



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA INGENIERÍA

**“Utilización de ultrasonido y carbonización
hidrotermal como pretratamientos para mejorar la
producción de biogás a partir del bagazo de agave y
sargazo”**

Trabajo terminal de grado

Presenta:

Isis Dafne Ayala Mercado

Tutor:

Dr. Bernd Weber

Tutor externo:

Dr. Alejandro Vargas Casillas

Tutor adjunto:

Dra. María Dolores Durán García



Toluca, Estado de México, enero de 2024

Resumen

EL trabajo se centra en la obtención de biogás a partir de bagazo de agave pretratado con carbonización hidrotermal y el sargazo pretratado con ultrasonido. Las condiciones de operación para el tratamiento de carbonización hidrotermal fueron 220 °C, 120 minutos y 0 bar, en lo referente a la presión suministrada; para el ultrasonido se utilizó una frecuencia de 20 kHz y 100% de amplitud durante 30 minutos. Del tratamiento de carbonización hidrotermal se obtuvieron tres fases, la fase gaseosa, mayormente compuesta por CO₂, se dejó escapar al ambiente durante la etapa de enfriamiento; las fracciones líquida y sólida fueron separadas mediante centrifugación. Previo al tratamiento de ultrasonido se hizo una mezcla de sargazo y agua con una concentración de 10% de sólidos totales. Para la digestión anaerobia se utilizó el hidrolizado de la carbonización hidrotermal y la mezcla resultante del tratamiento de ultrasonido, la cual estaba compuesta por líquido y sólido. Para conocer el potencial de producción de biogás se realizó una prueba de potencial bioquímico de metano, las relaciones utilizadas entre sustrato e inóculo fueron variables, se utilizó la relación 1:2 para las muestras de sargazo y las relaciones 1:3, 1:4, 1:6 y 1:8 para los hidrolizados del bagazo de agave. Para adaptar a los microorganismos responsables de la digestión anaerobia a una alimentación con presencia de inhibidores, como lo es el hidrolizado de la carbonización hidrotermal, se utilizó un digester anaerobio con alimentación en continuo para variar las concentraciones de hidrolizado de carbonización hidrotermal que eran suministradas. La caracterización de los sustratos se hizo con base en el pH, sólidos totales y sólidos volátiles, demanda química de oxígeno, azúcares totales y ácidos grasos volátiles, mientras que para la determinación de la composición del biogás se utilizó un espectrofotómetro de infrarrojo.

Los resultados arrojan que la mayor remoción de materia orgánica en la prueba de potencial bioquímico de metano la tuvo el bagazo de agave pretratado con carbonización hidrotermal, $96.3 \pm 0.5\%$, mientras que para el sargazo pretratado con ultrasonido tuvo una remoción de materia orgánica de $77.2 \pm 0.7\%$; con producciones de biogás de 471 ± 19 ml por gramo de materia digerible para el bagazo de agave pretratado con HTC y de 283 ± 15 ml de biogás por gramo de materia digerible para el sargazo pretratado con ultrasonido. Además, se concluyó que es posible adaptar al consorcio microbiano responsable de la digestión

anaerobia a diferentes inhibidores, pero se requiere una codigestión inicial ideal para lograrlo, esto queda claro al poder agregar hasta un 58% (v/v) del hidrolizado de la carbonización hidrotermal a la mezcla de la alimentación de un digestor anaerobio con alimentación en continuo sin que este se vea inhibido.

Abstract

In the current study, the production of biogas from Agave Bagasse pretreated with hydrothermal carbonization and Sargassum pretreated with ultrasound was investigated. The operating conditions for the hydrothermal carbonization pretreatment were 220 °C, 120 minutes and 0 bar. For ultrasound, 20 kHz and 100% of amplitude were supplied to the sample for 30 minutes. Three phases were obtained from the hydrothermal carbonization treatment: the gas phase, mainly composed of CO₂, was released into the environment during the cooling stage. The liquid and solid fractions were separated by centrifugation. Prior to the ultrasound treatment, a mixture of Sargassum and water was made with a concentration of 10% of total solids. For anaerobic digestion, the hydrolysate from hydrothermal carbonization and the resultant mixture from the ultrasound treatment were used. To have a clear idea of the biogas potential production, a biochemical methane potential test was carried out. The ratios used between substrate and inoculum were variable, a 1:2 ratio was used for the Sargassum samples and 1:3, 1:4, 1:6 and 1:8 ratios were used for the hydrolysates of Agave Bagasse. To acclimatize the microorganisms responsible for anaerobic digestion to a feed with the presence of inhibitors, such as hydrolysate from hydrothermal carbonization, an anaerobic digester with continuous feeding was used to vary the concentrations of hydrolysate from hydrothermal carbonization that were supplied. The characterization of the substrates was done based on pH, total solids and volatile solids, chemical oxygen demand, total sugars, and volatile fatty acids, while an infrared spectrophotometer was used to determine the composition of the biogas.

The results show that the highest removal of organic matter in the biochemical methane potential test was for the Agave Bagasse pretreated with hydrothermal carbonization, $96.3 \pm 0.5\%$, while for the Sargassum pretreated with ultrasound the organic matter removal was

77.2 ± 0.7%; with biogas productions of 471 ± 19 ml per gram of digestible matter for Agave Bagasse pretreated with HTC and 283 ± 15 ml of biogas per gram of digestible matter for Sargassum pretreated with ultrasound. Furthermore, it was concluded that it is possible to adapt the microbial consortium responsible for anaerobic digestion to different inhibitors, but an ideal initial co-digestion is required to achieve this goal. This is clear in the study by being able to add up to 58% (v/v) of the hydrolysate of hydrothermal carbonization to the feed mixture of an anaerobic digester with continuous feed without it being inhibited.

| | |
|---|----|
| Resumen | 2 |
| Abstract..... | 3 |
| Introducción..... | 7 |
| Capítulo I: Antecedentes | 9 |
| 1.1 Marco teórico | 9 |
| 1.1.1 Biocombustibles de Primera Generación: | 10 |
| 1.1.2 Biocombustibles de Segunda Generación: | 10 |
| 1.1.3 Biocombustibles de Tercera Generación: | 16 |
| 1.1.4 Pretratamientos a los sustratos:..... | 17 |
| 1.1.5 Digestión anaerobia | 22 |
| 1.2 Estado del arte..... | 26 |
| 1.2.1 Bagazo de agave | 26 |
| 1.2.2 Sargazo | 30 |
| 1.2.3 Carbonización hidrotermal | 32 |
| 1.2.4 Ultrasonido | 35 |
| Capítulo II: Metodología Experimental..... | 38 |
| 2.1 Justificación | 38 |
| 2.2 Hipótesis | 39 |
| 2.3 Objetivo general..... | 39 |
| 2.4 Objetivos específicos | 39 |
| 2.5 Procedimiento | 39 |
| 2.5.1 Carbonización hidrotermal | 41 |
| 2.5.2 Ultrasonido | 41 |
| 2.5.3 Potencial Bioquímico de Metano | 43 |

| | | |
|---|--|----|
| 2.5.4 | Digestión anaerobia con alimentación en continuo | 45 |
| 2.6 | Métodos analíticos | 47 |
| 2.6.1 | Determinación del pH..... | 47 |
| 2.6.2 | Sólidos Totales y Sólidos Volátiles..... | 47 |
| 2.6.3 | Demanda Química de Oxígeno..... | 48 |
| 2.6.4 | Azúcares Totales..... | 48 |
| 2.6.5 | Ácidos Grasos Volátiles | 49 |
| 2.6.6 | Composición del biogás | 49 |
| Capítulo III: Resultados y análisis | | 50 |
| 3.1 | Aplicación de la Carbonización Hidrotermal | 50 |
| 3.2 | Aplicación del Ultrasonido | 51 |
| 3.3 | Potencial bioquímico de metano | 52 |
| 3.4 | Digestión anaerobia con alimentación en continuo. | 57 |
| Capítulo IV | | 63 |
| Conclusiones..... | | 63 |
| Propuestas | | 64 |
| Referencias | | 65 |
| Anexos | | 77 |
| Azúcares Totales..... | | 78 |
| Composición del biogás..... | | 78 |

Introducción

La crisis energética que se está experimentando hoy en día tiene una repercusión mayor que la que se dio en la década de 1970 (1973-1975) ya que, a diferencia de esta última, donde el petróleo fue el único combustible en verse afectado, hoy en día afecta a todos los combustibles fósiles y por ende a la producción de energía; es por esto que se necesitan diversas tecnologías basadas en energías limpias para lograr la seguridad energética que por tanto tiempo se ha buscado (International Energy Agency [IEA], 2022).

El objetivo general del trabajo es evaluar el potencial de producción de biogás del bagazo de agave, pretratado con carbonización hidrotermal, y sargazo, pretratado con ultrasonido; así como seleccionar las condiciones óptimas de alimentación y operación de un biodigestor en continuo para aprovechar el potencial de producción de biogás del bagazo de agave pretratado con carbonización hidrotermal; teniendo en cuenta que el desafío en el uso de los residuos recalcitrantes es su resistencia a la degradación biológica o química el uso de pretratamientos: químicos, mecánicos o termoquímicos son recomendables para lograr una mejor digestión. En este sentido, la hipótesis de la investigación es que “La aplicación de los pretratamientos térmicos a biomasa recalcitrante mejorará su degradabilidad durante la digestión anaerobia, permitiendo que en combinación con un consorcio microbiano adaptado a estos sustratos se tenga una mayor producción de biogás comparada con la producción de los sustratos no tratados”; aunado a lo anterior, se puede señalar que la importancia del estudio y desarrollo de técnicas que permitan el uso correcto y disposición final de los sustratos es que su generación provoca contaminación al entorno y problemas de salud (United States Environmental Protection Agency [EPA], 2023). Con los resultados obtenidos, se pretende dar alternativas sobre la gestión de residuos para materiales que probablemente serán una constante puesto que el bagazo de agave es un subproducto de la industria tequilera y el sargazo es un flujo de materia orgánica que desde 2011 arriba cada año a las costas mexicanas (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología [CONACYT], 2019).

Con base en lo anterior, la tesis se ha estructurado en cuatro capítulos. En el capítulo I, se presenta el marco teórico y antecedentes, donde se mencionan los sustratos que se han investigado, además, se describen las técnicas que se usan para su tratamiento, así como para

la obtención del biocombustible. En el capítulo II se plantea la justificación, la hipótesis, los objetivos del trabajo y la metodología experimental. En el capítulo III, se presentan los resultados obtenidos con los tratamientos de ultrasonido y carbonización hidrotermal, así como para la digestión anaerobia y el análisis de estos. En el capítulo IV se encuentran las conclusiones obtenidas de la investigación realizada y algunas propuestas para futuras investigaciones. Finalmente, se presentan las referencias bibliográficas y los anexos.

Capítulo I: Antecedentes

1.1 Marco teórico

La búsqueda de tratamientos para el bagazo de agave y sargazo que no sean perjudiciales para el medio ambiente consiste en desarrollar tecnologías basadas en energías renovables, además de su almacenamiento y la mejora de la eficiencia energética, ayudando a controlar los estragos que se han producido (Environmental and Energy Study Institute [EESI], 2021); una alternativa es la producción y uso del biogás.

Los gases de efecto invernadero representan una de las principales contribuciones al cambio climático (United Nations [UN], 2022); si bien uno de los productos resultantes de la combustión del biogás es el CO_2 , este está dentro del ciclo corto del carbono, pues proviene de residuos que se han producido actualmente, y no dentro del ciclo largo del carbono como los combustibles fósiles, que debido a su utilización están liberando a la atmósfera el CO_2 que tuvo su origen hace millones de años; además de lo anterior, al someter a residuos orgánicos a un proceso de digestión anaerobia se produce CH_4 el cual puede ser luego aprovecharlo de forma adecuada, en lugar de la degradación natural se liberará CO_2 y no CH_4 , el cual tiene un potencial de calentamiento global (GWP) 25 veces mayor que el dióxido de carbono (Cuenca, s.f.). Para el año 2022, el uso de energías renovables para la generación de energía eléctrica en México representó el 24.4%, pero la participación de la bioenergía fue de únicamente 0.63% (Secretaría de Energía [SENER], 2023).

La bioenergía puede generarse en cualquier parte y por lo tanto puede llevar al punto donde su uso sea de manera equitativa; en México se espera que para el 2032 la participación de la bioenergía para generar energía eléctrica sea del 2.2% (SENER, 2018). Es de importancia resaltar que la bioenergía proviene de la materia orgánica, o biomasa, que puede ser utilizada como combustible o como una fuente precursora para formar un biocombustible dependiendo del tratamiento físico o químico a los que sea sometido el sustrato. En este sentido, dependiendo de la materia que se esté utilizando para la obtención de los biocombustibles, se les ha clasificado en: biocombustibles de primera, segunda, tercera o cuarta generación. A continuación, se pueden encontrar las características de cada uno:

1.1.1 Biocombustibles de Primera Generación:

Los biocombustibles que se generan provienen de cultivos energéticos, como los agrícolas que tienen como propósito generar materia prima. Dentro de los sustratos más usados se encuentra: el trigo, la caña de azúcar y el maíz. Algunas ventajas que se presentan en este tipo de generación es que no requieren de un pretratamiento, son rentables y sus procesos son simples. La desventaja es que al provenir de fuentes que también son destinadas al consumo humano presentan competencia con la seguridad alimentaria, así como las grandes extensiones de tierra y gran cantidad de agua dulce que utilizan para la maduración de los cultivos (Cavelius et al., 2023).

1.1.2 Biocombustibles de Segunda Generación:

La diferencia principal entre los biocombustibles de primera y segunda generación radica en que la materia prima que se usa para la generación de estos últimos proviene principalmente de residuos orgánicos urbanos o en sí, de la biomasa lignocelulósica resultante de residuos agrícolas y forestales. Las ventajas más destacables de este tipo de biocombustibles, es que se le agrega un valor a lo que se considera un desecho; la desventaja es que se requiere de pretratamientos para poder aprovechar los beneficios que estos sustratos ofrecen (Cavelius et al., 2023).

1.1.2.1 Biomasa lignocelulósica

Es un tipo de materia orgánica vegetal seca que se compone en su mayoría por celulosa, hemicelulosa y lignina, aunque también contiene cenizas y extractos, como se ve en la Figura 1.1.

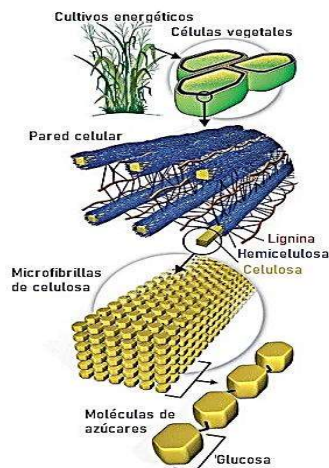


Figura 1.1. Estructura de un material lignocelulósico (Wyman & Yang, 2009).

A continuación, se describen cada uno de los tres compuestos principales de la biomasa lignocelulósica, aun así, la concentración de cada uno de estos compuestos dependerá del sustrato con el que se esté trabajando (Yousuf et al., 2020; Zoghلامي & Paës, 2019):

- **Celulosa:**

La celulosa es un polímero orgánico lineal que contiene unidades moleculares de D-glucosa, Figura 1.2, que constituyen las cadenas y van variando de acuerdo con sustrato que se esté trabajando, ya que llega a tener entre 500-1400 unidades; las cadenas de glucosa se agrupan en microfibrillas, las cuales poseen entre 20 a 30 cadenas por conjunto; estas microfibrillas a su vez se agrupan en fibras de celulosa por la acción de puentes de hidrógeno; su estructura es cristalina, por lo cual es difícil de hidrolizar. La estructura de la celulosa se vuelve amorfa cuando se expone a un ambiente con una presión controlada de 25 MPa y temperatura del agua de 320 °C (Yousuf et al., 2020; Zoghلامي & Paës, 2019; Bajpai, 2016).

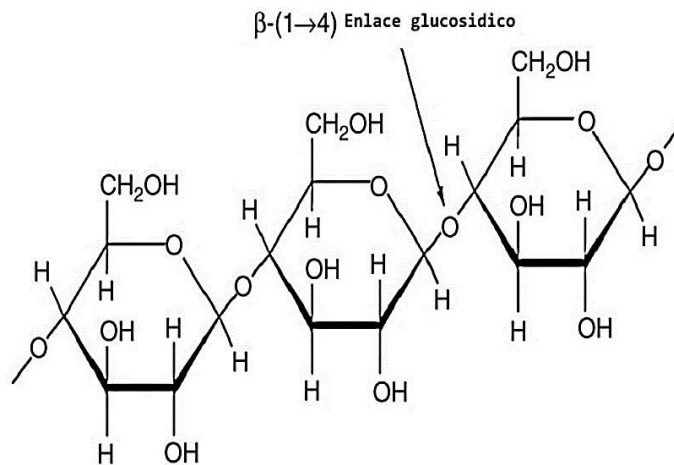


Figura 1.2. Estructura química de la celulosa (Abhilash & Thomas, 2017).

- **Hemicelulosa:**

Es un grupo de polisacáridos que representa 20-35% del peso de la biomasa; tiene una estructura amorfa constituida por entre 500 a 3000 unidades azúcares que están agrupadas en cadenas más cortas que las de la celulosa y principalmente se constituye por pentosas, como D-xilosa y L-arabinosa, y hexosas, como D-galactosa, D-glucosa y D-manosa; además de ácidos urónicos, como ácidos 4-O-metilglucurónico, D-glucurónico y D-galacturónico, se pueden ver algunos ejemplos en la Figura 1.3. Es relativamente fácil de hidrolizar, si se compara con la celulosa, resultando en los azúcares que constituyen este polímero. Entre otras cosas, se puede ver a la hemicelulosa como una especie de pegamento entre la lignina y la celulosa (Yousuf et al., 2020; Zoghلامي & Paës, 2019; Dahman et al., 2019; Bajpai, 2016).

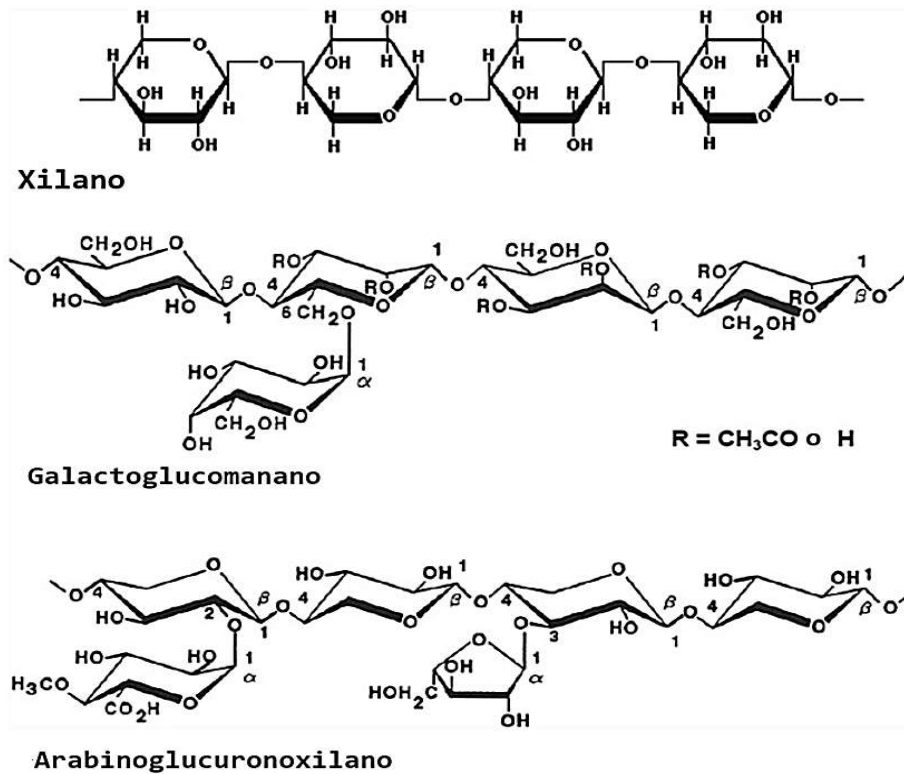


Figura 1.3. Estructura química de diferentes hemicelulosas (Bajpai, 2016).

- **Lignina:**

Es un polímero con estructura tridimensional, Figura 1.4, formada principalmente por alcoholes aromáticos, como *p*-cumarílico, coniferílico y sinapílico, los cuales no se fermentan. Por otro lado, la degradación de la lignina es una fuente potencial de inhibidores para los microorganismos. La lignina representa entre 15 y 40% del peso seco de la biomasa; este polímero es el responsable de la hidrofobicidad y rigidez estructural del sustrato, y es por ello por lo que se le considera como compuesto recalcitrante, además de ser muy resistente a degradación química y/o biológica (Yousuf et al., 2020; Zoghلامي & Paës, 2019; Dahman et al., 2019).

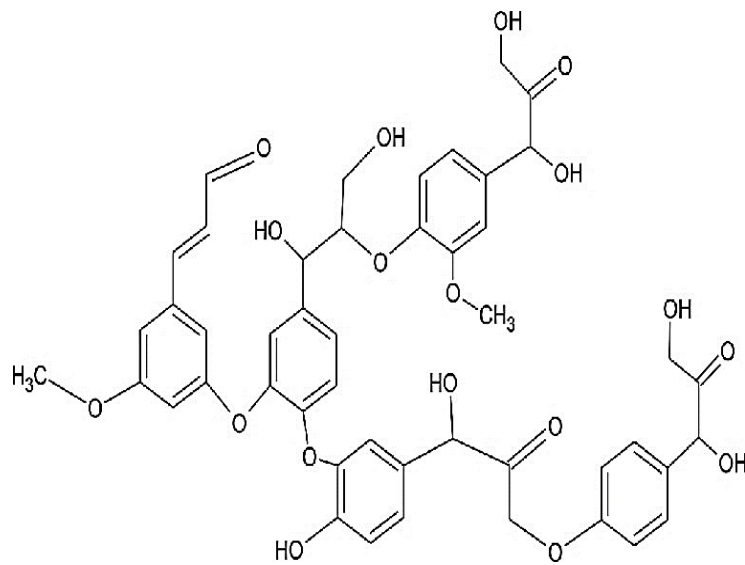


Figura 1.4. Estructura química de la lignina (Mahmood et al., 2018).

Como se puede apreciar, la biomasa lignocelulósica comprende una amplia gama de sustratos que necesitan ser revalorizados, un ejemplo de estos, y que es uno de los que se tiene especial interés en esta investigación es el bagazo de agave.

1.1.2.2 Bagazo de agave

La planta *Agave tequilana* es de variedad Azul, que se utiliza para la elaboración del tequila; una vez que esta planta está madura, entre 7 y 9 años después de haber sido plantada, se separan las hojas de la piña, esta última pasa por un proceso de hidrolisis para la obtención de azúcares simples los cuales se separan de las fibras de la piña en el proceso de extracción, y de esta etapa se obtiene mosto fresco el cual será fermentado para finalmente ser destilado (Consejo Regulador del Tequila [CRT]¹, s.f.). El proceso seguido se presenta en la Figura 1.5.

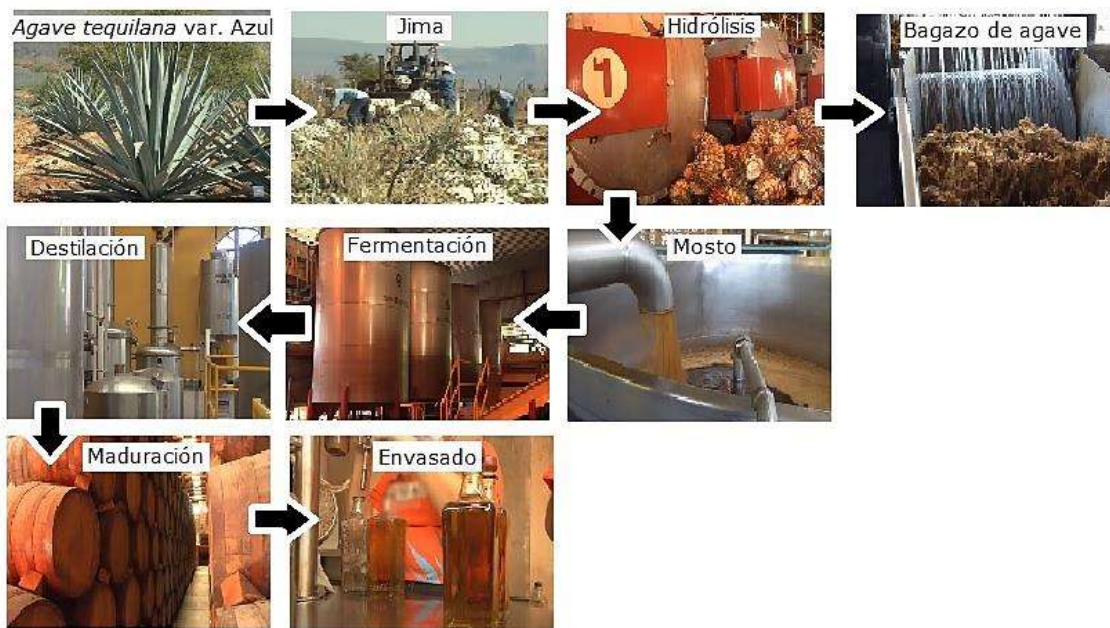


Figura 1.5. Proceso de elaboración del tequila (a partir de CRT, 2015)

Como refleja el proceso, el bagazo de agave es el residuo obtenido en la etapa de extracción del mosto, representa un 40% (peso seco) de la piña cruda, o previa al proceso de producción de tequila (Palomo-Briones et al., 2018).

El bagazo de agave se compone por fibras de 10-12 cm de longitud que presentan una cristalinidad de hasta 70%. Como se ha mencionado anteriormente, la composición química del sustrato puede variar dependiendo de las condiciones a las cuales se ha dado el proceso de producción del tequila, por ejemplo, Kestur et al., (2013) reporta un contenido de 5% de cenizas, 74% de celulosa y 21% de lignina; valores que tienen ligeras variaciones con los reportados por Saucedo-Luna et al., (2010) o Aguilar et al. (2018). Teniendo en cuenta que se utilizan aproximadamente 5 kg de agave para producir 1 litro de tequila (CRT², s.f.) y conociendo la importancia de esta industria para la economía mexicana se pueden calcular las cantidades de desechos que se producen como subproducto de bagazo de agave.

1.1.3 Biocombustibles de Tercera Generación:

Para obtener biocombustibles de tercera generación se utilizan algas y cianobacterias; las algas sólo necesitan dióxido de carbono, nutrientes, agua y luz solar para crecer, e inclusive también pueden desarrollarse en aguas residuales. Una de las ventajas del cultivo de algas es su requerimiento de CO₂ para crecimiento; éste puede provenir de emisiones industriales o de la captura de la atmósfera; por otro lado, la desventaja de la alguicultura reside en los altos costos de extracción y transformación de los lípidos contenidos en las algas (Cavelius et al., 2023).

Un ejemplo de los sustratos que se pueden utilizar para la producción de los biocombustibles de tercera generación es el sargazo, este tipo de macroalga se ha convertido en un problema ya que para 2018 su población, ubicada en el océano Atlántico y conocida como “Gran Cinturón de Sargazo”, alcanzó una masa de 20 millones de toneladas (CONAHCYT, 2023):

1.1.3.1 Sargazo:

Las algas se dividen en dos grupos: las microalgas y las macroalgas. Estas últimas se dividen en algas marrones, verdes y rojas; Dahman et al. (2019) encontraron que las algas pardas, nombre con el que también se les conoce a las algas marrones, contienen un 85% de humedad y 25% de carbonato de sodio.

El sargazo es una macroalga tipo parda del género *Sargassum* de las cuales las especies predominantes tanto en el Mar de los Sargazos como en los arribazones a las costas mexicanas son *Sargassum natans* y *Sargassum fluitans*. Ambas especies tienen pequeños sacos llenos de gas que les permiten flotar y moverse libremente por el mar; se consideran de origen pelágico y se reproducen por fragmentación vegetativa (Huffard et al., 2014).

Ayala-Mercado (2021) reporta una composición para una muestra de sargazo recolectada en Quintana Roo de 18.9% hemicelulosa, 20.6% celulosa y lignina, y 24.4% cenizas; cabe destacar que a pesar de hablar de la misma especie de sargazo esta presenta una plasticidad morfológica según las condiciones ambientales del lugar en donde se recolecte la muestra e inclusive la edad de la misma alga (Catarino et al., 2023).

La estructura de la biomasa lignocelulósica es resistente a la degradación enzimática por lo que se requiere de una serie de tratamientos previos para su uso con el fin de convertir sus polisacáridos en azúcares fermentables (Zoghiami & Paës, 2019).

1.1.4 Pretratamientos a los sustratos:

Los pretratamientos pueden implementarse para la obtención directa de un biocombustible o para modificar la estructura química de la biomasa, con el objetivo de incrementar la eficiencia de hidrólisis de la celulosa hacia los azúcares que la constituyen y por consiguiente hacer más efectivo un subsecuente tratamiento.

De acuerdo con el objetivo que se desee alcanzar, el pretratamiento que se va a elegir debe cumplir con ciertas características para mejorar la formación de azúcares digeribles provenientes de la hidrólisis, además de evitar la pérdida de carbohidratos del sustrato tratado, así como evitar la formación de productos inhibidores en los subsecuentes procesos en los que se va a utilizar la materia tratada (Kumar et al., 2009). Existen pretratamientos físicos, químicos, biológicos fisicoquímicos y termoquímicos, que se explican a continuación.

- **Pretratamientos físicos**

Dentro de los pretratamientos físicos se encuentran el picado, triturado o algún otro tratamiento mecánico que incremente la superficie de contacto y tamaño de poro del material lignocelulósicos ayudando a reducir la cristalinidad y grado de polimerización (Bajpai, 2016). El método para emplear depende del tamaño de partícula que se requiera; por ejemplo, si se busca un tamaño entre 10 a 30 mm la técnica será el picado, mientras que si el tamaño es de 0.2 a 2 mm se usará el triturado (Kumar et al., 2009). Cabe destacar que el costo de este tipo de métodos va a depender del grado de cristalinidad o reducción del tamaño de partícula deseado (Brodeur et al., 2011).

- **Pretratamientos químicos**

En este tipo de pretratamientos se busca remover la lignina, degradar la celulosa e hidrolizar la hemicelulosa en sus monómeros de azúcares que la componen; a pesar de ser de las técnicas más usada para el procesamiento de la biomasa, representa altos costos, tanto por

los químicos utilizados como por la corrosión que podría presentarse en los equipos utilizados (Negrín-Espinosa et al., 2021; Anukam & Berghel, 2020; Afanasjeva et al., 2017).

- **Pretratamientos biológicos**

En este tratamiento, se requiere de la ayuda de microorganismos o enzimas para degradar hemicelulosa y lignina, dejando intacta la celulosa y por tanto más accesible. El proceso consiste en usar hongos para posteriormente someter el material previamente tratado a la acción de enzimas (Negrín-Espinosa et al., 2021; Sánchez-Riaño et al., 2010). Este tipo de pretratamiento es de bajo costo, pero tiene una tasa de hidrólisis muy baja comparado con otro tipo de pretratamientos (Brodeur et al., 2011). A pesar de lo anterior, la deslignificación llevada a cabo por especies fúngicas a pesar de tomar semanas lo hace de una manera más eficiente y selectiva (Behera et al., 2014).

- **Pretratamientos termoquímicos**

En este tipo de pretratamientos, la conversión se da por el calentamiento de la biomasa a rangos de 150-180 °C; gracias a las temperaturas a las cuales está expuesta la materia prima esta se convierte en energía (Dahman et al., 2019, Sánchez-Riaño et al., 2010), se rompen enlaces a nivel molecular y además se incrementa el área superficial de la biomasa (Negrín-Espinosa et al., 2021); existe varias técnicas de conversión termoquímica que según su principio de funcionamiento pueden ser llevadas a cabo en presencia o ausencia de oxígeno (Afanasjeva et al., 2017).

- **Ventajas y desventajas de pretratamientos para la biomasa**

La Tabla 1.1 recopila algunas de las ventajas y desventajas de los pretratamientos mencionados.

Tabla 1.1. Ventajas y desventajas de distintos pretratamientos de biomasa.

| Tipo de pretratamiento | Ventajas | Desventajas | Referencia |
|------------------------|--|---|-----------------------------|
| Físicos | <ul style="list-style-type: none"> • Aumenta la degradabilidad del material lignocelulósico. • Mejora la eficiencia de tratamientos subsecuentes. • Rompe la estructura cristalina de la celulosa. | <ul style="list-style-type: none"> • Representa elevados costos debido al consumo de energía requerido. | Che Kamarludin et al., 2014 |
| Químicos | <ul style="list-style-type: none"> • Remueve la lignina e hidroliza la hemicelulosa. • Disminuye el grado de polimerización y reduce la cristalinidad de la celulosa. | <ul style="list-style-type: none"> • Se requiere gran cantidad de químicos y agua. • Representa riesgo de contaminación ambiental. • Forman compuestos inhibidores para procesos que involucran microorganismos. • Representa altos costos. | Behera et al., 2014 |
| Biológicos | <ul style="list-style-type: none"> • Es amigable con el ambiente. • Bajo requerimiento de energía. • No genera compuestos tóxicos. • Tiene un alto rendimiento de los productos deseados • Es de bajo costo. | <ul style="list-style-type: none"> • Es un proceso lento. • Requiere control minucioso del proceso para un crecimiento adecuado de los microorganismos. • Requiere grandes espacios para llevarse a cabo. • Además de la lignina, ciertos microorganismos consumen también hemicelulosa y celulosa. | Behera et al., 2014 |
| Termoquímicos | <ul style="list-style-type: none"> • Ayudan a la dilución de la hemicelulosa. • Altera la estructura de la lignina. • Incrementan la accesibilidad de la celulosa a las enzimas hidrolíticas. • Incrementa el rendimiento de azúcares fermentables. • | <ul style="list-style-type: none"> • Puede llegar a afectar las características físicas y químicas de la biomasa. | Chundawat et al., 2010 |

La investigación se centra en la aplicación de dos tipos de pretratamientos termoquímicos, la carbonización hidrotermal y el ultrasonido:

1.1.4.1 Carbonización hidrotermal

La carbonización hidrotermal (HTC), o pirólisis húmeda, es un tratamiento termoquímico que se lleva a cabo en un medio acuoso, donde la biomasa se somete a temperaturas en el intervalo de 170 - 350°C, generando una presión, 10-80 bar; el tiempo de operación va desde unos pocos minutos hasta horas. Bajo estas condiciones, el agua, que es lo que generalmente proporciona el medio acuoso, actúa como un solvente orgánico provocando la descomposición de la biomasa mediante reacciones, que suceden de manera continua, de hidrólisis, deshidratación, descarboxilación, condensación, polimerización y aromatización en la fase líquida. El producto de la reacción de la carbonización hidrotermal se divide en una fase sólida, una líquida y una gaseosa; esta última está compuesta de dióxido de carbono (Maniscalco et al., 2020; Usman et al., 2020).

- **Fase líquida:**

De las reacciones anteriormente mencionadas, entre el 20 - 50% de la materia orgánica pertenece al sustrato inicial que se transfiere a la fase acuosa, de esta reacción se obtienen compuestos volátiles tales como: furanos y ácidos grasos de un peso molecular reducido (Maniscalco et al., 2020). Usman et al., 2020 menciona que los componentes que están presentes en esta fase dependen del tipo de sustrato al que se le aplique el pretratamiento de HTC.

- **Fase sólida:**

En fase sólida, el carbón vegetal producto de la reacción contiene menor cantidad de minerales y cenizas durante la combustión, lo cual aumenta su poder calorífico; con incrementos que van desde 12%, para condiciones de operación de 150 °C por media hora, hasta incrementos de 53% para condiciones de operación de 240 °C por media hora (Maniscalco et al., 2020). Por otro lado, el carbón puede usarse como combustible o también puede prepararse una mezcla entre el carbón vegetal y carbón mineral o con biomasa pues además de tener una composición química más homogénea presenta una reducción en cuanto al contenido de cenizas, así como de azufre y nitrógeno; por otro lado, la composición específica de cada carbón depende del sustrato que se haya tratado, además se han reportado

porcentajes distintos de recuperación de energía según las condiciones del proceso y el sustrato tratado, el porcentaje de recuperación de energía puede ser desde 41% para una microalga tratada con HTC a 180 °C por 1 hora, hasta 85% para una muestra de lodo de depuradora tratado con HTC a 160 °C también por 1 hora (Ipiales et al., 2021).

El uso de carbonización hidrotermal presenta un menor costo energético comparado a la pirólisis y gasificación, ya que la carbonización hidrotermal a diferencia de estos no necesita que la biomasa a tratar esté seca y por lo tanto no se requiere un suministro de energía al proceso para este fin.

Por otro lado, el hidrolizado requiere tratamientos previos a ser desechado para no causar contaminación al ambiente, por esto se han propuesto algunas alternativas de uso como la separación química de fenoles, furfurales, etc., también se ha propuesto su uso como alimentación en la digestión anaerobia, como medio de cultivo para algas e incluso como el medio acuoso de un posterior tratamiento de carbonización hidrotermal. (Usman et al., 2020)

1.1.4.2 Ultrasonido

El ultrasonido de alta frecuencia se usa como pretratamiento de biomasa, dentro de sus beneficios se encuentra la mejora en la conversión de azúcares a biocombustibles como el etanol, además también se aplica el ultrasonido de baja frecuencia durante la fermentación del sustrato (Rehman et al., 2013)

El proceso de ultrasonido consiste en la propagación de ondas de sonido a través de un medio líquido, que dependiendo de la frecuencia y amplitud de las ondas genera cavitación gaseosa en el medio provocando la ruptura de las fibras que componen la biomasa, además se aumenta el área de contacto y el material es más digerible para los microorganismos. La cavitación gaseosa es la formación, crecimiento y colapso de burbujas de gas, como se muestra en la Figura 1.6, las ondas de sonido utilizadas tienen frecuencias predominantes menores a 40 kHz; este proceso genera efectos tanto físicos como químicos que provocan la descomposición molecular del agua en radicales OH^- y H ; lo que facilita la fragmentación de materiales lignocelulósicos por la alta reactividad de dichos radicales (Flores et al., 2021; Xiong et al., 2016; Kisielewska et al., 2020; Bundhoo & Mohee, 2018).

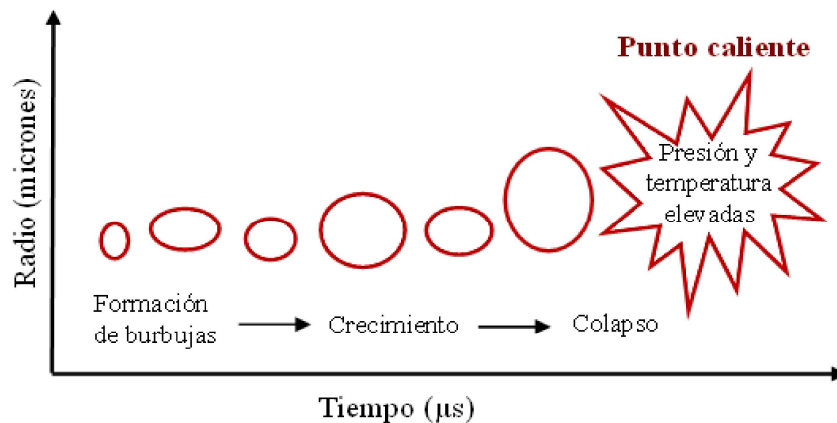


Figura 1.6. Cavitación gaseosa generada a lo largo de un tratamiento de ultrasonido (Bundhoo & Mohee, 2018)

1.1.5 Digestión anaerobia

En el proceso de la digestión anaerobia (DA), ejemplificado en la Figura 1.7, el metabolismo de diversos microorganismos convierte residuos orgánicos en biogás y un residuo en forma de lodo. La DA ocurre de forma natural en espacios libres de oxígeno, con presencia de nutrientes y condiciones que permitan crecer a los microorganismos, pero este proceso también se ha replicado de forma artificial con el uso de biodigestores. Estos son contenedores herméticos en donde son agregados el inóculo, en el cual se encuentran los microorganismos, y materia orgánica, la cual funciona como alimento. Esta técnica se ha usado como un medio para reducir el volumen y estabilizar los lodos provenientes de tratadoras de aguas residuales para reducir la contaminación al ambiente, además de que es posible aprovechar el biogás generado como una alternativa para recuperar energía a partir de desechos (Al-Sulaimi et al., 2022; Appels et al., 2008; Ahring, 2003). La digestión anaerobia está conformada por 4 etapas sucesivas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, como se observa en la Figura 6. (Al-Sulaimi et al., 2022; Lorenzo-Acosta & Obaya-Abreu, 2005).

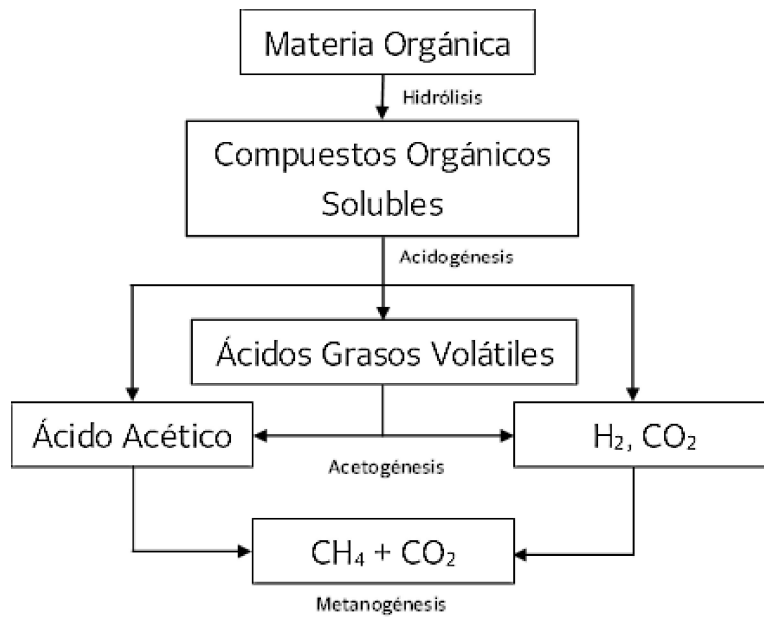


Figura 1.7. Proceso de digestión anaerobia (Appels et al., 2008).

Enseguida, se describen las etapas del proceso de digestión anaerobia:

a. Hidrólisis:

Los compuestos orgánicos complejos se solubilizan (pasan de polímeros a monómeros) por enzimas depuestas por las bacterias fermentativas, un ejemplo se observa en la Figura 1.8.

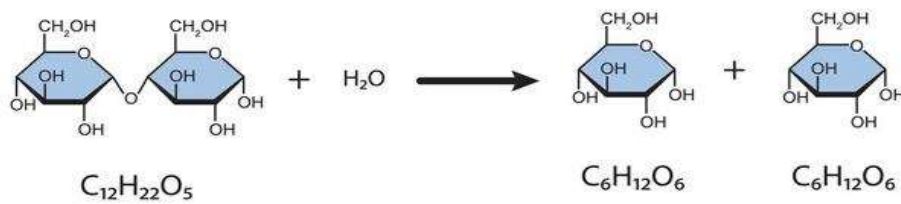


Figura 1.8. Hidrólisis de la maltosa (Ali, s.f.)

b. Acidogénesis:

Los compuestos orgánicos solubles son convertidos a ácidos orgánicos de cadena corta o ácidos grasos orgánicos (AGVs), como se muestra en la Figura 1.9, principalmente ácido acético, propiónico y butírico, por las bacterias acidogénicas.

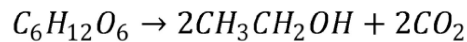
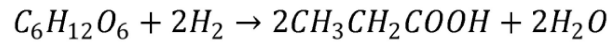


Figura 1.9. Ejemplos de reacciones químicas que ocurren durante la acidogénesis (Toraman, s.f.).

c. Acetogénesis:

En la acetogénesis, los microorganismos acetogénicos oxidan los AGVs a hidrógeno, dióxido de carbono, acetato y más ácido acético, proceso mostrado en la Figura 1.10.

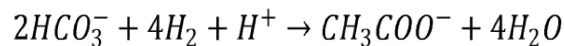
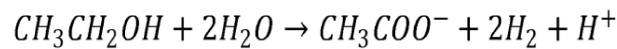


Figura 1.10. Ejemplos de reacciones químicas que ocurren durante la acetogénesis (Toraman, s.f.).

d. Metanogénesis:

En esta etapa las bacterias metanogénicas forman metano, ya sea a partir de ácido acético, de una mezcla entre hidrógeno y dióxido de carbono e inclusive a partir de ácido fórmico y metanol, estas reacciones se pueden apreciar en la Figura 1.11.

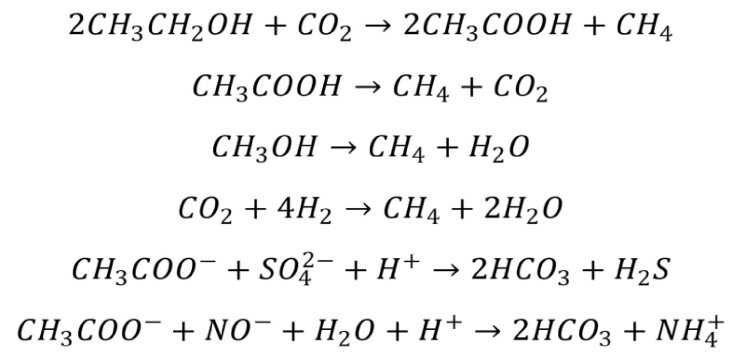


Figura 1.11. Ejemplos de reacciones químicas que ocurren durante la metanogénesis (Toraman, s.f.).

1.2 Estado del arte

De acuerdo con los antecedentes mencionados, el bagazo de agave y el sargazo son considerados fuentes potenciales de alimentación para la ganadería, además, se vuelven de particular interés como materia prima para tratamientos de recuperación de energía. Bajo este contexto, a continuación, se presenta la investigación que se ha realizado a los sustratos antes mencionados:

1.2.1 Bagazo de agave

Como se ha mencionado, la producción del tequila es fundamental para la economía mexicana, esto se ve reflejado en la tendencia creciente en cuanto a la fabricación de esta bebida alcohólica pues de 1995 a 2022 tuvo un aumento en su producción de más del 500% (Escudero-Enríquez et al., 2023), al aumentar la cantidad de tequila producido también aumentará el volumen de bagazo de agave generado, por esta razón la importancia de encontrar alternativas adecuadas para que estos desechos no representen problemas de contaminación ambiental o para la salud ya que, entre pequeñas y medianas empresas productoras de tequila, es una práctica común el desechar estos subproductos en los tiraderos municipales sin haber recibido un tratamiento previo pertinente o también la quema del bagazo al aire libre (Escudero-Enríquez et al., 2023; Ñíguez-Covarrubias et al. 2022).

Actualmente, el uso más común para este material lignocelulósico es como compostaje aerobio pues el bagazo de agave puede reciclarse en conjunto con las vinazas y el producto resultante de este proceso se usa como enmienda para suelos (Escudero-Enríquez et al., 2023; Crespo-González et al., 2018). Otro uso muy común es en la fabricación de papel, pero presenta poca resistencia (González-García et al., 2005). Además de lo anterior, se ha estudiado el proceso de degradación del bagazo de agave para su posterior uso en la agricultura. A continuación, se mencionan algunos trabajos en los cuales se utiliza el bagazo de agave como algún combustible o precursor de este:

Palomo-Briones y colaboradores (2018) realizaron una recopilación de los estudios que han utilizado el bagazo de agave como sustrato para obtener biocombustibles. Ellos mencionan que debido a la naturaleza recalcitrante del sustrato se requiere enjuagar el bagazo de agave

para después reducir el tamaño de partícula a dimensiones de entre 0.5 a 15 mm, después de este triturado se aplican una serie de pretratamientos de los cuales los más utilizados son físicos, químicos y fisicoquímicos; el objetivo de lo anterior es el obtener azúcares fermentables para la posterior producción de los biocombustibles. Entre los biocombustibles reportados se encuentra el etanol producido a través de la fermentación alcohólica del bagazo de agave, este proceso se lleva a cabo por levaduras siendo la *Saccharomyces cerevisiae* la más utilizada, aunque también se han reportado el uso de otras levaduras como *Pichia caribbica* o *Escherichia coli*, e incluso hongos como *Pichia stipitis*. Por otro lado, se reporta la obtención de hidrógeno al utilizar un proceso de fermentación oscura y de biogás mediante la digestión anaerobia.

Ayala-Mercado (2021) produjo biogás a partir del bagazo de agave sometido a dos pretratamientos; para el tratamiento de carbonización hidrotermal se agregaron 11 gramos de sustrato seco (menos del 10% de humedad contenida en el bagazo de agave) con 80 gramos de agua de grifo, las condiciones de operación fueron de 200 °C por tres horas; por otro lado, en el tratamiento de explosión de vapor se agregaron 80 gramos de sustrato seco y se sometió a vapor con una presión de 0.98 MPa donde se tuvieron tres etapas de presurización y despresurización, con una duración de 6 y 2 minutos respectivamente, con un tiempo de operación total de 24 minutos. El material resultante de cada pretratamiento fue sometido a una prueba de digestión anaerobia con alimentación discontinua, o prueba batch, donde se obtuvieron 436 mL de biogás por gramo de sólidos totales ($\text{mL}_{\text{biogás}} \text{g}_{\text{ST}}^{-1}$) cuando el sustrato fue sometido a explosión de vapor y 133 $\text{mL}_{\text{biogás}} \text{g}_{\text{ST}}^{-1}$ cuando el sustrato fue sometido a carbonización hidrotermal. Además de lo anterior, también se reportó que para el bagazo de agave que no fue pretratado, pero si sometido a la digestión anaerobia se generaron 351 $\text{mL}_{\text{biogás}} \text{g}_{\text{ST}}^{-1}$. Se concluyó que el tratamiento de explosión de vapor es óptimo para una posterior aplicación de la digestión anaerobia pero que debido a los inhibidores presentes en el hidrolizado de la carbonización hidrotermal la biomasa responsable de la digestión anaerobia necesita una adaptación previa a la alimentación.

Valdez-Vázquez y sus colaboradores (2020) sometieron el bagazo de agave a distintos tipos de pretratamientos para la obtención de metano. Para el tratamiento enzimático se sometió el bagazo de agave a una hidrólisis con celulasa donde el tamaño de partícula del bagazo ocupado menor a 1.7 mm con un contenido de sólidos totales de 875% (p/v), la hidrólisis se

llevó a cabo a 42.7°C y 120 rpm por 24 horas. Para el pretratamiento biológico con líquido ruminal se utilizaron los fluidos del rumen como un biocatalizador, el tratamiento se llevó a cabo con una relación de 0.33 gramos de sólidos volátiles de bagazo de agave por gramo de sólidos volátiles de fluidos ruminales; las botellas se incubaron a 37 °C y 100 rpm por 15 días. Para el tratamiento de explosión de vapor se utilizaron dos reactores, A y B Para el reactor A se utilizó un contenido de sólidos totales de 10% donde la presión absoluta del vapor inyectado fue de 0.67 MPa por un tiempo de operación de 20 minutos, y en el reactor B se utilizó un contenido de sólidos totales de 5% con una presión del vapor inyectado de 0.98 MPa por 24 minutos. Para el pretratamiento con ácido diluido primero fue molido el bagazo de agave hasta obtener una partícula con un tamaño menor a 0.84 mm para después ser tratado con HCl al 1.9%, a 130 °C por 3.22 horas. Para el tratamiento con ozono se utilizó el bagazo de agave en partícula con un tamaño menor a 0.70 mm con un contenido de humedad de 45%, se inyectaron 90 mg de ozono por gramo de sólidos totales del bagazo de agave, el tiempo de operación fue de 60 minutos a temperatura y presión ambiente, después de esto, se sometió una muestra de 5% (p/p) del bagazo de agave tratado con ozono a una hidrólisis enzimática y se añadió celulasa donde las condiciones de operación del proceso fueron de 50 °C y 120 rpm por 48 horas. De cada pretratamiento se obtuvieron diferentes hidrolizados que fueron sometidos a digestión anaerobia; se reportó un rango de producción de entre 168 a 241 mL CH₄ g_{DQO}⁻¹ entre todos los pretratamientos, mejorando entre 1.3 a 1.9 veces el potencial de producción de metano del bagazo de agave sin tratamiento que fue de 128 ± 4 mL g_{DQO}⁻¹. Se concluyó que el promedio de producción de metano fue de 219 ± 15 mL g_{DQO}⁻¹ agregado la prueba de potencial bioquímico de metano (BMP) siendo el pretratamiento con ácido diluido el mejor en cuanto a la solubilización de materia orgánica, pero, por otro lado, los tratamientos químicos e hidrotermales fueron los que más formación de inhibidores obtuvieron.

Hernández-Vázquez y colaboradores (2020) utilizaron la explosión de vapor como un pretratamiento hidrotermal para incrementar la solubilidad de los carbohidratos contenidos en el bagazo de agave. Los tratamientos de explosión de vapor fueron se llevaron a cabo a 0.28, 0.47 y 0.67 MPa por 5, 10, 15 y 20 minutos. Encontraron que cuando se trabajaba con 0.67 MPa por 10 minutos se obtenían los mejores resultados en cuanto a la solubilización de glucosa, con 66 ± 4 mg L⁻¹, solubilización de arabinosa, con 160 ± 3 mg L⁻¹ y DQO, con

$4396 \pm 22 \text{ mg L}^{-1}$. Mientras que la condición de operación de 0.67 MPa por 15 minutos tuvo la mayor solubilización de carbohidratos totales, con $2178 \pm 197 \text{ mg L}^{-1}$, y mayor solubilización de xilosa, con $43 \pm 3 \text{ mg L}^{-1}$. Para la prueba BMP se utilizó el hidrolizado proveniente de la condición de operación de 0.67 MPa por 10 minutos, resultando en un consumo de DQO de 64% y $215 \pm 16 \text{ mL g}_{\text{DQO}}^{-1}$ de metano producido. Se concluyó que la aplicación de este tipo de técnicas para el tratamiento del sustrato a nivel industrial puede ser factible ya que resultó en un balance de energía positivo entre la energía necesaria para el pretratamiento y la recuperada del metano en un 247%.

Buitrón y colaboradores (2019) utilizaron hidrolizados provenientes de un tratamiento hidrotermal en el cual se inyectó vapor a $150 \text{ }^{\circ}\text{C}$ con un tiempo de retención de 40 minutos, el pretratamiento fue aplicado a paja de trigo, paja de maíz, bagazo de caña de azúcar y bagazo de agave. Dentro de sus resultados reportaron una obtención de metano en la prueba BMP de $195 \pm 1 \text{ mL g}_{\text{DQO}}^{-1}$ de paja de trigo, $369 \pm 22 \text{ mL g}_{\text{DQO}}^{-1}$ para el bagazo de caña de azúcar, $178 \pm 11 \text{ mL g}_{\text{DQO}}^{-1}$ para el bagazo de agave y $230 \pm 8 \text{ mL g}_{\text{DQO}}^{-1}$ para la paja de maíz. Se concluyó que a pesar de haber aplicado el mismo pretratamiento para todos los sustratos el porcentaje de biodegradabilidad del bagazo de agave fue el menor de todos.

Arreola-Vargas y colaboradores (2016) compararon el metano producido del bagazo de agave pretratado con hidrólisis ácida con el producido por el bagazo de agave pretratado con hidrólisis enzimática sometidos a digestión anaerobia en reactores de una o dos etapas, para alimentar cada reactor dos muestras de bagazo de agave fueron sometidas a un tratamiento de hidrólisis ácida o enzimática, ambos reactores fueron alimentados con 400 mL de hidrolizado. Se reportaron producciones de metano de 392 mL para la hidrólisis ácida y de 290 mL para la hidrólisis enzimática. Además de lo anterior, concluyeron que la digestión anaerobia en dos etapas era mejor que la digestión anaerobia mono etapa pues de acuerdo con el análisis general de recuperación de energía la primera logró recuperar 3.3 veces la energía de la segunda.

1.2.2 Sargazo

En 2011 se descubrió una gran masa de alga flotante del género *Sargassum*, a la cual posteriormente se le denominó como el “Gran Cinturón de Sargazos del Atlántico”, que para junio de 2018 superó las 20 millones de toneladas de biomasa contenidas dentro de esta floración (Godínez-Ortega et al., 2021; Chávez et al., 2020); teniendo en cuenta que el sargazo no puede sobrevivir en aguas con temperaturas menores a 18 °C, y además, que esta alga presenta mayor crecimiento a mayores temperaturas, se ha intuido que el problema que ahora representan los volúmenes descomunales que llegan a diversas costas del mundo es una consecuencia de actividades humanas que alteran las condiciones del mar (Godínez-Ortega et al., 2021); es por lo anterior que es de especial interés el encontrar usos para esta macroalga.

Existen diferentes especies de sargazo que se investigan en diferentes grupos de trabajo, a continuación, se enlistan algunos trabajos relacionados con su uso como biocombustible:

Galindo-Berdugo y colaboradores (2023) evaluaron la codigestión entre sargazo, presumiblemente compuesto por *S. fluitans* y *S. natans* puesto que fue recolectado en Cancún, Quintana Roo, México, y purines de estiércol de cerdo. Reportaron que la codigestión entre el sargazo y los purines de cerdo no era óptima por lo que se decidió agregar diferentes concentraciones de nanopartículas de magnetita dentro del biodigestor para la obtención de biogás, se encontró que al agregar 20 mg de nanopartículas de magnetita por litro de mezcla de sargazo y purín de estiércol de cerdo (30% y 70%, respectivamente) se obtuvo una mejora de 62% de producción de metano respecto a los sustratos sin tratamiento. Concluyeron que, si bien la digestión anaerobia del sargazo y de los purines de cerdo por si solos tienen un precario rendimiento de metano, una mezcla 50:50 resulta en una producción de metano que resulta competitiva para condiciones que tienen sólo un 30% de sargazo.

Castro y colaboradores (2022) llevaron a cabo una codigestión entre sargazo y desechos de alimentos, ambos residuos fueron secados y triturados a un tamaño de partícula menor a 0.1 pulgadas. Se probaron diferentes concentraciones de mezcla entre el sargazo y los desechos de alimento y concluyeron que entre menor era la proporción de sargazo agregada respecto a los desechos de alimentos mayor era la producción de metano, esto quedando en claro

cuando al agregar 45% de sargazo (y 55% de desechos de alimentos) se tuvo 230% más producción de metano que al agregar 85% de sargazo.

Ayala-Mercado (2021) sometió al sargazo a carbonización hidrotermal y explosión de vapor a las mismas condiciones de operación que se han mencionado en el apartado de bagazo de agave, reportó que el sargazo sin tratamiento resultó en una mayor producción de biogás que el sargazo pretratado con carbonización hidrotermal: 79 mL g_{ST}^{-1} y 66 mL g_{ST}^{-1} respectivamente. Por último, concluyó que el tratamiento de explosión de vapor si resultó óptimo para utilizarse previo a la digestión anaerobia produciendo 146 mL de biogás g_{ST}^{-1} .

Thompson y colaboradores (2021) llevaron a cabo una codigestión entre sargazo y restos de comida para la obtención de biogás; el sargazo fue recolectado en Barbados y se identificó que la muestra estaba constituida por las especies *Sargassum natans* and *Sargassum fluitans*, la muestra de sargazo fue secada a 80 °C por 15 horas. Las muestras de sargazo y restos de comida fueron molidos hasta obtener un tamaño de partícula de 0.5-1.0 mm y de 1-2 mm respectivamente. Se hizo una mezcla con un contenido de 15% de ST ya sea de sargazo o de desechos de comida, dando como resultado una especie de lodo el cual fue sometido a un tratamiento hidrotermal llevado a cabo en un reactor con un volumen de 1 L que fue presurizado con 30 bar de N_2 y mezclado a 300 rpm, la temperatura a la cual se condujo el proceso fue de 140 °C con un tiempo de retención de 30 minutos. Se reportaron producciones de 48 ± 5 mL_N CH₄ g_{SV}^{-1} para el sargazo sin tratamiento, 103 ± 3 mL_N CH₄ g_{SV}^{-1} para el sargazo pretratado, y, en una codigestión de 75% desechos de comida con 25% sargazo, ambos pretratados, se alcanzó una producción de 421 ± 16 mL_N CH₄ g_{SV}^{-1} . Concluyeron que la codigestión entre estos dos sustratos representa una alternativa efectiva para una correcta disposición final además de convertirse en productos de valor agregado debido a la recuperación de biogás que representan.

Thompson y colaboradores (2020) sometieron una muestra de sargazo a un tratamiento hidrotermal para posteriormente producir biogás. La muestra de sargazo, recolectada en Barbados, se lavó con agua destilada y secó dejándola expuesta al sol durante dos semanas, la muestra seca fue pulverizada hasta obtener un tamaño de 0.5-1.0 mm. El pretratamiento hidrotermal se llevó a cabo en un reactor de 1L donde se mezcló 1 parte de alga por 6 partes de agua desionizada, el reactor fue presurizado con 30 bar de N_2 y se mantuvo un mezclado

a 300 rpm; se evaluaron cuatro diferentes temperaturas, 120, 140, 160 y 180 °C, con dos tiempos de retención distintos, 10 y 30 minutos. Reportaron un rendimiento de metano máximo, de $1167 \pm 2 \text{ mL g}_{\text{SV}}^{-1}$, para el sargazo tratado a 140 °C por 30 minutos, mientras que para el sargazo no tratado el rendimiento fue de $42 \pm 3 \text{ mL g}_{\text{SV}}^{-1}$; concluyeron que el sargazo pretratado obtuvo un rendimiento tres veces mayor que el rendimiento obtenido por el sargazo sin tratamiento además que el tratamiento hidrotermal redujo la concentración de H_2S en el biogás obtenido hasta en un 3%.

López-Sosa y colaboradores (2020) sometieron una muestra de sargazo a un lavado con agua desionizada y posteriormente fue secado mediante irradiación solar hasta que se alcanzó una humedad menor a 20%, pasada esta etapa la muestra fue molida y utilizada para futuras pruebas, gracias a una medición del poder calorífico del sargazo se concluyó el potencial del sargazo para su uso como un combustible sólido que reemplaza a la madera ya que tiene un potencial de energía de 0.203 GJ/m^3 .

Oliveira y colaboradores (2015) evaluaron el potencial de producción de metano a partir del sargazo por sí sólo además del potencial alcanzado de una codigestión entre el sargazo con glicerol o con aceite para freír usado. El sargazo utilizado fue recolectado en Portugal, secado a 37 °C y triturado hasta alcanzar un tamaño de partícula menor a 1 mm, el glicerol utilizado provenía de una industria productora de biodiésel y el aceite usado fue recolectado de una cocina de un restaurante local también en Portugal. Reportaron una producción de metano de $181 \pm 10 \text{ mL g}_{\text{DQO}}^{-1}$ del sargazo por sí sólo, un máximo de producción de metano para la codigestión entre el sargazo y el glicerol $283 \pm 18 \text{ mL g}_{\text{DQO}}^{-1}$, y un máximo de producción de metano para la codigestión entre el sargazo y el aceite usado de $265 \pm 25 \text{ mL g}_{\text{DQO}}^{-1}$. Concluyeron que el agregar glicerol o aceite usado a la digestión del sargazo incrementaba en un 56% y 46%, respectivamente, el potencial de producción de metano comparado con la digestión del sargazo por sí sólo.

1.2.3 Carbonización hidrotermal

Como se ha mencionado, el hidrolizado resultante de la carbonización hidrotermal ha sido considerado como agua residual, pues contiene Hidroximetilfurfural (HMF), furfurales, fenoles y sus derivados, los cuales son compuestos potencialmente tóxicos, por lo que

requiere un tratamiento previo a su desecho (Reza et al., 2014); como medida adicional, se busca un tratamiento que sirva para aprovechar el contenido energético que ofrece la materia orgánica que comprende a este hidrolizado.

A pesar de estos compuestos, algunos investigadores han estudiado la versatilidad de este tratamiento y el uso de los productos resultantes.

Weber y colaboradores (2013) sometieron varias muestras de granos desechados de una cervecería local a una carbonización hidrotermal además de otro tratamiento de conversión de materia a baja temperatura con la finalidad de caracterizar y comparar los productos resultantes. Para la carbonización hidrotermal (HTC) se hizo un lodo conformado por 0.3 g de granos con 3 g de agua destilada, se varió la temperatura, 180 – 320 °C, dejando constante el tiempo de operación por 3 horas. Los resultados reportados indican que la concentración de carbón en las muestras incrementaba al aumentar la temperatura de reacción. De las fracciones líquidas resultantes se aprecia que los productos derivados de la HTC tienen una mayor formación de mg de formaldehído e HMF por gramo de sustrato tratado comparado con el tratamiento de conversión a baja temperatura, donde el proceso de hidrólisis alcanza una temperatura máxima de 400 °C, (LTC). Concluyeron que el tratamiento de HTC es mejor en cuanto a la producción de carbón comparado con el LTC ya que para obtener la misma cantidad de carbón el LTC debe ser operado 40 °C por encima de lo que se operaría el HTC. El contenido de ácido acético en el hidrolizado de la HTC sugiere como una aplicación el uso de este líquido como sustrato de alimentación en la digestión anaerobia, por otra parte, también se advierte la toxicidad de los aldehídos, cetonas y amoníaco para esta técnica, pero comprueban la factibilidad de su uso al recopilar datos de un experimento que utilizó el agua de desecho del HTC donde el biogás obtenido tuvo un contenido de metano mayor al 70% además de no observarse efectos inhibitorios en las bacterias del proceso.

Wirth & Mumme (2013) utilizaron el hidrolizado proveniente de la carbonización hidrotermal de ensilaje de maíz a 220 °C por 6 horas para someterlo a digestión anaerobia, su investigación comparó la digestión anaerobia mediante un reactor de agitación constante (CSTR) y un filtro anaerobio, a pesar que el filtro anaerobio desplegaba resultados más estables se comprobó la factibilidad de utilizar este hidrolizado para obtener biogás ya que se alcanzó una reducción de la demanda química de oxígeno, (del digestato de la digestión

anaerobia comparado con el hidrolizado de la carbonización hidrotermal inicial) de más del 75%, donde se estaban alimentando con $1 \text{ g}_{\text{DQO}} \text{ L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ por 91 días. De la semana 1 a la 5, para el caso del CSTR se obtuvieron $236 \pm 16 \text{ mL CH}_4 \text{ g}_{\text{DQO}}^{-1} \text{ d}^{-1}$, de la semana 6 a la 13 la producción de biogás sufrió un decremento, $163 \pm 28 \text{ mL CH}_4 \text{ g}_{\text{DQO}}^{-1} \text{ d}^{-1}$, efecto que se atribuyó a la falta de nutrientes. Se comprobó la efectividad de la carbonización hidrotermal como alternativa para el tratamiento de la biomasa y la factibilidad de obtener productos de valor agregado de esta técnica, como el biogás al someter el hidrolizado a la digestión anaerobia, ya que sólo se observaron como inhibidores para el proceso las concentraciones de ácidos grasos volátiles además de la falta de elementos traza necesarios para los microorganismos.

Merzari y colaboradores (2019) recopilaron una serie de trabajos en donde se demostraba el uso de la carbonización hidrotermal como un tratamiento para lodos de depuradora obteniendo productos de valor agregado como el carbón resultante, además del uso del agua del proceso, o hidrolizado de la carbonización hidrotermal, como alimentación de un proceso de digestión anaerobia para la producción de biogás. Los rangos de operación de los trabajos recopilados fueron de temperaturas de $180 - 200 \text{ }^\circ\text{C}$ por tiempos de residencia de $60 - 90$ minutos. Los resultados encontrados fueron que el carbón obtenido podía ser utilizado como combustible para recuperar energía a través de la combustión, en el suelo para mejorar la calidad de este, como adsorbente o como recurso para el reciclaje. En cuanto al hidrolizado del HTC de lodos de depuradora se comprobó la posibilidad de recuperar el fósforo que este contenía y posteriormente usarlo para la producción de fertilizantes orgánicos o como alimento para la digestión anaerobia alcanzando rendimientos de metano de $22 - 277 \text{ mL g}_{\text{DQO}}^{-1}$. Concluyeron que el aplicar un tratamiento de HTC a lodos de depuradoras puede mitigar el impacto ambiental que tienen además que las necesidades térmicas del HTC pueden ser cubiertas a través de la producción de biogás.

González y sus colaboradores (2021) estudiaron la demanda energética en una planta hipotética que trata estiércol de ganado y suero de queso como cosustrato. Para ello propusieron tres escenarios: 1.- el estiércol de ganado es sometido a digestión como único sustrato, el digestato resultante se somete a HTC y de él se separa el carbón para uso como combustible y el hidrolizado se regresa al reactor de digestión anaerobia para funcionar como

un proceso de codigestión; 2.- se sigue el mismo principio que del escenario 1 pero en esta ocasión además de estiércol de ganado el segundo sustrato inicial es el suero de queso, y 3.- el estiércol de ganado se somete a una hidrólisis térmica y el sustrato resultante se somete a codigestión con el suero de queso. Las condiciones de HTC fueron 200 °C por 1 hora. Al final se concluyó que a pesar de que la demanda energética requerida para realizar las HTC era muy elevada, esta y el requerimiento energético de todo el proceso puede ser suplido con la energía liberada por el biogás producido y el carbón obtenido; además, también concluyeron que el sólido obtenido de la HTC puede adicionarse como suplemento en el proceso de digestión anaerobia obteniendo mejores resultados de la misma así también se puede usar como composta, además de funcionar como un suplemento de nutrientes en cultivos.

1.2.4 Ultrasonido

El tratamiento de ultrasonido ha sido ampliamente investigado como apoyo en la obtención de biogás, ya sea en el tratamiento de residuos previos a la digestión anaerobia o como auxiliar aplicándose al mismo tiempo que la DA se lleva a cabo, a continuación, se enlistan algunos trabajos que ha utilizado diversas materias primas para producción de biogás:

Yue y sus colaboradores (2021) utilizaron un pretratamiento de ultrasonido y uno de calentamiento por microondas aplicados a residuos de comida y de lípidos para posteriormente ser usado como productores de metano, la finalidad de la aplicación de los pretratamientos es evitar los efectos inhibidores que los lípidos representan para la digestión anaerobia. Para llevar a cabo los pretratamientos se hizo una mezcla de 5 gramos de sólidos volátiles en 100 mL de agua destilada. Para el tratamiento con microondas se variaron las condiciones de operación con un suministro de potencia de 0 a 1000 W y el tiempo de reacción de 0 a 50 segundos, las condiciones de operación para el ultrasonido también fueron variadas suministrando potencias de 0 a 500 W por tiempos de operación de 0 a 100 segundos. Las condiciones para ambos tratamientos fueron especificadas de tal manera que el suministro de energía estuviera en un rango de 0 a 50000 kJ Kg_{SV}⁻¹; después de los pretratamientos, el sustrato resultante fue aforado a 100 mL con agua destilada y posteriormente sometido a digestión anaerobia. Para el sustrato pretratado con ultrasonido a

una potencia de 500 W por 100 segundos se reportó una obtención de la DQO soluble de 10130 mg L⁻¹ y un rendimiento de metano de 928 mL g_{SV}⁻¹. Concluyeron que el ultrasonido (a 500W y 100s) fue la condición que obtuvo mejores rendimientos, desde 43% mayor rendimiento de metano del ultrasonido respecto a las microondas, hasta un 11% mayor eficiencia de conversión energética de los residuos pretratados con ultrasonido respecto a los tratados con microondas.

Pansripong y colaboradores (2019) utilizaron paja de arroz pretratada con ultrasonido para la obtención de biogás. La paja fue secada por acción del sol hasta llegar a una humedad de 12% para ser triturada con un molino de martillos con tamices de 25 mm y 2,5 mm; se preparó una especie de lodo formado al mezclar la paja de arroz con agua destilada con un contenido de 5% de sólidos totales, el lodo resultante fue sometido a ultrasonido a frecuencias de 37 y 102 kHz por tiempos de operación de 10, 20 y 30 minutos. Posteriormente, se llevó a cabo una prueba bioquímica de metano (BMP) al sustrato resultante donde para ambas frecuencias el tiempo de operación que mayor rendimiento de metano dio fueron los 30 minutos, 250 mL g_{SV}⁻¹ para 37 kHz y 244 mL g_{SV}⁻¹ para 102 kHz. Concluyeron que el tratamiento de ultrasonido aplicado a la paja de arroz genera mayores rendimientos de metano que los obtenidos de la biomasa sin tratamiento, además de esto, el tratamiento de ultrasonido no representa un daño al ambiente y requiere un menor consumo de energía comparado con otros tratamientos.

Joshi & Gogate (2019) usaron el tratamiento de ultrasonido como auxiliar para mejorar la producción de biogás a partir de desechos de alimentos (principalmente compuestos trigo, harina de garbanzos, arroz, cáscaras de frutas y residuos vegetales); para su estudio primero se aplicaba el ultrasonido a los residuos de comida para investigar como afectaba en la solubilidad de la materia orgánica y en una segunda etapa el ultrasonido se aplicó durante la digestión anaerobia para comparar la remoción de DQO de la digestión anaerobia con y sin ultrasonido; los parámetros variados fueron tiempo de irradiación (minutos), densidad de la potencia suministrada (W mL⁻¹), ciclo de trabajo (%) y carga orgánica sometida al proceso (% p/v). Los resultados arrojaron que el parámetro de operación óptimo fue con las condiciones de 10 minutos, 0.4 W/mL, 60% y 7% p/v puesto que se consiguió medir una demanda química de oxígeno soluble de 19 ± 0.02 g L⁻¹, representando un 62% más que el

sustrato sin tratamiento. En cuanto a la digestión anaerobia asistida con ultrasonido (donde sus parámetros de operación fueron una potencia de 200 W, 5 minutos de trabajo y 10% de ciclo de trabajo) se llevó a cabo dentro de un baño de ultrasonido, estas condiciones de trabajo fueron aplicadas cada 8 horas por 15 días, al reactor de digestión anaerobia que no fue asistido con ultrasonido se mezclaba también cada 8 horas para homogenizar el contenido. Esta última etapa resultó en una remoción de DQO de 80% que representó una remoción 67% mayor que la digestión anaerobia sin ultrasonido. Este estudio demuestra que la aplicación del ultrasonido en cualquiera de las dos etapas que fueron estudiadas incrementa la producción de biogás.

Debido a que la aplicación de la carbonización hidrotermal y el ultrasonido al bagazo de agave y al sargazo para su posterior utilización en la digestión anaerobia es un tema incipiente se ha decidido ir por esta línea de investigación.

Capítulo II: Metodología Experimental

En este capítulo se presentan la descripción general del proyecto en forma de hipótesis, objetivos general y específicos, así como los equipos, materiales y reactivos que se usaron para realizar la metodología experimental para cumplir con cada uno de los objetivos planteados en este trabajo. A continuación, se describe cada uno:

2.1 Justificación

El trabajo se centrará en la aplicación de carbonización hidrotermal y ultrasonido como pretratamientos previos a una digestión anaerobia para el bagazo de agave y el sargazo, respectivamente. La aplicación de carbonización hidrotermal al bagazo de agave es un procedimiento con el cual se ha trabajado, presentando un alto rendimiento de DQO que no concordó con la baja producción de biogás ya que el bagazo de agave sólo produjo 17% de biogás comparado con la producción del sustrato sin tratamiento (Ayala-Mercado, 2021). Por otro lado, se ha elegido trabajar con el tratamiento de ultrasonido para mejorar la digestibilidad del sargazo pues tiene un principio similar al de la extrusión térmica que ha demostrado mejores rendimientos de biogás cuando se compara tanto con el sargazo sin tratar como con el que fue pretratado con carbonización hidrotermal, e inclusive, la producción de biogás cuando la macroalga fue tratada con extrusión térmica fue mayor que cuando se trató con explosión de vapor (Weber & Ayala, 2020). Por otro lado, se tiene un especial interés en el acondicionamiento de la biomasa involucrada en la digestión anaerobia para que sean capaces de tolerar los inhibidores que pueda contener la alimentación que le sea suministrada, por esto se ha propuesto un proceso de digestión anaerobia en un biodigestor con alimentación continua, esto con el propósito de adaptar la biomasa a su alimentación y con ello aprovechar todo el potencial de digestión que los pretratamientos les otorgan a los sustratos. Por último, es importante conocer el potencial máximo de producción de los sustratos para poder comparar los rendimientos de producción de biogás, por ello se ha decidido implementar la prueba de potencial bioquímico de metano.

2.2 Hipótesis

La aplicación de los pretratamientos térmicos a biomasa de difícil degradación modificará su estructura, permitiendo que en combinación con un consorcio microbiano adaptado a sustratos complejos se tenga una mayor producción de biogás comparada con la producción de los sustratos no tratados.

2.3 Objetivo general

Seleccionar las condiciones óptimas de alimentación y operación de un biodigestor en continuo para aprovechar el potencial de producción de biogás del bagazo de agave y el sargazo pretratados con carbonización hidrotermal y ultrasonido.

2.4 Objetivos específicos

- Analizar composición de sustratos sin tratamiento
- Realizar pretratamientos a los sustratos
- Operar un digestor anaerobio con alimentación continua
- Monitorear biogás e inhibidores producidos
- Identificar condiciones deseables de alimentación y operación
- Cuantificar volumen y calidad del biogás producido
- Interpretar los resultados

2.5 Procedimiento

En la Figura 2.1 se muestra el esquema general del desarrollo experimental. La primera parte consiste en la aplicación de los pretratamientos a cada uno de los sustratos; en la segunda parte se realizó la digestión anaerobia, con alimentación en continuo, para adaptar el proceso a una alimentación con alto contenido de inhibidores, o por lote, también conocida como prueba de biometanización, para medir el potencial de producción de biogás alcanzado por sustratos tratados y sin tratamiento previo.

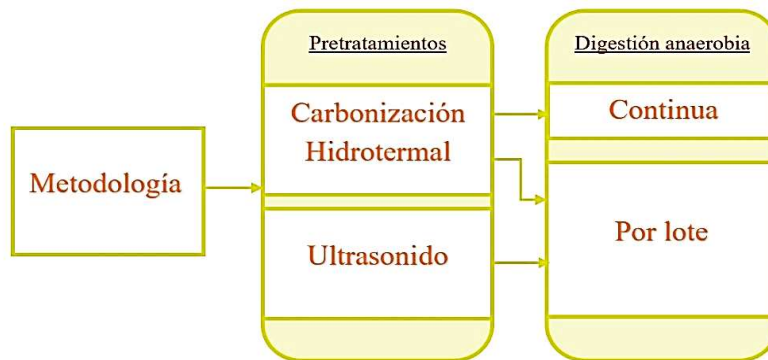


Figura 2.1. Esquema general de trabajo para el desarrollo de la metodología del proyecto de tesis.

Como se ha mencionado, tanto el bagazo de agave como el sargazo son sustratos que requieren técnicas adecuadas para su correcta disposición, a continuación, se describen los sustratos que fueron utilizados en la investigación:

El bagazo de agave pertenece a la especie *Agave tequilana* Weber Azul, proviene de una destilería de tequila en Jalisco. El sustrato se secó en un túnel solar hasta eliminar la humedad, posteriormente fue almacenado a temperatura ambiente. Previo a su uso, se determinó la humedad del bagazo obteniendo un valor del 8%, los sólidos totales por gramo de muestra ($\text{g}_{\text{ST}} \text{g}^{-1}$) del lote fueron de 0.92, mientras que la relación SV/ST fue de 0.94 $\text{g}_{\text{SV}} \text{g}_{\text{ST}}^{-1}$. La composición química del sustrato fue de 4% cenizas, 9% celulosa, 21% hemicelulosa y 3% lignina (Tellez & Weber, 2020).

El sargazo, está compuesto por las especies *Sargassum fluitans* y *Sargassum natans*, fue recolectado en Puerto Morelos, Quintana Roo. El sustrato se lavó con agua de grifo y secado en un túnel solar. La composición química del sargazo contiene un 21% de celulosa y lignina, 19% hemicelulosa y 24% cenizas (Weber & Ayala-Mercado, 2020); además de una composición 0.38 $\text{g}_{\text{ST}} \text{g}^{-1}$, una relación de 0.72 $\text{g}_{\text{SV}} \text{g}_{\text{ST}}^{-1}$ y un contenido de humedad del 62%.

Después de su caracterización y almacenamiento, se utilizaron muestras de los sustratos antes mencionados para llevar a cabo los tratamientos de carbonización hidrotermal y ultrasonido para una ser utilizados en un proceso de digestión anaerobia. Las especificaciones de los equipos, materiales y reactivos utilizados se presentan en la Tabla 1 de la sección de anexos.

2.5.1 Carbonización hidrotermal

Para realizar la carbonización hidrotermal se usó un reactor, Figura 2.2; la temperatura se controló con un calefactor en forma de soporte para el recipiente en el cual se realizó la carbonización. La preparación de la muestra consistió en agregar 11 gramos de sustrato con 80 mL de agua desionizada. Tanto la temperatura (T) como el tiempo de operación (t) del proceso fueron de: 200 y 220 °C; 120 y 180 minutos. Durante cada una de las pruebas la agitación se mantuvo constante a 160 rpm, terminado el tiempo de operación la temperatura se fijó a 60 °C para liberar el gas producido usando una válvula de salida conectada a un eudiómetro de 250 mL. La fase sólida fue separada de la fase líquida con una centrifuga a 2400 rpm por 40 minutos. El hidrolizado se refrigeró mientras que el carbón fue secado a 104 °C por 24 horas para su posterior almacenamiento a temperatura ambiente.



Figura 2.2. Reactor utilizado para las pruebas de carbonización hidrotermal.

2.5.2 Ultrasonido

Para lograr las condiciones que el ultrasonido requiere para su operación se hizo una mezcla de 135 g de sargazo con 500 mL de agua desionizada, resultando en una concentración de 10% ST en la muestra, Figura 2.3 El sargazo se licuó por 10 minutos a 450 W en una licuadora. La mezcla resultante se centrifugó por 30 minutos a 4200 rpm para separar las

fases, posteriormente se dividió en partes iguales, para realizar la prueba de potencial de producción de biogás. Una de las partes licuadas fue sometida a la prueba batch, únicamente con el licuado de la mezcla (Sargazo L), la otra parte que fue sometida a la prueba batch fue la mezcla de sargazo licuada y posteriormente tratada con ultrasonido (Sargazo L + U).



Figura 2.3. Mezcla licuada de sargazo y agua desionizada.

El tratamiento con ultrasonido se realizó con un sonotrodo (Figura 2.4), con una frecuencia de operación máxima de 20kHz, por lo anterior, el ensayo se llevó a cabo a una frecuencia de 20 kHz y 100% de amplitud durante 30 minutos, condiciones bajo las cuales se logró una cavitación gaseosa. La disipación de energía tras las ondas ultrasónicas resultó en un incremento de temperatura hasta 63.7 °C, esto al no haber sido controlada durante el proceso.



Figura 2.4. Equipo utilizado para la realización del ultrasonido.

Para calcular la masa, de sargazo licuado + ultrasonido (S1) y de sargazo licuado (S2), que se debe agregar en las botellas de la prueba batch se utilizaron las Ecuaciones 2.1 y 2.2, las cuales resultan en la cantidad de hidrolizado y sólido requerido con base en los sólidos totales de las muestras.

Ecuación 2.1. Sólidos volátiles necesarios para cada botella batch (Weber et al., 2022).

$$m_x + m_y = 1.96$$

Ecuación 2.2. Relación entre los sólidos volátiles del hidrolizado con los de la fracción sólida (Weber et al., 2022)

$$R = \frac{m_x}{m_y}$$

Donde:

m_x : Sólidos volátiles de hidrolizado necesarios.

m_y : Sólidos volátiles de sólido necesarios.

2.5.3 Potencial Bioquímico de Metano

El potencial bioquímico de metano (BMP) se calcula a través de la producción específica de metano por un tiempo indefinido de degradación (Angelidaki & Sanders, 2004). Para la prueba BMP se utilizó lodo granular anaerobio de un reactor anaerobio de flujo ascendente utilizado en el procesamiento de aguas residuales de una cervecera en Toluca, Estado de México, este tipo de lodo es necesario porque contiene los microorganismos encargados de degradar residuos orgánicos y convertirlos en biogás (Espinosa-Chávez et al., 2007); la muestra de lodo presentó un contenido de $115.2 \pm 2.4 \text{ g}_{\text{ST}} \text{ L}^{-1}$ con una relación de $0.82 \text{ g}_{\text{SV}} \text{ g}_{\text{ST}}^{-1}$. Además de un inóculo adecuado, los microorganismos necesitan diversos componentes para su correcto funcionamiento, el medio mineral utilizado para este fin consistió en las soluciones A y B propuestas por Angelidaki & Sanders (2004), las cuales pueden encontrarse descritas con más detalle en la sección de Anexos, de las cuales se agregaron 10 mL y 2 mL respectivamente de solución por botella; además de 0.8 g NaHCO_3 por botella para evitar la acidificación a lo largo del proceso de digestión.

Una vez seleccionados los sustratos para las pruebas se prepararon frascos de vidrio por triplicado; las botellas de vidrio utilizadas tenían un volumen de trabajo de 370 mL y un volumen total de 500 mL. La mezcla de trabajo consistió inóculo, sustrato, medio basal y agua desionizada (Figura 2.5). La cantidad de inóculo agregado a las pruebas de digestión es muy importante ya que si se agrega mucho inóculo puede llegar a generar más biogás por sí sólo que incluso alguno de los sustratos con los que se esté trabajando, por otro lado, si el inóculo agregado no es suficiente se puede presentar una acidificación del proceso por una sobrecarga de alimentación, por lo anterior y experiencias previas los reactores contienen diversas relaciones entre sustrato e inóculo ($S_0:X_0$) según el material con el cual se esté trabajando, para el hidrolizado de la HTC se ocuparon las relaciones 1:3, 1:4, 1:6 y 1:8; mientras que tanto para la celulosa como para el sargazo se respetó una relación S_0/X_0 de 0.5 (Barragán-Trinidad, 2018); para el caso de los sólidos se trabajó con una concentración inicial de 1.8 g_{SV} , mientras que para los hidrolizados se empezó con una concentración de 1.8 g_{DQO} la cual fue decreciendo para alcanzar las relaciones de S_0/X_0 antes descritas, cada botella fue purgada con nitrógeno e inmediatamente sellada, el desarrollo de la digestión se realizó en una incubadora a 36 °C con agitación constante de 90 rpm, el criterio de terminación del ensayo se basó en una producción diaria de biogás menor a 0.5% (para muestras sólidas) o 1% (para muestras líquidas) de la producción acumulada (Verein Deutscher Ingenieure [VDI], 2016). El biogás fue cuantificado diariamente con ayuda de un eudiómetro del cual se extrajeron muestras de 10 mL para el análisis de su calidad en el espectrofotómetro de infrarrojo.

En una prueba BMP se requiere un control negativo o endógeno, el cual solo contiene el inóculo y el medio mineral, este se agrega con el fin de determinar el biogás producido por la materia orgánica contenida en el inóculo; y un control positivo empleando celulosa en el cual también se mantiene la relación 1:2, se emplea este sustrato pues se puede suponer que llegue a una producción máxima que pueda ser comparada con el valor de producción teórico.



Figura 2.5. Reactores utilizados en la prueba de digestión anaerobia por lote.

2.5.4 Digestión anaerobia con alimentación en continuo

Para esta etapa se utilizó un digestor anaerobio tipo mono etapa con alimentación continua, este reactor de lecho fijo se conforma por dos cilindros de acrílico concéntricos, el cilindro exterior contiene agua en constante recirculación desde un baño térmico a 36 °C funcionando como camisa térmica para mantener la temperatura del proceso a condiciones mesofílicas, el cilindro interior es el contenedor en el cual se realiza la digestión anaerobia, al ser un digestor de lecho fijo no acepta alimentación sólida por lo que en este cilindro fueron agregadas bioesferas para que los microorganismos responsables de la digestión anaerobia se adhirieran a las mismas y no sean arrastrados con el digestato cuando el reactor sea alimentado. El digestor tiene un volumen de operación de 620 mL y cuenta con una agitación magnética constante en la base del cilindro, en la parte inferior del biodigestor, atravesando la camisa térmica hasta el cilindro interior, se encuentra la manguera encargada de la alimentación; en la parte superior siguiendo el mismo patrón se encuentra otra manguera, esta es para el efluente o digestato, la cual forma una especie de codo lo que genera una contrapresión que evita que el biogás generado se escape y en su lugar se dirija a la manguera de cuantificación conectada a un cuantificador de flujo. En la tapa del digestor se tienen dos orificios, uno de ellos para el sensor de pH y el otro para la manguera conectada al medidor de volumen de biogás producido. El proceso seguido por la digestión anaerobia con alimentación continua descrita se puede apreciar en la Figura 2.6.

El digestor se llenó con una mezcla (v/v) 30% agua y 70% digestato el cual se extrajo del digestor del laboratorio de ISES de la Facultad de Ingeniería de la UAEMex, este reactor es alimentado diariamente con bagazo de malta sin tratamiento previo más que un secado para evitar contaminación microbiana.

Para lograr una alimentación continua se utilizó un controlador, conectado al motor de bomba de velocidad variable.



Figura 2.6. Proceso de digestión anaerobia con alimentación en continuo.

Para iniciar la operación del biodigestor se utilizó el hidrolizado proveniente de la explosión de vapor del bagazo de agave y bagazo de malta trabajado por Ayala-Mercado (2021); en esta investigación se decidió trabajar con un reactor con alimentación en continuo, con un tiempo de retención hidráulica de 11 días y 22 horas, para adaptar a los microorganismos a condiciones específicas, para este caso particular se busca su adaptación al hidrolizado del tratamiento de HTC, por lo que se trabajó con una codigestión entre el hidrolizado de la explosión de vapor y el hidrolizado de la carbonización hidrotermal donde gradualmente se reemplace el segundo por el primero hasta el máximo, límite que se dará con la producción de biogás diaria. Se decidió utilizar el hidrolizado del bagazo de agave proveniente de un tratamiento de explosión de vapor ya que con base en el experimento antes mencionado se sabe que este sustrato presenta una buena biodegradabilidad.

2.6 Métodos analíticos

2.6.1 Determinación del pH.

El pH fue medido para los ejemplares resultantes de los pretratamientos y para la alimentación y digestato de las dos pruebas de digestión anaerobia corridas. Para la prueba batch los valores iniciales de pH fueron fijados en 7.5 ± 0.1 , por otro lado, los valores medidos al final de la prueba fueron de 6.8 ± 0.1 . Los valores de pH de la digestión en continuo fueron variables a lo largo de todo el periodo de trabajo, estos se abordan en el apartado correspondiente.

2.6.2 Sólidos Totales y Sólidos Volátiles.

Para determinar la cantidad de sólidos totales (ST) y volátiles (SV), procedimiento que se hizo con base en la norma mexicana NMX-AA-034-SCFI-2015, primero los crisoles se fijaron a peso constante (P_c). Dado que se tienen diferentes masas según la muestra con la que se esté trabajando estas son etiquetadas y anotadas (P_m), una vez conocida la masa tanto del crisol como de la muestra esta se coloca en un horno y se somete a una temperatura de 105 ± 1 °C hasta peso constante (P_1). Posteriormente, las muestras secas se someten a una incineración dentro de una mufla a 550 °C por aproximadamente dos horas (P_2). Para el registro previo y posterior a cada etapa se utilizó una balanza analítica. Se usaron las Ecuaciones 2.3 y 2.4 para conocer los sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) de las muestras.

Ecuación 2.3. Sólidos Totales contenido en una muestra.

$$ST = \frac{P_1 - P_c}{P_m}$$

Ecuación 2.4. Sólidos volátiles contenidos en una muestra.

$$SV = \frac{P_1 - P_2}{P_m}$$

Otro de los parámetros que se determinó fue la relación SV/ST, la cual representa una estimación de la materia orgánica digerible dentro del sustrato analizado. La medición de los

sólidos totales y sólidos volátiles contenidos en una muestra también permite conocer el porcentaje de humedad (%H) dentro de dicha muestra, de acuerdo con la Ecuación 2.5.

Ecuación 2.5. Porcentaje de humedad en una muestra.

$$\%H = (1 - ST) * 100$$

2.6.3 Demanda Química de Oxígeno

La Demanda Química de Oxígeno (DQO), cuantifica el oxígeno que la materia orgánica contenida en una muestra líquida requiere para ser oxidada bajo condiciones ácidas en presencia de dicromato de potasio (SE, 2010). Para determinar la DQO las muestras deben ser centrifugadas y filtradas (con un filtro de 0.45µm) para remover los sólidos suspendidos, después son diluidas con agua desmineralizada para ajustar el contenido de DQO dentro de un intervalo de 20-1500 mg_{DQO} L⁻¹, se agregan 2 mL de las muestras diluidas a un vial con una solución preparada, los viales se someten a una temperatura de 150 °C por 2 horas en un reactor, transcurrido el tiempo de operación las muestras se dejan reposar hasta alcanzar la temperatura ambiente, posteriormente se miden con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 420 nm, antes de todas las mediciones se debe calibrar el equipo con una “muestra cero” preparada con 2 mL de agua desionizada y siguiendo el mismo procedimiento que anteriormente fue descrito.

2.6.4 Azúcares Totales

La cuantificación de azúcares contenidos en las muestras tratadas se realizó con base en el método fenol-sulfúrico (DuBois et al., 1956) el cual es ampliamente utilizado por ser más preciso y rápido que los métodos de cuantificación que le preceden. La mezcla se preparó en viales de vidrio donde fueron agregados 1 mL de muestra, 1 mL de fenol al 5% (p/v) y 5 mL de H₂SO₄ concentrado, cada vial fue etiquetado y cerrado para posteriormente ser agitado y dejarse reposar durante 20 minutos o hasta llegar a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo se utilizó un espectrofotómetro previamente fijado a una longitud de onda de 490 nm en el cual se midió la absorbancia de cada muestra. Para establecer la cantidad de azúcares totales se requiere una curva de calibración, la Gráfica 1 se presenta en el apartado de anexos.

2.6.5 Ácidos Grasos Volátiles

A pesar de que los ácidos grasos volátiles (AGVs) son el precursor principal en la metanogénesis una acumulación de estos subproductos puede resultar en la acidificación del digestor causando que la DA fracase (Al-Sulaimi et al., 2022).

La determinación de AGVs en las muestras se realizó con base en el ácido acético al ser el compuesto predominante; una muestra de 5 mL se sometió a destilación, además se agregaron 5 mL de H₃PO₄, en la salida del destilador se colocó un matraz Erlenmeyer con agua desionizada para prevenir las pérdidas por evaporación, después de 5 minutos de proceso, se agregaron 3 gotas de fenolftaleína para posteriormente ser titulado con una solución de NaOH a 0.1 mol mediante la Ecuación 2.6.

Ecuación 2.6. Contenido de ácidos grasos volátiles en una muestra.

$$AGVs \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{\left(60.052 \frac{g}{mol} \right) \left(0.1 \frac{mol}{L} \right) (\Delta V_{NaOH} \text{ mL})}{V_m \text{ mL}}$$

Con:

60.052 = Masa molar de CH₃COOH.

0.1 = Concentración de la solución NaOH.

ΔV_{NaOH} = Volumen utilizado para titular la muestra.

V_m = Volumen de la muestra analizada (5 mL).

2.6.6 Composición del biogás

La constitución del biogás se determinó con ayuda de un espectrofotómetro de infrarrojo. Para ello, en la celda de gas (con un volumen total de 65 mL) se inyectó una muestra de 10 mL del biogás producido, posterior a cada análisis la celda fue purgada con una bomba de vacío por 30 segundos. Al ser un equipo en constante uso es necesario hacer curvas de calibración de las cuales se obtienen las ecuaciones necesarias para conocer la concentración de los compuestos, las Gráficas 2 y 3, correspondientes al metano y dióxido de carbono respectivamente, se muestran en el apartado de anexos.

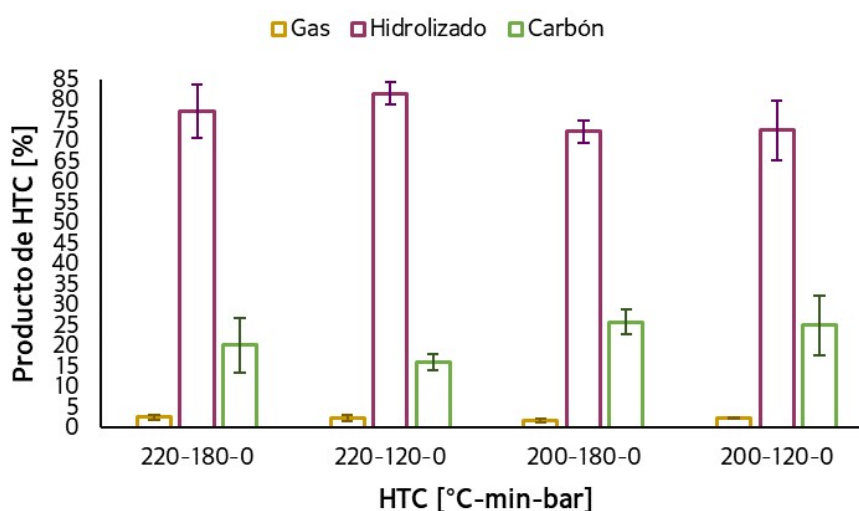
Capítulo III: Resultados y análisis

En este capítulo se muestran los resultados obtenidos en cada uno de los pretratamientos, así como el comportamiento de la digestión anaerobia tanto en la prueba con alimentación en continuo como en la prueba por lote.

3.1 Aplicación de la Carbonización Hidrotermal

Para la aplicación de la carbonización hidrotermal al bagazo de agave se usaron cuatro condiciones distintas, a continuación, se presentan el análisis de cada una. Las etiquetas para cada condición consisten en temperatura, tiempo y presión a la que fue fijada la prueba ($^{\circ}\text{C}$ -min-bar).

La Gráfica 3.1 muestra el porcentaje de los productos obtenidos a partir de la carbonización hidrotermal; se puede apreciar que el hidrolizado fue el producto que se obtuvo en mayor cantidad para todas las condiciones, seguido por el carbón y también se observa una producción de gas casi despreciable. Los porcentajes de cada uno de ellos están contenidos en la Tabla 2 de la sección de anexos.



Gráfica 3.1. Productos obtenidos derivados de la carbonización hidrotermal aplicada al bagazo de agave.

La Tabla 3.1 corresponde a la cantidad de productos obtenidos al final de la carbonización hidrotermal al ser cuantificados y analizados después de su separación, lo que se observó de

manera general es que a menor tiempo de operación y mayor temperatura se produce un mayor volumen de hidrolizado, 73.5 ± 1.5 mL, mientras que menor temperatura y mayor tiempo de operación, se obtiene una mayor cantidad de carbón seco, 4.43 ± 0.37 gramos. En la Tabla 3.1, también se puede observar que para todas las condiciones se obtienen valores bajos de pH, de 3.9 ± 0.1 , esto es causado por el alto contenido de ácidos grasos volátiles en los hidrolizados (Wirth et al., 2012). Además, que a condiciones menos severas (200-120-0) se obtiene mayor cantidad de material digerible, ya que presentó un 7% más DQO que en el hidrolizado de la condición 220-180-0.

Tabla 3.1. Caracterización del carbón seco e hidrolizado recuperados de los tratamientos de HTC.

| | Unidades | 220-180-0 | 220-120-0 | 200-180-0 | 200-120-0 |
|-------------|-------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Pérdidas | [g] | 1.91 ± 1.40 | 1.09 ± 0.72 | 2.43 ± 0.60 | 2.38 ± 0.19 |
| Carbón | [g] | 3.62 ± 0.16 | 3.57 ± 0.04 | 4.43 ± 0.37 | 4.35 ± 0.03 |
| Hidrolizado | [mL] | 70.0 ± 5.05 | 73.5 ± 1.5 | 62.6 ± 0.69 | 68.02 ± 0.29 |
| pH | [-] | 3.87 ± 0.16 | 3.78 ± 0.05 | 4.03 ± 0.04 | 3.77 ± 0.25 |
| DQO | [g _{DQO} L ⁻¹] | 38.46 ± 0.78 | 40.92 ± 1.48 | 40.42 ± 1.94 | 41.17 ± 1.01 |

La cantidad de DQO alcanzada en el presente trabajo coincide con lo obtenido por Merzari et al. (2019) donde se recopilan diversos trabajos que utilizan la carbonización hidrotermal aplicada a diferentes sustratos siendo los lodos de depuradora los más investigados; las concentraciones van desde los 10 g_{DQO} L⁻¹ cuando se tenían condiciones de operación con temperaturas de 250 °C por 20 horas hasta los 64 g_{DQO} L⁻¹ cuando se tenían condiciones de operación de 200 °C por 20 minutos.

3.2 Aplicación del Ultrasonido

La Tabla 3.2 muestra las propiedades fisicoquímicas obtenidas para las muestras de Sargazo L y Sargazo L + U. Para obtener la cuantificación de sólidos y materia orgánica para las

muestras de sargazo, se realizaron pruebas de sólidos por separado, entre sólido y líquido de cada muestra.

Tabla 3.2. Características presentadas por la parte sólida (1) y líquida (2) del sargazo únicamente licuado (Sargazo L) y el sargazo licuado y posteriormente sometido a un tratamiento de ultrasonido (Sargazo L + U).

| | pH | T [°C] | ST [g L ⁻¹] | Materia orgánica [%] | DQO [g L ⁻¹] | AGV [g L ⁻¹] |
|----------------------------|-----------|------------------|-----------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Sargazo L + U ¹ | 8.20 | 63.7 | 0.166 ± 0.0011 | 77.1 ± 0.11 | - | 0.62 ± 0.05 |
| Sargazo L + U ² | | | 0.011 ± 0.0005 | 24.8 ± 2.03 | 3.46 ± 0.09 | |
| Sargazo L ¹ | 7.33 | 18.5 | 0.167 ± 0.0019 | 77.0 ± 0.07 | - | 0.69 ± 0.09 |
| Sargazo L ² | | | 0.009 ± 0.0002 | 19.8 ± 2.02 | 6.11 ± 0.22 | |

En la Tabla 3.2, se puede observar que para la muestra de Sargazo L + U aumentó el pH comparado a la muestra de Sargazo L, de 7.3 a 8.2, en cuanto al contenido de sólidos totales y materia orgánica disponible fue prácticamente la misma para ambos tratamientos en la parte sólida, mientras que para la líquida el Sargazo L + U contiene un 20% más de materia orgánica comparado al Sargazo L. Finalmente, en cuanto a la DQO, el Sargazo L contenía aproximadamente el 77% más DQO que el Sargazo L + U, presentando valores de 6.1 ± 0.2 y 3.5 ± 0.1 respectivamente.

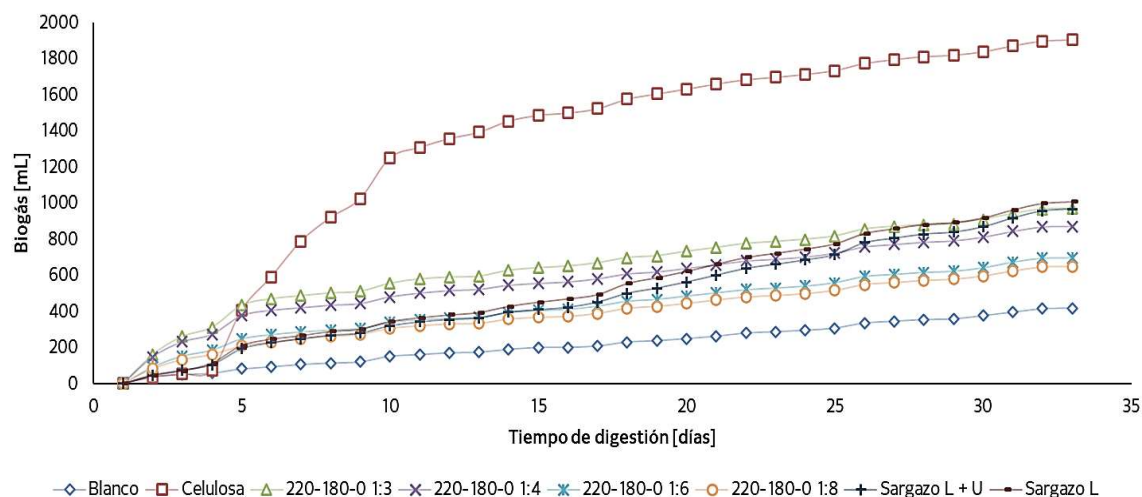
3.3 Potencial bioquímico de metano

A partir la prueba BMP se exponen los siguientes resultados, donde se obtuvieron las producciones de biogás del bagazo de agave y del sargazo sometidos a carbonización hidrotermal y ultrasonido respectivamente.

En la Gráfica 3.2, se muestra el volumen de biogás crudo obtenido, en mL, en función del tiempo de digestión, medido en días; entendiendo como biogás crudo a la producción total de biogás producido por el inóculo y el sustrato en conjunto. El control positivo, o celulosa,

y el control negativo, o endógeno, fueron los digestores anaerobios con la mayor y menor producción de toda la prueba, con valores de 1904 ± 164 mL de biogás para la celulosa y 418 ± 2 mL de biogás para el endógeno.

Entre los sustratos de interés que fueron analizados el digestor anaerobio alimentado con sargazo licuado fue el sustrato que tuvo la mayor producción, con un volumen total de 1008 ± 83 mL de biogás, seguido de la carbonización hidrotérmal 1:3, con 969 ± 21 mL de biogás producido, y del Sargazo L + U, que produjo 968 ± 28 mL de biogás; la carbonización hidrotérmal 1:8 fue la condición con la menor producción de biogás a lo largo de la prueba, 648 ± 9 mL de biogás. Como dato adicional, la carbonización hidrotérmal 1:4 produjo 872 ± 52 mL de biogás y la carbonización hidrotérmal 1:6 produjo 696 ± 12 mL de biogás crudo.

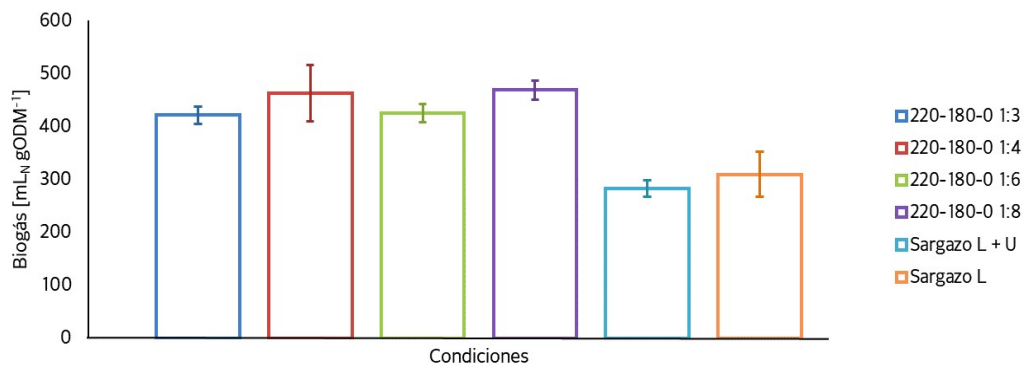


Gráfica 3.2. Producción acumulada de biogás crudo a lo largo de la prueba batch de biometanización.

De acuerdo con lo anterior, también se determinó la producción específica de biogás, es decir, el biogás producido por el sustrato menos el biogás producido por el inóculo, esta producción a su vez debe ser dividida entre la cantidad de materia orgánica, $1.8 \text{ g}_{\text{ST}}$ para el Sargazo L + U y para el Sargazo L o de 1.2 a $0.45 \text{ g}_{\text{DQO}}$ para el hidrolizado HTC, que fue agregada en cada ensayo.

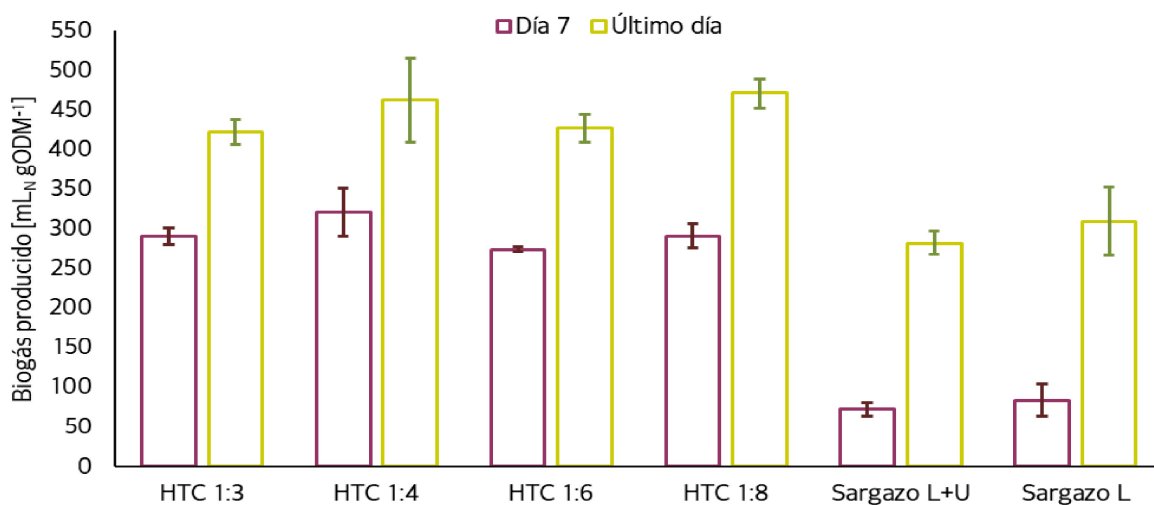
En la Gráfica 3.3, se muestra la producción específica de biogás en función del sustrato con el cual se haya alimentado el digestor anaerobio en cuestión; siendo la condición HTC 1:8 la que mayor volumen generó con 469 ± 19 mL de biogás, seguido por HTC 1:4 con 463 ± 53

mL de biogás, HTC 1:6 con 425 ± 18 mL de biogás y HTC 1:3 con 421 ± 16 mL de biogás; por otro lado, las condiciones que menor volumen produjeron fueron las cuales el sustrato principal fue el sargazo, el Sargazo L produjo un total de 309 ± 43 mL de biogás, mientras que el Sargazo L + U fue la condición que menor volumen de biogás consiguió producir de toda la prueba, 283 ± 15 mL de biogás. La Gráfica 3.3 también muestra la estabilidad en la producción de cada digester anaerobio representado con la desviación estándar generada entre las repeticiones de cada prueba.



Gráfica 3.3. Producción específica de biogás.

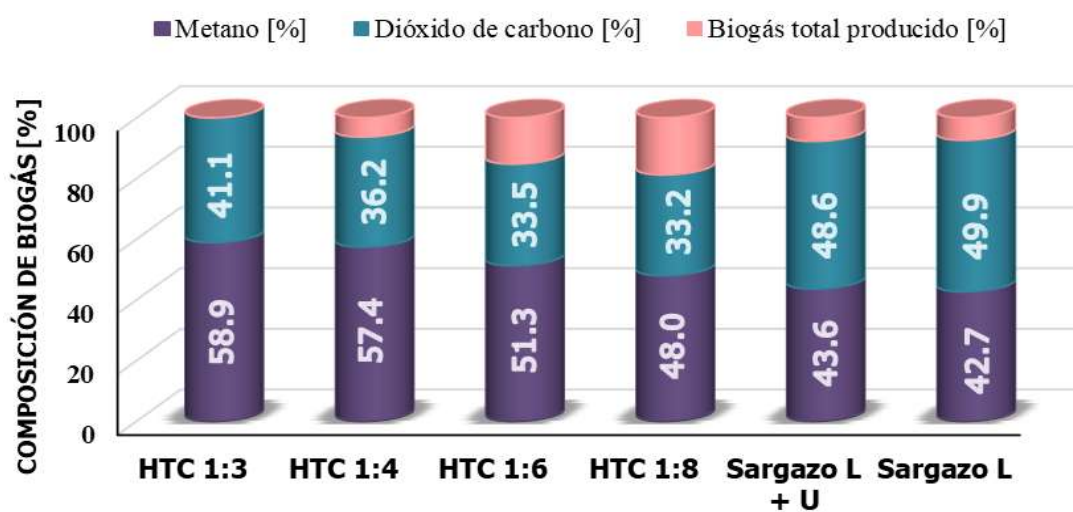
Como se ha mencionado, la digestión anaerobia depende en gran medida de la hidrólisis de los sustratos, por lo que es de interés determinar qué tipo de sustratos son más sencillos de hidrolizar, por ejemplo, en las muestras líquidas, la digestión sucede de forma más rápida comparada con sustratos con mayor contenido de sólidos donde la velocidad de producción de biogás es más lenta. Lo anterior se manifiesta en la Gráfica 3.4, donde se compara la producción específica de biogás del séptimo día con el último día de la prueba en función del sustrato sometido a la digestión. Se puede observar que los digestores anaerobios alimentados con hidrolizado de la HTC tuvieron el mayor porcentaje de digestión al séptimo día, que fue de 61 a 68 % de la producción total, mientras que los sustratos que eran una mezcla entre líquido y sólido, como lo son las condiciones del sargazo, tuvieron una producción entre 25 y 27 % de la producción total para el séptimo día.



Gráfica 3.4. Producción específica de biogás del séptimo día comparado al último día de la prueba.

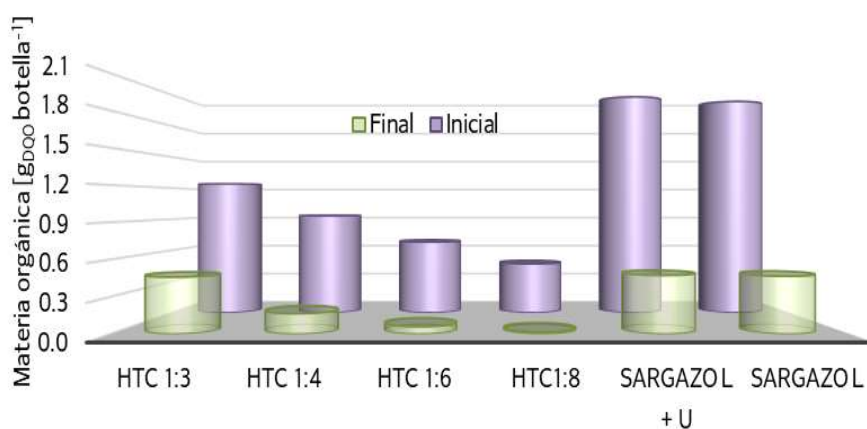
En cuanto a la composición del biogás, que se muestra en la Gráfica 3.5, la HTC 1:3 fue el sustrato que ostentó la mejor calidad, con 59% CH₄ y 41% CO₂, mientras que el Sargazo L tuvo una de las calidades más pobres pues la composición del biogás obtenido fue de 43% CH₄ y 50% CO₂.

Una vez que se conocen los resultados se puede concluir que en la digestión anaerobia alimentada con el hidrolizado de carbonización hidrotermal generó mayor concentración de metano, $57 \pm 4\%$ CH₄, que el sargazo, ya sea Sargazo L + U o Sargazo L, $51 \pm 1\%$ CH₄.



Gráfica 3.5. Porcentaje de metano y dióxido de carbono en cada condición

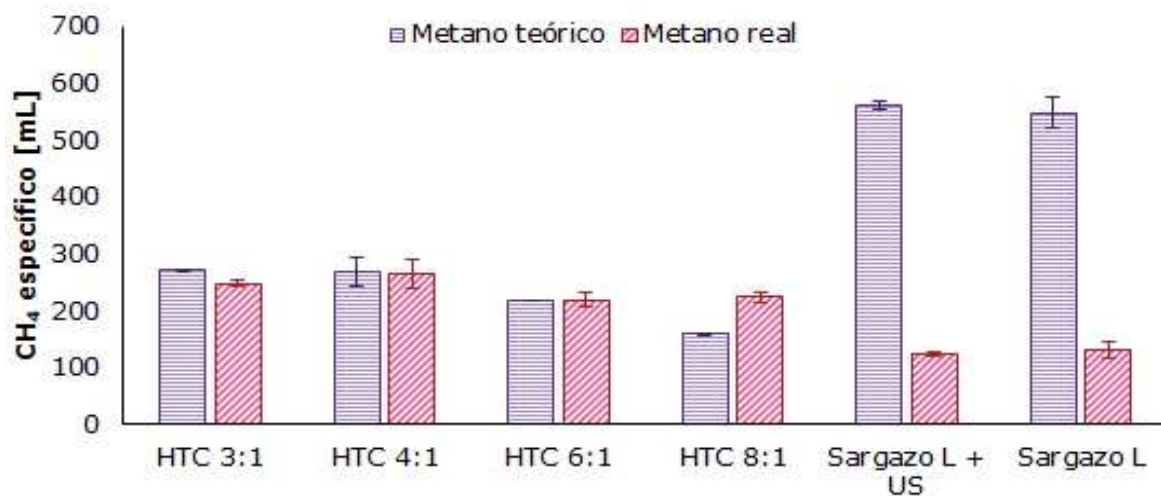
La Gráfica 3.6 corresponde a la materia orgánica digerida a lo largo de la prueba de biometanización, es decir, $g_{DQO} \text{ botella}^{-1}$ en función del sustrato sometido a digestión. Para poder visualizar mejor una comparación entre la materia orgánica agregada menos la materia orgánica total al final de la prueba los datos fueron expresados en g_{DQO} . Para este fin se usó la relación de Rosato (2018) donde $g_{DQO} = 1.0666 * g_{SV}$, aquí también se menciona que por 1 g_{DQO} se obtienen aproximadamente 350 mL de metano.



Gráfica 3.6. Materia orgánica digerida a lo largo de la prueba de biometanización.

En la Gráfica 3.6 también se puede observar una mayor reducción de DQO en los digestores anaerobios alimentados con HTC, desde 82 a 96%, siendo una excepción la condición HTC 1:3 que sólo alcanzó una reducción de DQO de 63%. Por otro lado, tanto el Sargazo L como el Sargazo L + U tuvieron reducciones de 77%.

De los resultados obtenidos de las Gráficas 3.5 y 3.6, fue posible calcular el metano teórico esperado, esto con base en la reducción de DQO, en la concentración de metano y en la relación de Rosato (2018). En la Gráfica 3.7, se muestra el metano que fue producido de manera real comparado con el metano que se esperaba de acuerdo con lo calculado.



Gráfica 3.7. Metano real producido comparado al teórico calculado.

En la Gráfica 3.7 se aprecia la baja producción de metano tanto del Sargazo L + U como del Sargazo L respecto a lo que se calculaba obtener; también se demuestra que a pesar de que el hidrolizado de la carbonización hidrotermal contiene compuestos que ya se han descritos como inhibidores para la digestión anaerobia (Maniscalco et al., 2020) tuvo una buena producción de metano, esto viéndose reflejado en que la HTC 1:3 alcanzó 91% de la producción teórica esperada, la HTC 1:4 un 99%, la HTC 1:6 el 100% y el HTC 1:8 lo superó en un 40%, mientras que el Sargazo L + U sólo produjo 22% de lo teórico que se había calculado y el Sargazo L no mucho más, un 24%.

3.4 Digestión anaerobia con alimentación en continuo.

La puesta en marcha del reactor anaerobio con alimentación en (CSTR por sus siglas en inglés) fue con el hidrolizado proveniente de la explosión de vapor (SE) aplicado al bagazo de malta ya que este sustrato ha llegado a producir $549 \text{ NmL g}^{-1} \text{ DQO}$ (Ayala-Mercado, 2021), para el tratamiento de SE el sustrato se sometió a una presión de 6 bar por 24 minutos donde tuvieron lugar 3 expansiones. En el arranque de este reactor los ácidos grasos volátiles se mantuvieron debajo de 2 g L^{-1} , que es el límite que se considera como un parámetro no inhibidor (Appels et al., 2008), los valores de AGVs manejados fueron de 1.4 ± 0.9 , pero el

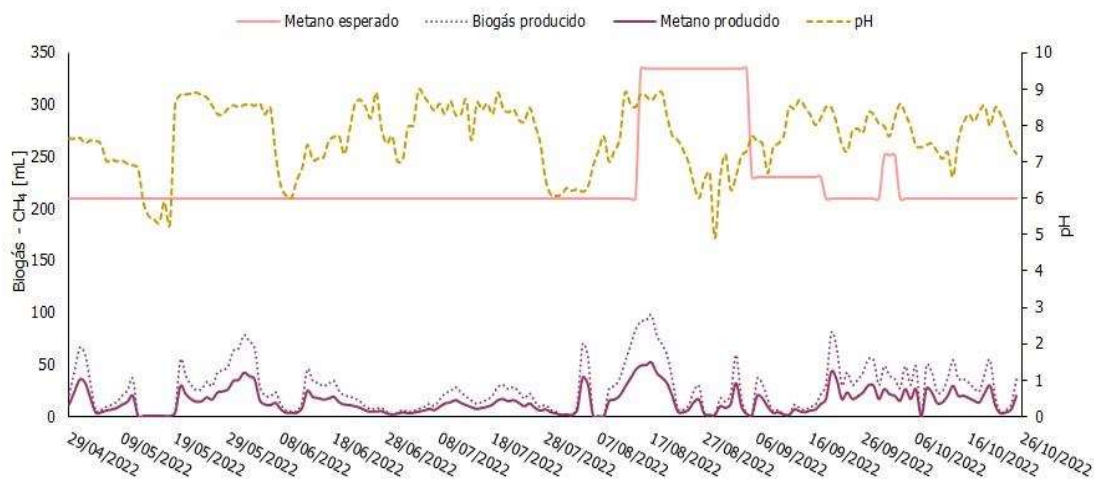
pH estuvo en constante fluctuación pasando de valores de 4.9 en un día a 7.2 al día siguiente, además de no tener una producción alta o siquiera constante del biogás.

Las características tanto del hidrolizado de la explosión de vapor como del hidrolizado de la carbonización hidrotermal con los cuales se alimentó el reactor se pueden encontrar en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Características de los sustratos utilizados para alimentar el reactor anaerobio con alimentación en continuo.

| | Unidades | Bagazo de malta | Bagazo de agave |
|----------------------------|--|------------------------|---------------------------|
| Tratamiento | | Explosión de vapor | Carbonización hidrotermal |
| pH | | 3.9 ± 0.1 | 3.8 ± 0.3 |
| Sólidos Totales | [g _{ST} L ⁻¹] | 0.1 ± 0.01 | 0.02 ± 0.002 |
| Materia Orgánica | [%] | 98.7 ± 0.2 | 74.8 ± 7.1 |
| Demanda Química de Oxígeno | [g _{DQO} L ⁻¹] | 78.1 ± 15.6 | 42 ± 2.04 |
| Azúcares Totales | [g C ₆ H ₁₂ O ₆ L ⁻¹] | 38.4 ± 5.9 | 0.48 ± 0.20 |
| Ácidos Grasos Volátiles | [g CH ₃ COOH L ⁻¹] | 0.42 ± 0.1 | 10 ± 0.5 |

Como ya se mencionó, la primera etapa de alimentación se realizó con el hidrolizado de la explosión de vapor al que fue sometido el bagazo de malta, cabe destacar que dicho bagazo es el mismo con el que se alimenta el reactor anaerobio del cual fue extraído el inóculo para la puesta en marcha de este experimento.

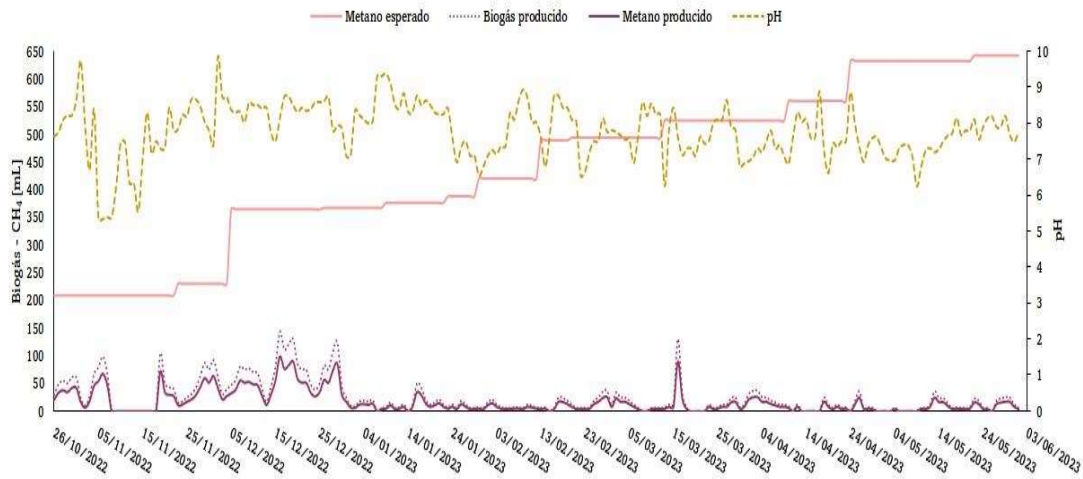


Gráfica 3.8. Comportamiento del digestor anaerobio alimentado con 100% hidrolizado de bagazo de malta sometido a explosión de vapor.

En la Gráfica 3.8 se aprecia el comportamiento diario del reactor anaerobio con alimentación en continuo. Al ser los primeros días de operación se tuvieron valores de AGVs un poco altos, pero fueron normalizados a valores óptimos para el proceso en 21 días, además de esto, las reducciones de DQO promedio fueron de $45 \pm 13\%$. Las mediciones de ácidos grasos volátiles promedio fueron de $1.4 \pm 0.9 \text{ g CH}_3\text{COOH L}^{-1}$ con un valor máximo de $3.2 \text{ g CH}_3\text{COOH L}^{-1}$ y un valor mínimo de $0.06 \text{ g CH}_3\text{COOH L}^{-1}$. Por otra parte, como se había mencionado anteriormente, los valores de pH tuvieron fluctuaciones más constantes siendo predominantes las lecturas de muestras con valores de 8 llegando hasta 8.9.

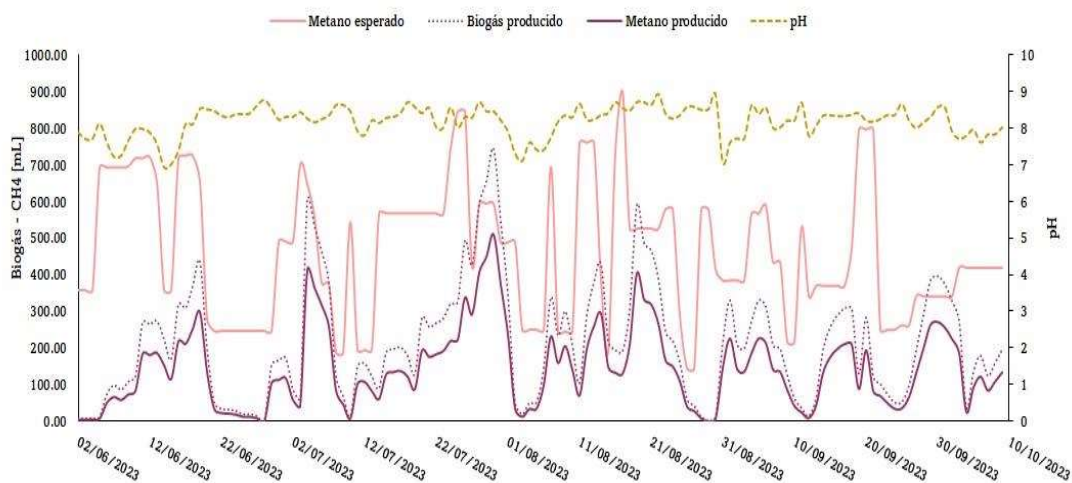
A partir de la línea discontinua violeta, que representa el biogás producido, y del contenido de metano registrado para este periodo de alimentación; $52\% \text{ CH}_4$, se calculó el metano producido durante los días de operación, este valor fue comparado con el metano teórico resultando en producciones muy bajas respecto a las esperadas alcanzando un máximo de 21% del 100% calculado. La carga orgánica que era suministrada se calculaba de acuerdo con las mediciones de AGVs; mientras que el TRH se mantuvo constante a lo largo de todo el proceso, 12 días, la alimentación en función de la DQO se reducía si la concentración de AGVs superaba $1 \text{ g CH}_3\text{COOH L}^{-1}$. Ejemplo de lo anterior fue registrado para los primeros días de operación del reactor donde las mediciones de AGVs oscilaban entre 2.2 y $3.2 \text{ g CH}_3\text{COOH L}^{-1}$, por ello, la carga orgánica suministrada consistía en $12 \text{ g}_{\text{DQO}} \text{ L}^{-1}$, una vez que

los microorganismos fueron capaces adaptarse mejor, viéndose reflejado en mediciones de AGVs de 0.97 - 1.6 g CH₃COOH L⁻¹, la carga orgánica suministrada alcanzó 19 g_{DQO} L⁻¹.



Gráfica 3.9. Comportamiento del digestor anaerobio alimentado con una combinación entre el hidrolizado de explosión de vapor y el de carbonización hidrotermal.

La Gráfica 3.9 representa el comportamiento del reactor anaerobio en la segunda etapa, en esta fase se empezó a cambiar la alimentación, se probaron varias combinaciones entre los hidrolizados de SE y HTC para descubrir tanto el volumen óptimo de cada uno como el máximo volumen que podría ser agregado del hidrolizado de la carbonización hidrotermal; gracias a las bajas concentraciones de ácidos grasos volátiles (con un valor máximo de 2.1 g CH₃COOH L⁻¹, un valor mínimo de 0.1 g CH₃COOH L⁻¹ y un promedio de 0.7 ± 0.5 g CH₃COOH L⁻¹) el suministro de carga orgánica pudo ser aumentado hasta 1.84 g DQO por día, a pesar de esto el pH siguió en una constante fluctuación entre 9.8 y 5.3. Nuevamente el volumen de metano producido fue muy bajo comparado al que se esperaba de acuerdo con la DQO agregada, teniendo una máxima producción cuando la alimentación consistió en 75% SE + 25% HTC (v/v) donde se alcanzó un 33% del 100% calculado; pero lo que si se pudo apreciar fue una mejora en la calidad de biogás alcanzando hasta 65% de CH₄.



Gráfica 3.10. Comportamiento del digestor anaerobio alimentado con una combinación entre una cerveza comercial y el hidrolizado de la carbonización hidrotermal.

La tercera etapa en la que funcionó el digestor anaerobio con alimentación en continuo consistió en la adición de una cerveza comercial, con una DQO de 124.4 g L^{-1} , en combinación con el hidrolizado de la carbonización hidrotermal, la decisión de utilizar esta nueva alimentación se dio por la incapacidad del reactor de producir un volumen constante de biogás, se optó por la cerveza comercial por su alto contenido de nutrientes y la ventaja que esto representaba para los microorganismos de la biomasa. En la Gráfica 3.10 se muestra una mejora en la producción de biogás desde el inicio de este cambio, además que el incremento en el volumen de HTC agregado pudo ser de forma más rápida en comparación de como se había estado agregando cuando se trabajó una codigestión con el hidrolizado de SE; la reducción de DQO para esta etapa osciló entre $92 \pm 1\%$. En cuanto al biogás generado, se aprecian producciones por encima del 75% (de un 100% teórico), con un promedio de $79 \pm 4\%$, cuando el volumen de cerveza agregado era de $83 \pm 5\%$, por consiguiente, el volumen de HTC agregado era de 17 ± 5 ; es importante decir que la producción máxima de metano se dio en el periodo cuando la mezcla (v/v) entre cerveza y HTC era $88 \pm 1\%$ y $12 \pm 1\%$ respectivamente, donde la producción real de metano fue de 86% del 100% que en un principio fue calculado. Por otra parte, cuando se trataba con concentraciones de HTC de $58 \pm 10\%$ se obtuvieron resultados a favor en cuanto a la producción de metano llegando a $46 \pm 16\%$ de un 100% calculado. En esta fase la concentración de metano en el biogás producido alcanzó 69%. Igualmente, en la gráfica antes referida se despliegan los valores de pH medidos en el transcurso de la prueba, se aprecia que este parámetro estuvo más estable, pero

con mayores valores alcalinos, siendo 6.92 el pH mínimo que se registró y 8.92 el valor máximo, a pesar de ser datos que se alejan de los óptimos reportados por la literatura se ha comprobado, en la práctica, que los microorganismos pueden seguir trabajando sin inhibirse a un valor alto de pH, lo anterior concuerda con lo reportado por Lorenzo-Acosta & Obaya-Abreu (2005) quienes manejaban rangos de pH de 8.2 a 8.4 en sus pruebas de digestión anaerobia. A pesar de que estos valores no concuerdan con los valores que la literatura marca como los óptimos para la digestión anaerobia no se apreció alguna inhibición relacionada con los valores altos, más bien los valles tan pronunciados que se aprecian en el plano corresponden a problemas de medición relacionados a cortes de electricidad. Un dato adicional es que la concentración de AGVs se mantuvo dentro de los parámetros óptimos con valores promedio de 1.45 ± 0.34 g $\text{CH}_3\text{COOH L}^{-1}$, valores máximos de 1.97 g $\text{CH}_3\text{COOH L}^{-1}$ y valores mínimos de 0.75 g $\text{CH}_3\text{COOH L}^{-1}$; esto cuando se tenían TRH de 12 días con adición de carga orgánica de 25 g_{DQO} L^{-1} .

Capítulo IV

Conclusiones

El objetivo del trabajo fue conocer la eficiencia de conversión del bagazo de agave pretratado con carbonización hidrotermal y del sargazo pretratado con ultrasonido a biogás. Se demostró que la transferencia de biomasa hacia la fase líquida, cuantificada como la DQO soluble, es mayor para el bagazo de agave sometido a carbonización hidrotermal, $38.46 \pm 0.78 \text{ g}_{\text{DQO}} \text{ L}^{-1}$, que, para el sargazo sometido a ultrasonido, $3.46 \pm 0.09 \text{ g}_{\text{DQO}} \text{ L}^{-1}$. No obstante, debido a que la biodegradabilidad de la biomasa está en función de la concentración de monómeros para la cadena trófica de los microorganismos y de la presencia de inhibidores, fue necesario analizarla a través de ensayos biológicos, en específico una prueba de potencial bioquímico de metano, resultando en mayores remociones para el bagazo de agave pretratado con carbonización hidrotermal, de hasta $96.3 \pm 0.5\%$, que para el sargazo pretratado con ultrasonido, $77.2 \pm 0.7\%$, lo que muestra la viabilidad de la aplicación de pretratamientos y la factibilidad de emplear los procesos a una mayor escala.

La metodología empleada en la carbonización hidrotermal se considera una mejora, debido a que, al contrario de la mayoría del proceso seguido dentro de otros trabajos, se cuantifica y caracteriza el gas de reacción al término del tratamiento de carbonización hidrotermal, lo que permite establecer balances de masas del proceso de manera más completa.

Por medio del balance global, que toma en cuenta la fase líquida y sólida resultantes del tratamiento de ultrasonido, se pudo conocer la eficiencia de conversión del sargazo tratado con ultrasonido a biogás, sorprendentemente el sargazo tratado resultó en una conversión de materia a biogás 9% menor que el sargazo sin tratamiento previo; lo anterior no concuerda con la literatura, ya que a pesar de haber trabajado con otras condiciones y sustratos se han reportado mejoras en la bioconversión cuando se utiliza el tratamiento de ultrasonido, por ejemplo, Joshi y Gogate (2019) presentaron datos sobre un tratamiento de ultrasonido aplicado a residuos de comida, las condiciones del tratamiento fueron 20 kHz de frecuencia con una potencia de 500 W y por un tiempo de operación de 30 minutos; los resultados reportados fueron un incremento de la DQO de 159% en comparación al sustrato sin

tratamiento. Así, se puede apreciar que la aplicación de ultrasonido al sargazo es un ámbito poco estudiado por lo que este trabajo contribuye con un conocimiento valioso.

Este estudio también pretendía dar seguimiento a los experimentos realizados durante mis estudios de licenciatura sobre la conversión del hidrolizado derivado de la carbonización hidrotermal a biogás; anteriormente el resultado obtenido de la prueba de biometanización de estos sustratos fue poco satisfactorio por lo que se propuso una mejora al adaptar la biomasa encargada de la digestión anaerobia en un biorreactor de operación en continuo. En la operación del reactor con alimentación en continuo se utilizaron tanto el hidrolizado proveniente de la carbonización hidrotermal como el hidrolizado proveniente de la explosión de vapor, concluyendo que una combinación entre los hidrolizados antes mencionados no es apropiada para un digestor monoetapa. Por otro lado, la codigestión con un sustrato derivado del procesamiento de la malta resultó satisfactorio llegando a agregar hasta un 58% (v/v) del hidrolizado de HTC. Se sabe, gracias a este estudio, que en la práctica se tendrá que considerar alguna alternativa para el sustrato derivado del procesamiento de la malta que además de tener buena digestibilidad el uso de este represente un beneficio para el ambiente, como por ejemplo las aguas residuales.

Propuestas

Se recomienda correr los experimentos de ultrasonido con una variación de parámetros más amplia y con un apoyo analítico más fundamentado; además, profundizar en el estudio de los consorcios microbianos involucrados en la digestión anaerobia, esto para tener la posibilidad de explicar mejor los fenómenos observados a lo largo del monitoreo del digestor.

Referencias

- Abhilash, M & Thomas, D. (2017). 15 - Biopolymers for Biocomposites and Chemical Sensor Applications. *Biopolymer Composites in Electronics*, 405-435. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809261-3.00015-2>
- Afanasjeva, N., Castillo, L.C. & Sinisterra, J.C. (2017). Biomasa Lignocelulósica. Parte I: Transformación de biomasa. *Journal of Science with Technological Applications*, 3, 27-43. <https://doi.org/10.34294/j.jsta.17.3.22>
- Aguilar, D.L., Rodríguez-Jasso, R.M., Zanuso, E., de Rodríguez, D.J., Amaya-Delgado, L., Sanchez, A. & Ruiz, H.A. (2018). Scale-up and evaluation of hydrothermal pretreatment in isothermal and non-isothermal regimen for bioethanol production using Agave bagasse. *Bioresource Technology*, 263, 112-119. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.100>
- Ahring, B.K. (2003). Perspectives for Anaerobic Digestion. Biomethanation I. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, vol 81. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/3-540-45839-5_1
- Ali, D.M. (s.f.). Formación de maltosa. Formación De Bonos Glucídicos A Partir De Dos Moléculas De Glucosa. Símbolos coloridos. Ilustración vectorial. shutterstock. <https://www.shutterstock.com/es/image-vector/maltose-formation-glycosidic-bond-two-molecules-2114375087>
- Al-Sulaimi, I.N., Nayak, J.K., Alhimali, H., Sana, A. & Al-Mamun, A. (2022). Effect of Volatile Fatty Acids Accumulation on Biogas Production by Sludge-Feeding Thermophilic Anaerobic Digester and Predicting Process Parameters. *Fermentation*, 8(4), 184. <https://doi.org/10.3390/fermentation8040184>
- Angelidaki, I. & Sanders, W. (2004). Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 3(2), 117-129. DOI: 10.1007/s11157-004-2502-3

- Anukam, A. & Berghel, J. (2020). Biomass Pretreatment and Characterization: A Review. *Biotechnological Applications of Biomass*. DOI: 10.5772/intechopen.93607
- Appels, L., Baeyens, J., Degre`ve, J. & Dewil R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(6), 755-781. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2008.06.002>
- Arreola-Vargas, J., Flores-Larios, A., González-Álvarez, V., Corona-González, R.I. & Méndez-Acosta, H.O. (2016). Single and two-stage anaerobic digestion for hydrogen and methane production from acid and enzymatic hydrolysates of Agave tequilana bagasse. *Int J Hydrog Energy*, 41(2), 897–904. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.11.016>
- Ayala-Mercado, I.D. (2021). Potencial de producción de biogás a partir del bagazo de agave, bagazo de malta y sargazo sometidos a carbonización hidrotermal y explosión de vapor como pretratamientos térmicos [Tesis]. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Bajpai, P. (2016). *Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-0687-6>
- Barragán-Trinidad, M. (2018). Hidrólisis de biomásas celulósicas empleando fluido ruminal para la generación de hidrógeno y metano [Tesis de doctorado]. Universidad Nacional Autónoma de México, programa de maestría y doctorado en ingeniería, ingeniería ambiental-agua, Ciudad de México, México
- Behera, S., Arora, R., Nandhagopal, N. & Kumar, S. (2014). Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 36, 91–106. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.047>
- Brodeur, G., Yau, E., Badal, K., Collier, J., Ramachandran, K.B. & Ramakrishan, S. (2011). Chemical and Physicochemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review. *Enzyme Research*, 2011(4999), 787532. doi:10.4061/2011/787532

- Buitrón, G., Hernández-Juárez, A., Hernández-Ramírez, M.D. & Sánchez, A. (2019). Biochemical methane potential from lignocellulosic wastes hydrothermally pretreated. *Ind Crops Prod*, 139, 111555. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111555>
- Bundhoo, Z.M.A. & Mohee, R. (2018). Ultrasound-assisted biological conversion of biomass and waste materials to biofuels: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 40, 298–313. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.07.025>
- Castro, Y.A., Rodríguez, A. & Rivera, E. (2022). Biomethane production kinetics during the anaerobic co-digestion of *Sargassum* spp. and food waste using batch and fed-batch systems in Punta Cana, Dominican Republic. *Materials for Renewable and Sustainable Energy*, 11, 287–297. <https://doi.org/10.1007/s40243-022-00224-1>
- Catarino, M.D., Silva-Reis, R., Chouh, A., Silva, S., Braga, S.S., Silva, A.M.S. & Cardoso, S.M. (2023). Applications of Antioxidant Secondary Metabolites of *Sargassum* spp. *Marine. Drugs*, 21(3), 172. <https://doi.org/10.3390/md21030172>
- Cavelius, P., Engelhart-Straub, S., Mehlmer, N., Lercher, J., Awad, D. & Brück, T. (2023). The potential of biofuels from first to fourth generation. *PLoS Biology*, 21(3), e3002063. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002063>
- Chávez, V., Uribe-Martínez, A., Cuevas, E., Rodríguez-Martínez, R.E., Francisco, V., Estevez, M., Celis, L.B., Monroy, V., Leal-Bautista, R.M, Masia, L., van Tussenbroek, B.I. & Alvarez-Filip, L. (2020). Massive Influx of Pelagic *Sargassum* spp. on the Coasts of the Mexican Caribbean 2014–2020: Challenges and Opportunities. *Water*, 12, 2908. doi:10.3390/w12102908
- Che Kamarludin, S.N., Jainal, M.S., Azizan, M., Mohd Safaai, N.S. & Mohamad Daud, A.R. (2014). Mechanical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass For Biofuel Production. *Applied Mechanics and Materials*, 625, 838-841. doi:10.4028/www.scientific.net/AMM.625.83

- Chundawat, S.P.S., Balan, V., Da costa Sousa, L. & Dale, B.E. (2010). 2 – Thermochemical pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioalcohol Production*, 24-72. <https://doi.org/10.1533/9781845699611.1.24>
- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. (17 de septiembre de 2019). Arribazón de sargazo a las costas mexicanas. <https://conahcyt.mx/sargazo/index.php/materiales-de-consulta/18-materiales/99-arribo-de-sargazo-a-las-costas-mexicanas-2#:~:text=Los%20arribazones%20de%20sargazo%20a,y%20ambiental%20para%20el%20pa%C3%ADs.>
- Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías. (24 de diciembre de 2023). Arribazón de sargazo a las costas mexicanas. <https://energia.conacyt.mx/sargazo/contexto>
- Consejo Regulador del Tequila¹. (s.f.). *Proceso de Elaboración de Tequila*. <https://www.crt.org.mx/index.php/es/el-tequila-3/elaboracion-normativa/63-proceso-de-elaboracion-de-tequila>
- Consejo Regulador del Tequila². (s.f.). Información Estadística. Recuperado el 14 de agosto de 2023 de <https://www.crt.org.mx/EstadisticasCRTweb/>
- Consejo Regulador del Tequila. (julio de 2015). Proceso de Elaboración del Tequila. <https://www.youtube.com/watch?v=ZRO72rd23hQ>
- Crespo-González, M.R., González-Eguiarte, D.R., Rodríguez-Macías, R., Ruiz-Corral, J.A. & Durán-Puga, N. (2018). Caracterización química y física del bagazo de agave tequilero compostado con biosólidos de vinaza como componente de sustratos para cultivos en contenedor. *Rev. Int. Contam. Ambie.*, 34(3), 373-382.
- Cuenca, J. (s.f.). El biogás y los Gases de Efecto Invernadero (GEI). AGF Ingeniería de Procesos. <https://agfprocesos.com/2017/09/18/biogas-los-gases-efecto-invernadero-gei/#:~:text=El%20biog%C3%A1s%20puede%20tener%20un,del%20ciclo%20corto%20del%20carbono.>

- Dahman, Y., Syed, K., Begum, S., Roy, P. & Mohtasebi, B. (2019). Biofuels: their characteristics and análisis. *Biomass, Biopolymer-Based Materials, and Bioenergy*, 14, 277-325. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102426-3.00014-X>
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350.356.
- Environmental and Energy Study Institute. (22 de julio de 2021). *Fossil Fuels*. <https://www.eesi.org/topics/fossil-fuels/description>
- Escudero-Enríquez, E., Lara-Montaña, O.D., Martínez Guido, S.I. & Gutiérrez-Antonio, C. (2023). Bagazo de agave, la otra cara (valiosa) de la producción de tequila. *Revista Naturaleza y Tecnología*. <http://repositorio.ugto.mx/handle/20.500.12059/10168>
- Espinosa-Chávez, B., Cervantes, F.J., Razo-Flores, E. & Celis-García, B. (2007, 25 a 29 de junio). Caracterización anaerobia de un lodo granular: efecto del tamaño de partícula en la actividad anaerobia específica. [Cartel]. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Morelia, México. https://smbb.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_IV/CARTELES/CIV-89.pdf
- Flores, E.M.M., Cravotto, G., Bizzi, C.A., Santos, D. e Iop, G.D. (2021). Ultrasound-assisted biomass valorization to industrial interesting products: state-of-the-art, perspectives and challenges. *Ultrasonics Sonochemistry*, 72, 105455. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105455>
- Galindo-Berdugo, J.C., Hernández-Eugenio, G., Espinosa-Solares, T. & Reddy, U.K. (2023). Producción de metano de purines de cerdo en codigestión con sargazo y uso de nanopartículas. Memoria de Resúmenes de Resultados de Investigación / Sesión Primavera 2023. Universidad Autónoma Chapingo. <https://pcyta.posgrado.chapingo.edu.mx/memorias-primavera2023/>

- García-Sánchez, M & Silva, R. (2020). Massive Influx of Pelagic Sargassum spp. on the Coasts of the Mexican Caribbean 2014-2020: Challenges and Opportunities. *Water*, 12(10), 2908. DOI:10.3390/w12102908
- Godínez-Ortega, J.L., Cuatlán-Cortés, J.V., López-Bautista, J.M. & van Tussenbroek, B.I. (2021). A natural history of floating Sargassum species (Sargasso) from Mexico. In *Natural History and Ecology of Mexico and Central America*; Hufnagel, L., Ed.; IntechOpen: London, UK, 2021. DOI:10.5772/intechopen.97230
- González-García, Y., González-Reynoso, O. & Nungaray-Arellano, J. (2005). Potencial del bagazo de agave tequilero para la producción de biopolímeros y carbohidrasas por bacterias celulolíticas y para la obtención de compuestos fenólicos. *e-Gnosis*, 3(14). <https://www.redalyc.org/pdf/730/73000314.pdf>
- González, R., Ellacuriaga, M., Aguilar-Pesantes, A., Carrillo-Peña, D., García-Cascallana, J.; Smith, R. & Gómez, X. (2021). Feasibility of Coupling Anaerobic Digestion and Hydrothermal Carbonization: Analyzing Thermal Demand. *Applied Sciences*, 11(24), 11660. <https://doi.org/10.3390/app112411660>
- Hernández-Vázquez, A., Hernández, S., & Ortíz, I. (2020). Hydrothermal pretreatment of agave bagasse for biomethane production: Operating conditions and energy balance. *Biomass and Bioenergy*, 142, 105753. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105753>
- Huffard, C.L., von Thun, S., Sherman, A.D., Sealey, K & Smith Jr., K.L. (2014). Pelagic Sargassum community change over a 40-year period: temporal and spatial variability. *Marine Biology*, 161, 2735-2751. DOI 10.1007/s00227-014-2539-y
- International Energy Agency. (10 de octubre de 2022). Global Energy Crisis. <https://www.iea.org/topics/global-energy-crisis>.
- Íñiguez-Covarrubias, G., Ramírez-Meda, W., Bernal-Casillas, J.J. & Virgen-Calleros, G. (2022). Use of By-Products from the Tequila Industry. Part 12: Composted Agave

- Bagasse for Growing Grape Tomatoes. *American Journal of Plant Sciences*, 13(9), 1227-1232. <https://doi.org/10.4236/ajps.2022.139083>
- Ipiales, R.P., de la Rubia, M.A, Diaz, E., Mohedano, A.F. & Rodriguez, J.J. (2021). Integration of Hydrothermal Carbonization and Anaerobic Digestion for Energy Recovery of Biomass Waste: An Overview. *Energy Fuels*, 35, 17032-17050. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c01681>
- Joshi, S.M. & Gogate, P.R. (2019). Intensifying the biogas production from food waste using ultrasound: Understanding into effect of operating parameters. *Ultrasonics Sonochemistry*, 59, 104755. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104755>
- Kestur G., S., Flores-Sahagun, T.H.S., Dos Santos, L.P., Dos Santos, J., Mazzaro, I. & Mikowski, A. (2013). Characterization of blue agave bagasse fibers of Mexico. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 45, 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2012.09.001>
- Kisielewska, M., Rusanowska, P., Dudek, M., Nowicka, A., Krzywik, A., Dębowski, M., Joanna, K. & Zieliński, M. (2020). Evaluation of Ultrasound Pretreatment for Enhanced Anaerobic Digestion of *Sida hermaphrodita*. *Bioenergy Res*, 13(3), 824–832. <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10108-9>
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J. & Stroeve, P. (2009). Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48(8), 3713–3729. doi:10.1021/ie801542g
- López-Sosa, L.B., Alvarado-Flores, J.J., Corral-Huacuz, J.C., Aguilera-Mandujano, A., Rodríguez-Martínez, R.E., Guevara-Martínez, S.J., Alcaraz-Vera, J.V., Rutiaga-Quiñones, J.G., Zárate-Medina, J., Ávalos-Rodríguez, M.L. & Morales-Máximo, M. (2020). A Prospective Study of the Exploitation of Pelagic Sargassum spp. as a Solid Biofuel Energy Source. *Appl. Sci.* 10(3). <https://doi.org/10.3390/app10238706>

- Lorenzo-Acosta, Y. & Obaya-Abreu, M.C. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, XXXIX(1), 35-48. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120659006>
- Mahmood, Z., Yameen, M., Jahangeer, M., Riaz, M., Ghaffar, A. & Javid, I. (2018). Lignin as natural antioxidant capacity, 10, 181-205. DOI: 10.5772/intechopen.73284
- Maniscalco, M.P., Volpe, M. & Messineo, A. (2020). Hydrothermal Carbonization as a Valuable Tool for Energy and Environmental Applications: A Review. *Energies*; 13(16), 4098. <https://doi.org/10.3390/en13164098>
- Merzari, F., Langone, M., Andreottola, G. & Fiori, L. (2019). Methane production from process water of sewage sludge hydrothermal carbonization. A review. Valorising sludge through hydrothermal carbonization. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49(11), 947-988. <https://doi.org/10.1080/10643389.2018.1561104>
- Negrín-Espinosa, A.M., López-González, L.M. & Casdelo-Gutiérrez, N.L. (2021). Pretratamiento de biomásas lignocelulósicas: breve revisión de los principales métodos utilizados. *Centro Azúcar*, 48(3), 108-119. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612021000300108
- Oliveira, J.V., Alves, M.M., & Costa, J.C. (2015). Optimization of biogas production from *Sargassum* sp. using a design of experiments to assess the co-digestion with glycerol and waste frying oil. *Bioresour Technol*, 175, 480-485. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.121>
- Palomo-Briones, R., López-Gutiérrez, I., Islas-Lugo, F., Galindo-Hernández, K.L., Munguía-Aguilar, D., Rincón-Pérez, J.A., Cortés-Carmona, M.A., Alatríste-Mondragón, F. & Razo-Flores, E. (2018). Agave bagasse biorefinery: Processing and perspectives. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20, 1423-1441. <https://doi.org/10.1007/s10098-017-1421-2>

- Pansripong, P., Arjharn, W., Liplap, P. & Hinsui, T. (2019). Effect of Ultrasonic Pretreatment on Biogas Production from Rice Straw. *Oriental Journal of Chemistry*, 35(4), 1265-1273. <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/350403>
- Rehman, M.S.U., Kim, I., Chisti, Y. & Han, J.I. (2013). Use of ultrasound in the production of bioethanol from lignocellulosic biomass. *Energy Education Science and Technology Part A: Energy Science and Research*, 30(2), 1391 – 1410. https://www.researchgate.net/profile/Muhammad-Saif-Ur-Rehman/publication/236330168_Use_of_ultrasound_in_the_production_of_bioethanol_from_lignocellulosic_biomass/links/00b7d517a34c76e9c1000000/Use-of-ultrasound-in-the-production-of-bioethanol-from-lignocellulosic-biomass.pdf
- Reza, M.T., Wirth, B., Lüder, U. & Werner, M. (2014). Behavior of selected hydrolyzed and dehydrated products during hydrothermal carbonization of biomass. *Bioresource Technology*, 169, 352-361. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.010>
- Rosato, M.A. (2018). *Managing Biogas Plants: a Practical Guide*. CRC Press.
- Sánchez-Riaño, A.M., Gutiérrez-Morales, A.I., Muñoz-Hernández, J.A. & Rivera-Barrero, C.A. (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Revista Tumbaga*, 1(5). Recuperado a partir de <https://revistas.ut.edu.co/index.php/tumbaga/article/view/58>
- Saucedo-Luna, J., Castro-Montoya, A.J., Rico, J.L. & Campos-García, J. (2010), Optimization of acid hydrolysis of bagasse from *Agave tequilana* Weber. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 9(1), 91-97. https://www.researchgate.net/publication/262658650_Optimizacion_de_hidrolisis_acida_de_bagaso_de_Agave_tequilana_Weber
- Secretaría de Economía. (2010). NMX-AA-089/2-SCFI-2010: PROTECCIÓN AL AMBIENTE – CALIDAD DEL AGUA VOCABULARIO - PARTE 2 (CANCELA A LA NOM-AA-89/2-1992). México: SE.

Secretaría de Economía. (2015). NMX-AA-034-SCFI-2015: ANÁLISIS DE AGUA - MEDICIÓN DE SÓLIDOS Y SALES DISUELTAS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS – MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-034-SCFI-2001). México: SE.

Secretaría de Energía. (2023). Programa de Desarrollo del Sistema Eléctrico Nacional 2023-2037. <https://www.gob.mx/sener/articulos/programa-de-desarrollo-del-sistema-electrico-nacional-2023-2037#:~:text=El%20Programa%20de%20Desarrollo%20del,2024%20y%20plasma%20los%20grandes>

Secretaría de Energía. (2018). Prospectiva de energías renovables 2018-2032. https://base.energia.gob.mx/Prospectivas18-32/PER_18_32_F.pdf

Tellez, I.E. & Weber, B. (12 de noviembre de 2020). Comparativa de la producción de biogás de diversos sustratos en pruebas de lote y en un digestor de operación continua (Presentación oral). Latin American Meeting on Anaerobic Digestion. <http://www.daal.online/doc/memorias-jdaal.pdf>

Thompson, T.M., Young, B.R. & Baroutian, S. (2020). Efficiency of hydrothermal pretreatment on the anaerobic digestion of pelagic Sargassum for biogas and fertiliser recovery. *Fuel*, 279, 118527. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118527>

Thompson, T.M., Young, B.R. & Baroutian, S. (2021). Enhancing biogas production from caribbean pelagic Sargassum utilising hydrothermal pretreatment and anaerobic co-digestion with food waste. *Chemosphere*, 275, 130035. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130035>

Toraman, H.E. (s.f.). 12.1 Digestión anaeróbica. John A. Dutton: e-Education Institute. https://espanol.libretexts.org/Ingenieria/Ingenier%C3%ADa_Biol%C3%B3gica/Combustibles_alternativos_a_partir_de_fuentes_de_biomasa_%28Toraman%29/12%3A_A_Procesos_Adicionales_para_Combustibles_a_partir_de_Biomasa/12.01%3A_Digesti%C3%B3n_anaer%C3%B3bica

- United Nations (28 de febrero de 2022). Causes and Effects of Climate Change. <https://www.un.org/en/climatechange/science/causes-effects-climate-change>
- United States Environmental Protection Agency. (28 de septiembre de 2023). Sargassum Inundation Events (SIEs): Impacts on Human Health. <https://www.epa.gov/cyanohabs/sargassum-inundation-events-sies-impacts-human-health#:~:text=For%20example%2C%20Sargassum%20may%20harbor,%2C%20cardiovascular%2C%20and%20neurological%20impacts.>
- Usman, M., Ren, S., Ji, M., O-Thong, S., Qian, Y., Luo, G. & Zhang, S. (2020). Characterization and biogas production potentials of aqueous phase produced from hydrothermal carbonization of biomass – Major components and their binary mixtures. *Chemical Engineering Journal*, 388, 124201. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124201>
- Valdez-Vazquez, I., Alatríste-Mondragón, F., Arreola-Vargas, J., Buitrón, G., CarrilloReyes, J., León-Becerril, E., Méndez-Acosta, H.O., Ortíz, I. & Weber, B. (2020). A comparison of biological, enzymatic, chemical and hydrothermal pretreatments for producing biomethane from Agave bagasse. *Ind Crops Prod*, 145, 112160. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112160>
- Weber, B., Ayala-Mercado, I.D. & Stadlbauer, E.A. (2022). Steam explosion versus hydrothermal carbonization: evaluation of applicability for pretreatment of semi-solid waste from beverage industries to facilitate on-site biogas production. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02983-3>
- Weber, B. & Ayala, I.D. (5 de noviembre de 2020). Potential of biogas production from Sargassum (Presentación oral). Latin American Meeting on Anaerobic Digestion. <http://www.daal.online/doc/memorias-jdaal.pdf>
- Weber, B., Stadlbauer, E.A., Eichenauer, S., Koch, C., Albert, K., Kramer, M. & Steffens, D. (2013). Chemical Nature of Carbonaceous Materials from Biomass by Hydrothermal Carbonization and Low Temperature Conversion. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 7(3), 367-375. <https://doi.org/10.1166/jbmb.2013.1358>

- Wirth, B., Mumme, J. & Erlach, B. (18 a 22 de junio de 2012). Anaerobic treatment of waste water derived from hydrothermal carbonization. 20th European Biomass Conference and Exhibition, Milan, Italy. DOI: 10.5071/20thEUBCE2012-2AO.4.3
- Wirth, B. & Mumme, J. (2013). Anaerobic Digestion of Waste Water from Hydrothermal Carbonization of Corn Silage. *Applied Bioenergy*, 1(1), 1-10. DOI:10.2478/apbi-2013-0001
- Wyman, C.E. & Yang, B. (2009). Cellulosic biomass could help* meet California's transportation fuel needs. *California Agriculture*, 63(4), 185-190. DOI:10.3733/ca.v063n04p185
- Xiong, Z.Y., Qin, Y.H., Ma, J.Y., Yang, L., Wu, Z.K., Wang, T.L., Wang, W.G. & Wang, C.W. (2016). Pretreatment of rice straw by ultrasound-assisted Fenton process. *Bioresource Technology*, 227, 408-411. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.105>
- Yousuf, A., Pirozzi, D. & Sannino, F. (2020). Fundamentals of lignocellulosic biomass. *Lignocellulosic Biomass to Liquid Biofuels*, 1–15. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815936-1.00001-0>
- Yue, I., Cheng, J., Tang, S., An, X., Hua, J., Dong, H. & Zhou, J. (2021). Ultrasound and microwave pretreatments promote methane production potential and energy conversion during anaerobic digestion of lipid and food wastes. *Energy*, 228, 120525. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2021.120525>
- Zoghalmi, A. & Paës, G. (2019). Lignocellulosic Biomass: Understanding Recalcitrance and Predicting Hydrolysis. *Frontiers in Chemistry*, 7(874). <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00874>

Anexos

A continuación, las especificaciones de los materiales, equipos y reactivos utilizados en la presente investigación, así como la teoría para la determinación de azúcares totales, composición del biogás, además de datos más detallados de la cantidad de productos obtenidos de la carbonización hidrotermal y el biogás obtenido a partir de la digestión anaerobia

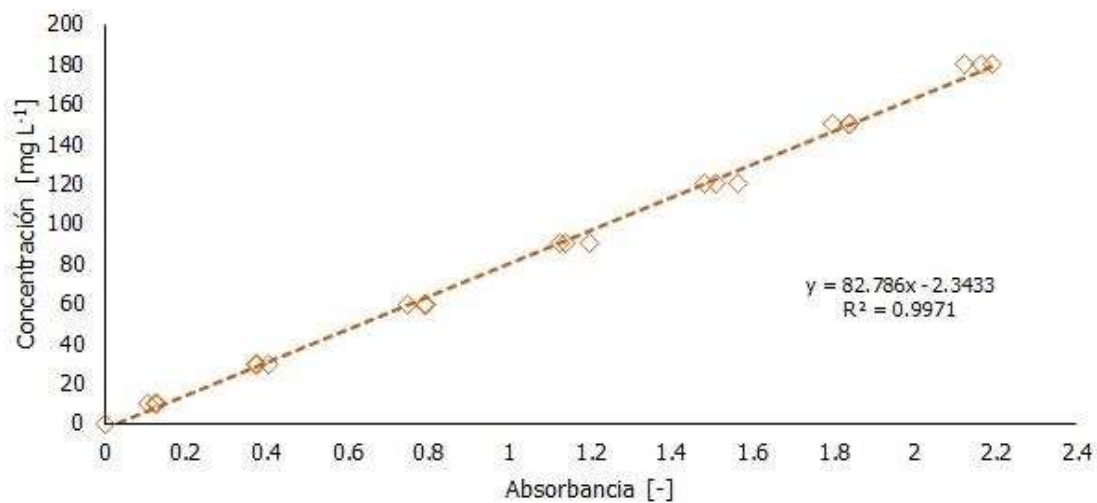
Tabla 1. Equipos, Materiales y Reactivos utilizados para la investigación

| Reactivos: | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Agua desionizada• Lodo granular anaerobio• Celulosa• Nitrógeno• Viales para cuantificación de DQO• Crisoles de porcelana• NaHCO₃ | |
| Solución A (para 1 L de agua desionizada) | |
| • 100 g | NH ₄ Cl L ⁻¹ |
| • 10 g | NaCl L ⁻¹ |
| • 10 g | MgCl ₂ ·6H ₂ O L ⁻¹ |
| • 5 g | CaCl ₂ ·2H ₂ O L ⁻¹ |
| Solución B (para 1 L de agua desionizada) | |
| 200 g | K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O L ⁻¹ |
| Equipo: | |
| <ul style="list-style-type: none">• Túnel solar, Fabricación casera• Reactor Controller 4848, Parr Series 5500• Calefactor Parr Series 5500• Eudiómetro• Centrifuga eppendorf, Centrifuge 5804R• Licuadora Oster Versatile 6844• Sonotrodo Transducer UIP1000hd, Hielscher• Generador de ultrasonido Generator, UIP1000hdT, Hielscher• Horno, BINDER• Incubadora LabTech Instruments, LSI-3016R• Espectrofotómetro de infrarrojo, SHIMADZU, IRPrestige21 | |

- Digestor anaerobio tipo mono etapa, Fabricación propia
- Baño térmico, Thermo scientific DC 10
- Agitador magnético
- Medidor de flujo, flow-unit, BPC instruments
- Controlador Siemens Logo
- Motor de bomba LED, digital Masterflex IP33
- Balanza analítica, Precisa Gravimetrics AG, XT 102 A
- Mufla, Felisa
- Reactor DQOHACH, DRB 200
- Espectrofotómetro, HACH, DR/2010
- Bomba de vacío Cole-Parmer, CPI 79204

Azúcares Totales

Para determinar la cantidad de azúcares totales, se realizó una curva de calibración, donde la concentración es proporcional a la absorbancia, como se muestra en la Gráfica 1.

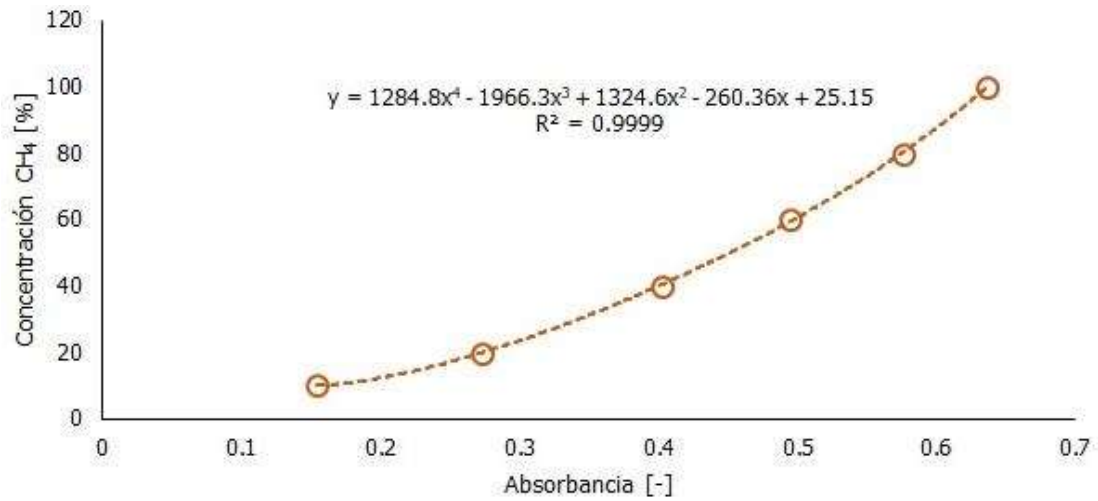


Gráfica 1. Curva de calibración de glucosa para la medición de azúcares.

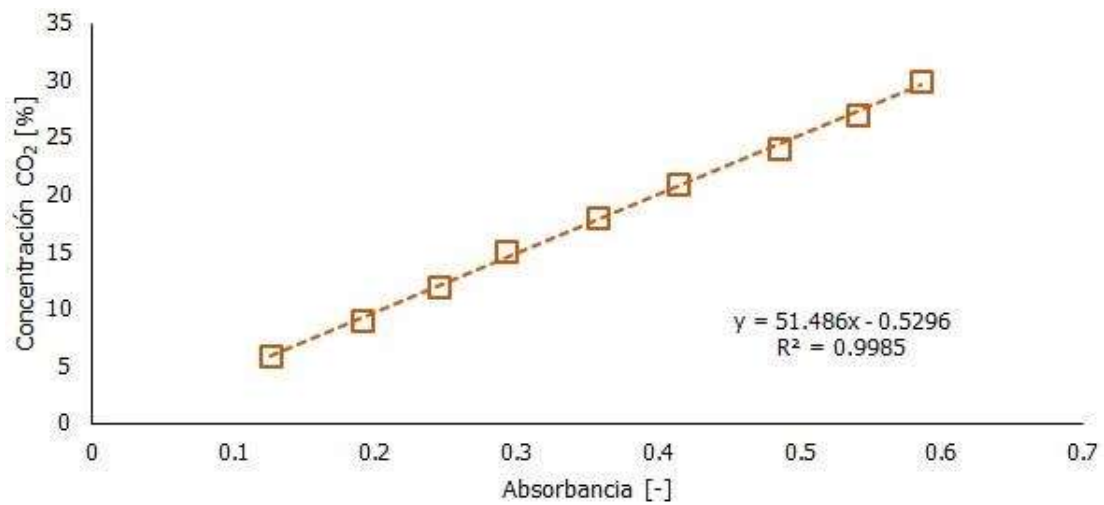
Composición del biogás

Para conocer la composición del biogás producido se requieren ecuaciones que se obtienen a partir de la Gráfica 2, para el metano y de la Gráfica 3, para el dióxido de carbono. Ya que

cada compuesto se mide a longitudes de onda diferentes es importante conocer estos valores; la longitud de onda para el metano es 3012.81 y para el dióxido de carbono es 2360.87.



Gráfica 2. Curva de calibración del metano



Gráfica 3. Curva de calibración del dióxido de carbono.