar la emisión de Gases Efecto Invernadero (Lalov, *et al.* 2001).



JUSTIFICACIÓN.

El imperativo ético y legal de mantener el medio ambiente en unas condiciones adecuadas, garantizando el desarrollo sostenible, ha favorecido en los últimos años la aparición de nuevas fuentes de aprovechamiento energético, a base de energías renovables, así como de políticas por parte de las diferentes administraciones fomentando el uso de estas tecnologías.

Por otro lado, el actual modelo de consumo y economía social implica que la generación de residuos por parte de una población creciente sea, en consonancia, cada vez mayor. Ello implica la necesidad de aplicar medidas estratégicas y de planificación para reducir el volumen de residuos que se producen por parte de las diferentes actividades antrópicas, y que generan, en mayor o menor medida, un perjuicio sobre el Medio Ambiente.

Se ha planteado realizar un aprovechamiento de los residuos producidos en la elaboración del mezcal para optimizar la Reducción de la emisión de Gases de Efecto Invernadero (GEI), no sólo por la mencionada minimización de las emisiones de gases de fermentación, sino también por su aprovechamiento para la generación fuentes energéticas diferentes a las derivadas de combustibles fósiles. Así pues, el planteamiento de utilizar los residuos como una fuente energética renovable, supone aprovechar un recurso que, de otro modo, se perdería.

A pesar de las investigaciones sobre el uso de diferentes tipos de vinaza, así como de bagazos para producir metano, solo se han efectuado en su mayoría de residuos provenientes de la industria azucarera e incluso de la industria tequilera. Las composiciones varían de acuerdo al origen de los residuos y a su combinación. Por tal motivo se realizó un estudio sobre la producción de metano, empleando los residuos generados en la producción de mezcal en el estado de Oaxaca como lo son la vinaza y el bagazo del *Agave angustifolia* Haw.



De acuerdo con la caracterización físico - química, el bagazo de *Agave angustifolia* Haw posee un pH óptimo en base seca, un contenido de materia orgánica adecuado y con los parámetros ideales para someterse a un proceso anaerobio (Masaguer *et al.* 2013).

Bazúa *et al.* (1991) señalan que la composición de las vinazas varía con respecto a la materia prima y al proceso empleado para la obtención del alcohol, sin embargo, dentro de sus características principales se encuentran las siguientes: un pH bajo dentro de un rango de 3.6 a 4, contenidos altos de materia orgánica, expresada como demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO).

Con base en los datos, la digestión anaerobia puede llevarse a cabo para generar gas metano debido a que las cargas orgánicas de ambos residuos son altas, poseen requerimientos bajos de energía y una gran cantidad de nutrientes.



OBJETIVOS.

GENERAL.

Generar biogás mediante la digestión anaerobia empleando el bagazo y la vinaza del *Agave angustifolia* Haw obtenidos como residuos en la producción del mezcal en el estado de Oaxaca.

ESPECÍFICOS.

- ✓ Investigar las características físico – químicas del bagazo de *Agave angustifolia* Haw y su potencial para la producción de biogás mediante revisión bibliográfica.
- ✓ Investigar las características químicas de la vinaza generada de la producción del mezcal del *Agave angustifolia* Haw mediante revisión bibliográfica para ser empleada en el proceso de digestión anaerobia.
- ✓ Cuantificar el porcentaje de metano en el biogás generado en el proceso de digestión anaeróbica.
- ✓ Determinar la longitud apropiada de fibra de bagazo para asegurar su pronta interacción con las bacterias metanogénicas.
- ✓ Determinar la temperatura de operación en base a revisión bibliográfica.

HIPÓTESIS.

La combinación del bagazo y las vinazas del *Agave angustifolia* Haw producen biogás mediante la digestión anaerobia realizada a nivel laboratorio.



CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO.

1.1 - ANTECEDENTES DEL BIOGÁS.

La alta dependencia que existe en el país sobre los combustibles de origen fósil como fuente primaria para la generación de energía determina la insustentabilidad del mercado energético. Por lo tanto resulta necesario diversificar la incorporación de nuevas fuentes de energía renovable, utilizadas de un modo sustentable. El potencial que tiene el país en renovables es lo suficientemente elevado como para que jueguen un rol importante. No sólo debe observarse al sector eléctrico como el destinatario de esta producción, debe trabajarse con fuerza sobre el sector térmico y el de transporte, que son los más consumidores en nuestra región (Molina, 2008).

Una opción muy interesante para la sustitución de hidrocarburos por fuentes renovables de energía es el aprovechamiento del biogás. El biogás se produce a partir de la digestión anaeróbica de residuos orgánicos que pueden provenir de fuentes industriales, municipales y/o agrícolas. Se solucionan de esta manera los problemas relacionados con la contaminación de los diferentes tipos de desperdicios biológicos y a la vez se contribuye a disminuir el calentamiento global al reducir la alta dependencia con los hidrocarburos y al aprovechar el metano eliminado por dichos desperdicios (Morero *et al.* 2010).

La composición aproximada del biogás se estima en 60% de metano (CH_4), 35% de dióxido de carbono (CO_2), 4% de vapor de agua y estimativamente un máximo de 1% de ácido sulfhídrico (H_2S). Sin embargo, diversos estudios han demostrado que el biogás puede contener 577 compuestos trazas incluyendo hidrocarburos halogenados, alcanos superiores e hidrocarburos aromáticos, normalmente los compuestos trazas constituyen solo el 1% del volumen del biogás (Cosoli & Prictl, 2007).



La capacidad calorífica del biogás es determinada principalmente por el porcentaje de metano presente. El metano puro tiene una capacidad calorífica de 9.97 kW/m³, y es el único constituyente significativo de hidrocarburo presente en el biogás que es convertido en energía eléctrica/mecánica a partir de un proceso de combustión (Agency, 2002). Por otra parte, algunos compuestos aromáticos como el benceno e hidrocarburos clorados como el cloroetano pueden causar daños en la salud, otros son muy olorosos como los terpenos, esteroides y tioles, algunos pueden dañar la planta de utilización de gas.

En la actualidad la digestión anaerobia es más conocida y la confianza en esta tecnología se ha incrementado, siendo un proceso multi-propósito sirviendo al mismo tiempo para la producción de energía, para mejorar de la calidad de los fertilizantes, para la reducción en la contaminación de efluentes y otros propósitos. La digestión anaeróbica de residuos sólidos de matadero como de restos de frutas y vegetales recientemente es considerada como una adecuada alternativa en el tratamiento de residuos sólidos. Algunos estudios han sido enfocados en el efecto de diferentes tipos de materias primas así como establecer la composición de los residuos que influyen en el proceso de biodegradación anaerobia (Álvarez, 2004).

Por consiguiente, la producción de biogás a través de la digestión anaerobia es importante tanto desde el punto de vista sustentable y de salud (Trejo *et al.* 2010). La ventaja de este tipo de combustible radica en que es amigable con el ambiente, limpio y barato.

1.2 - DIGESTIÓN ANAERÓBICA.

La digestión anaeróbica es un proceso biológico complejo y degradativo en el cual parte de los materiales orgánicos de un substrato (residuos animales y vegetales) son convertidos en biogás, mezcla de dióxido de carbono y metano con trazas de otros elementos, por un consorcio de bacterias que son sensibles o completamente inhibidas por el oxígeno o sus precursores (Khanal, 2008).

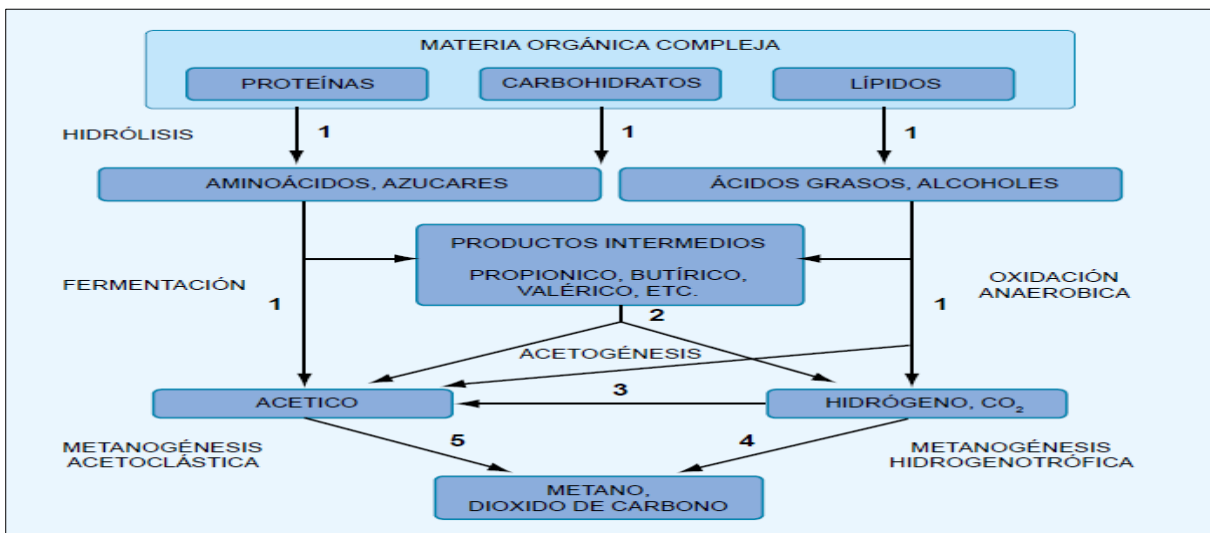


Utilizando el proceso de digestión anaeróbica es posible convertir gran cantidad de residuos, residuos vegetales, estiércoles, efluentes de la industria alimentaria y fermentativa, de la industria papelera y de algunas industrias químicas, en subproductos útiles, en la digestión anaerobia más del 90% de la energía disponible por oxidación directa se transforma en metano, consumiéndose sólo un 10% de la energía en crecimiento bacteriano frente al 50% consumido en un sistema aeróbico (Sachdeva *et al.* 2000).

En la digestión anaeróbica, los microorganismos metanogénicos desempeñan la función de enzimas respiratorios y, junto con las bacterias no metanogénicas, constituyen una cadena alimentaria que guarda relación con las cadenas enzimáticas de células aeróbicas. De esta forma, los residuos orgánicos se transforman completamente en biogás que abandona el sistema. Sin embargo, el biogás generado suele estar contaminado con diferentes componentes, que pueden complicar el manejo y aprovechamiento del mismo (Zinder, 1998).

En la digestión anaerobia, interviene poblaciones microbianas, en las que se distinguen cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Marchaim, 1992).

Tabla 1 - Reacciones de la digestión anaeróbica (Pavlostathis & Giraldo-Gomez, 1991).



Los números indican la población bacteriana responsable del proceso: 1: bacterias fermentativas; 2: bacterias acetogénicas que producen hidrógeno; 3: bacterias homoacetogénicas; 4: bacterias metanogénicas hidrogenotróficas; 5: bacterias metanogénicas acetoclásticas (Pavlostathis & Giraldo-Gomez, 1991).

1.2.1 - Etapa hidrolítica.

La hidrólisis es el primer paso necesario para la degradación anaeróbica de sustratos orgánicos complejos. Por tanto, es el proceso de hidrólisis el que proporciona sustratos orgánicos para la digestión anaeróbica. La hidrólisis de estas moléculas complejas es llevada a cabo por la acción de enzimas extracelulares producidas por microorganismos hidrolíticos (Barrera *et al.* 2009).

La etapa hidrolítica puede ser el proceso limitante de la velocidad global del proceso sobre todo cuando se tratan residuos con alto contenido de sólidos. Además, la hidrólisis depende de la temperatura del proceso, del tiempo de retención hidráulico, de la composición bioquímica del sustrato (porcentaje de lignina, carbohidratos, proteínas y grasas), del tamaño de partículas, del nivel de pH (Mshandete *et al.* 2006).

La velocidad de degradación de los materiales lignocelulósicos compuestos principalmente por lignina, celulosa y hemicelulosa, es tan lenta que suele ser la etapa limitante del proceso de hidrólisis. Esto es debido a que la lignina es muy resistente a la degradación por parte de los microorganismos anaeróbicos afectando también a la biodegradabilidad de la celulosa, de la hemicelulosa y de otros hidratos de carbono. Los principales productos de la hidrólisis de la celulosa son celobiasa y glucosa, mientras que la hemicelulosa produce pentosas, hexosas y ácidos urónicos. La tasa de hidrólisis, aumenta con la temperatura (Ortega, 2006).

Sosa *et al.* (1999) se refieren a la tasa de hidrólisis depende también, del tamaño de las partículas, debido fundamentalmente a la disponibilidad de superficie para la adsorción de las enzimas hidrolíticas. Los pretratamientos físico-químicos, cuyo



principal efecto es la reducción del tamaño de las partículas, producen un aumento en la tasa de hidrólisis, y si esta fase es la limitante del proceso anaerobio, supone un beneficio para el proceso general, produciendo menores tiempos de retención y tamaños de reactor menores.

Las bacterias hidrolíticas o fermentativas son responsables de la generación de monómeros que estarán disponibles para el siguiente grupo de bacterias. La hidrólisis es catalizada por las enzimas excretadas de las bacterias, tales como celulosa, proteasa y lipasa. Si la materia base es compleja, la fase hidrolítica es relativamente lenta. Los carbohidratos por ejemplo, se utilizan para ser convertidos más rápidamente vía la hidrólisis a los azúcares simples y para ser fermentados posteriormente hasta Ácidos Grasos Volátiles (Mata-Álvarez *et al.*, 2003).

1.2.2 - Etapa acidogénica.

Durante esta etapa tiene lugar la fermentación de las moléculas orgánicas solubles en compuestos que puedan ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas (acético, fórmico, H₂) y compuestos orgánicos más reducidos (propiónico, butírico, valérico, láctico y etanol principalmente) que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas en la siguiente etapa del proceso. (Vinasco, 2002).

La importancia de la presencia de este grupo de bacterias no sólo radica en el hecho que produce el alimento para los grupos de bacterias que actúan posteriormente, sino que, además eliminan cualquier traza del oxígeno disuelto del sistema, se compone de bacterias facultativas y anaeróbicas, colectivamente denominadas bacterias formadoras de ácidos (Sosa *et al.* 1999).

1.2.3 - Etapa acetogénica.

Mientras que algunos productos de la fermentación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos (H₂ y acético), otros (etanol, ácidos



grasos volátiles y algunos compuestos aromáticos) deben ser transformados en productos más sencillos, como acetato (CH_3COO^-) e hidrógeno (H_2), a través de las bacterias acetogénicas (Yadvika *et al.* 2004).

Un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados homoacetogénicos. Este tipo de bacterias son capaces de crecer heterotróficamente en presencia de azúcares o compuestos monocarbonados (como mezcla H_2/CO_2) produciendo como único producto acetato (Rivas *et al.* 2010).

Al contrario que las bacterias acetogénicas, éstas no producen hidrógeno como resultado de su metabolismo, sino que lo consumen como sustrato. Según se ha estudiado, el resultado neto del metabolismo homoacetogénico permite mantener bajas presiones parciales del hidrógeno y, por tanto, permite la actividad de las bacterias acidogénicas y acetogénicas (Brock *et al.* 1994).

A esta altura del proceso, la mayoría de las bacterias anaeróbicas han extraído todo el alimento de la biomasa y, como resultado de su metabolismo, eliminan sus propios productos de desecho de sus células. Estos productos, ácidos volátiles sencillos, son los que van a utilizar como sustrato las bacterias metanogénicas en la etapa siguiente (Yadvika *et al.* 2004).

1.2.4 - Etapa metanogénica.

En esta parte, un amplio grupo de bacterias anaeróbicas estrictas, actúa sobre los productos resultantes de las etapas anteriores. Los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación del medio de los productos de los grupos anteriores.

Los microorganismos metanogénicos completan el proceso de digestión anaeróbica mediante la formación de metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos



átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H_2/CO_2 , formato, metanol y algunas metilaminas (Brock *et al.* 1994).

Según Yadvika *et al.* (2004), se pueden establecer dos grandes grupos de microorganismos, en función del sustrato principal que metabolizan: hidrogenotróficos, que consumen H_2/CO_2 y fórmico y acetoclásticos, que consumen acetato, metanol y algunas aminas.

1.3 - VENTAJAS DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA.

Dentro de las ventajas ambientales de la digestión anaerobia se encuentran que, al aplicarla de forma controlada se disminuirían 60% de peso y volumen en vertederos y de la emisión de gases invernadero, además de reducir la emisión de malos olores y problemas sanitarios (Klüber *et al.* 1999).

La concentración de metano depende principalmente de la composición y calidad de los residuos a tratar (Hoeks, 1983) y significaría una forma de controlar las emisiones a la atmósfera (Mor *et al.* 2006). Por otro lado los residuos usados contienen nutrientes que se conservan en el líquido final, siendo este atractivo debido a la alta concentración de nutrientes presentes y que podría ser utilizado como fertilizante para plantas (Gunnarsson *et al.* 2006).

Otro factor a considerar y que es muy importante es la regulación ambiental local y otras políticas de disposición de residuos, ya que muchas naciones han implementado o están considerando métodos de reducción de impactos ambientales en la disposición de residuos (Ostrem, 2004). Una legislación ambiental más rigurosa, que incluya leyes de energía renovable, restricciones de sitios de disposición y otros incentivos fiscales favorece el desarrollo de la digestión anaerobia. Algunos beneficios ambientales se reflejarán en la reducción de costos de logística en sitios de disposición, carga económica y salud pública. (Nichols, 2004).

La necesidad de mitigar el cambio climático también representa una oportunidad para acelerar la transición hacia el desarrollo sustentable. La mayor parte de las



acciones de mitigación contribuyen, en forma directa o indirecta a través de sus co-beneficios, al desarrollo sustentable. El régimen climático negociado a nivel internacional ofrece algunas posibilidades de transferencia de recursos y acceso a tecnologías. Mitigar el cambio climático implica también incrementar la eficiencia en el uso de la energía, acelerar la introducción de fuentes renovables de energía, prolongar la disponibilidad de reservas de hidrocarburos, disminuir diversos procesos de contaminación y conservar la cobertura vegetal y la biodiversidad asociada (SEMARNAT, 2006).

1.3.1 - Productos finales de la digestión anaerobia.

Los principales productos del proceso de digestión anaerobia, trabajando en sistemas de alta carga orgánica y en mezcla completa, son el biogás y un efluente estabilizado (Mata-Álvarez *et al.* 2004).

1.4 - FACTORES DETERMINANTES EN LA DIGESTIÓN ANAERÓBICA.

Los microorganismos, especialmente los metanogénicos, son altamente susceptibles a los cambios en las condiciones ambientales (Angelidaki & Ahring, 2000). La mayoría de los trabajos realizados en este tema, evalúan el desempeño de un sistema anaeróbico en función de la tasa de producción de metano, porque la metanogénesis se considera un paso limitante del proceso, es por eso se requiere de un cuidadoso monitoreo de las condiciones ambientales (Zinder, 1998). Algunas de estas condiciones ambientales son: Naturaleza y composición bioquímica de los residuos, relación carbono/nitrógeno, niveles de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV), temperatura y pH.

1.4.1 - Naturaleza y composición bioquímica de la materia prima.

Las características bioquímicas que presenten estos residuos deben permitir el desarrollo y la actividad microbiana del sistema anaeróbico. El proceso microbiológico no solo requiere de fuentes de carbono y nitrógeno sino que también



deben estar presentes en un cierto equilibrio de sales minerales como: azufre, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, cobalto, selenio, tungsteno, níquel y otros menores (Varnero *et al.* 2004).

Según Varnero & Arellano (1990), las sustancias orgánicas como los estiércoles y lodos cloacales presentan estos elementos en proporciones adecuadas. Sin embargo en la digestión de ciertos desechos industriales puede presentarse el caso de ser necesaria la adición de los compuestos enumerados o bien un post tratamiento aeróbico.

Las sustancias con alto contenido de lignina no son directamente aprovechables y por lo tanto deben someterse a tratamientos previos (cortado, macerado, compostaje) a fin de liberar las sustancias factibles de ser transformadas de las incrustaciones de lignina (Kumar *et al.* 2008).

En el caso de estiércoles animales, la degradación de cada uno de ellos dependerá fundamentalmente del tipo de animal y la alimentación que hayan recibido los mismos. Los valores tanto de producción como de rendimiento en gas de los estiércoles presentan grandes diferencias, debido al número de factores que intervenir en el proceso (Dinuccio *et al.* 2010).

En términos generales, se pueden clasificar los sustratos en cuatro clases en función de su apariencia física, nivel de dilución, grado de concentración y características cuantitativas, como el porcentaje de sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), sólidos en suspensión (SS) y demanda química de oxígeno (DQO), como puede apreciarse en la tabla que se muestra a continuación.



Tabla 2 - Clasificación de sustratos para la Digestión Anaeróbica (Esguerra, 1989).

Características	Clase	Tipo de sustrato	Características cuantitativas
Sólido	1	Basura domestica Estiércol de cerdo Bagazo	> 20 % ST 40 - 70 % Fracción orgánica
Lodo altamente contaminado, alta viscosidad	2	Heces animales	100 - 150 g/l DQO 5%-10% ST 4%-8% SV
Fluidos con alto contenido de sólidos suspendidos (SS)	3	Heces animales de cría y aguas residuales de mataderos	3 - 17 g/l DQO 1 - 2 g/l SS
Fluidos muy contaminados, sólidos en suspensión	4	Aguas residuales de agroindustrias Aguas negras	5 - 18 g/l DQO 4 - 500 g/l DQO

Los sustratos de clase 1 pueden degradarse eficientemente en digestores tipo Batch o por lotes. Los sustratos de la clase 2 son degradados de manera eficiente en digestores mezcla completa de operación continua. Por presentar una dilución mayor y en consecuencia una DQO menor, los sustratos de clase 3 deben tratarse con digestores de alta eficiencia, como los de filtro anaerobio. En cuanto a los sustratos de clase 4, debido a su alto contenido de DQO deben ser degradados en digestores aerobios intensivos para mayor eficiencia.

1.4.2 - Relación Carbono/Nitrógeno de la materia prima.

El carbono y el nitrógeno son las principales fuentes de alimentación de las bacterias metanogénicas, el carbono constituye la fuente de energía y el nitrógeno es utilizado para la formación de nuevas células ya que estas bacterias consumen 30 veces más carbono que nitrógeno, por lo que la relación óptima es de 30:1 hasta 20:1 (Tchobanoglous *et al.* 1993).

La descomposición de materiales con alto contenido de carbono, superior a 35:1, ocurre más lentamente, porque la multiplicación y desarrollo de bacterias es bajo, por



la falta de nitrógeno. Sin embargo el período de producción de biogás es más prolongado. En cambio, con una relación C/N menor de 8:1, se inhibe la actividad bacteriana debido a la formación de un excesivo contenido de amonio, el cual en grandes cantidades es tóxico e inhibe el proceso (Sosa *et al.* 1999). La relación óptima se considera en un rango de 30:1 hasta 10:1 (Werner *et al.* 1989).

Rodríguez (1997), menciona que la base del contenido de carbono y de nitrógeno de cada una de las materias primas puede calcularse la relación C/N de la mezcla aplicando la siguiente formula:

$$K = \frac{C1 * Q1 + C2 * Q2 + \dots Cn * Qn}{N1 * Q1 + N2 * Q2 + \dots Nn * Qn}$$

Dónde:

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

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

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

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

1.4.3 - Niveles de sólidos totales y sólidos volátiles.

Toda la materia orgánica está compuesta de agua y una fracción sólida llamada sólidos totales (ST). El porcentaje de sólidos totales contenidos en la mezcla con que se carga el digestor es un factor importante a considerar para asegurar que el proceso se efectúe satisfactoriamente. La movilidad de las bacterias metanogénicas dentro del sustrato se ve crecientemente limitada a medida que se aumenta el contenido de sólidos y por lo tanto puede verse afectada la eficiencia y producción de gas (Sosa *et al.* 1999).

Experimentalmente se ha demostrado que una carga en digestores semicontinuos no debe tener más de un 8% a 12 % de sólidos totales para asegurar el buen



funcionamiento del proceso, a diferencia de los digestores discontinuos, que tienen entre un 40 a 60% de sólidos totales (Villalobos, 2009). Los sólidos Volátiles (SV) son aquellas porciones de sólidos totales que se libera de una muestra, volatilizándose cuando se calienta durante dos horas a 600 °C. Los SV contienen componentes orgánicos, los que teóricamente deben ser convertidos a metano.

1.4.4 - Temperatura.

La velocidad de reacción de los procesos biológicos están relacionados con la velocidad de crecimiento de los microorganismos involucrados que a su vez, dependen de la temperatura a medida que aumenta, la velocidad de crecimiento se incrementa en los microorganismos y se acelera el proceso de digestión, dando lugar a mayores producciones de biogás (Speece, 1996).

Existen tres rangos de temperatura en los que pueden trabajar los microorganismos anaeróbicos:

Tabla 3 - Rangos de temperatura y tiempos de retención (Lagrange, 1979).

Fermentación	Mínimo	Óptimo	Máximo	Tiempo de fermentación
Psicrofílica	4-10 °c	15-18 °c	20-25 °c	Sobre 100 días
Mesofílica	15-20 °c	25-35 °c	35-45 °c	8 - 30 días
Termofílica	25-45 °c	25-45 °c	75-80 °c	5 - 10 días

La temperatura está íntimamente relacionada con los tiempos que debe permanecer la materia orgánica dentro del digestor para completar su degradación. A medida que se aumenta la temperatura disminuyen los tiempos de retención y en consecuencia se necesitará un menor volumen de reactor para digerir una misma cantidad de biomasa. Hasta el momento, el rango psicrófilico ha sido poco estudiado y, en general, se plantea como poco viable debido al gran tamaño del reactor necesario.

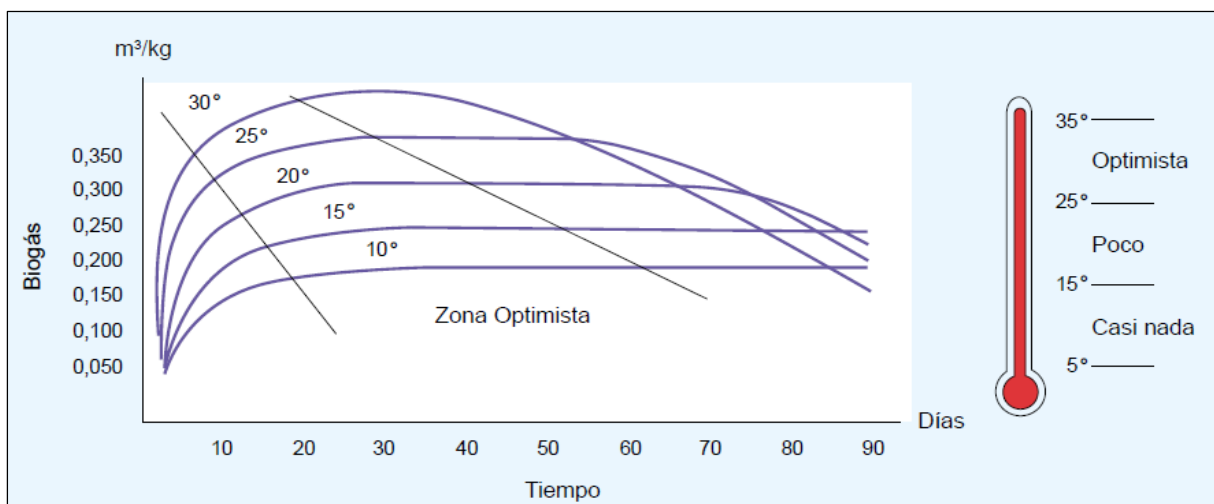


Sin embargo, presenta menores problemas de estabilidad que en los otros rangos de temperatura de operación (Dinuccio *et al.* 2010).

El régimen mesofílico de operación es el más utilizado, a pesar de que en la actualidad se está implementando cada vez más el rango termofílico, para conseguir una mayor velocidad del proceso. Sin embargo, el régimen termofílico suele ser más inestable a cualquier cambio de las condiciones de operación y presenta además inconvenientes de inhibición del proceso por la toxicidad de determinados compuestos a elevadas temperaturas, pero se ha demostrado que el uso de excretas disminuye esta inestabilidad en procesos con estos rangos de temperatura. Cabe resalta que, como regla general, la actividad biológica se duplica cada incremento en 10°C dentro del rango de temperatura óptima. Para un óptimo funcionamiento del digestor, se recomienda que el tratamiento anaeróbico se diseñe para que opere con variaciones de temperatura que no excedan los 2 - 5 °c/día (Weijma & Stams, 2001).

Por otra parte, la solubilidad de la mayoría de los inóculos empleados, aumenta con la temperatura, de manera que la materia orgánica es más accesible para los microorganismos aumentando así la velocidad del proceso, es por eso que el proceso de experimentación, se realizara dentro del rango termofílico a una temperatura constante de 35 °c.

Ilustración 1 - Producción de biogás en función de la temperatura (Weijma & Stams, 2001).



1.4.5 - Rangos de pH.

Los microorganismos metanogénicos son susceptibles a las variaciones de pH que otros microorganismos de la comunidad microbiana anaeróbica. Los diferentes grupos bacterianos presentes en el proceso de digestión anaeróbica presentan niveles de actividad óptimos en torno a la neutralidad. El pH ideal se encuentra en el rango entre 6.8 y 7.2, siendo 7 el punto ideal (Kumar, 2008).

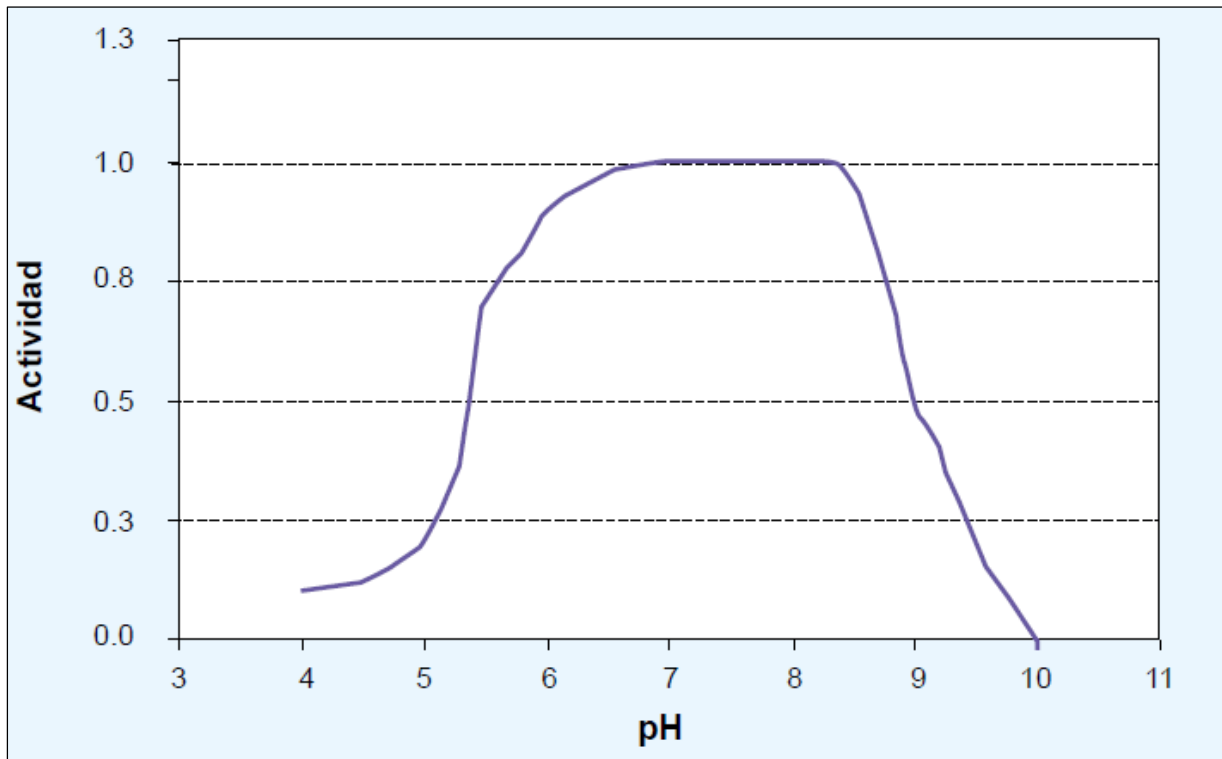
La metanogénesis se considera la etapa limitante del proceso y es necesario mantener el pH del sistema dentro de los rangos antes mencionados, operado dentro de los niveles aceptables. El propio sistema es capaz de controlar la alcalinidad de forma natural y esto se origina debido a que el amoníaco generado, reacciona con el dióxido de carbono para producir bicarbonato de amonio, el cual contribuye a regular la alcalinidad dentro del sistema (McCarty, 1984).

Una de las consecuencias de que se produzca un descenso del pH a valores inferiores a 6 es que el biogás generado es muy pobre en metano y, por tanto, tiene menores cualidades energéticas (Metcalf, 2003). Los valores de pH bajos reducen la actividad de los microorganismos metanogénicos, provocando la acumulación de ácido acético y H_2 . Al aumentar la presión parcial del H_2 , las bacterias que degradan el ácido propiónico serán severamente inhibidas, causando una excesiva acumulación de ácidos grasos volátiles de alto peso molecular, particularmente ácidos propiónico y butírico, los cual disminuirá la producción de ácido acético, generando una disminución del pH. Si la situación no se corrige, el proceso eventualmente fallará (Parkin *et al.* 1983).



La actividad metanogénica (tasa de utilización de acetato) versus pH se muestra a continuación.

Ilustración 2 - Dependencia del pH en la actividad metanogénica (Speece, 1996).



En los procesos anaeróbicos, la caída del pH es causada frecuentemente por la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) o por la excesiva acumulación de dióxido de carbono. Una de las primeras opciones para resolver el problema es reducir la tasa de carga orgánica volumétrica, hasta el punto en el cual los AGV se consuman más rápido de lo que se generan (Atem, *et al.* 2008).

Una vez que el exceso de AGV se ha agotado, el pH del sistema retorna a los rangos de operación normales y la metanogénesis comienza a repuntar. La carga orgánica volumétrica puede incrementarse gradualmente a medida que el proceso se recupera, hasta completar la capacidad de carga. En circunstancias extremas, además de la disminución de la carga orgánica volumétrica, se puede suplementar algún químico para ajustar el pH (Brock *et al.* 1994).



Tchobanoglous *et al.* (1993) mencionaron que para mantener el pH óptimo en el reactor, es necesaria la suplementación de alcalinidad utilizando químicos tales como bicarbonato de sodio, carbonato de sodio, hidróxido de amonio, gas amoniacal, cal, hidróxido de sodio y potasio.

1.5 - CONSIDERACIONES EN LA ELECCIÓN DEL INOCULO PARA EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD Y RENDIMIENTO.

Una posible hipótesis de los fundamentales problemas en la producción de biogás, como son las elevadas concentraciones de sulfuro de hidrógeno y los bajos rendimientos de metano, se puede esbozar de las relaciones ecológicas que se establecen entre los grupos microbianos del estiércol y sus particularidades metabólicas.

En reactores sometidos a grandes cargas de materia orgánica, las bacterias fermentadoras, generan concentraciones considerables de acetato. En presencia de sulfatos, se favorece el crecimiento de bacterias anaerobias, que debido a la disponibilidad de acetato, consumen preferentemente este sustrato. Estos factores son comunes en la producción de biogás en nuestro país, donde se utilizan vinazas de destilerías como sustrato a degradar.

Una cantidad suficiente de nutrientes como nitrógeno y fósforo entre otros, deben estar disponibles dentro del reactor anaerobio para asegurar el crecimiento adecuado de la comunidad biológica. El nitrógeno es esencial para el crecimiento y la actividad de las bacterias. La materia prima que contiene una baja razón de C/N es digerida fácilmente, pero los residuos agrícolas leñosos tales como; la paja de trigo o de arroz, requieren un suministro de nitrógeno para una digestión eficiente (Vinasco, 2002).



1.5.1 - Uso de excretas en la digestión anaerobia.

La digestión anaerobia de materia lignocelulósica es llevada a cabo por un consorcio microbiano que realiza funciones de hidrólisis, degradación de los componentes hidrolizados a productos de fermentación tales como ácidos, y la utilización de ellos para la posterior producción de metano y dióxido de carbono (Fezzani & Cheikh, 2009).

Generalmente, la mayoría de residuos orgánicos pueden ser degradados por inóculos viables de cualquier ambiente en el que se produce la degradación anaerobia de forma natural. Tales ambientes incluyen por ejemplo, digestores de lodos de depuración de aguas, sedimentos anaerobios de lagos y heces animales entre otros (Zhao *et al.* 2009).

La codigestión de residuos ganaderos y residuos orgánicos en sistemas de mezcla completa es una metodología exitosa tanto en régimen termofílico como en el mesofílico. La principal ventaja de la codigestión es aprovechar la sinergia de las mezclas, y compensar carencias de cada uno de los sustratos por separado (Chacana *et al.* 2008).

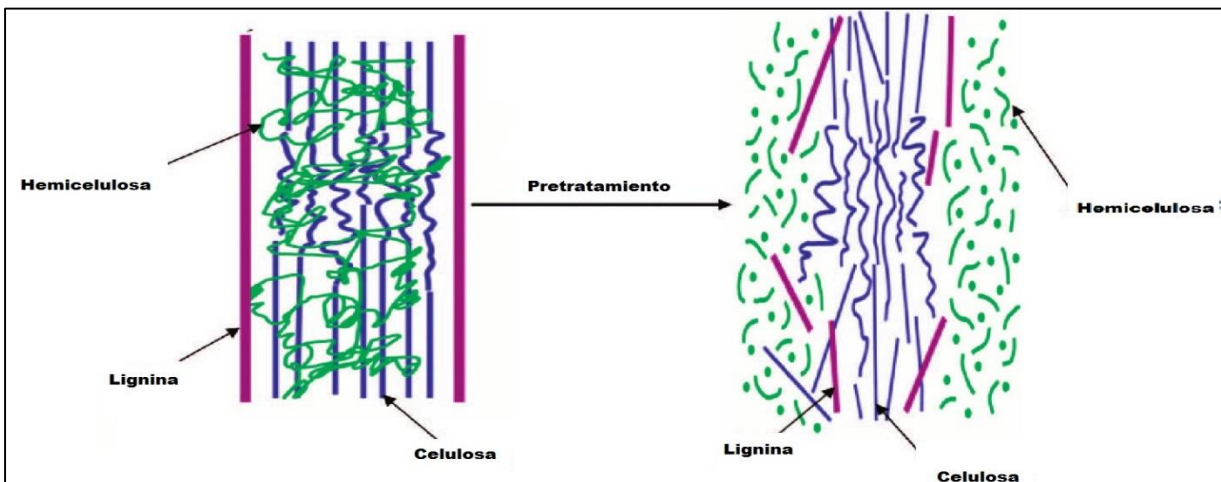
Los residuos ganaderos, y en concreto el estiércol de cerdo puede ser un excelente inóculo base para la codigestión porque generalmente presenta un contenido de agua más alto que la mayoría de residuos industriales, una mayor capacidad tampón y aportan una amplia variedad de nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos anaerobios (Gunaseelan , 1995). Por lo tanto dan como resultado un importante consorcio microbiano capaz de degradar y transformar materia orgánica de naturaleza lignocelulósica, como el bagazo del *Agave angustifolia* Haw. Sin embargo, la presencia de lignina en este tipo de residuos obstaculiza el completo acceso de los microorganismos a la fuente de carbono, impidiendo un mayor aprovechamiento del potencial para la producción de biogás.



1.5.2 - Efecto del tamaño de partícula del bagazo de Agave.

La digestibilidad de la celulosa presente en un residuo lignocelulósico se ve obstaculizada por factores químicos y estructurales. Es por eso que la materia orgánica tiene que ser tratada de modo que la celulosa quede expuesta. Para esto se utilizan diversas técnicas, incluyendo la exposición de las fibras a amoníaco y baños de vapor sobre calentado, así como a pretratamientos mecánicos como lo es, la reducción de tamaño.

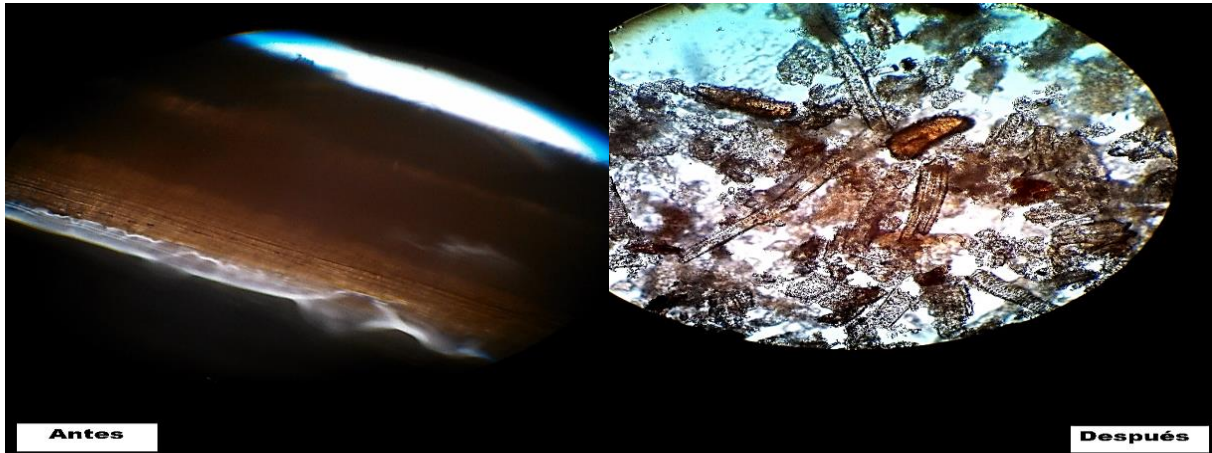
Ilustración 3 - Esquema del pretratamiento mecánico en fibras lignocelulósicas.



Mshandete *et al.* (2006) mencionaron que la degradación de un material lignocelulósico incrementó de 31% a 70%, al reducir el tamaño de partícula de 100 mm a 2 mm. De igual forma, la producción de metano es inversamente proporcional al tamaño de partícula, dado que los resultados confirmaron que se incrementó en un 23% la presencia de CH_4 cuando las fibras fueron acondicionadas a 2 mm de $0.18 \text{ m}^3 \text{ CH}_4$ a $0.22 \text{ m}^3 \text{ CH}_4$.



Ilustración 4 - Acondicionamiento de fibra de *Agave angustifolia* Haw mediante pretratamiento mecánico realizado durante la investigación visto a 40x.



La descomposición de la biomasa depende del tamaño del residuo en gran medida, debido a la disponibilidad de superficie para la absorción de las enzimas hidrolíticas. En el caso que la etapa limitante de un proceso anaerobio sea la hidrólisis, la reducción del tamaño de partícula del residuo supone un beneficio para el proceso general, produciendo menores tiempos de retención y tamaños de reactor menores (Vargas & García, 2010).

1.6 - BGAZO Y VINAZA DEL *Agave angustifolia* Haw.

1.6.1 - Bagazo de *Agave angustifolia* Haw.

El bagazo es un residuo fibroso que queda después de que las cabezas de *Agave* fueron cortadas, cocidas y exprimidas para extraerles los azúcares fermentables para la producción de mezcal. Está compuesto principalmente de fibras heterogéneas de 10 a 12 cm de largo y material orgánico no fibroso en forma de partículas finas que corresponden a la corteza y envoltura fibrovascular dispersa en el interior de la cabeza de la planta de *Agave* (Iñiguez *et al.* 2007). Según Alonso y Rigal, (1997) el diámetro de dichas fibras fluctúa entre 0.3 y 0.4 mm.



1.6.1.1 - Características químicas del bagazo de *Agave angustifolia* Haw.

Según Gutiérrez *et al.* (2013) la caracterización físico – química, el bagazo de *Agave angustifolia* Haw posee un pH de 5.4, un contenido de materia orgánica (MO) de 71%, carbono orgánico total (COT) de 50.6%, una relación C:N de 116, celulosa 41.90%, hemicelulosa 12.10% y un contenido de lignina 7.2%. Haciéndolo útil para ser sometido a un proceso anaerobio (Masaguer *et al.* 2013).

1.6.1.2 - Usos del bagazo de *Agave angustifolia* Haw.

Por lo general, el bagazo de *Agave* es depositado fuera de las fábricas de mezcal, en patios asignados para ser incinerado, cubierto de tierra o depositado en rellenos sanitarios (Rosete, 2009). Así mismo, existen tiraderos clandestinos practicando incorporaciones deficientes en suelos agrícolas, como estrategias para darle salida a la abundante generación de bagazo. Lo cual propicia una alta contaminación ambiental, por otra parte el bagazo ha tenido tradicionalmente algunas aplicaciones prácticas como es el caso de su utilización como combustible para calderas, como relleno de muebles y colchones, como forraje para aves y ganado e incluso en la fabricación de ladrillos y adobes (Cedeño, 1995).

Existen otros tipos de aprovechamientos potenciales que se han podido identificar a través de la investigación aplicada, como por ejemplo: sustrato en la producción de hongos y hiervas medicinales con resultados favorables; papel artesanal de buena calidad (Escoto, *et al.* 2006); fabricación de láminas para construcción o tableros aglomerados para muebles mediante una mezcla con polímeros; bolsas de plástico (Laborde, 2010), y finalmente, biocombustibles (Parveen, *et al.* 2009).

Sin duda alguna, el uso que mayor impacto representa en la actualidad en cuanto al aprovechamiento de bagazo del *Agave angustifolia* Haw se refiere, es la generación de biocombustibles.



1.6.2 - Vinaza mezcalera del *Agave angustifolia* Haw.

Las vinazas mezcaleras, son los líquidos residuales obtenidos después de destilar el mosto fermentado. Están compuestas por fibrillas de Agave, células de levadura, ácidos, esterres, alcoholes superiores y sustancias que dan color pardo (Linero *et al.* 1999). Son clasificadas como un producto contaminante debido a que son arrojadas a temperaturas cercanas a los 90°C, con un pH menor a 5.0, y una elevada DQO entre 35000 y 50000 mg O₂/L (Sánchez, 2000).

Ilustración 5 - Depósito de descarga para las vinazas en un palenque artesanal.



Ilustración 6 - Vinazas en un palenque artesanal.



Las características de las vinazas varían considerablemente de acuerdo a la materia prima empleada, la localización y el tipo de proceso de fermentación adoptado, a continuación se muestran algunas características de las vinazas mezcaleras (Pant & Adholeya, 2007).

Tabla 4 - Características principales de las vinazas mezcaleras (Jiménez et al. 2006).

Características	Rangos
pH	3 - 5 (Ácido)
Contenido de materia orgánica	Demanda Química de Oxígeno (DQO) 100 000-150 000 mg O ₂ /L Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) 35 000-50 000 mg O ₂ /L

Las empresas mezcaleras vierten las vinazas a los lechos de ríos a una temperatura de 90°C, con un pH de 3.5 y una cantidad de solidos sedimentables de 44000 a



106000 mg/L. El contenido de materia orgánica expresado como DQO y DBO, posiciona a las descargas de vinazas mezcaleras como un problema ambiental. En México no existen normas que regulen la descarga de este tipo de efluentes en suelo o mantos acuíferos, sin embargo, se puede tener una idea de lo necesarias que son, al comparar los datos reportados por la NOM-001-ECOL-1996 para los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas en aguas y bienes nacionales, donde por ejemplo, para descargas en ríos, existe un límite de 40°C, y DBO de 60 mg O₂/L. Los valores presentados por la norma son muy inferiores a los obtenidos para las vinazas mezcaleras donde el valor mínimo de DBO es de 35, 000 mg O₂/L (Madrigal, 2000). Los valores presentados por las vinazas mezcaleras favorecen la aplicación de un tratamiento anaerobio para su depuración y producción de biogás, ya que sea comprobado la efectividad en aguas residuales con altas cargas orgánicas (Lalov *et al.* 2001).

1.6.2.1 - Características químicas de la vinaza mezcalera.

Los principales productos químicos inorgánicos incluyen amoníaco, nitrógeno orgánico, ión nitrito, ión nitrato, cloruro, sulfato, oligoelemento, fósforo-orgánico y fósforo inorgánico (González *et al.* 2009).

Cuando las vinazas son descargadas en suelos, los sólidos suspendidos que contienen provocan que exista una menor permeabilidad, debido a la obstrucción de la porosidad del suelo, evitando el paso normal de líquidos a través de él, favoreciendo fermentaciones que generan olores desagradables (García *et al.* 1997).

Kannabiran y Pragasam (1993), reportan que la descarga de vinazas en suelos provoca la inhibición del proceso de germinación. Esto se debe a una reducción en la alcalinidad en el suelo, causando una deficiencia de manganeso que no es recomendable en los cultivos.

Ya que existe una gran variedad de contaminantes presentes en las vinazas, es necesario realizar un tratamiento previo antes que sean vertidas o desechadas en



ríos o suelos, el cual tiene como fin, la eliminación de la mayor parte de la materia orgánica biodegradable posible para disminuir los contaminantes. El proceso de digestión anaerobia resulta ser un proceso biológico eficiente para reducir la materia orgánica, en ausencia de oxígeno y mediante la acción de un grupo de bacterias específicas, se descomponen en productos como CH₄, CO₂, H₂ y H₂S (Deepak *et al.* 2007).

1.6.2.2 - Usos de las vinazas mezcaleras.

Algunas propuestas de utilización de las vinazas mezcaleras son el reciclar y con ello reducir el volumen de desecho, la aplicación directa en la tierra como irrigación, fertilizante, la producción de forraje de levadura, obtención de suplemento alimenticio para el ganado y como materia prima para la producción de biocombustibles (Atem *et al.* 2008).

La digestión anaerobia es recomendada ampliamente para el tratamiento de vinazas, debido a que el proceso soporta cargas orgánicas altas, posee requerimientos bajos de energía. Durante su operación, las bacterias anaerobias transforman la carga orgánica presente en la vinaza en gas metano, que posteriormente puede ser empleado como fuente de energía. Se ha reportado que los procesos anaerobios presentan eficiencias de remoción de materia orgánica biodegradable del 70 al 91% en vinazas de diferentes orígenes, logrando alcanzar los parámetros sugeridos para su liberación al medio ambiente (González *et al.* 2012).

1.7 - PROBLEMÁTICA DE LA INVESTIGACIÓN.

En función de lo descrito, en el estado de Oaxaca no se han elaborado estudios experimentales para determinar la factibilidad de emplear los residuos provenientes de la industria mezcalera en el sector artesanal, es por eso que la presente investigación tiene como objetivo determinar la factibilidad de producir biogás a partir de los residuos generados en la producción artesanal del mezcal, específicamente de la combinación del bagazo y la vinaza del *Agave angustifolia* Haw, se eligieron



estos residuos, debido a que se generan aproximadamente 4,807,275 ton de bagazo anualmente y en su mayoría se disponen en terrenos al aire libre, creando un problema ambiental grave para las poblaciones aledañas (Gutiérrez *et al.* 2012). Por otro lado, se generan entre 10 y 15 litros de vinaza por cada litro de mezcal obtenido, representando una gran cantidad de contaminantes que, comúnmente son depositados en lechos de ríos (Villalobos, 2009). Anualmente según una estimación, se generan aproximadamente 43,500,000 litros de vinaza.

Los resultados obtenidos darán un punto de partida para futuras investigaciones que tengan como objetivo el uso de los residuos mencionados a gran escala y contrarrestar el uso desmedido de combustibles fósiles



CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1 - METODOLOGÍA.

El material empleado durante la investigación, se muestra en la tabla 5.

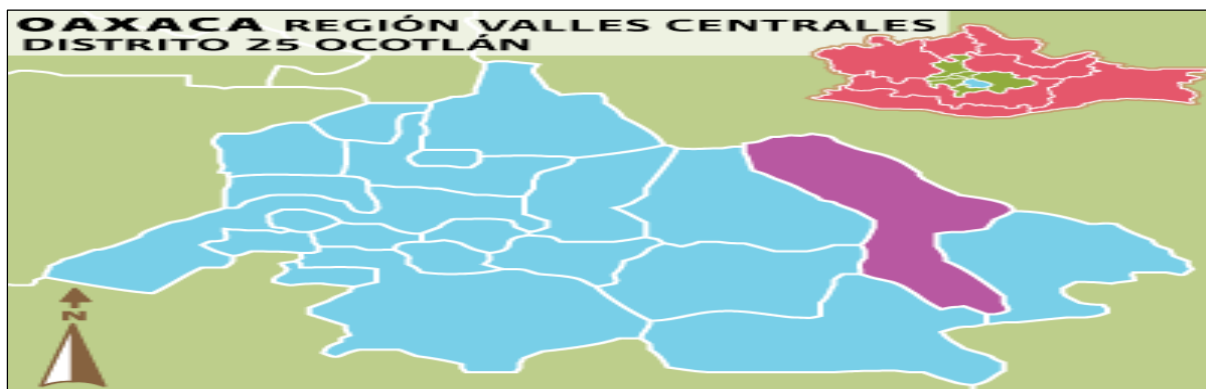
Tabla 5 - Características del material empleado en la investigación.

Material y equipo	Modelo	Marca
Matraces Kitasato	-	-
Matraces Erlenmeyer	-	-
Molino de mano	-	AZTECA S.A DE C.V.
Baño María	SL	SHELL LAB
Potenciómetro	HI 98129	HANNA INSTRUMENTS
Balanza analítica	VL201	TECNOCOR
Congelador	-	GENERAL ELECTRIC
Detector de gases infrarrojo	PGD-IR3	STATUS SCIENTIFIC CONTROLS

2.2 - LOCALIZACIÓN.

El trabajo de campo se llevó a cabo en la región de San Baltazar Chichicapam. Se localiza en la parte central del estado de Oaxaca al sureste de la capital, al este del distrito de Ocotlán, en la región de los Valles Centrales, a una altura de 1, 540 metros sobre el nivel del mar. Las muestras provinieron de una de las mezcaleras artesanales pertenecientes a esta región de productores.

Ilustración 7 - Zona de muestreo.



2.3 - MUESTREO.

2.3.1. - Bagazo de *Agave angustifolia* Haw.

El bagazo de *Agave angustifolia* Haw utilizado para esta investigación, fue recolectado de un palenque, donde se elabora el mezcal de forma artesanal, el muestreo del bagazo se realizó al finalizar el proceso de molienda. Paoli *et al.* (2011) sugiere que el tamaño de muestra para la realización de las pruebas correspondientes sea de 1 Kg debido a que es lo requerido para el proceso experimental.

Ilustración 8 - Proceso de molienda del *Agave angustifolia* Haw.



Ilustración 9 - Colecta de bagazo de *Agave angustifolia* Haw.



El bagazo se almacenó en bolsas herméticas de 1 Kg, se acondicionó a una temperatura de 4 °C para evitar se llevarán a cabo reacciones fermentativas. Se tomaron 6 Kg de muestra (Leguizamón & García, 2010).

2.3.2. - Vinazas de *Agave angustifolia* Haw.

Las vinazas empleadas en esta investigación, se recolectaron en el mismo palenque donde se tomó el bagazo, las muestras fueron recolectadas directamente de la descarga de procesamiento en 6 recipientes herméticos de 1 l, y se almacenaron a una temperatura de 4 °C, para interrumpir cualquier proceso metabólico de descomposición (Tejada *et al.* 2007).

Ilustración 10 - Deposito de vinaza de *Agave angustifolia* Haw.



2.3.3. - Inoculo.

El inóculo empleado en la investigación fueron las excretas porcinas. Se recolectaron 1000 gr y se disolvieron en 1 l de agua. Se utilizó este tipo de inóculo debido a que es precisamente en este donde podemos encontrar microorganismos anaerobios metanogénicos de los géneros *Methanosarcina* y *Methanosaeta* los cuales potencializarán la producción de metano, se almacenaron a una temperatura de 4° C al igual que la vinaza, interrumpiendo así todo proceso fermentativo, o de descomposición (Ferrer & Pérez, 2010).



Ilustración 11 - Excretas de cerdo.



2.4 - ADECUACIÓN DEL BAGAZO DE *Agave angustifolia* Haw.

Según Leguizamón y García (2010), el bagazo de *Agave angustifolia* Haw, siendo un material lignocelulósico, debe de ser secado al sol durante 3 días, logrando un estado ideal para ser sometido al pretratamiento mecánico de reducción de tamaño.

Ilustración 12 - Bagazo después del proceso de secado.



Las fibras se ajustaron a 1 mm empleando un molino de mano marca AZTECA S.A DE C.V. De igual forma en la investigación, se emplearon fibras cuya longitud no fue alterada, midiendo 100 mm +/- 5mm.

Ilustración 13 - Pretratamiento mecánico del bagazo de Agave angustifolia Haw.



Para asegurar el tamaño de partícula deseado, el bagazo procesado fue sometido a un tamiz de pruebas físicas, con una abertura de 1000 micrones (1mm).

Ilustración 14 - Tamizado del bagazo de Agave pre tratado mecánicamente.



2.5 - ARREGLO EXPERIMENTAL.

Se realizaron los siguientes arreglos experimentales por triplicado:

Tabla 6 - Experimentos realizados.

Ensayo	Excreta	Vinaza	Fibra	Vol. Total
1 A	170 ml	85 ml	20 gr a 1 mm	275 ml
2 B	170 ml	85 ml	20 gr a 100 mm	275 ml
3 C	170 ml	170 ml	20 gr a 1 mm	360 ml
4 D	170 ml	170 ml	20 gr a 100 mm	360 ml
5 E	170 ml	255 ml	20 gr a 1 mm	445 ml
6 F	170 ml	255 ml	20 gr a 100 mm	445 ml
7 G	170 ml	340 ml	20 gr a 1 mm	530 ml
8 H	170 ml	340 ml	20 gr a 100 mm	530 ml
9 I	-	340 ml	20 gr a 1 mm	360 ml
10 J	-	340 ml	20 gr a 100 mm	360 ml

La digestión anaerobia se realizó en matraces Kitasato de 1000 ml, dentro de un rango termofílico a una temperatura constante de 35°C, se empleó una tina de baño maría marca SHELL LAB, la experimentación se llevó a cabo durante 16 días.

Para el monitoreo del pH se empleó un MEDIDOR DE pH/CE/TDS/temperatura MARCA HANNA INSTRUMENTS MODELO HI 98129 COMBO WATERPROOF. Las lecturas fueron tomadas antes de ingresar la mezcla a los matraces y al finalizar el proceso de digestión anaerobia.



Clemente *et al.* (2010) propone un método para cuantificar la producción de biogás en los matraces, mediante un detector de gases infrarrojo modelo PGD-IR3 marca STATUS SCIENTIFIC CONTROLS, el cual fue empleado en la investigación.

2.6 - MONTAJE EXPERIMENTAL.

Ilustración 15 - Esquema de experimentación propuesto.

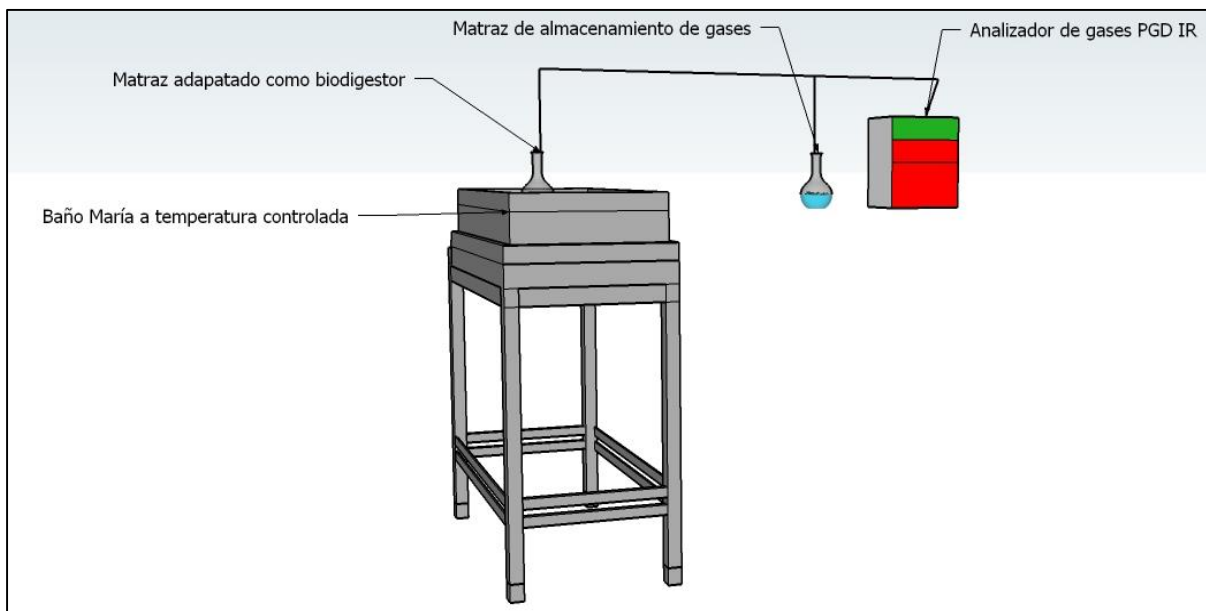


Ilustración 16 - Arreglo realizado durante la experimentación.



CAPÍTULO III. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

3.1 - PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.

La preparación de las muestras se llevó a cabo en el laboratorio de ciencias, ubicado en la unidad de Metrología del CIIDIR - OAXACA, se emplearon matraces Kitasato de 1 l de capacidad, el volumen de operación se distribuyó de la siguiente forma.

Tabla 7 - Volúmenes de operación.

Ensayo	Vol. Total
1 A	275 ml
2 B	275 ml
3 C	360 ml
4 D	360 ml
5 E	445 ml
6 F	445 ml
7 G	530 ml
8 H	530 ml
9 I	360 ml
10 J	360 ml

Los matraces fueron sellados herméticamente mediante la succión generada por el analizador de gases PGD-IR3 y conectados a un matraz Erlenmeyer de 500 ml de capacidad donde se almacenaba el gas y posteriormente se analizaba.

Cada matraz Kitasato contenía fibras acondicionadas cuya longitud fue de 1 mm, así como fibras sin tratar con una longitud de 100 mm. El inoculo empleado fueron las excretas de cerdo.

El diseño experimental consistió en un total de 10 pruebas, cada una realizada por triplicado. Los experimentos se llevaron a cabo en un laboratorio donde se registró una temperatura ambiente de 28°C +/- 1 °C. La digestión anaerobia se realizó a una temperatura constante, en un rango termofílico de 35° C, cada matraz fue agitado



manualmente durante dos minutos, dos veces al día, logrando así un intercambio de materia orgánica en todo el matraz. La duración de cada experimento fue de 16 días.

3.2 - CONDICIONES INICIALES Y TABLAS DE RESULTADOS.

A continuación se presentan las condiciones iniciales para cada experimento. Así mismo se indica el promedio de las tres observaciones realizadas para cada experimento.

Tabla 8 - Condiciones iniciales para experimento 1A.

Contenido	Excreta - 170 ml Vinaza - 85 ml Fibra - 20 g 1 mm
pH	Inicial - 6.9 Final - 7.9
Temperatura	35 °C

Tabla 9 - Resultados del experimento 1A.

DIA	(%) CH₄	(%) CO₂	(%) O₂	(PPM) H₂S
1	5	3	0.2	15
2	6	12	0.3	30
3	11	13	0.5	59
4	16	12	0.5	29
5	22	16	0.5	39
6	26	12	0.6	59
7	27	11	0.7	48
8	30	13	4.4	30
9	31	17	0.6	37
10	32	13	0.9	16
11	34	11	0.8	19
12	32	12	0.8	30
13	33	13	0.3	21
14	34	13	0.4	20
15	35	4	0.5	16
16	34	4	0.7	16



Tabla 10 - Condiciones iniciales para experimento 2B.

Contenido	Excreta - 170 ml Vinaza - 85 ml Fibra - 20 g 100 mm
pH	Inicial - 6.5 Final - 7.7
Temperatura	35 °C

Tabla 11 - Resultados del experimento 2B.

DIA	(%) CH₄	(%) CO₂	(%) O₂	(PPM) H₂S
1	3	13	0.5	12
2	4	26	0.3	18
3	8	22	0.6	27
4	13	20	0.4	17
5	17	20	0.5	33
6	19	23	0.6	46
7	20	24	0.7	26
8	21	28	0.5	18
9	22	25	0.5	25
10	21	24	0.5	25
11	21	20	0.5	19
12	22	24	0.6	17
13	21	20	0.4	16
14	21	21	0.6	15
15	21	21	0.4	16
16	20	23	0.6	21



Tabla 12 - Condiciones iniciales para experimento 3C.

Contenido	Excreta - 170 ml Vinaza - 170 ml Fibra - 20 g 1 mm
pH	Inicial - 6.4 Final - 7.4
Temperatura	35 °C

Tabla 13 - Resultados del experimento 3C.

DIA	(%) CH₄	(%) CO₂	(%) O₂	(PPM) H₂S
1	4	22	4.5	24
2	6	18	7.0	38
3	11	20	2.2	26
4	22	21	1.3	26
5	24	24	1.3	33
6	23	21	1.0	32
7	24	25	1.0	16
8	27	24	0.9	16
9	29	24	0.6	16
10	31	22	0.6	22
11	33	20	3.7	29
12	30	20	2.8	21
13	30	17	2.0	23
14	30	18	15.1	10
15	31	20	1.8	14
16	29	16	1.6	12



Tabla 14 - Condiciones iniciales para experimento 4D.

Contenido	Excreta - 170 ml Vinaza - 170 ml Fibra - 20 g 100 mm
pH	Inicial - 6.6 Final - 7.6
Temperatura	35 °C

Tabla 15 - Resultados del experimento 4D.

DIA	(%) CH₄	(%) CO₂	(%) O₂	(PPM) H₂S
1	4	23	3.7	15
2	5	26	1.9	18
3	7	26	0.6	20
4	9	28	0.7	25
5	13	19	0.7	31
6	15	25	0.8	16
7	15	24	0.9	4
8	17	27	0.7	16
9	19	18	0.6	10
10	20	26	0.7	10
11	22	22	0.7	11
12	19	24	0.7	24
13	17	23	0.8	23
14	15	23	0.8	20
15	13	25	0.6	5
16	12	23	0.6	23



Tabla 16 - Condiciones iniciales para experimento 5E.

Contenido	Excreta - 170 ml Vinaza - 255 ml Fibra - 20 g 1 mm
pH	Inicial - 6.3 Final - 6.7
Temperatura	35 °C

Tabla 17 - Resultados del experimento 5E.

DIA	(%) CH₄	(%) CO₂	(%) O₂	(PPM) H₂S
1	1	16	0.5	7
2	3	22	0.3	15
3	3	22	0.7	27
4	5	23	0.3	15
5	6	24	0.4	35
6	5	26	0.5	56
7	8	31	0.6	32
8	10	27	0.7	21
9	16	29	0.7	15
10	16	26	0.4	14
11	16	20	0.5	23
12	15	20	0.6	14
13	14	20	0.4	15
14	12	23	0.7	15
15	12	19	0.3	22
16	10	23	0.5	16



Tabla 18 - Condiciones iniciales para experimento 6F.

Contenido	Excreta - 170 ml Vinaza - 255 ml Fibra - 20 g 100 mm
pH	Inicial - 6.5 Final - 6.6
Temperatura	35 °C

Tabla 19 - Resultados del experimento 6F.

DIA	(%) CH₄	(%) CO₂	(%) O₂	(PPM) H₂S
1	2	3	0.5	12
2	2	11	0.3	16
3	3	13	0.5	28
4	4	10	0.5	17
5	5	11	0.5	25
6	4	11	0.7	33
7	5	12	0.8	20
8	8	14	0.5	13
9	9	11	0.5	26
10	11	10	0.7	21
11	13	10	0.5	10
12	13	13	0.5	28
13	12	9	0.4	13
14	12	3	0.4	9
15	10	3	0.4	7
16	9	4	0.6	15



Tabla 20 - Condiciones iniciales para experimento 7G.

Contenido	Excreta - 170 ml Vinaza - 340 ml Fibra - 20 g 1 mm
pH	Inicial - 6.1 Final - 7.0
Temperatura	35 °C

Tabla 21 - Resultados del experimento 7G.

DIA	(%) CH₄	(%) CO₂	(%) O₂	(PPM) H₂S
1	0	16	0.6	15
2	3	27	0.3	13
3	2	21	0.6	0
4	2	22	0.5	8
5	3	18	0.6	28
6	3	24	0.5	25
7	5	34	0.6	11
8	8	23	0.4	18
9	16	26	0.6	26
10	15	25	0.5	30
11	13	21	0.3	27
12	11	24	0.4	17
13	10	18	0.5	19
14	10	25	0.7	24
15	9	22	0.3	20
16	9	26	0.5	30



Tabla 22 - Condiciones iniciales para experimento 8H.

Contenido	Excreta - 170 ml Vinaza - 340 ml Fibra - 20 g 100 mm
pH	Inicial – 5.7 Final – 6.9
Temperatura	35 °C

Tabla 23 - Resultados del experimento 8H.

DIA	(%) CH₄	(%) CO₂	(%) O₂	(PPM) H₂S
1	1	7	0.2	15
2	1	21	0.3	30
3	2	18	0.5	59
4	2	27	0.5	29
5	4	29	0.5	39
6	5	19	0.6	59
7	6	26	0.7	48
8	7	24	4.4	30
9	10	22	0.6	37
10	14	22	0.9	16
11	12	23	0.8	19
12	10	22	0.8	30
13	9	26	0.3	21
14	5	19	0.4	20
15	2	16	0.5	16
16	2	12	0.7	16



Tabla 24 - Condiciones iniciales para experimento 9I.

Contenido	Excreta - 0
	Vinaza - 340 ml
	Fibra - 20 g 1 mm
pH	Inicial – 3.2
	Final – 3.9
Temperatura	35 °C

Tabla 25 - Resultados del experimento 9I.

DIA	(%) CH₄	(%) CO₂	(%) O₂	(PPM) H₂S
1	0	6	0.6	5
2	-	9	0.4	3
3	-	8	0.6	3
4	0	12	0.6	5
5	0	9	0.3	5
6	0	10	0.3	4
7	0	15	0.6	4
8	0	7	0.4	3
9	-	9	0.5	4
10	-	10	0.5	4
11	-	6	0.4	5
12	0	5	0.3	5
13	-	9	0.6	3
14	-	7	0.5	3
15	-	6	0.3	4
16	-	7	0.3	5



Tabla 26 - Condiciones iniciales para experimento 10J.

Contenido	Excreta - 0 Vinaza - 340 ml Fibra - 20 g 100 mm
pH	Inicial – 3.6 Final – 4.2
Temperatura	35 °C

Tabla 27 - Resultados del experimento 10J.

DIA	(%) CH₄	(%) CO₂	(%) O₂	(PPM) H₂S
1	-	30	0.7	-
2	-	10	0.4	-
3	-	32	0.5	-
4	0	13	0.7	-
5	0	15	0.4	3
6	-	11	0.2	3
7	-	4	0.4	3
8	-	8	0.5	3
9	-	7	0.7	3
10	-	7	0.4	5
11	-	8	0.7	3
12	0	10	0.4	2
13	-	17	0.2	4
14	-	14	0.4	3
15	-	4	0.5	2
16	-	2	0.7	5



CAPÍTULO IV. RESULTADOS.

En las ilustraciones que se muestra la preparación de los experimentos empleando las diferentes combinaciones que se indican en el diseño experimental.

Ilustración 17 - Preparación de mezclas en los matraces.



Ilustración 18 - Lectura de Biogás en cada matraz.



En la ilustración 19, se puede observar una variación considerable en la producción de metano entre cada arreglo experimental, debido a las diferentes concentraciones empleadas en cada uno de ellos.

Ilustración 19 - Porcentaje de metano generado por cada experimento.

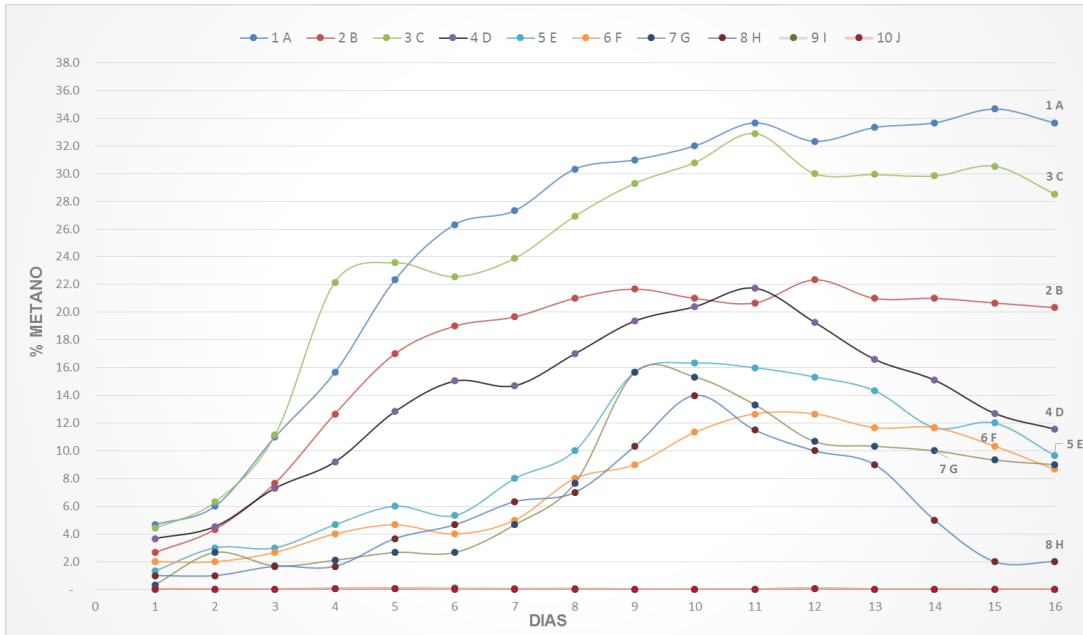
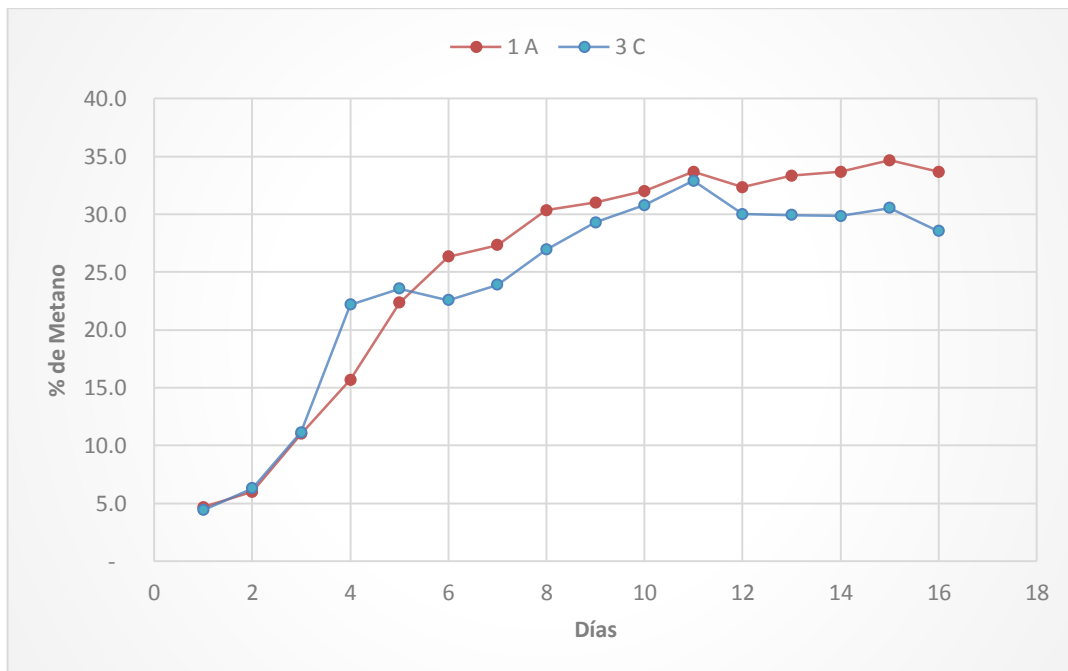


Ilustración 20 - Porcentaje de metano generado en las pruebas 1A y 3C.



En la ilustración 20, los experimentos 1A y 3C fueron los que tuvieron una concentración de metano mucho más alta que el resto, esto se debe a que fueron los experimentos, con más baja concentración de vinazas, ya que en los experimentos donde la cantidad de vinazas aumento, se pudo observar una reducción es su generación. En gran medida se debe a la acides de la vinaza y el efecto que causa en el proceso fermentativo.

Cabe señalar que la concentración de CO₂ está relacionada con la calidad del metano, en cuanto menor sea la concentración, la presencia de metano será mayor, la siguiente ilustración muestran dicha relación.

Ilustración 21 - Relación entre la producción de CO₂ y gas metano para 1A.

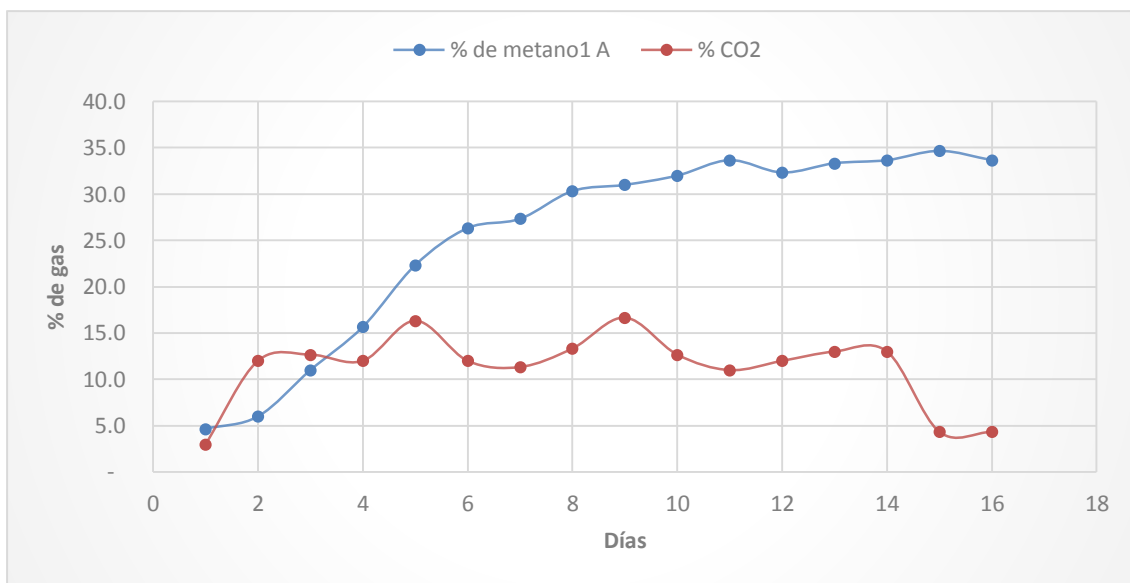
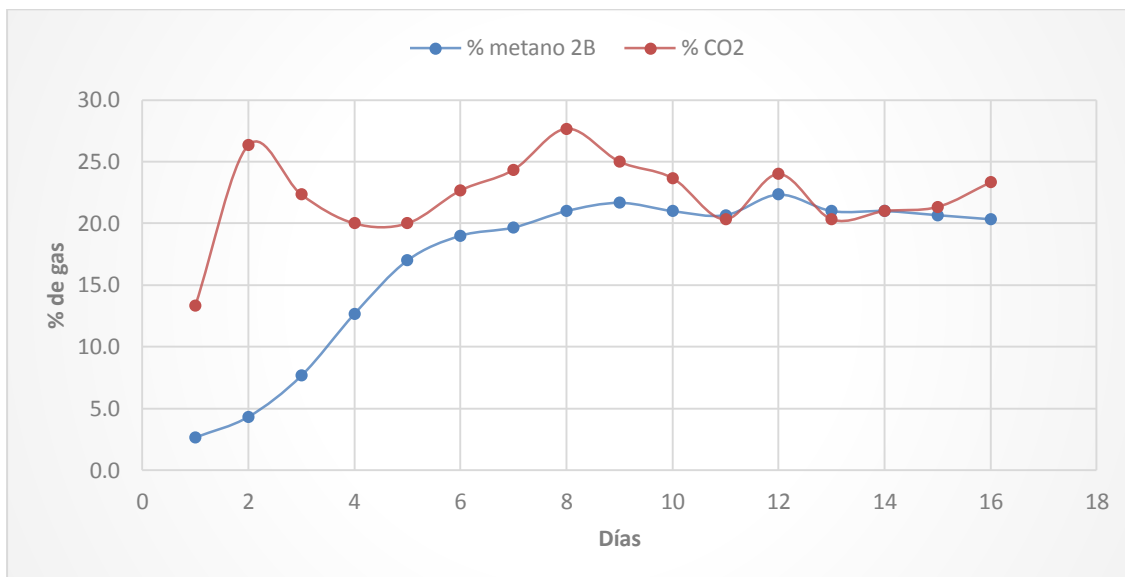
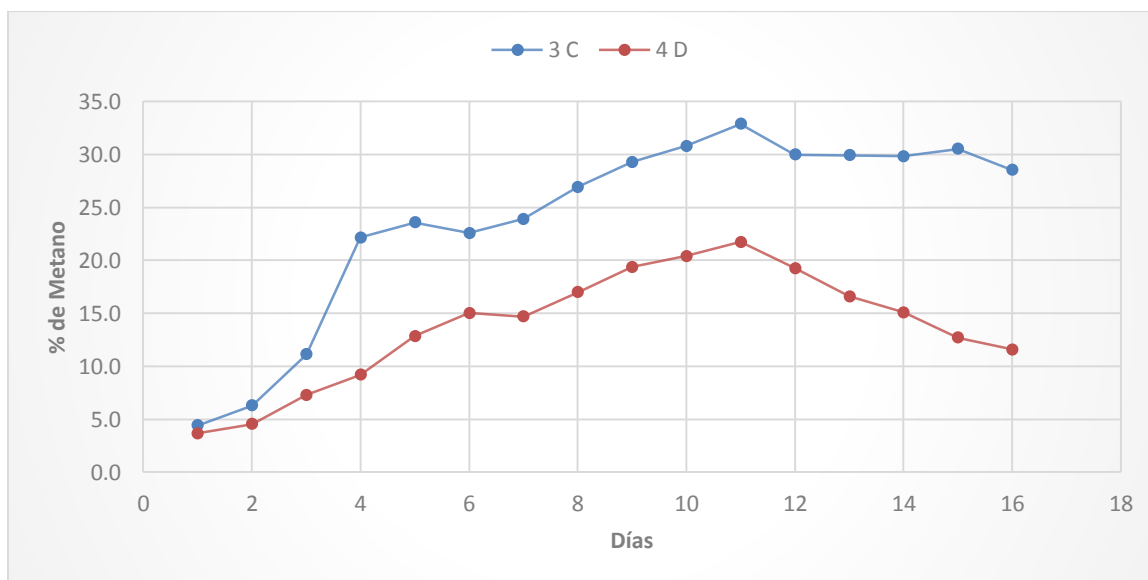


Ilustración 22 - Relación entre la producción de CO₂ y gas metano para 2B.



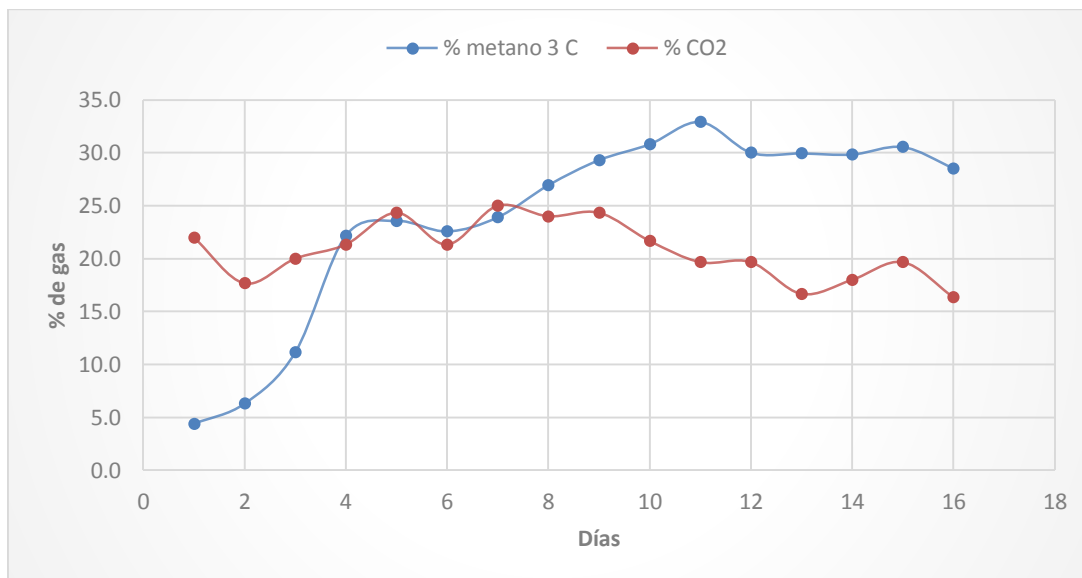
En los experimentos 3C y 4D existe una presencia importante de metano, que si bien es menor a las pruebas antes mencionadas, poseen un valor de consideración ya que los volúmenes de residuos se encuentran en una proporción 1:1 con la vinaza y las excretas, logrando un buen balance en el uso de ambos desechos y adicionado con la fibra de bagazo tiene un buen rendimiento de producción.

Ilustración 23 - Porcentaje de metano generado en las pruebas 3C y 4D.



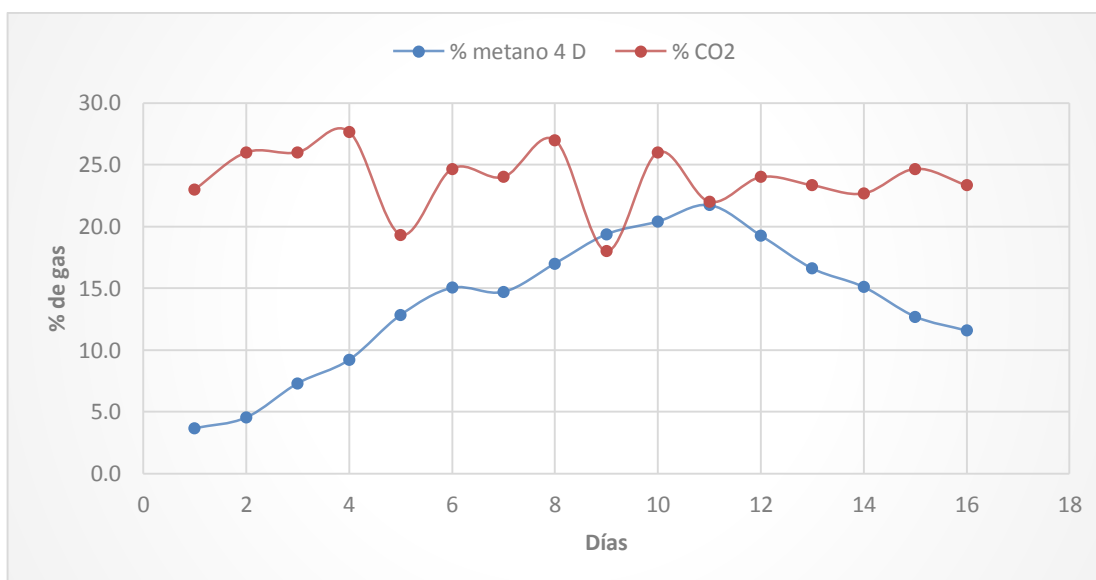
Existe una estrecha relación entre la producción de gas metano y el CO₂ para la prueba 3C el porcentaje de se mantuvo en niveles constantes.

Ilustración 24 - Relación entre la producción de CO₂ y gas metano para 3C.



En el experimento 4D los niveles de CO₂ se mantuvieron por encima del porcentaje de metano generado.

Ilustración 25 - Relación entre la producción de CO₂ y gas metano para 4D.



4.1 - RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los resultados obtenidos de este estudio muestran un aumento en el porcentaje de metano cuando la relación de excreta es mayor a la vinaza y con un tamaño de fibra de 1 mm como se muestran en los experimentos 1A y 2B, poseen un punto máximo de producción de 34.7%. Por el contrario el experimento que se realizó con un tamaño de fibra de 100 mm se obtuvo un máximo de producción del 21.7%, el incremento de uno a otro fue de 13% con solo modificar el tamaño de partícula del bagazo de *agave angustifolia* Haw, demostrando que un pretratamiento de reducción de tamaño es fundamental para materiales lignocelulósicos como lo es la fibra de bagazo.

Los experimentos 3C y 4D muestran un comportamiento similar ya que el factor determinante para la producción de gas metano, es la presencia de excreta como inóculo puesto que dicho residuo potencializa la producción debido a la acción de bacterias metanogénicas al principio del proceso. La prueba 3C generó un máximo de 29.8% de gas metano, la prueba 4D generó un 19.4%, el incremento fue de 10.4%

Los experimentos 5E, 6F, 7G y 8H, produjeron un máximo de 16.3%, 12.7%, 15.7% y 14% respectivamente, los experimentos que tuvieron no generaron ninguna traza de metano fue el experimento 9I y 10J, dando por hecho que la vinaza por sí sola no produce ninguna cantidad de gases ya que como se muestra en su caracterización química, es un medio ácido que imposibilita el crecimiento de bacterias metanogénicas.

Finalmente podríamos concluir que el pretratamiento de las fibras de materiales lignocelulósicos, así como el uso de excretas como inóculo en un proceso anaerobio incrementa su producción de metano, haciendo factible el uso de estos residuos para un proceso productivo que tenga como objetivo la generación de un biocombustible.



CONCLUSIONES.

El bagazo y las vinazas constituyen una fuente viable para producción de energía renovable (metano), ya que por sus características, alta humedad (>90%) y materia orgánica fácilmente biodegradable pueden favorecer el proceso de digestión anaerobia. Sin embargo, el proceso natural de DA con estos residuos vegetales no se desarrolló eficientemente ya que el pH de la mezcla de residuos fue ácido (≤ 4.2) y esta condición inhibió a los microorganismos metanogénicos ya que no se detectó metano en el biogás producido, como pudimos observar los datos en el experimento 9I y 10J.

Para mejorar el proceso se adicionó 170 ml de excreta de cerdo para estimular el consumo de materia orgánica obteniendo una aceleración en el proceso con respecto a los experimentos donde no se agregó. El pH logró estabilizarse a causa de la reacción generada por las bacterias presentes en la excreta. Esta ampliamente reportado que uno de los parámetros limitantes en el proceso de digestión anaerobia con residuos vegetales es el pH bajo, debido principalmente a la producción de sustancias ácidas producto de la degradación de la materia orgánica.

En la evaluación de la adición de inóculo (excreta) a temperatura de 35°C se determinó que se favoreció la producción de biogás en conjunto con el pretratamiento mecánico al que fue sometido el bagazo de agave, durante los primeros siete días promovió un incremento importante en la producción de metano al final del experimento se observó que la producción aún continuaba. Esto sugiere que el inóculo tuvo un efecto en la etapa inicial, acelerando el proceso de hidrólisis. Por otro lado, el control de pH a temperatura de 35°C resultó favorable para el proceso incrementando la producción de biogás.

La combinación de variables como son temperatura controlada a 35°C, control de pH con sales amortiguadoras, presencia de inóculo (170 ml) permitió el desarrollo de las cuatro fases de la digestión anaerobia, ya que de esta forma se pudo determinar el porcentaje exacto de metano generado bajo dichas condiciones.



La temperatura de 35°C, la cual pertenece al rango termofílico, se reportó como la ideal y es en esta donde los sistemas presentaron mayor producción de biogás según bibliografías consultadas y corroborar en los experimentos, se evidenció que en los sistemas donde se añadieron excretas permitieron que las bacterias metanogénicas se desarrollaran más rápidamente originando una producción de metano en menor tiempo.

La variable que al parecer tuvo un efecto sobre el consumo de materia orgánica fue la adición de inóculo, con 98% de significancia, el volumen de biogás y el rendimiento mostraron efectos significativos con 99 % de confianza con esta variable.

En la producción de biogás estadísticamente existe aparente diferencia significativa entre los datos al controlar el pH, la adición de inóculo y el controlar temperatura con 99% de significancia.

La co-digestión de los residuos de lo producción de mezcal con el inóculo (excretas) a nivel de microcosmos favoreció el proceso de DA, la adición de solución amortiguadora de pH no es necesaria ya que el inóculo mostró un efecto amortiguador de pH que se debe a la liberación de NH_3 (amoníaco) al ser degradados por las comunidades microbianas. Lo anterior permitió el desarrollo de los metanogénicos.



RECOMENDACIONES.

La problemática de los residuos sólidos orgánicos en la industria del mezcal es muy grande, el proceso de digestión anaerobia demostró ser una buena alternativa ya que reduce volúmenes y proporciona energía renovable. Las pruebas de digestión anaerobia a nivel de laboratorio son de suma importancia ya que permiten observar mediante la producción de biogás cual es la etapa limitante del proceso.

En el presente trabajo se plantearon etapas experimentales para favorecer el proceso de digestión anaerobia con residuos como lo son el bagazo y la vinaza generados en la producción del mezcal del *Agave angustifolia* Haw y excreta de cerdo como inóculo donde las principales características de ellos fueron el pH ácido y la alta humedad. Se evidenció que la combinación de variables como son temperatura controlada a 35°C, control de pH con sales amortiguadoras y presencia de inóculo (170 ml) permitió el desarrollo de las cuatro fases de la digestión anaerobia ya que se determinó metano en el biogás. Sin embargo resultaría muy interesante realizar más experimentos a cerca de los aspectos que se citan a continuación:

- ✓ Establecer sistemas de desplazamiento para cuantificar el volumen de biogás de los microcosmos en continuo y que sea proporcional al tamaño del sistema, así como establecer sistemas de adquisición de datos en línea en biorreactor.
- ✓ Generar inóculos a partir de estiércol de cerdo, donde se tengan cultivos masivos de microorganismos metanogénicos, lo cual podría favorecer la operación de un biorreactor. Así mismo resultaría interesante caracterizar microbiológicamente las poblaciones del inóculo, así como las presentes en el digestor anaerobio en las diferentes etapas o después de nuevas alimentaciones.
- ✓ Establecer la carga orgánica de alimentación para que el sistema sea semicontinuo para hacer eficiente la producción de biogás en dicho sistema anaerobio y que la corriente de biogás sea continua.



- ✓ Evaluar la calidad físico-química de los lodos generados en el biorreactor después de cada cinética y determinar si son aptos para ser empleados como fertilizante de suelos deficientes en nutrientes.
- ✓ Establecer un sistema de biofiltración para la corriente de salida del biogás en el biorreactor anaerobio para elevar la calidad del mismo.
- ✓ Establecer un sistema de medición en línea de los principales parámetros dentro del biorreactor como son pH, Temperatura, presión y ácidos grasos volátiles.



REFERENCIAS.

- Agency, E. (2002). Guidance on gas treatment technologies for landfill gas engines. *Tech. Rep.*
- Alonso, & Rigal. (1997). Caracterización y valorización del bagazo de Agave tequilana Weber de la Industria del tequila. *Revista Chapingo, Serie Horticultura vol.3*, pág. 31-39.
- Altamirano, G. N., Rico, B. C., & Hernández, S. C. (2009). *Crisis mezcalera: una agroindustria marginada en la investigación y transferencia de tecnología*. Oaxaca, Mex.: Estado del desarrollo económico y social de los pueblos indígenas.
- Angelidaki, I., & Ahring, B. (2000). Methods for increasing the biogas potential from the recalcitrant organic matter contained in manure.
- Atem, A., Indiveri, M., Llamas, S., & Berazategui, J. N. (2008). Almacenamiento de energía en forma de biomasa para su posterior aprovechamiento mediante la producción de biogás. Congreso *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*. Rio de Janeiro.
- Barrera, P., Salas, X., Castro, L., Ortiz, C., & Escalante, H. (2009). Estudio preliminar de la bioproducción de metano a partir de los residuos del proceso del Fique. *Revista Ion*.
- Bautista, J. A., & Juárez, J. R. (2008). Agricultura y pluricidad de los pequeños productores de agave en la region del mezcal en el estado de Oaxaca. *Agricultura Tecnica en Mexico*, 443-451 Vol. 34.
- Bazúa, C. D., Cabrero, M. A., & Poggi, H. (1991). Vinasses biological treatment by anaerobic and aerobic processes: Laboratory and pilot-plant test. *Bioresource Tecnology*, 87-93.
- Benitez, J., Real, F., Acero, J., Garcia, J., & Sanchez, M. (2003). Kinetics of the ozonation and aerobic biodegradation of wine vinasses in discontinuous and continuous processes. *Journal of Hazardous Materials*, 203-218.
- Brock, T. D., Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (1994). *Biology of Microorganisms*. New York, USA.: Prentice-Hall. Pág. 245-255.



- Carreón, R., Sabido, R., Centeno, L., & Fernández, S. (2009). Etanol carburante. *Biotecnología*, 70-102.
- Cedeño, C. (1995). Tequila production. *Critical Reviews in Biotechnology*, Pág. 1-11. Vol. 3.
- Chacana, J., Tapia, P., Zepeda, O., & Sánchez, O. (2008). *Modelación de la digestión anaerobia de residuos sólidos orgánicos utilizando ADM1*. Antofagasta, Chile.: Universidad Católica del Norte.
- Chagoya, & Méndez. (2013). *Plan rector del sistema producto maguey - mezcal*. Oaxaca, Oax.: SAGARPA - Delegación Oaxaca - SEDAF del gobierno del estado de Oaxaca.
- Clemente, A., Remedios, P., Barbarú, D., & Sánchez, Y. (2010). Construcción de un aparato en vidrio para cuantificar la generación de biogás en ensayos de laboratorio. *Innovación Tecnológica*.
- Cortés, C. (2009). *Propiedades Mecánicas a tensión de las fibras del bagazo del Agave Angustifolia Haw, residuo proveniente de la producción artesanal del mezcal*. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. México. : Instituto Politécnico Nacional. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. México: Instituto Politécnico Nacional.
- Cosoli, F., & Priol, F. (2007). Hydrogen sulphide removal from biogas by zeolita adsorption. Part I: GCMC molecular simulations. *Chemical Engineering Journal*, 1-23.
- Deepak, V., Kalishwaralal, K., Kumar, S., & Gurunathan, S. (2007). An insight into the bacterial biogenesis of silver nanoparticles, industrial production and scale-up. *Bioresource Technology*, 5356-5358.
- Dinuccio, E., Balsari, P., Gioelli, F., & Menardo, S. (2010). Evaluation of the biogas productivity potential of some Italian agro-industrial biomasses. *Bioresource Technology*, 3780–3783.
- Energía, A. A. (2011). *Estudio básico de biogás*. Andalucía, España.
- Escoto, G., Vivanco, C., Lomelí, R., & Arias, G. (2006). Tratamiento fermentativo-químico-mecánico del bagazo de maguey (Agave tequilana Weber) para su aplicación en papel hecho a mano. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Pág. 23-27. Vol. 19.



- Esguerra, M. (1989). Experiencias prácticas con biodigestores de bajo costo para la generación de energía y el tratamiento de aguas residuales en países en desarrollo. *Conferencia Internacional de Mecanización Agraria*, (págs. 171-178). Madrid, España.
- Ferrer, Y., & Pérez, H. (2010). Los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás. Consideraciones en la elección del inóculo para el mejoramiento de la calidad y el rendimiento. *Vol 13*.
- Fezzani, B., & Cheikh, B. (2009). Extension of the anaerobic digestion model No. 1 (ADM1) to include phenol compounds biodegradation processes for simulating the anaerobic co-digestion of olive mill wastes at mesophilic temperature. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 172, pp.1430-1438.
- García, I., Bonilla, J., Jiménez, P., & Ramos, E. (1997). Biodegradation of phenol compounds in vinasse using *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. *Water Resources*, Vol. 28, pp. 2005-2001.
- González, D., Junco, Z., & Soares, D. (2012). *Aprovechamiento de los residuales líquidos procedentes de destilerías en la producción de biogás*. La Habana, Cuba: Centro de Estudios de Medio Ambiente de Matanzas (CEMAM).
- González, I. V. (2010). Utilización de residuos orgánico agroindustriales para la producción de sustratos agrícolas y energías renovables. *Ingeniería - Agronomía*. Pág 23-34. Vol. 12
- González, L. Y., Casañola, Y., González, J., Acosta, A., & García, I. (2009). Purificación de aguas residuales albañales de las EDARS urbanas de varadero a partir de la aplicación de carbón activado obtenidos de sus residuos sólidos (lodos). *Convención Internacional de la Universidad de Matanzas*. Universidad de Matanzas.
- GTZ. (1996). *Proceedings of the regional seminar of south - east asia on "Anaerobic Technology for waste and wastewater management and its economic, social and ecological impacts*. Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Guasumba, J. (2009). Generacion rapida de biogas, como alternativa energetica promisoría . *Espe, investigaciones energéticas*.
- Gunaseelan , N. (1995). Effect of inoculum/substrate ratio and pretreatments on methane yield from *Parthenium*. *Biomass and Bioenergy*, Vol. 8., pp. 39-44.



- Gutiérrez, G. A., Altamirano, G. Z., & Urrestazaru, M. (2012). Maguey bagasse waste as sustainable substrate in soilless culture by melon and tomato crop. *Journal of plant Nutrition* , 2135-2144.
- Gutiérrez, G., Íñiguez, G., Ortiz, Y., Cruz, J., & Bautista, M. (2013). Tiempos de apilado del bagazo de maguey mezcalero y su efecto en las propiedades del compost para sustrato de tomate. *Revista Internacional Contaminación y Medio Ambiente, Vol. 29*, pp. 209-216.
- Íñiguez, Fuentes, Lange, & Rowell. (2007). Bagazo de agave como materia prima para la fabricación de tableros aglomerados. *Universidad de Guadalajara, México*, 327.
- Íñiguez, G., & Acosta, N. (2009). Fertilizante orgánico obtenido de las vinazas tequileras y estiércol de ganado. *Interscience Place*.
- Jiménez, A. M., Borja, R., Martín, A., & Raposo, F. (2006). Kinetic analysis of the anaerobic digestion of untreated vinasses and vinasses previously treated with *Penicillium decumbens*. *Journal of Environmental Management*, 303–310.
- Kannabiran, B., & Pragasam, A. (1993). Use of distillery effluent in the cultivation of *Vigna mungo* (L.) Hepper . *Proc. Nat. Seminar on Biodiversity*, pp. 195-199.
- Khanal, S. (2008). *Anaerobic biotechnology for bioenergy production. Principles and applications*. New Delhi, India.: Ed. Wiley-Blackwell.
- Klüber , H., Hoppenheidt, K., Hirsch, P., & Nimmrichter, R. (1999). Full scale codigestión of organic waste. *Proceedings of the second international symposium on anaerobic digestion of solid wastes*,, pp. 405-410.
- Kumar, P., Barrett, D., Delwiche, M., & Stroeve, P. (2008). Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient Hidrolysis and biofuel production. *Industrial & Engineering Chemistry Research* , 3713-3729.
- Kumar, S. (2008). Anaerobic reactor configurations for bioenergy production. En: *Anaerobic biotechnology for bioenergy production. Principles and Applications. Blackwell Publishing*, 93-114.
- Laborde, A. (2010). *Bolsas biodegradables hechas con bagazo de agave*. Recuperado el 22 de 03 de 2014, de http://www.informador.com.mx/tecnología/2009/127935/1/bolsas_bio



- Lagrange, B. (1979). *Biomethane. Principes, Techniques, Utilisation. Vol.2* . Edisual / Energies / Alternatives.
- Lalov, I. G., Krysteva, M. A., & Phelouzat, J.-L. (2001). Improvement of biogas production from vinasse via covalently immobilized methanogens. *Bioresource Technology*, 83-85.
- Leguizamón, C. V., & García, C. M. (2010). Estudio del efecto de tamaño de partícula del bagazo de fique en la producción del biogás . *Tesis de Maestría*.
- Linero, J., Guzmán, A., & Noyola, A. (1999). Tratamiento anaerobio de vinazas tequileras: escalamiento a nivel piloto. *VIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería* , (pág. p 449.). Huatulco, Oaxaca.
- Madrigal, A. (2000). *Evaluación de las vinazas tequileras como sustrato para el cultivo en estado sólido y líquido de hongos filamentosos*. Zapopan, Jalisco.: Tesis profesional.
- Marchaim, U. (1992). Biogás processes for sustainable development. *FAO Agric. Service*.
- Martínez Gutiérrez, G. A., Íñiguez Covarrubias, G., Ortiz Hernández , Y., López Cruz, J., & Bautista Cruz, M. (2013). Tiempos de apilado del bagazo del maguey mezcalero y su efecto en las propiedades del compost para sustrato de tomate. *Rev. Int. Contam. Ambie.*, 209-216.
- Masaguer, A., Gomez-Miguel, V., Cámara, J., & Zárate, B. E. (2013). *Valorización de bagazo de maguey compostado en mezclas para sustrato de cultivo en Oaxaca (México)*. Madrid : Congreso Ibérico de Agroingeniería y Ciencias Hortícolas.
- McCarty, P. (1984). Anaerobic waste treatment fundamentals. Part III: Toxic materials and their control. *Public Works* , 91-94.
- Mendoza, A. G. (2008). *Agaváceas. Documento entregado en el "seminario de Producción de Mezcal, con apego a la Norma Oficial Mexicana 070. Convocado por el Consejo Mexicano de Productores de Maguey Mezcal A.C.*
- Metcalf, E. (2003). *Wastewater Engineering : Treatment and Reuse*. New York, USA: 4th edn.McGraw-Hill Companies, Inc.



- Mital, K. (1996). Biogas systems - Principles and applications . *New Age International* .
- Molina. (2008). *Inventario de emisiones de contaminantes criterio y gases de efecto invernadero en el estado de Oaxaca*. Oaxaca,Mex.
- Morero , B., Gropelli, E., & Campanella , E. (2010). Revisión de las principales tecnologías de purificación de biogás . *Ciencia y tecnología ISEU*.
- Mshandete, A., Björnsson, L., Kivaisi, A. K., Rubindamayugi, M., & Mattiasson, B. (2006). Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste. *Renewable Energy*, 2385-2392.
- Mshandete, A., Björnsson, L., Kivaisi, A. K., Rubindamayugi, M., & Mattiasson, B. (2006). Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste. *Renewable Energy*, 2385-2392.
- Navarro, A. (2006). *El agave es mas que tequila*. Mexico,Df.
- Ortega, N. M. (2006). *Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process*. Boca ratón, Florida ,USA: Universal-Publishers.
- Paez, O., & Baz, R. (1999). Bioabonos. Uso alternativo de residuales orgánicos solidos y liquidos. . *CID - DECAP*.
- Palmowski, L., & Müller , J. (2000). Influence of size reduction of organic waste on their anaerobic digestion.
- Pant, D., & Adholeya, A. (2007). Biological approaches for treatment of distillery wastewater: A review. *Bioresource Technology*, 2321-2334.
- Paoli , F., Bauer, A., Leonhartsberger , C., & Amon , A. (2011). Utilization of by-products from ethanol production as substrate for biogas production. *Bioresource Technology*, Vol. 102, pp. 6621–6624.
- Pardo, J. P., Savón, R. B., Perdigón, P. L., & Ron, D. R. (2010). Digestión anaerobia y sus tecnologías en el tratamiento de residuales. *Biotechnologia Industrial*.
- Parkin , D., Le Quellec , A. D., & Dague , R. (1983). Attached versus suspended growth anaerobic reactors: Response to toxic substances. *Water Sci. Technol.*, 261–289.



- Parveen, K., Diane, B., Michael, D., & Pieter, S. (2009). Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 3713–3729.
- Pavlostathis, S. G., & Giraldo-Gomez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment. *Water Science & Technology*, 35-59.
- Pohland, F., & Suidon, M. (1978). Prediction of pH stability in biological treatment systems. *Ann Arbor Science*, 441.
- Produce. (2012). Fundación produce de Guerrero A.C.
- Rivas, O., Faith, M., & Guillén, R. (2010). Biodigestores: factores químicos, físicos y biológicos relacionados con su productividad. *Tecnología en Marcha*, 39-46.
- Robles, V., & Villalobos, F. (2012). *Vinazas Mezcaleras: Un problema de contaminación ambiental*. Oaxaca, Oax.: UTM (Universidad Tecnológica de la Mixteca).
- Rodríguez, J. (1997). Balance de la relación carbono - nitrógeno para una optima descomposición aerobica de la bora (*Eichhornia crassipes* (Mart) Solms) en abono orgánico. *Saber Vol. 9*, 47-52.
- Rodriguez, R. M. (2008). *Ingeniería basica de una planta para la industria del mezcal en Mitla, Tlacolula, Oaxaca*. Oaxaca, Mex.
- Rodríguez, R., Alcantar, E. G., Iñiguez, G., Zamora, F., & García., P. (2010). Caracterización física y química de sustratos agrícolas a partir de bagazo de agave tequilero. *INTERCIENCIA*.
- Rosete, B. (2009). Propuesta de un sistema de desmedulado para la obtención de fibra de bagazo de agave tomado de los desechos de las fábricas tequileras de Arandas Jalisco. Tesis de licenciatura para obtener el título de ingeniero mecánico. Escuela Superior de Ingeniería M.
- Sachdeva, V., Tyagi, R., & Valero, J. (2000). Production of biopesticides as a novel method of wastewater sludge utilization/disposal. *Water Sci Technol*, 211–6.
- Samani, Z., Macías, M., & Hanson, A. (2011). Producción de energía (biogás) a partir de residuos agropecuarios. *Biotecnología y Bioingeniería A.C.*



- Sánchez, F. (2000). *Recirculación de vinazas tequileras en la fermentación alcohólica*. Guadalajara, Jal.: Tesis.
- Sharma, S., Mishra, I., Sharma, M., & Saini, J. (1988). Effect of particle size on biogas generation from biomass residues. *Biomass Vol 17*, 251-263.
- Silva, L., & Caballero, M. C. (2000). *Informe Técnico Final de la Producción de Agave*. Oaxaca, Mex.
- Silva, S. L., Caballero, C. M., & Diego, N. F. (2003). Diseño de un equipo de molienda y desgarre del agave mezcalero para el proceso de fabricación de mezcal en el estado de Oaxaca. *Foro Regional para el Aprovechamiento y Mejoramiento del Agave y del Mezcal, Oaxaca*, 84-95.
- Solano, O. R., Vargas, M. F., & Watson, R. G. (2010). Biodigestores: Factores químicos, físicos y biológicos relacionados con su productividad. *Tecnología en Marcha*, P 39-46.
- Sosa, R., Chao, R., & del rio, J. (1999). Aspectos bioquímicos y tecnológicos del tratamiento de residuales agrícolas con producción de biogás. *Revista computarizada de producción porcina. Vol 2*.
- Speece, R. E. (1996). *Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatments*. Archae Press.
- Tchobanoglous, G., Theisen, H., & Vigil, S. (1993). *Gestión integral de residuos sólidos (Vol. II)*. Madrid, España : Mc Graw Hill.
- Trejo, E. B., Benavidez, L. M., & Yañez, J. M. (2010). Diseño de un sistema de difusión de Biogás sobre la raíz vegetal. *Biotecnología y Bioingeniería A.C.*
- Vargas, C. V., & García, C. M. (2010). Estudio del efecto de tamaño de partícula de bagazo de fique en la producción de biogás. *Tesis de Maestría*.
- Varnero, M., & Arellano, J. (1990). *Aprovechamiento racional de desechos orgánicos*. Santiago, Chile: Ministerio de Agricultura (FIA) Universidad de Chile.
- Varnero, M., Faúndez, P., & Santibáñez, C. (2004). Evaluación de lodo fresco y compostado como materia prima para la elaboración de sustrato. *Actas del Simposio de las Ciencias del Suelo "Residuos Orgánicos y su Uso en Sistemas Agroforestales"*, (págs. 361- 365). Temuco, Chile.



- Villalobos, C. F. (2009). *Disminución de la materia orgánica biodegradable presente en vinazas mezcaleras mediante digestión anaerobia*. Huajuapán de León, Oaxaca: Universidad Tecnológica de la Mixteca.
- Vinasco, J. (2002). *Tecnología del biogás*. Cali, Colombia: Escuela de Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente.
- Weijma, J., & Stams, A. (2001). Desarrollo de substratos: Compost y Bioabonos. *Misceláneas Forestales*, Vol. 3, pp. 21-30.
- Werner, U., Stohr, U., & Hees, N. (1989). *Biogás Plants in Animal Husbandry*. Germany: Vieweg & Sonh.
- Yadvika, Santosh, Sreekrishnan, T., Kohli, S., & Rana, V. (2004). Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques. *Bioresource Technology*, 1-10.
- Zhao, B.-H., Yue, Z.-B., Ni, B.-J., & Mu, Y. (2009). Modeling anaerobic digestion of aquatic plants by rumen cultures: Cattail as an example. *Water Research*, Vol. 43, pp. 2047-2055.
- Zinder, E. (1998). Conversion of acetic acid to methane by thermophiles. *In Anaerobic Digestion*, edited by E.R. Hall and P.N. Hobson. Bologna, Italy.

