

**Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas  
Facultad de Química-Farmacia  
Departamento de Ingeniería Química**

**ANÁLISIS DE ALTERNATIVAS DE PRODUCCIÓN MÁS  
LIMPIA (PML) PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS CON  
FINES ENERGÉTICOS EN UNA EMPRESA AZUCARERA  
DIVERSIFICADA**

Tesis en opción al grado científico de Doctor  
en Ciencias Técnicas.

Lisbet Mailin López González

Sancti Spíritus  
2016

**Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas  
Facultad de Química-Farmacía  
Departamento de Ingeniería Química**



**Universidad de Sancti Spíritus “José Martí Pérez”**

**ANÁLISIS DE ALTERNATIVAS DE PRODUCCIÓN MÁS  
LIMPIA (PML) PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS CON  
FINES ENERGÉTICOS EN UNA EMPRESA AZUCARERA  
DIVERSIFICADA**

Tesis en opción al grado científico de Doctor en  
Ciencias Técnicas

Autora: Prof. Aux. Ing. Lisbet Mailin López González, MSc.

Tutores: Prof. Aux. Ing. Ileana Pereda Reyes, Dr.C.

Prof. Tit. Ing. Osvaldo Romero Romero, Dr.C.

Sancti Spíritus, 2016

## AGRADECIMIENTOS

Hay muchas personas que debieran estar en esta hoja y es muy posible que alguna se me quede, por ello mis agradecimientos a todos aquellos que contribuyeron de una forma u otra a llegar hasta aquí.

Especialmente agradezco a mi tutora y amiga *Ileana Pereda*, por su guía, apoyo y confianza; por dejarme hacer; por estar siempre, por ayudarme a llegar... y a parar también. Por acogerme en su casa como una familia. Gracias.

A mi tutor *Osvaldo Romero*, motor impulsor de este trabajo y del proyecto al que tributa. Gracias por ser, simplemente, la vela de este barco, gracias por ayudar a abrir caminos y por el optimismo.

A *Han Vervaeren*, mi coordinador directo en Bélgica, por enseñarme los primeros pasos en la escritura de artículos, por la paciencia que tuvo con el inglés, y porque sé que al final creyó en mí, y eso me dió la fuerza para seguir.

A *Sophie, Yannick y Ann* del campus de Kortrijk en la universidad de Gent, por apoyarme en los momentos que me hizo falta, a Yannick por ser tan familiar lo cual extrañé mucho, a Sofie por su entusiasmo y por las algas claro está.

A *Ricardo*, por el excelente profesor que es, por la química, la música y los chocolates, por el apoyo constante.

A *Jörn, Monika y Anka* del instituto del Instituto Agrario de Bornim-Potsdam en Alemania, por permitir y apoyar mi investigación y por contribuir a que la corta estancia fuera provechosa y agradable.

A la tropa del CEEPI, especialmente a *Ernesto* que ha estado muy cerca en buenas y malas, a *Janet, Bi, Yenima, Mary, Zule, Lucy, Chino, Sebrango, Azaret, Obregon y Edelvis*, por soportarme y cubrirme en estos tiempos...

A *mi familia* que se estará feliz con el fin... a *Yony* por esa fuerza que siempre tienes... a *Rafaela* y *Roberto* por la preocupación constante... a *Lidia y Erasmo* por su apoyo incondicional.

Agradezco especialmente a *mis profesores de Ingeniería Química* de la UCLV. Ustedes son mi ejemplo a seguir y son parte del orgullo que siento de ser lo que soy.

## **DEDICATORIA**

*A mis hijos, Roberto Alain y Camilo Eloy, son los diamantes de mi vida, a Roberto Alain porque confío en él y sé que saldrá adelante siempre, porque al final se trata de eso; a Cami, mi heraldo, porque te sacrificué mucho en esta historia y fue muy difícil para mí.*

*A mi papá, porque es mi orgullo y ejemplo a seguir, por ser tan fuerte, seguro y optimista, sé me falta mucho aún... pero lo sigo intentando.*

*A mi mamá, porque finalmente entendió... por la ayuda, el cuidado y el amor con mis niños en estos tiempos que tanto lo necesitamos.*

*A mi abuela Mima, porque se lo hubiera contado a todo el mundo con el orgullo más grande del mundo...o lo estarás contando?*

## SÍNTESIS

La presente investigación se desarrolló con el objetivo de evaluar el efecto de la aplicación de variantes de pre-tratamiento y codigestión con vinazas en el proceso de digestión anaerobia de la cachaza. El procedimiento experimental se realizó de acuerdo a un diseño central compuesto y el diseño de mezcla para dos y tres componentes. Se estudió el pre-tratamiento termo-alcálico (TA) a 100°C para diferentes condiciones de carga de álcali ( $4 - 10 \text{ g Ca(OH)}_2 100 \text{ g}^{-1} \text{ ST}^{-1}$ ) y tiempo de pre-tratamiento (1-3 horas). Además se evaluó el pre-tratamiento con agua caliente presurizada (LHW) a diferentes temperaturas (150-200°C) y tiempo de pre-tratamiento (5-20 minutos). Ambos pre-tratamientos no se habían reportado anteriormente para la cachaza como sustrato en la digestión anaerobia. El impacto del pre-tratamiento en el porcentaje de solubilización de la demanda química de oxígeno, el rendimiento de metano y la formación de inhibidores se determinó en función del factor de severidad. Como resultado se obtuvo un alto grado de solubilización de la demanda química de oxígeno con el incremento de la severidad del pre-tratamiento. Para las condiciones más severas aplicadas en el TA ( $t > 3 \text{ h}$ ) y LHW (200°C y 210°C), se obtuvieron bajos rendimientos de metano debido a la formación de compuestos refractarios y/ o inhibitorios al proceso de digestión anaerobia. Los resultados de este trabajo demuestran que es posible pre-tratar la cachaza para incrementar su biodegradabilidad. Las mejores condiciones se lograron para  $10 \text{ g Ca(OH)}_2 100 \text{ g}^{-1} \text{ ST}^{-1}$  por 1 h (TA) y 150°C por 20 minutos (LHW), con un 34% y 63% de incremento en el potencial de metano respectivamente. En los estudios de mezcla vinaza-cachaza se demostró la validez del uso de la co-digestión vinaza-cachaza sin pre-tratar como alternativa para incrementar el rendimiento de metano, sin embargo cuando se empleó cachaza pre-tratada por TA o LHW, el rendimiento decreció demostrando antagonismo de la cachaza pre-tratada en la mezcla.

De la valoración energética, económica y ambiental realizada se obtuvo que las alternativas más viables fueron la digestión anaerobia de la cachaza pre-tratada por LHW para el escenario de un ingenio azucarero sin destilería anexa y la co-digestión de la cachaza sin pre-tratar con vinaza en reactores de tanque agitado para el escenario de un ingenio azucarero con destilería anexa.

## ABSTRACT

The objective of this investigation was to evaluate the effect of the application of pre-treatment variants and co-digestion with vinasse in the anaerobic digestion of the press mud. The experimental work was carried out according to a central composite design and simplex lattice mixture design for two and three components. Sugarcane press mud was pre-treated by thermo-alkaline (TA) pre-treatment at 100°C at different lime loadings ( $4 - 10 \text{ g Ca(OH)}_2 100 \text{ g}^{-1} \text{ ST}^{-1}$ ) and pre-treatment times (1 h-3 h). In addition, the liquid hot water (LHW) was evaluated at different temperatures (150-200°C) and pre-treatment times (5-20 min). Both pre-treatments had not been previously reported for press mud as substrate to biological processes. The pre-treatment impact on both the solubilisation percent of the chemical oxygen demand (COD) and the formation of inhibitors and methane yield was determined in function of the severity factor. The pre-treatment increased the COD solubilisation with the increment of the pre-treatment severity. The formation of inhibitory and/or recalcitrant compounds to anaerobic digestion were noticed when the severity was increased with TA ( $t > 3 \text{ h}$ ) and LHW (200 °C, 210 °C) regarding the diminishing of the obtained methane yield. The results showed the possibility to pre-treat press mud in order to increase its biodegradability. The better conditions were obtained at  $10 \text{ g Ca(OH)}_2 100 \text{ g}^{-1} \text{ ST}^{-1}$  for 1 h (TA) and 150 °C for 20 min (LHW), increasing the methane yield by 34 % and 63 %, respectively.

In the vinasse-press mud mixture studies it was demonstrated the feasibility of using the co-digestion of vinasse and press mud without pre-treatment as an alternative to increase the methane yield for scenarios with combined sugar-distillery industry. However, the use of pre-treated press mud in the mixture is not recommendable as the methane yield decrease demonstrating antagonistic effect on the mixture.

Regarding to the economical, energetic and environmental assessment, the more viable alternative were the anaerobic digestion of pre-treated press mud by LHW for scenarios of sugar mill without distillery and the un-treated press mud and vinasse in continuous stirred tank reactor CSTR for scenarios with combined sugar-distillery industry.

## NOMENCLATURA

DA: digestión anaerobia

AGCL: ácidos grasos de cadena larga ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$k_H$ : velocidad promedio de hidrólisis ( $\text{d}^{-1}$ )

AGV: ácidos grasos volátiles totales ( $\text{mg L}^{-1}$ )

AI: alcalinidad intermedia o alcalinidad debida al bicarbonato ( $\text{mg L}^{-1}$ )

TRH: tiempo de retención hidráulico (d)

COV: carga orgánica volumétrica ( $\text{kg SVM}^{-3}\text{d}^{-1}$ )

$Y_{\text{Metano}}^{\text{teór}}$ : rendimiento de metano teórico ( $\text{mL CH}_4 \text{g}^{-1} \text{SV}_{\text{ini}}^{-1}$ )

k: Constante cinética de velocidad aparente ( $\text{d}^{-1}$ )

CSTR: reactor de tanque agitado (*continuous stirred tank reactor CSTR*)

UASB: reactor de flujo ascendente (*upflow anaerobic sludge blanket UASB*)

SE: explosión al vapor (*steam explosión-SE*, por sus siglas en inglés, o autohidrólisis)

LHW: agua caliente presurizada (*liquid hot water-LHW*, por sus siglas en inglés, o termohidrólisis-TH)

TA: pre-tratamiento termo-alcálico

HMF: 5- hidroximetilfurfural ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$R_o$ : factor de severidad del pre-tratamiento

$M_o$ : factor de severidad modificado

ST: sólidos totales

SV: sólidos volátiles

DQO: demanda química de oxígeno total ( $\text{mg L}^{-1}$ )

DQOs: demanda química de oxígeno soluble

HAc: ácido acético ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$S_{\text{DQO}}$ : porcentaje de solubilización de la demanda química de oxígeno (DQOs/DQO) (%)

LL: carga de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (*lime loading, LL*) ( $\text{g Ca}(\text{OH})_2 \text{100 g}^{-1} \text{ST}^{-1}$ )

t: tiempo de pre-tratamiento (horas o minutos)

TPN: temperatura y presión normal (273 K y 101,29 kPa)

$y_{\text{máx}}$ : rendimiento máximo de metano ( $\text{mL CH}_4 \text{g}^{-1} \text{SV}^{-1}$ )

k: constante de velocidad aparente ( $\text{d}^{-1}$ )

$y_{(t)}$ : rendimiento de metano acumulativo ( $\text{mL CH}_4 \text{g}^{-1} \text{SV}^{-1}$ )

$Y_{Metano}^{exp}$  : máximo rendimiento de metano estimado por el modelo de Roediger ( $\text{mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{SV}_{ini}^{-1}$ )

$\eta$ : eficiencia de la bioconversión (%)

$r_s(t)$ : productividad de metano ( $\text{mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{SV}^{-1} \text{d}^{-1}$ )

T: temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )

$K_M$ : constante de tiempo para la cual la mitad de  $y_{\text{máx}}$  es alcanzado

b: es un parámetro de ajuste

NT: nitrógeno total ( $\text{mg L}^{-1}$ )

V: vinaza

C: cachaza

LF: fracción líquida de la cachaza pretratada

SF: fracción sólida de la cachaza pretratada

EE: energía eléctrica generada ( $\text{kWh d}^{-1}$ )

$EE_C$ : energía eléctrica consumida ( $\text{kWh d}^{-1}$ )

$ET_C$ : energía térmica que se consume durante cada pre-tratamiento ( $\text{kWh d}^{-1}$ )

$ET_R$ : energía térmica recuperada en la caldera de recuperación ( $\text{kWh d}^{-1}$ )

$ET_Q$ : energía térmica requerida ( $\text{kWh d}^{-1}$ )

$ET_N$ : energía térmica neta ( $\text{kWh d}^{-1}$ )

$EE_N$ : energía eléctrica neta ( $\text{kWh d}^{-1}$ )

## Índice

<b>Introducción</b> .....	1
<b>Capítulo 1. Marco teórico y referencial</b>	
1.1 Introducción.....	6
1.2 Residuos generados en un complejo azucarero-alcoholero.....	6
1.3 Fundamentos de la digestión anaerobia.....	9
1.3.1 Procesos que intervienen en la digestión anaerobia.....	10
1.3.2 Parámetros ambientales y de control.....	14
1.3.3 Métodos para la determinación del potencial de biogás.....	20
1.3.4 Modelos que consideran la cinética del proceso.....	22
1.4 Tecnologías de digestión anaerobia.....	24
1.5 Estrategias para la mejora del proceso de digestión anaerobia.....	26
1.5.1 Pre-tratamiento.....	26
1.5.2 Co-digestión.....	35
1.6 Conclusiones parciales.....	37
<b>Capítulo 2. Pre-tratamientos de la cachaza para la digestión anaerobia</b>	
2.1 Introducción.....	38
2.2 Materiales y métodos.....	38
2.2.1 Preparación del sustrato.....	38
2.2.2 Métodos analíticos.....	38
2.2.3 Condiciones de los pre-tratamientos.....	40
2.2.3.1 Pre-tratamiento termo-alcálico.....	40
2.2.3.2 Pre-tratamiento por agua caliente presurizada.....	41
2.2.2 Ensayo para la determinación del potencial de metano.....	42
2.2.3 Evaluación cinética.....	44
2.2.4 Análisis estadístico.....	45
2.3 Resultados y discusión.....	45
2.3.1 Caracterización del sustrato.....	45
2.3.2 Efecto del pre-tratamiento termo-alcálico sobre la cachaza pre-tratada y el rendimiento de metano.....	47
2.3.3 Efecto del pre-tratamiento por agua caliente presurizada sobre la cachaza pre-tratada y el rendimiento de metano.....	56
2.4 Conclusiones parciales.....	66
<b>Capítulo 3. Co-digestión de la cachaza sin pre-tratar y pre-tratada con vinaza</b>	
3.1 Introducción.....	67
3.2 Materiales y métodos.....	67
3.2.1 Preparación de los sustratos.....	67
3.2.2 Métodos analíticos.....	67
3.2.3 Diseño del experimento.....	67
3.2.4 Ensayo para la determinación del potencial de metano.....	69
3.2.5 Ensayo en régimen semicontinuo.....	69
3.3 Resultados y discusión.....	70
3.3.1 Caracterización de los sustratos.....	70

3.3.2 Co-digestión de la cachaza sin pre-tratar con vinaza.....	71
3.3.3 Co-digestión de la cachaza pre-tratada con vinaza.....	77
3.4 Conclusiones parciales.....	83
<b>Capítulo 4. Valoración energética, económica y ambiental para la estrategia de manejo de la cachaza y la vinaza</b>	
4.1 Introducción.....	85
4.2 Propuesta de alternativas.....	85
4.2.1 Valoración energética de las alternativas.....	86
4.2.2 Valoración económica de las alternativas.....	89
4.2.3 Valoración ambiental de las alternativas.....	94
4.3 Conclusiones parciales.....	98
<b>Conclusiones y recomendaciones</b>	
Conclusiones finales.....	99
Recomendaciones.....	100
Referencias bibliográficas.....	101
Anexos.....	112

## Introducción

La digestión anaerobia (DA) es considerada en la actualidad una tecnología madura a través de la cual se genera biogás, mezcla de gases compuesta principalmente por CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> y considerada un portador energético renovable debido a la fuente de composición orgánica que le da lugar (Browne y Murphy, 2013). El biogás se caracteriza por su versatilidad ya que puede reemplazar combustibles fósiles en la producción de energía y calor, utilizarse de forma directa en sustitución al gas natural y como combustible para vehículos.

El número creciente de plantas de biogás y el incremento de la demanda mundial de bio-metano, han traído como consecuencia la necesidad de proveer costos competitivos en el suministro de los recursos bioenergéticos. En este contexto el sector del biogás está enfocado no solo a buscar nuevas biomásas (Zhang, 2013); sino también a la aplicación de tecnologías innovativas y de avanzada para mejorar la producción de biogás y la eficiencia de proceso, con un consecuente aumento de su factibilidad económica (Ward et al., 2008).

En Cuba el desarrollo del biogás ha estado dirigido fundamentalmente al tratamiento de excretas de producciones pecuarias y residuales de algunas industrias (destilerías y cervecerías), con el fin de disminuir su carga contaminante. Sin embargo, otros residuos existentes en el país, viables para la producción de biogás han sido escasamente estudiados y no son considerados como sustratos potenciales a pesar de su alta disponibilidad. Dentro de éstos se encuentra la cachaza, subproducto obtenido durante el proceso de fabricación de azúcar de caña en la etapa de clarificación y filtración del jugo de caña.

La cachaza se caracteriza por un alto contenido de materia orgánica (157 g kg<sup>-1</sup> expresada como Demanda Química de Oxígeno (DQO)) (Baez-Smith, 2008 ), así como de micronutrientes tales como nitrógeno, fósforo, calcio, potasio, magnesio, manganeso y zinc (Rouf et al., 2010), por lo que es considerado un material con un alto potencial para procesos de bioconversión. Ésta se emplea principalmente como mejorador de suelos en la agricultura cañera, en la alimentación del ganado vacuno y en la extracción de ceras y aceites para la obtención de productos de alto valor agregado (ICIDCA, 1990; Vera, 2000). Sin embargo, debido a dificultades con su manejo y transportación, en la mayoría de los centrales azucareros de Cuba, la cachaza es dispuesta directamente en los campos de caña o abandonada en el terreno. Una alternativa poco explotada es su tratamiento por DA, con lo cual se obtendría un combustible (biogás) y un fertilizante orgánico a partir del efluente digerido. De esta forma se evitaría la emanación de sustancias

volátiles durante la descomposición aerobia-anaerobia a cielo abierto de la cachaza (Rouf et al., 2010). El estudio de la cachaza para procesos de DA ha sido reportado anteriormente a escala de laboratorio (Guillermo-Nuñez, 1986; Sánchez et al., 1996; Rouf et al., 2010), de campo (Barreto Torrella et al., 2006) y recientemente ha sido instalada la primera planta a escala industrial con una alimentación diaria de  $100 \text{ t d}^{-1}$ , en Kolhapur, estado de Maharashtra, India (Totla et al., 2015). Otros estudios realizados por Fonte y Tabla (1999) y Leite et al. (2015a) han reportado la presencia de una fase de retardo durante el procesamiento de cachaza fresca, demostrando que la fase de hidrólisis puede ser la fase controlante en la DA de la misma.

De acuerdo al alto contenido de materia orgánica insoluble (85%) presente en la cachaza, la inclusión de una etapa de pre-tratamiento previo al proceso de DA promovería una conversión más eficiente de la biomasa recalcitrante. Esto posibilitaría la aceleración del proceso de hidrólisis y por tanto mejoraría la producción de biogás (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). Los métodos de pre-tratamientos se pueden clasificar en mecánico, físico, térmico y químico, así como métodos biológicos (Tahezadeh y Karimi, 2008). Dentro de los mencionados pre-tratamientos, el termo-alcálico y el de agua caliente presurizada (LHW, por sus siglas en inglés), son algunos de los más prometedores debido a la baja formación de inhibidores, a la no necesidad de usar agentes neutralizantes posterior al pre-tratamiento y a los bajos costos comparados con otros tipos de pre-tratamientos (Tahezadeh y Karimi, 2008; Hendriks y Zeeman, 2009).

El pre-tratamiento termo-alcálico, usando diferentes reactivos químicos, ha sido aplicado para varios tipos de biomasa como el helecho y el heno (Fernandes et al., 2009), la fracción sólida de excreta porcina (Rafique et al., 2010), el ensilaje de hierba seca (Xie et al., 2011), los residuos de tubos de papel (Teghammar et al., 2010), la paja de trigo y el ensilaje de forraje de sorgo (Sambusiti et al., 2013). Las condiciones de pre-tratamiento aplicadas fueron diferentes en cada estudio obteniéndose resultados positivos para cargas de álcalis entre 4-10%  $\text{g g}^{-1}$  sólidos totales (ST) en tres intervalos de temperatura con diferentes tiempos de aplicación: a bajas temperaturas ( $25 - 40^\circ\text{C}$ ) con tiempos entre 7 horas y 6 días, a temperaturas medias ( $70 - 85^\circ\text{C}$ ) con tiempos entre 1 y 16 horas y a altas temperaturas ( $100^\circ\text{C}$ ) con tiempos entre 0,5 y 1,9 horas.

Estudios precedentes aplicados a la cachaza reportan el uso de los pre-tratamientos alcálico ( $\text{Ca(OH)}_2$ ,  $30^\circ\text{C}$ ) y térmico ( $50^\circ\text{C}$ ,  $75^\circ\text{C}$  y  $100^\circ\text{C}$ ) (López, 2000). Aunque se exponen resultados favorables para el pre-tratamiento químico, cuando se trabaja hasta cargas orgánicas volumétricas de  $3 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  (sólidos volátiles SV) la productividad de biogás es similar para ambos pre-

tratamientos. No se reportan estudios con la aplicación de la combinación de estos pre-tratamientos para la cachaza, lo cual se presenta como novedad en el presente trabajo.

El pre-tratamiento LHW ha sido aplicado a una variedad de sustratos con resultados efectivos. Dentro de las biomásas estudiadas se reportan la fracción líquida y sólida de la excreta vacuna (Budde et al., 2014), la paja de trigo (Chandra et al., 2012c), la paja de arroz (Chandra et al., 2012a), la torta de aceite de girasol (Monlau et al., 2013a) y el residuo de la fruta del aceite de palma (O-Thong et al., 2012). Sin embargo, no se encontró referencia a su uso para la cachaza. En los experimentos realizados con este tipo de pre-tratamiento se obtuvo que el empleo de temperaturas medias (120–170°C), con tiempos entre 5 y 30 minutos, fue más efectivo para sustratos como la paja de trigo, la fracción líquida y sólida de la excreta vacuna y la torta de aceite de girasol, mientras que para alcanzar altos incrementos en el rendimiento de metano de la paja de arroz y el residuo de la fruta del aceite de palma fue necesario aplicar altas temperaturas (200-230°C) con tiempos entre 10 y 15 minutos. En los mencionados estudios se obtuvieron bajos niveles de incremento en el rendimiento de metano para la paja de trigo y la fracción líquida y sólida de la excreta vacuna a temperaturas de 200°C y 180°C, debido a la presencia de inhibidores y otras sustancias no digeribles en la biomasa pre-tratada.

Se infiere por tanto que la composición química y las propiedades estructurales de la biomasa determinan la efectividad del pre-tratamiento. De esta forma, los tratamientos beneficiosos para un sustrato no lo serán para otro, por lo que cada uno debe estudiarse de forma independiente.

Otra variante utilizada con el objetivo de incrementar la biodegradabilidad y estabilizar el rendimiento de metano en el proceso de DA, es la co-digestión con otros sustratos. La co-digestión permite mejorar el rendimiento de biogás debido a sinergismos establecidos por medio de la digestión y la compensación de nutrientes entre los sustratos co-digeridos (Mata-Alvarez et al., 2011). Se ha reportado su uso para obtener un mejor balance en parámetros de alimentación tales como: relación C/N, pH/alcalinidad, macro y micronutrientes, compuestos inhibidores/tóxicos, materia orgánica biodegradable y materia seca, sin embargo no todas las mezclas son favorables a la DA por lo que es importante realizar estudios para cada caso (Pagés-Díaz et al., 2014). Esta alternativa ha sido aplicada a la cachaza usando como co-sustratos los residuos generados en la propia agroindustria como la paja de caña de azúcar, el bagazo y las aguas residuales (Guillermo-Nuñez, 1986; Rouf et al., 2010; Janke et al., 2016), con incrementos entre 13-58% en la producción de biogás. Sin embargo, la co-digestión de la cachaza con las

vinazas de destilería de alcohol no ha sido estudiada, lo cual también resulta novedad del presente trabajo.

Aunque existen pocos estudios que utilizan la cachaza como sustrato para la producción de biogás, los resultados alcanzados hasta el momento indican que la etapa de hidrólisis es limitante cuando se incrementan las cargas hidráulicas y la orgánica volumétrica (López, 2000), ocasionando un desbalance de las etapas de la DA. Sin embargo, el proceso puede ser favorecido y la biodegradabilidad de la cachaza (en términos de rendimiento de metano) puede ser incrementada con alternativas de pre-tratamiento y/o co-digestión. Consecuentemente, con los aspectos antes mencionados se puede plantear el siguiente **problema científico**: ¿Qué efecto tendría la aplicación de los pre-tratamientos termo-alcalino y el de agua caliente presurizada a la cachaza, así como su co-digestión con vinaza, sobre la biodegradabilidad de la misma en términos de rendimiento de metano?

De acuerdo al análisis realizado se plantea como **objetivo general**: determinar el efecto de la aplicación de los pre-tratamientos termo-alcalino y el de agua caliente presurizada a la cachaza, así como su co-digestión con vinaza, sobre la biodegradabilidad de la misma en términos de rendimiento de metano.

Para dar cumplimiento al objetivo general es necesario cumplir con los siguientes **objetivos específicos**:

1. Evaluar el efecto de los pre-tratamientos termo-alcalino y por agua caliente presurizada sobre el porcentaje de solubilización de la demanda química de oxígeno y el rendimiento de metano de la cachaza en sistema discontinuo.
2. Evaluar el efecto de la co-digestión de la cachaza con vinaza sobre la biodegradabilidad de la misma, en términos de rendimiento de metano.
3. Valorar la contribución energética, ambiental y económica de las alternativas propuestas.

El **objeto de estudio** se centró en el proceso de digestión anaerobia de la cachaza y como **campo de acción** se trabajó en las variantes para el incremento de la biodegradabilidad de la misma en términos de rendimiento de metano por pre-tratamiento termo-alcalino y agua caliente presurizada y la co-digestión con vinazas.

En correspondencia con los elementos señalados, se plantea como **hipótesis de la investigación**: La aplicación de los pre-tratamientos termo-alcalino y el de agua caliente presurizada a la cachaza, así como su co-digestión con vinaza, mejorarán la biodegradabilidad de la misma en

términos de rendimiento de metano.

En virtud de lo anteriormente planteado y de acuerdo a lo que se demostrará en el marco teórico y referencial, se declaran las siguientes novedades científicas:

- La evaluación del pre-tratamiento termo-alcálico de la cachaza en la solubilización de la DQO y el incremento de la biodegradabilidad de la misma en términos de rendimiento de metano.
- De igual forma se reporta el efecto del pre-tratamiento por agua caliente presurizada de la cachaza en la solubilización de la DQO y en el incremento de la biodegradabilidad de la misma en términos de rendimiento de metano.
- Se reporta por primera vez el estudio de la co-digestión anaerobia de la mezcla vinaza-cachaza.

Se exponen además como aportes científicos del trabajo bajo las condiciones estudiadas los siguientes:

- Definición de la mejor mezcla cachaza - vinaza para elevar la biodegradabilidad de la cachaza en términos de rendimiento de metano.
- Definición de la sinergia en la mezcla vinaza-cachaza sin pre-tratar y del antagonismo en la mezcla vinaza - cachaza pre-tratada sobre la biodegradabilidad de la misma en términos de rendimiento de metano.
- Determinación de las mejores condiciones para el pre-tratamiento de la cachaza, tanto termo-alcálico como con agua caliente presurizada, en función de la biodegradabilidad de la misma.
- Utilización de la severidad del pre-tratamiento como parámetro con relación a la biodegradabilidad de la cachaza en términos de rendimiento de metano.

## **Capítulo 1. Marco teórico y referencial**

### **1.1 Introducción**

En el presente capítulo se abordan temas esenciales sobre el proceso de digestión anaerobia de sustratos como la cachaza y similares. Se explica la cinética de la DA, los modelos que la describen, los parámetros más significativos que influyen en el proceso y los reactores más utilizados en el tratamiento de dichos sustratos y los que sirven de base para su co-digestión. Se exponen las alternativas existentes para el incremento del rendimiento de metano por pre-tratamiento y co-digestión. Se presenta un análisis de los pre-tratamientos más utilizados, sus efectos positivos y sus desventajas.

### **1.2 Residuos generados en un complejo azucarero-alcoholero**

En un complejo industrial sucro-alcoholero a partir de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) se generan grandes cantidades de residuos con un elevado contenido de material orgánico. Ellos son el bagazo, la paja de caña, la cachaza, las aguas residuales provenientes de la producción azucarera y las vinazas de la producción de alcohol.

La cachaza es el residuo en forma de torta que se genera en el proceso de clarificación y filtración del jugo de caña, durante la fabricación del azúcar crudo. Su producción oscila entre 2,8 y 4,5% por tonelada de caña molida (Velarde et al., 2004), con un contenido en materia orgánica, expresado como DQO de 157,02 g kg<sup>-1</sup> (Baez-Smith, 2008 ). Es un producto complejo que contiene fibra, proteína, azúcares, ceras, grasas y cenizas.

Su composición depende de varios factores: tipo de suelo, variedad de la caña, tipo de cosecha (manual o mecánica), grado de extracción del jugo, los productos que se usen durante la clarificación y el método de filtración que se emplee, entre otros. Contiene gran parte de la materia orgánica coloidal dispersa en el jugo, la que al alcalinizarse precipita con los aniones orgánicos en forma de sales, junto con otros materiales que son arrastrados en estos precipitados.

La cachaza presenta un alto contenido de carbono (33-48%ST), nitrógeno (1,10-2,50%ST), fósforo (0,65-1,8%ST) y una elevada concentración de cenizas (16-25%ST) (Gangavati et al., 2005; Gupta et al., 2011). El nitrógeno se encuentra presente como proteína (12-16%ST) y otras formas amoniacales más simples. El fósforo aparece en combinaciones orgánicas complejas como fosfolípidos y nucleoproteínas y algunas veces en forma de fosfato de calcio proveniente del proceso de clarificación. Los principales minerales presentes son: calcio (2,1-7,1%ST), potasio (0,2-0,9%ST), hierro (0,2-0,7%ST) y magnesio (0,2-0,7%ST) (Gangavati et al., 2005;

Rouf et al., 2010). Además se encuentran presentes, aproximadamente entre 10-14% de cera, grasa y resinas y 18-25% de polisacáridos. La composición química de la cera de cachaza está caracterizada por 35,5% de ácidos grasos y 60% de materia no saponificable (alcoholes) (ICIDCA, 1990). Los ácidos que mayormente se encuentran en la cera son: ácido linoleico (38,1%), ácido palmítico (29,2%) y ácido oleico (20%) (Vera, 2000), los cuales pueden ser inhibitorios en un proceso de DA si son acumulados en el reactor. La cera cruda de cachaza es refinada para la producción de alcoholes de alta masa molar con usos farmacéuticos y su fracción grasa ha sido investigada en la preparación de una emulsión de cera y como fuente generadora de ácidos grasos brutos (Casdelo Gutiérrez, 2005).

Como regla general en los países productores de azúcar de caña, la cachaza es vertida al suelo y usada como fertilizante, cruda o después de su compostaje. Tal uso es limitado por los costos de transportación y la capacidad de los suelos para aceptarla por lo que la mayor parte queda a la intemperie provocando contaminación ambiental. Su aplicación, luego de un proceso de compostaje, trae beneficios en el rendimiento del cultivo de la caña de azúcar y en el mejoramiento de las propiedades del suelo (Velarde et al., 2004) pero también se reportan desventajas de esta práctica relacionadas con la pérdida de porosidad en el suelo (Khwairakpam y Bhargava, 2009), malos olores durante la descomposición (Tsai et al., 2003), altas temperaturas (65°C) y el largo período de descomposición (Sen y Chandra, 2007) .

El uso de la cachaza para la producción de biogás ha sido estudiado a escala de laboratorio y bajo diferentes condiciones. Se han reportado a temperaturas mesofílicas (35-37°C), rendimientos de metano variables con valores entre 142 L kg<sup>-1</sup>SV – 270 L kg<sup>-1</sup>SV, de acuerdo a la variación en los sólidos totales contenidos en el reactor, la relación inóculo:sustrato aplicada, el origen del inóculo, la biodegradabilidad de la cachaza y la colección y el almacenamiento de la cachaza (Guillermo-Núñez, 1986; Sánchez et al., 1996; Rouf et al., 2010; Leite et al., 2015a). Es importante señalar que en ensayos realizados a temperatura ambiente, entre 22°C y 29°C, con cachaza fresca y/o almacenada por 30 días a la sombra, el rendimiento de metano decreció significativamente, con un valor máximo obtenido de 90,5 L kg<sup>-1</sup>SV a una temperatura promedio de 29°C, además de un incremento en la fase de retardo que alcanzó los 4 días (Fonte y Tabla, 1999). Una fase de retardo similar fue observada también por Leite et al. (2015a) para muestras de cachaza fresca, colectadas y almacenadas a 4°C por dos meses.

Aunque el uso de la cachaza para la producción de biogás es una alternativa que ha sido reportada previamente a escala de laboratorio (Guillermo-Nuñez, 1986; Sánchez et al., 1996; Rouf et al., 2010; Leite et al., 2015a), de campo (Barreto Torrella et al., 2006) y más recientemente a escala industrial (Totla et al., 2015), son escasos los reportes sobre métodos de pre-tratamiento para incrementar el rendimiento de metano del proceso. Atendiendo al contenido de insolubles presentes en la cachaza, el uso de una etapa de pre-tratamiento antes de la digestión anaerobia permitiría mejorar la etapa de hidrólisis y con ello la biodegradabilidad del material. En la literatura consultada se reporta el uso del pre-tratamiento alcalino de la cachaza con  $\text{Ca(OH)}_2$  a  $30^\circ\text{C}$  y el térmico a  $75^\circ\text{C}$  (López, 2000). La autora en su investigación obtuvo una solubilización de la DQO de un 14,5% a partir de una adición de  $3,18 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{Ca(OH)}_2$  y 7 horas de tiempo de pre-tratamiento. También se ha reportado, con resultados positivos en la producción de biogás (13-58% de incremento), la co-digestión de la cachaza con otros residuos de la industria azucarera como el bagazo y la paja de caña (Rouf et al., 2010; Janke et al., 2016) y las aguas residuales de la industria azucarera (Guillermo-Nuñez, 1986).

Por otra parte, otro residuo potencial procedente de la industria alcohólica es la vinaza. Esta tiene un pH entre 3,5 y 5,0, un color carmelita oscuro y una alta DQO entre 50 y  $150 \text{ g L}^{-1}$  (Barrera et al., 2014). Su uso principal por su alto contenido de nutrientes y materia orgánica es en el fertirriego de la caña de azúcar (Christofolletti et al., 2013). Sin embargo, la presencia de compuestos fitotóxicos, antibacteriales y recalcitrantes tales como fenoles, polifenoles y metales pesados, causan efectos negativos sobre los microorganismos y las plantas de las áreas fertirregadas (España-Gamboa et al., 2012). También la continua aplicación de vinaza con alto contenido de potasio, calcio y magnesio, trae como consecuencia la saturación de la capacidad de intercambio catiónico del suelo, favoreciéndose el proceso de lixiviación (Soler da Silva et al., 2012).

El tratamiento anaerobio de la vinaza, antes de su disposición, es una alternativa para minimizar los mencionados problemas. En ese sentido, la máxima producción de metano reportada ha sido de  $0,34 \text{ m}^3$  por kg de DQO eliminada (Harada et al., 1996). Sin embargo, durante el proceso de DA de la vinaza se ha evidenciado la presencia de inhibidores al proceso tales como altas concentraciones de sales (principalmente  $\text{K}^+$ ), sulfato, ácidos grasos volátiles y melanoidinas (Driessen et al., 1994; Barrera et al., 2014).

Otra característica importante de la vinaza es su color, causado por la presencia de compuestos fenólicos (ácido tánico y ácido húmico), melainodinas formadas a partir de la reacción de los azúcares con las proteínas (reacción de Maillard), caramelización debido al sobrecalentamiento de los azúcares y furfural de la hidrólisis ácida (Wilkie et al., 2000). Dichos compuestos son reconocidos por ser inhibitorios a la digestión anaerobia.

Las cantidades de nitrógeno y fósforo contenidas en la vinaza de caña de azúcar reportadas por Obaya et al. (2004) son de 0,04 g L<sup>-1</sup> y 18,12 g L<sup>-1</sup>. De acuerdo a la relación DQO:N:P de 100:0,75:0,25 necesaria para procesos anaerobios (Mc Carty, 1964), el fósforo contenido en el residual es suficiente, no así el nitrógeno que debe ser suplementado con una fuente adicional, o con otro sustrato que aporte este nutriente como lo es la cachaza. También la mezcla con cachaza podrá reducir el efecto inhibitorio del sulfato al decrecer la relación SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>/DQO contenido en el reactor, así como disminuir el porcentaje de sulfuro de hidrógeno en la composición del biogás generado.

Se conoce de la existencia de tecnologías maduras en el tratamiento anaerobio de las vinazas (España-Gamboa et al., 2011), pero no existen trabajos que exploren sobre el efecto de la adición de vinaza en la DA de la cachaza.

### **1.3 Fundamentos de la digestión anaerobia**

La digestión anaerobia es la conversión biológica de sustratos orgánicos y ocasionalmente inorgánicos, por un complejo ecosistema de microorganismos, con la ausencia de una fuente de oxígeno. Durante este proceso la materia orgánica es convertida principalmente a metano, dióxido de carbono y biomasa microbiana (Batstone y Jensen, 2011).

En la DA más del 90% de la energía disponible por oxidación directa se transforma en metano, consumiéndose sólo un 10% de la energía en crecimiento bacteriano frente al 50% consumido en un sistema aerobio. Lo anterior implica un bajo rendimiento microbiano y por ende la necesidad de utilizar altos tiempos de retención de sólidos para evitar el lavado de la biomasa activa. Con este fin se recomienda manejar tiempos de retención de líquidos elevados o separación de los tiempos de retención para líquido y sólidos.

La tecnología de DA resulta un método más eficiente, en comparación a otros procesos de conversión biológicos y termoquímicos, tales como el etanol celulósico en términos de relación de salida/entrada de energía (28/1) (Deublein y Steinhauser, 2011) cuando la biomasa es utilizada en la generación de energía a partir de metano. Otro beneficio de la DA es la reducción de las

emisiones de metano ocasionadas por la auto-descomposición de la biomasa en terrenos u otros ambientes. Esto está dado por el potencial de calentamiento global del metano estimado en 34 t CO<sub>2</sub> equivalente, si se considera el efecto del retroceso del carbono en el cambio climático (IPCC, 2013), mientras que la tecnología de DA captura y utiliza el metano para la generación de energía (Rutz y Janssen, 2008), cerrando adecuadamente el ciclo de carbono utilizado por la biomasa para su formación y crecimiento.

### 1.3.1 Procesos que intervienen en la digestión anaerobia

El proceso de biodegradación comprende varias reacciones en serie o en paralelo llevadas a cabo por diferentes grupos de microorganismos, relacionados entre ellos. Los principales pasos son hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Fig. 1.1).

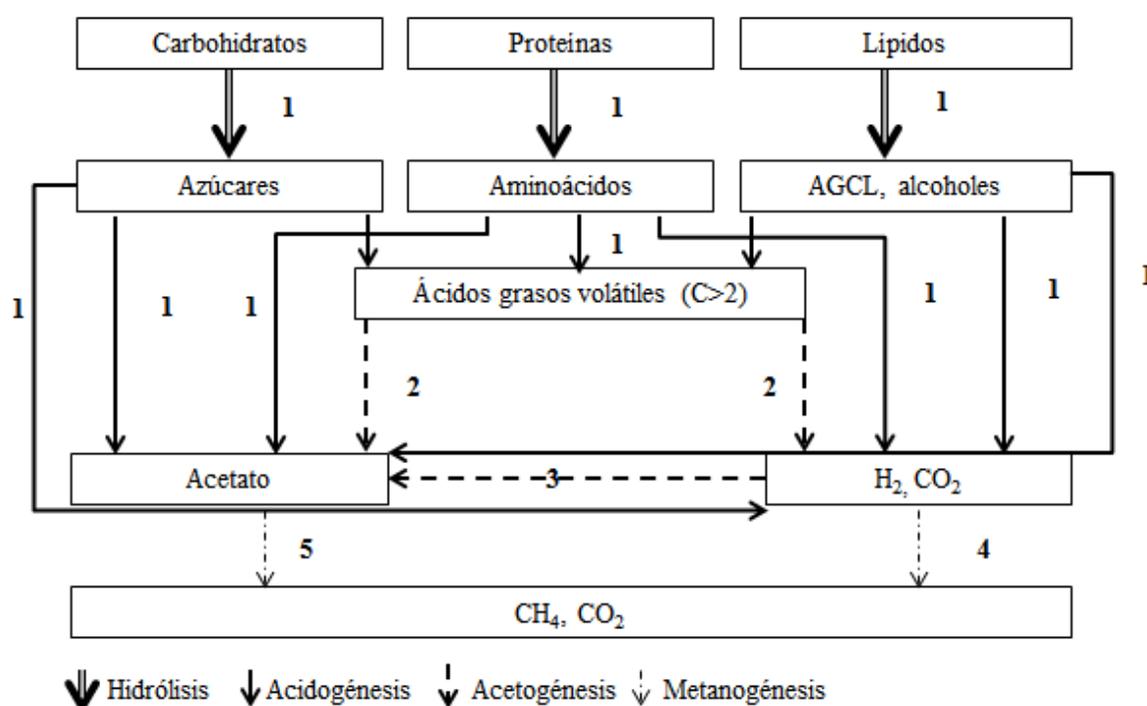


Figura 1.1. Esquema de reacciones de la digestión anaerobia de materiales poliméricos. Los números indican los microorganismos responsables del proceso: 1: bacterias fermentativas; 2: bacterias acetogénicas que producen hidrógeno; 3: bacterias homoacetogénicas; 4: archaeas metanógenas hidrogenotróficas; 5: archaeas metanógenas acetoclásticas. Adaptado de Pavlostathis y Giraldo-Gómez (1991).

En la fase de hidrólisis la materia orgánica compleja (carbohidratos, proteínas y lípidos) es solubilizada por la acción de varias enzimas extracelulares (Tabla 1.1) en azúcares, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga (AGCL). Posteriormente, en la acidogénesis, los compuestos

solubles son convertidos a ácidos grasos volátiles y alcoholes con menos de 5 unidades de cadena de carbono, además de dióxido de carbono, amonio e hidrógeno. Durante este paso puede ocurrir la acumulación de algunos compuestos intermedios, tales como acetato, propionato, butirato o etanol, en dependencia de la producción de hidrógeno. En la etapa de acetogénesis dichos compuestos intermedios son degradados a ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono. La última etapa del proceso, la metanogénesis, es llevada a cabo por archaeas metanógenas que forman el CH<sub>4</sub> (Pereda Reyes et al., 2015).

A continuación y por su relevancia en la presente investigación, se tratarán los parámetros, ecuaciones químicas y elementos que caracterizan cada etapa de la DA.

### **Hidrólisis**

La hidrólisis es el primer paso necesario para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos siendo más difícil en aquellos cuya composición es más compleja. Cuando se tratan residuos con alto contenido en sólidos, la etapa hidrolítica puede ser la etapa limitante de la velocidad del proceso global (Taherzadeh y Karimi, 2008).

Los carbohidratos se originan directamente o indirectamente de las plantas. Generalmente el material de las plantas está formado por una mezcla de celulosa, hemicelulosa y lignina los cuales se encuentran asociados entre sí. La celulosa está compuesta por una cadena lineal de unidades de D-glucosa unidas por β-1,4 enlaces glucosídicos (Fengel y Wegener, 1984). La celulosa contiene dos regiones, una con forma cristalina (alta cristalinidad) y la otra amorfa (baja cristalinidad). A un mayor índice de cristalinidad, más difícil será la degradación de la celulosa. Por otra parte, la celulosa está organizada en microfibras adheridas unas con las otras por la hemicelulosa y lignina, lo cual dificulta aún más el ataque químico o biológico a la celulosa (Zheng et al., 2014). En contraste con la celulosa, la hemicelulosa es más amorfa, aleatoria, compuesta por polisacáridos de varias pentosas (xilosa, arabinosa), hexosas (manosa, glucosa, galactosa, ramnosa) y ácidos (ácido glucorónico, ácido metilglucorónico y ácido galacturónico). Su baja masa molar, en comparación al de la celulosa posibilita que los polímeros contenidos sean más La lignina es un polímero denso tridimensional de moléculas aromáticas (Batstone y Jensen, 2011). Es un material altamente refractario a la degradación anaerobia, afectando también la biodegradabilidad de la celulosa, la hemicelulosa y de otros polímeros, convirtiéndose su degradación en el proceso limitante de la velocidad de la hidrólisis y por tanto, de la degradación anaerobia de sustratos lignocelulósicos (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991; Yang y Kataeva,

2009).

Las proteínas son polímeros naturales compuestos por diferentes aminoácidos unidos a través de enlaces peptídicos. La estructura de las proteínas es uno de los factores que afectan su velocidad de hidrólisis. Las proteínas globulares son fácilmente hidrolizables, mientras que las del tipo fibroso son más difíciles de hidrolizar (Batstone y Jensen, 2011). Las proteínas son hidrolizadas por proteasas en proteosomas, peptonas, péptidos y aminoácidos. Generalmente, la tasa de hidrólisis de las proteínas es menor que la de los carbohidratos (Tabla 1.1).

fácilmente hidrolizables (Zheng et al., 2014).

Tabla 1.1. Velocidad promedio de hidrólisis ( $k_H$ ) de diferentes sustratos orgánicos a 34-40°C basado en una cinética de primer orden (Gujer y Zehnder, 1983).

Biopolímero	Productos de la hidrólisis	Enzimas	$k_H$ (d <sup>-1</sup> )
Lípidos	Ácidos grasos	Lipasa	0,4 - 0,6
	Glicerol		0,1 - 1,7
	Alcohol		0,08
Proteínas	Polipéptido	Proteasa	0,02
	Oligopéptido	Peptidasa	0,03
	Aminoácidos		
Celulosa	Polisacáridos	Celulasa	0,04
	Oligosacáridos		0,10
	Glucosa		
Hemicelulosa	Polisacáridos	Hemicelulasa	0,54
	Oligosacáridos	Xilanasa	
	Pentosas		
	Hexosas		

Los lípidos son cadenas de glicerol unidos a ácidos grasos de cadena larga, alcoholes y otros grupos por enlaces tipo éster. El mayor componente de los lípidos son los ácidos grasos esterificados, que pueden sumar de un 50% a un 70% del total, seguido de un 15% a un 25% de sustancias no saponificables. La degradación de lípidos en ambientes anaerobios consiste en una ruptura inicial de las grasas por un grupo de enzimas hidrolíticas (lipasas) en los correspondientes AGCL y moléculas de glicerol (Cirne et al., 2007).

La biodegradabilidad de los lípidos puede verse afectada por el fenómeno de flotación, lo cual resulta en un lavado de la biomasa; la baja área superficial de los agregados flotantes en relación a su volumen, lo que hace más lenta su biodegradación (Li et al., 2013) y por la acumulación de AGCL (Nielsen y Ahring, 2006). Los AGCL son tóxicos al consorcio bacteriano debido a su adsorción en la pared/membrana celular, lo cual causa interferencia en el transporte de nutrientes,

sustratos y productos (Pereira et al., 2005).

### **Acidogénesis/ Fermentación**

Las moléculas orgánicas solubles (azúcares y aminoácidos) son fermentadas por varios microorganismos formando compuestos que pueden ser utilizados directamente por las arqueas metanogénicas (ácido acético, ácido fórmico, H<sub>2</sub>) y compuestos orgánicos más reducidos (ácido láctico, etanol, ácido propiónico y ácido butírico, principalmente), que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas a sustratos que puedan utilizar las arqueas metanogénicas. La mezcla de los productos formados está en función de varias condiciones ambientales entre las que se encuentran: pH, concentración de hidrógeno en la fase gaseosa, temperatura y tiempo de retención de la biomasa (Batstone y Jensen, 2011).

### **Acetogénesis**

En esta etapa los ácidos orgánicos (ácido valérico, ácido butírico, ácido propiónico), algunos aminoácidos y alcoholes son convertidos en productos más sencillos: acetato e hidrógeno, a través de las bacterias acetogénicas. Existe solo un intervalo muy estrecho de concentraciones de hidrógeno a los cuales estas reacciones ocurren de acuerdo al tipo de sustrato, siendo el caso de la degradación de propionato el más complicado con una presión parcial de hidrógeno de 10 Pa (Batstone y Jensen, 2011).

Los AGCL son beta-oxidados a acetato, dióxido de carbono e hidrógeno. Las diferencias entre la velocidad de hidrólisis del lípido neutral y la  $\beta$ -oxidación de los AGCL pueden resultar en un desbalance reactante-producto y por ende, en una acumulación significativa de AGCL (Angelidaki y Ahring, 1995), cuyas consecuencias ya han sido descritas anteriormente .

### **Metanogénesis**

Los organismos metanogénicos, clasificados dentro del dominio *Archaea*, son los responsables de la formación de metano a partir de sustratos mono-carbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, formiato, metanol y algunas metilaminas. En función del sustrato principal se establecen dos grupos: los hidrogenotróficos, que consumen hidrógeno y ácido fórmico y los acetoclásticos, que consumen grupos metilos del acetato, metanol y algunas aminas (Madigan et al., 2010) .

La mayoría de los organismos metanógenos son capaces de utilizar el H<sub>2</sub> como aceptor de electrones, mientras que sólo dos géneros son capaces de utilizar el acetato. A pesar de ello, en ciertos ambientes anaerobios, éste es el principal precursor del metano considerándose que

alrededor del 70% del metano producido en los reactores anaerobios se forma a partir de acetato (Batstone et al., 2002) . Los dos géneros que tienen especies acetotróficas son *Methanosarcina* y *Methanothrix*, siendo el principal la *Methanosarcina sp.*, la cual es capaz de convertir a metano otros sustratos orgánicos además del acetato entre los que están H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, metanol, formiato, metilaminas y además el CO (Thauer et al., 2008).

Una de las principales desventajas de la DA es la sensibilidad de los metanógenos a diferentes factores ambientales. Un desbalance de nutrientes, un abrupto cambio de pH, un incremento en el contenido de sales, una alteración de la carga orgánica volumétrica o la introducción de algún compuesto tóxico frecuentemente causan fallos en el proceso de DA (Chen et al., 2008; Wijekoon et al., 2011). Esto se debe a su baja velocidad de crecimiento en comparación con la de las bacterias acidogénicas y acetogénicas, lo cual causa un desacople entre las bacterias acetogénicas y los metanógenos. Los efectos sobre el sistema están en función de la comunidad microbiana presente. Se ha probado que la *Methanosarcina sp.* es un metanógeno robusto, capaz de tolerar concentraciones de amonio superior a 7000 mg L<sup>-1</sup>, concentraciones de sales hasta de 18 000 mg Na<sup>+</sup> L<sup>-1</sup>, cambio de 0,8 a 1,0 unidades de pH y concentraciones de acetato de 15 000 mg DQO L<sup>-1</sup> (De Vrieze et al., 2012).

Es por ello que el proceso de DA puede verse afectado por parámetros operacionales y de control, así como por posibles efectos inhibitorios los cuales determinan no solo la cinética del proceso sino el rendimiento de la producción de metano.

### **1.3.2 Parámetros ambientales y de control**

El proceso de DA depende de una serie de parámetros como pH, temperatura, tiempo de retención hidráulica, relación C/N, entre otros. Dichos parámetros deben mantenerse en un intervalo de valores óptimos con vistas a alcanzar una alta eficiencia del proceso. En caso contrario, es posible tener consecuencias no deseadas tales como la afectación a la estabilidad del proceso, aplicación de baja carga orgánica volumétrica y una lenta recuperación después del fallo operacional (Yadvika et al., 2004).

### **Tipos de sustrato y nutrientes en la DA**

El rendimiento de biogás y su contenido en metano dependen principalmente del tipo de sustrato, de la edad del lodo, la tecnología de DA, la temperatura y el tiempo de retención (Braun, 2007). El rendimiento teórico varía de acuerdo a su contenido de carbohidratos, proteínas y grasas (Pagés Díaz et al., 2011).

La biomasa necesita para su crecimiento del suministro de una serie de macronutrientes como carbono, nitrógeno, hidrógeno, fósforo, potasio y azufre y también de micronutrientes como hierro, cobalto, níquel, cobre, molibdeno, selenio, tungsteno y zinc, así como vitaminas (González-Suárez et al., 2016).

Para que el digestor trabaje a plena capacidad, la relación C/N podría estar entre 10-30, con un óptimo entre 25-30 (Pereda Reyes et al., 2015). Por tanto, una baja relación C/N constituye un riesgo de inhibición por amonio al ser los metanógenos los más sensibles. Lo anterior ocasiona una acumulación de ácidos, la disminución del pH con la consecuente falla del proceso en el reactor. Las concentraciones de amonio por debajo de 200 mg L<sup>-1</sup> son consideradas beneficiosas en un proceso de DA (Chen et al., 2008). Una alta relación C/N puede llevar a rendimientos de metano más bajos al presentarse una deficiencia del nitrógeno disponible para el crecimiento celular (Alvarez y Lidén, 2008).

Por otra parte, aunque la actividad específica de la biomasa depende de muchos factores, la ausencia de un simple elemento en traza puede limitar severamente todo el proceso (González-Suárez et al., 2016). Los elementos traza níquel, cobalto y selenio son considerados de gran importancia desde que son cofactores de las enzimas y por tanto, influyen en el crecimiento y metabolismo de la comunidad microbiana (Feng et al., 2010).

### **Temperatura**

Los microorganismos que intervienen en un proceso de DA tienen diferentes intervalos de temperatura para el cual su crecimiento es óptimo: psicrófilico (< 25°C, óptimo 10°C), mesófilico (25-45°C; óptimo 37°C) y termófilico (45-65°C, óptimo 50°C), siendo la tasa máxima específica de crecimiento mayor conforme aumenta la temperatura (Madigan et al., 2010).

### **pH y alcalinidad**

Los microorganismos, principalmente los metanógenos, en un reactor anaerobio son muy sensibles al pH por lo que es de vital importancia el control de este parámetro. El intervalo óptimo para la DA está entre 6,5-8,0 para los metanógenos y entre 5,0-8,5 para los acetógenos. El intervalo óptimo de pH para la producción de metano se ha reportado entre 6,8-7,2 (Yadvika et al., 2004), sin embargo la producción de biogás puede ocurrir de forma satisfactoria dentro del intervalo 6,5 – 8,5. Fuera de estos intervalos el proceso puede sufrir un desbalance (Weiland, 2010).

El pH del sistema depende de la velocidad a la cual se forman los intermediarios durante la degradación. Una caída del pH por debajo de 6,6 afecta de forma adversa la actividad de los

metanógenos, resultando en tóxicos valores de pH de 6,2. Solo la *Methanosarcina* es capaz de permanecer a valores menores de 6,5, no siendo así para el resto de los metanógenos. La producción de ácido, sin embargo, se mantiene aún a dicho pH. Los acidogénicos pueden continuar su producción de ácidos a 4,5-5,0 (Chandra et al., 2012b). Según Leitão et al. (2006) el proceso de inhibición puede ser completamente reversible, aunque el tiempo de recuperación depende de la duración de la alteración.

Para mantener un pH estable y neutral es importante tener una alta y estable alcalinidad. La alcalinidad es la medida de la cantidad de los compuestos básicos en el reactor. La alcalinidad a pH neutral, como opera regularmente un sistema de DA, está basada principalmente en el equilibrio químico dióxido de carbono-bicarbonato. Sin embargo, los sustratos ricos en proteínas liberan amonio cuando son degradados, el cual contribuye a la alcalinidad en la forma de bicarbonato de amonio, luego de su reacción con el CO<sub>2</sub> alterando la determinación de la alcalinidad total.

La relación de alcalinidad AGV/AI (*FOS/TAC* por sus siglas en alemán), se define como la relación entre la alcalinidad debida a los ácidos grasos volátiles (AGV) y la debida al bicarbonato (AI), recomendándose no sobrepasar un valor de 0,3-0,4 para evitar la acidificación del reactor (Contreras, 2013). La alcalinidad al bicarbonato debe mantenerse por encima de 2 500 mg/L para asegurar la estabilidad del digester (Leitão et al., 2006).

### **Inhibición y toxicidad**

La inhibición es una deficiencia de las funciones bacteriales, mientras que la toxicidad es un efecto adverso (no necesariamente letal) sobre el catabolismo bacterial (Speece, 2008). Generalmente, la inhibición resulta reversible, mientras que los efectos de los tóxicos resultan irreversibles. La magnitud del efecto tóxico de una sustancia puede ser reducida significativamente por la aclimatación de la población de microorganismos al tóxico.

La inhibición es el fenómeno más común en la digestión anaerobia. Los mecanismos se basan en un decrecimiento de la energía disponible a partir del metabolismo, o en un incremento de la energía necesaria para el mantenimiento. Las formas más comunes de inhibición son: inhibición por pH, inhibición iónica, inhibición por productos e inhibición por ácido y base débil (Batstone y Jensen, 2011).

**Inhibición por pH:** La digestión anaerobia opera mejor a pH por debajo de 8, decreciendo la actividad de los microorganismos por encima de este valor debido a la formación de amoníaco

libre (Angelidaki y Ahring, 1993). Por otra parte, cuando se aplican altas cargas el pH puede disminuir de 7, lo cual provoca que la metanogénesis acetoclástica, con pH óptimo entre 7 y 8, sea inhibida. Como consecuencia ocurre un decrecimiento del pH a causa de la acumulación de los ácidos grasos volátiles en el sistema.

**Inhibición iónica:** Los mecanismos de la inhibición iónica se basan en un incremento de los requerimientos de energía, debido a un incremento de la presión osmótica. El sodio es el ion más relevante con un  $IC_{50}$  (concentración para 50% inhibición) entre 5 y 30 g L<sup>-1</sup>, dependiendo del nivel de aclimatación, función e iones antagonistas o sinérgicos (Chen et al., 2008). La aclimatación es lo que más frecuentemente ocurre en la DA (Batstone y Jensen, 2011).

Otros cationes como calcio y potasio pueden resultar inhibidores a altas concentraciones, pero su concentración de inhibición depende de la presencia de posibles iones antagonistas. El potasio es antagonista del sodio, del magnesio y del calcio; el sodio lo es del amonio, potasio, magnesio y calcio; el calcio del potasio; el magnesio del potasio, y el amonio del potasio (Chen et al., 2008).

**Inhibición por productos:** ocurre cuando los productos formados convierten la reacción en no favorable con una energía libre positiva. El caso más común es la inhibición de la acetogénesis del propionato causada por la acumulación de altos niveles de hidrógeno por encima de 10 Pa, o una acumulación sustancial de acetato (Batstone y Jensen, 2011). Si bien el máximo nivel de ácido propiónico (HPr) tolerable en un reactor anaerobio varía de acuerdo al tipo de sustrato y al reactor utilizado, los valores típicos informados en la literatura oscilan entre 0,8 g HPr L<sup>-1</sup> (1,2 g HPr-DQO L<sup>-1</sup>) (Mosche y Jordening, 1998) y 2 g HPr L<sup>-1</sup> (3 g HPr-DQO L<sup>-1</sup>) (Barredo y Evison, 1991).

**Inhibición por ácidos y bases débiles:** es causada por el transporte pasivo de ácidos no cargados (ej. ácidos orgánicos) o bases (ej. amoníaco) dentro de la célula. Estos ácidos y bases se disocian o asocian dentro de la célula para afectar la homeostasis. Lo anterior causa un incremento en los requerimientos para el mantenimiento celular.

La acumulación de propiónico en el reactor, especialmente de la forma no ionizada (presente a pH <5,5), puede inhibir la acetogénesis a partir de propiónico (Palmqvist y Hahn-Hägerdal, 2000) y la metanogénesis acetoclástica. Por el contrario, Ahring et al. (1995) concluyeron que concentraciones de ácidos grasos volátiles por debajo de 50 mM, equivalente a 3000 mg acético/L, no producen ninguna disminución de la producción de metano. La adición de una

apropiada cantidad de álcalis se recomienda para neutralizar los ácidos dentro del reactor y estabilizar el pH en el intervalo óptimo recomendado (6,8-7,2) (Leitão et al., 2006).

Debido a todo lo anterior cada sustrato debe ser analizado y de acuerdo a sus características se debe valorar las alternativas que favorezcan la etapa de hidrólisis vía pre-tratamiento, o contrarrestar los efectos de las sustancias inhibitorias y tóxicas presentes en el medio. Esto se puede lograr por adaptación de los microorganismos a dichas concentraciones inhibitorias, como fue mencionado anteriormente, pero también mediante el uso de la co-digestión con otros residuos, como alternativa para contrarrestar o disminuir agentes tóxicos a la DA.

### **Formación de otros compuestos inhibitorios a la digestión anaerobia**

En general la selección de los parámetros durante la DA y principalmente durante diferentes alternativas de pre-tratamiento resulta un aspecto importante debido a la formación potencial de compuestos tóxicos que pueden inhibir el proceso de digestión anaerobia, decreciendo la productividad y/o el rendimiento de metano.

Los polisacáridos pueden ser degradados y los azúcares resultantes pueden ser descompuestos a ácidos carboxílicos, furanos derivativos y fenólicos (Palmqvist y Hahn-Hagerdal, 2000). Los furanos derivativos incluyen furfural y 5- hidroximetilfurfural (HMF) y son producidos durante la degradación de las pentosas y hexosas, respectivamente.

El furfural decrece la velocidad específica de crecimiento, pero puede ser degradado a metano con una eficiencia de conversión superior al 80% (Monlau et al., 2013b). Sin embargo, concentraciones superiores a 84 mmol g<sup>-1</sup>, decrecieron la eficiencia debido a la muerte celular (Palmqvist y Hahn-Hagerdal, 2000).

El HMF puede ser degradado más lentamente que el furfural, debido a la baja permeabilidad de la membrana celular, por lo que produce una fase de retardo más larga. La producción de metano se inhibió a concentraciones de HMF superior a 10 g/L (Monlau et al., 2013b). Barakat et al. (2012), mostró rendimientos de metano de 430 y 450 mL g SV<sup>-1</sup> cuando el furfural e HMF se alimentaron a 2 g L<sup>-1</sup> como única fuente de carbón, pero con una fase de retardo de 4 y 14 días, respectivamente. Es posible una adaptación de los microorganismos a estos compuestos mediante la síntesis de nuevas enzimas o coenzimas (Palmqvist y Hahn-Hagerdal, 2000).

El ácido fórmico es producido durante la degradación de furfural y HMF, mientras el ácido levulínico es formado por la degradación de HMF. Los ácidos inhiben el crecimiento celular, específicamente los ácidos débiles no disociados atraviesan la pared celular y se requiere energía

para ser exportados fuera de la célula (Palmqvist y Hahn-Hägerdal, 2000).

Los compuestos fenólicos son generados a partir del rompimiento parcial de la lignina y de la degradación de los carbohidratos. Estos interactúan con la membrana celular ocasionando una pérdida de la integridad de la membrana y decreciendo su permeabilidad. Sin embargo, las bacterias productoras de metano son capaces de adaptarse a tales compuestos en un cierto período de tiempo, hasta una cierta concentración (Barakat et al., 2012; Monlau et al., 2013b).

### **Carga orgánica volumétrica y tiempo de retención hidráulico**

El Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) y la Carga Orgánica Volumétrica (COV) son los principales parámetros de diseño que definen el volumen del digestor.

El TRH se define como el tiempo promedio calculado que un sustrato permanece en el digestor hasta su descarga. Su cálculo implica determinar la proporción entre el volumen efectivo del reactor ( $V_R$ ) respecto al flujo de sustrato añadido diariamente ( $Q$ ) (ecuación 1.1).

$$TRH = \frac{V_R}{Q} \quad (1.1)$$

Donde  $V_R$  se expresa en  $m^3$  y  $Q$  en  $m^3 d^{-1}$  y TRH en días.

En los reactores de tanque agitado (*continuous stirred tank reactor, CSTR*) el TRH coincide con el tiempo de retención celular, es decir de la biomasa, por lo que el tiempo de retención deberá ser suficientemente largo para permitir el desarrollo de la población bacteriana. El TRH debe adaptarse a la tasa específica de descomposición del sustrato a alimentar al reactor. Para poder mantener el proceso de digestión, debe elegirse el tiempo de retención hidráulica de tal manera que el reemplazo constante de los contenidos del reactor no elimine más microorganismos que los que el nuevo crecimiento puede reponer durante este tiempo (la tasa de duplicación de ciertas arqueas metanogénicas, por ejemplo, es 10 días (GIZ., 2013).

El TRH en reactores CSTR es frecuentemente entre 10-25 días o superior (Schnürer y Jarvis, 2009). Para la cachaza y el bagazo en monodigestión y ambos sustratos en co-digestión se usaron TRH entre 23-36 días (Janke et al., 2016), mientras que Contreras (2013) logró una operación estable del reactor para TRH de 11 días usando como sustrato la paja de arroz. Es por tanto necesario determinar, para cada tipo de residuo y de digestor, el tiempo de retención que optimiza el proceso.

La carga orgánica volumétrica (COV) es definida como la cantidad de SV ( $kg SVd^{-1}$ ) o DQO alimentados por día por unidad de volumen efectivo del digestor  $V_R$  ( $m^3$ ) (ecuación 1.2).

$$COV = \frac{SV}{V_R} \quad (1.2)$$

Altas COV posibilitan reducir el tamaño del digester y por ende su costo. Este parámetro combinado con un TRH suficiente para que los microorganismos degraden el material introducido a biogás, permite una mejor optimización del proceso. La COV para reactores CSTR en procesos de fermentación húmeda en mesofílico está entre 2-4 kg SVM<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> (Weiland, 2010).

Para determinar la biodegradabilidad de un sustrato se aplican diferentes métodos, el teórico como una aproximación rápida y fácil de realizar y el experimental con una duración entre 30-100 días, son los más usados en la actualidad.

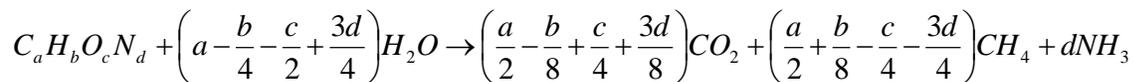
### 1.3.3 Métodos para la determinación del potencial de biogás como medida de la biodegradabilidad de los sustratos en digestión anaerobia

La biodegradabilidad es la propiedad intrínseca de una sustancia que hace referencia a la tendencia que ésta tiene a ser biológicamente degradada. Una sustancia es biodegradable si puede ser descompuesta por la acción de los microorganismos (Angelidaki et al., 2009).

Cuando la materia orgánica se degrada anaeróbicamente, el resultado final que se obtiene es carbono en su forma más oxidada (CO<sub>2</sub>) y en su forma más reducida (CH<sub>4</sub>), debido a la transferencia de electrones que tiene lugar entre sus átomos.

#### Métodos teóricos para la estimación del potencial de biogás

Si se conoce la composición elemental del material orgánico (C, H, O, N) puede asumirse que el mismo es convertido totalmente a biogás (no se tiene en cuenta material usado en la síntesis celular), entonces el rendimiento teórico potencial de metano se puede calcular a través del modelo estequiométrico de Buswell y Müller (1952) y modificado por O'Rourke (1968).



Así el rendimiento de metano teórico o estequiométrico en litros por gramo de sólidos volátiles, puede calcularse según la ecuación 1.3.

$$y_{CH_4}^{teór} = \frac{(4 \cdot a + b - 2 \cdot c - 3 \cdot d) \cdot 22,4}{(12 \cdot a + b + 16 \cdot c + 14 \cdot d) \cdot 8} \quad (1.3)$$

El potencial de metano teórico para los carbohidratos, grasas y proteínas, conociendo su fórmula química se muestra en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2. Rendimiento teórico de biogás y composición teórica para carbohidratos, grasas y proteínas (VDI 4630, 2006).

	Fórmula química	Rendimiento teórico de biogás (NI kg <sup>-1</sup> SV)	Composición teórica CH <sub>4</sub> /CO <sub>2</sub> (% Vol)	
Carbohidratos	(C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> ) <sub>n</sub>	750	50% CH <sub>4</sub>	50% CO <sub>2</sub>
Grasas	C <sub>57</sub> H <sub>104</sub> O <sub>6</sub>	1 390	72% CH <sub>4</sub>	28% CO <sub>2</sub>
Proteínas	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	800	60% CH <sub>4</sub>	40% CO <sub>2</sub>

### Métodos experimentales

Una de las más importantes herramientas para determinar la biodegradabilidad de residuos es la investigación del parámetro conocido como potencial bioquímico de metano (BMP), llamado también “potencial de metano”. Mediante el ensayo del BMP se obtiene no solo el valor del BMP, el cual es la máxima producción de metano bajo condiciones anaeróbicas para un sustrato, sino también información relacionada con la cinética de degradación del proceso (Pereda Reyes et al., 2015).

Durante dicho ensayo la producción de biogás y/o metano es monitoreada durante un período de tiempo, entre los 30-60 días hasta que esta sea despreciable entre un punto de medición y otro consecutivo (<1%) (VDI 4630, 2006).

El potencial de metano teórico calculado es frecuentemente superior al potencial de metano determinado experimentalmente. La biodegradabilidad, así como la producción eventual de inhibidores, puede limitar el potencial de biometano. Por esa razón, es recomendable usar un inóculo adaptado previamente al sustrato fuente de estudio (Angelidaki y W.Sanders, 2004).

Los ensayos de BMP pueden ser realizados en reactores a régimen discontinuo, con volúmenes entre 60 -2000 mL y régimen semicontinuo o continuo, con volúmenes de reactores superior a 5 L hasta escala piloto. Los ensayos a régimen semicontinuo permiten estudiar los efectos de la mezcla de diferentes sustratos, así como también los parámetros operacionales y la posible acumulación de compuestos tóxicos en el proceso de DA. Dichos ensayos son realizados por largos períodos de tiempo, mayor de 6 meses y son un paso previo antes de la implantación a escala industrial.

En la búsqueda de una expresión matemática que describa el comportamiento del proceso de digestión anaerobia, se decide realizar un acercamiento al análisis de los modelos más empleados y reportados en la literatura del tema.

### 1.3.4 Modelos que consideran la cinética del proceso

La interacción entre diferentes grupos microbianos durante un proceso de DA es compleja, tal como se ha explicado anteriormente. Un desbalance entre dos grupos microbianos afecta la velocidad de toda la reacción o podría causar la acumulación de inhibidores y el fallo del proceso de DA. Dentro de los cuatro grupos microbianos, son los metanógenos los de menor velocidad de crecimiento y los más sensibles a cambios en las condiciones ambientales, tales como la temperatura, el pH y la concentración de inhibidores. Es por eso que la metanogénesis es comúnmente considerada el paso limitante en un proceso de DA. Sin embargo, durante la degradación del material sólido complejo como la biomasa lignocelulósica, la hidrólisis se considera el paso limitante. La baja velocidad de hidrólisis (Tabla 1.1) es un factor limitante en la DA de residuos con un alto contenido en ST (Hendriks y Zeeman, 2009). Por ejemplo, en la degradación de los lípidos (para una  $k_H$  de  $0,2 \text{ d}^{-1}$ ), el 60% de la transformación biológica será alcanzada en 5 días. Sin embargo, para la proteína y la celulosa con una velocidad de hidrólisis más baja ( $k_H$  de  $0,02$  y  $0,05 \text{ d}^{-1}$ , respectivamente), el 60% se alcanza aproximadamente en 46 días y 19 días, respectivamente.

De forma general, en un proceso de DA el paso limitante está relacionado con la naturaleza del sustrato, la configuración del proceso, la temperatura y la COV aplicada (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).

Para describir este proceso se han desarrollado diferentes modelos matemáticos dirigidos a una mayor comprensión de los efectos inhibitorios de un proceso DA, así como como guía en la operación y optimización de reactores anaerobios (Monod, 1949; Contois, 1959; Hashimoto et al., 1979; Chen y Hashimoto, 1980). El modelo de Monod se ha aplicado en varios estudios para describir la cinética de la DA de sólidos suspendidos (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991), aunque tiene como dificultad el hecho de considerar la concentración de sustrato en el efluente (S) independientemente de la concentración de sustrato en el afluente ( $S_0$ ), además de que los parámetros cinéticos no pueden describir adecuadamente el proceso de degradación en sustratos complejos. A fin de superar las desventajas inherentes al modelo de Monod, se proponen varias formas de modelos cinéticos de primer orden. Chen y Hashimoto (1980) desarrollaron su propia ecuación para la fermentación de residuales vacunos y lodos domésticos a partir del modelo de primer orden de Contois. Este se basa en la velocidad específica de crecimiento máxima de los microorganismos e incluye bajos tiempos de retención hidráulico, sin embargo, estas

consideraciones no pueden ser aplicadas de forma similar a la digestión de otros sustratos sólidos como los cultivos energéticos (Mähnert, 2007).

El modelo de Contois y sus modificaciones son reconocidos para describir la etapa de hidrólisis de los sólidos en el tratamiento anaerobio, aunque estos se desarrollaron originalmente para sustratos disueltos y es válido que se critique su uso en la modelación de sustratos particulados, con la consecuente asimilación de nuevos modelos que describan dicho proceso.

Al revisar la literatura se aprecia un consenso en cuanto a la aplicación de modelos cinéticos de primer orden, como el propuesto por Roediger (ecuación 1.4) (Borja et al., 1991), cuando se emplea la producción de biogás o metano como parámetro indicador de la cinética en un sistema discontinuo, debido a su relación directa con el consumo de sustrato y su facilidad de medición (López, 2000; Pereda, 2007; Contreras, 2013).

$$G = G_m (1 - e^{-k \cdot t}) \quad (1.4)$$

Donde:

G: Volumen acumulado de metano después de un tiempo dado (L)

k: Constante cinética de velocidad aparente ( $d^{-1}$ )

t: Tiempo de digestión (d)

G<sub>m</sub>: Volumen máximo de metano acumulado para un tiempo de digestión infinito (L)

Esta expresión empírica refleja el efecto acumulativo de varios procesos (Eastman y Ferguson, 1981) y ha sido utilizado por varios investigadores (Mähnert, 2007; Contreras et al., 2012). En el caso de los dos últimos autores encontraron mejores correlaciones a través de modelos de primer orden modificados (modelo de Hill y modelo de Chapman) durante la degradación anaerobia de residuos lignocelulósicos.

La DA de la cachaza se estudió a través del modelo cinético de primer orden de Roediger (Sánchez et al., 1996). En dicho trabajo se analizó el comportamiento de la constante de velocidad específica (k) en función de la carga aplicada en régimen mesofílico en discontinuo. Los valores obtenidos de k decrecieron de 1,76 a 0,01  $d^{-1}$  cuando se incrementó la carga hidráulica aplicada de 40 a 140 mL  $L_{\text{reactor}}^{-1}$ . Los autores atribuyeron la inhibición a una baja actividad enzimática.

En otro estudio el efecto del pre-tratamiento térmico y por ultrasonido de la DA de diferentes sustratos, fue evaluado por varios modelos matemáticos, entre los que se incluyó el de Roediger. El modelo obtenido ajustó bien los datos experimentales con un  $R^2=0,99$  y permitió determinar el

rendimiento de metano máximo, así como comparar la cinética del proceso antes y después del pre-tratamiento aplicado (Donoso-Bravo et al., 2010).

Estos resultados ponen de manifiesto que el modelo de primer orden de Roediger es el más simple para el seguimiento del proceso de digestión, permite evaluar la cinética global de la digestión, así como posibles limitaciones durante el proceso de forma rápida y sencilla. Ha tomado una gran trascendencia en el estudio cinético de diferentes residuos sólidos, por lo que podría ser apropiado para la descripción de la cinética de degradación de la cachaza antes y después de su pre-tratamiento.

#### **1.4 Tecnologías de digestión anaerobia**

Varias tecnologías de DA han sido desarrolladas y establecidas a escala industrial. Dentro de ellas las configuraciones de reactor más comunes son el *CSTR* y el reactor de manto de lodo de flujo ascendente *Upflow Anaerobic Sludge Blanket, UASB*). El primero con mayor éxito en el tratamiento de residuos sólidos y el segundo para residuos líquidos (Weiland, 2010; España-Gamboa et al., 2012).

##### **Reactor CSTR**

En este reactor la biomasa activa es mantenida en suspensión por medio de agitación mecánica, recirculación de lodo o recirculación de biogás. Aquí el tiempo de retención de la biomasa anaerobia y el tiempo de retención hidráulico son iguales. Se recomienda en este caso cierto grado de mezcla para asegurar un contacto óptimo entre la biomasa anaerobia activa y el sustrato a ser digerido, con lo cual la producción de biogás se incrementa (Karim et al., 2005). Sin embargo, una agitación vigorosa tiene efectos negativos sobre el rendimiento de metano al inducir la formación de espuma, la destrucción de los flóculos microbianos y microorganismos filamentosos, causando así disturbios en las interacciones sintróficas.

La COV en este sistema es usualmente baja en comparación con otras configuraciones, con valores entre 2,5 y 5,0 kg DQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, aunque en algunos casos se han aplicado COV de 10,0 kg DQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> (Pycke et al., 2011; Sundberg et al., 2013).

Se reporta en la literatura el uso del reactor CSTR con resultados positivos durante la DA en monodigestión de la cachaza en términos de estabilidad del proceso y rendimiento de metano (Janke et al., 2016).

##### **Reactor UASB**

La configuración UASB es recomendable para líquidos o residuos con un bajo contenido en sólidos. La característica principal de este reactor es la presencia de una cama de lodo en el fondo del mismo consistente de gránulos, a través de los cuales tiene lugar la conversión orgánica a biogás. El reactor es operado a flujo ascendente, a una velocidad típica de  $1 \text{ m h}^{-1}$ . Debido a una activa retención de gránulos en el reactor por medio de un separador colocado en el tope del reactor, es posible trabajar a altos tiempos de retención de sólidos y a bajos TRH (hasta 2 horas). Dada las ventajas de este reactor es posible alcanzar COV de 15 hasta  $20 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  (Lettinga y Hulshoff Pol, 1991).

El reactor UASB se considera una tecnología establecida para el tratamiento anaerobio de las vinazas de destilería (Barrera et al., 2014), aguas residuales domésticas, del procesamiento de frutas y de lecherías, entre otras (Leitão et al., 2006). En la literatura se encontró una experiencia (Radjaram y Saravanane, 2011 con el uso de esta tecnología para la digestión anaerobia de la cachaza dirigida a la producción de hidrógeno, la cual tiene la limitante del alto consumo de agua o aguas residuales requerido para su dilución (10:1), además solo se aprovecha la fracción extraíble de la cachaza la cual se separa por una etapa de filtración previa a la alimentación al reactor.

### **Otras configuraciones de reactores**

Otras configuraciones utilizadas son los reactores horizontales, sistemas típicos de flujo pistón equipados con un mezclador de paletas lento. Se utilizan mayormente para la primera etapa de una configuración de reactores en dos etapas, por su posibilidad de operar a altos contenidos de ST. El volumen de reactor está limitado a un máximo de  $700 \text{ m}^3$  debido a aspectos técnicos y económicos.

Por otro lado, está la digestión en seco ( $ST > 15\%$ ), donde se aplican varios procesos en discontinuo con percolación y sin agitación mecánica. Esta configuración es aplicable principalmente en la mono-digestión de cultivos energéticos (Weiland, 2010; Contreras, 2013).

En conclusión se puede señalar que a pesar de los avances alcanzados con la tecnología de digestión anaerobia, aún la conversión del material orgánico en reactores CSTR es muy baja en comparación a las otras tecnologías presentadas, la que pudiera ser mejorada con la introducción de etapas previas de hidrólisis del material orgánico u otras estrategias de manejo de sustratos como la co-digestión.

### **1.5 Estrategias para la mejora del proceso de digestión anaerobia**

Considerables esfuerzos se realizan para mejorar la producción de biogás por DA dirigidos a la comprensión de los procesos microbianos asociados y con el objetivo de optimizar las condiciones ambientales, el diseño de los reactores y los sustratos usados (Angelidaki y W.Sanders, 2004; Carlsson et al., 2012). Dentro de las opciones disponibles en el adecuado manejo de las fuentes de biomasa disponibles están la combinación de sustratos (co-digestión) de forma que se agreguen los nutrientes complementarios al sustrato principal y/o el pre-tratamiento de los sustratos, para mejorar la biodegradabilidad de los mismos en el proceso de DA (Carlsson et al., 2012).

### **1.5.1 Pre-tratamiento**

Tal como ya se ha planteado, la cachaza es una biomasa con un alto contenido (85%) de materia orgánica suspendida (López, 2000), lo cual limita su velocidad de degradación y conduce a que la etapa de hidrólisis se convierta en limitante, disminuyendo la eficacia del proceso. Los procesos de pre-tratamiento previo a la DA son un tema de creciente interés en la actualidad. Mediante un pre-tratamiento eficaz, se puede hacer el sustrato más accesible al ataque enzimático, acelerando el proceso de digestión e incrementando la producción de biogás. De acuerdo al análisis composicional de la cachaza, esta posee dentro del material fibroso un mayor contenido de hemicelulosa (Leite et al., 2015a), por lo que la solubilización de este material resulta primordial en la selección del método de pre-tratamiento.

La selección de un pre-tratamiento depende de distintos factores tales como la efectividad del pre-tratamiento, la formación de inhibidores y el costo económico. Los principales efectos que se buscan con un pre-tratamiento son: la reducción del tamaño de partículas, la solubilización, el incremento en la biodegradabilidad y la disminución de volumen del residuo (Carlsson et al., 2012).

Los distintos métodos de pre-tratamiento que se han desarrollado se pueden clasificar según Zheng et al. (2014) en físicos, químicos y biológicos. En la Tabla 1.3 se muestra un resumen de los principales efectos positivos y negativos de la aplicación de cada uno de estos métodos en biomasa lignocelulósica.

El **pre-tratamiento físico** se refiere a aquellos métodos que no usan químicos o microorganismos durante el proceso. De acuerdo a esta clasificación el agua no es considerada un químico, no importa si está en estado líquido o gaseoso. Los métodos incluyen: reducción de tamaño (triturar o moler), explosión al vapor (*Steam Explosion-SE*, por sus siglas en inglés, o autohidrólisis),

agua caliente presurizada (*Liquid Hot Water*-LHW, por sus siglas en inglés, o termohidrólisis-TH) e irradiación (ultrasónico y microondas).

Los altos requerimientos de energía durante la reducción de tamaño y la irradiación hacen que su aplicación no sea factible económicamente en muchos casos (Holtzaple et al., 1989; Cano Herranz, 2014).

Tabla 1.3. Efecto del pre-tratamiento sobre la alteración estructural y composicional de la biomasa lignocelulósica (Adaptado de Hendriks y Zeeman (2009))

Pre-tratamiento	Incrementa área de superficie accesible	De-cristaliza la celulosa	Solubiliza hemicelulosa	Solubiliza lignina	Altera estructura de la lignina	Forma furfural/HMF
Mecánico	●	●				
Irradiación	●	○	○			○
Explosión con vapor	●		●	○	●	●
Agua caliente presurizada	●	ND	●	○	○	○
Ácido	●		●	●/○	●/○	●
Explosión con vapor catalizada	●		●	○	●	●
Alcalino	●		○	●/○	●	○
Oxidativo	●	ND		●/○	●	○
Líquido iónico	●	●	○			
Termo-ácido	●	ND	●			●
Termo-alcalino	●	ND	○	●/○	●	○
Termo-oxidativo	●	ND	○	●/○	●	○
Explosión con amonio fibra	●	●	○	●	●	○
Biológico	●	ND	●	●	●	

●= Mayor efecto, ○=Menor efecto, ND=no determinado y blanco=no efecto

Durante la SE la biomasa se somete a temperaturas entre 190-230°C mediante la inyección directa de vapor saturado (0,69-4,83 MPa), mientras que con el LHW se utiliza agua a elevada temperatura (120°C-230°C) como único solvente, manteniéndola en estado líquido por la alta presión aplicada (0,2-2,8MPa) evitando de esta forma pérdidas por volatilización como ocurre durante la explosión con vapor.

La SE y el LHW solubilizan altamente la hemicelulosa y han sido aplicados a diferentes sustratos con resultados positivos en la producción de biogás (Teghammar et al., 2010; Paoli et al., 2011; Budde, 2015). Además, se ha reportado que es posible la autosuficiencia energética del pre-tratamiento a partir del aprovechamiento de la energía térmica contenida en los gases de escape

de los grupos electrógenos alimentados con biogás (Cano Herranz, 2014).

La diferencia entre la SE y el LHW es la cantidad y concentración de productos solubilizados. En el LHW la cantidad de productos solubilizados es superior, mientras que la concentración de éstos es más baja (Bobleter, 1994) lo que permite disminuir el efecto por toxicidad o inhibición respecto a la SE. Esto es probablemente causado por la mayor entrada de agua en el LHW en comparación a la explosión con vapor. También durante el pre-tratamiento con explosión al vapor se ha reportado la pérdida de material orgánico (Carlsson et al., 2012), por lo que en el presente trabajo se decide utilizar el LHW como pre-tratamiento termo-físico para la cachaza.

### **Pre-tratamiento químico**

Dentro de los **pre-tratamientos químicos** se encuentran el oxidativo, el ácido y el alcalino. Tanto el pre-tratamiento oxidativo como el ácido solubilizan la hemicelulosa, pero presentan un alto riesgo de formación de inhibidores al proceso de DA, tales como el furfural y compuestos aromáticos derivados de la oxidación de la lignina. Su aplicación a la producción de biogás está limitada, siendo más utilizado en la producción de bioetanol (Zheng et al., 2014). Para el pre-tratamiento ácido se requiere además de reactores resistentes a la corrosión y la neutralización de la biomasa pre-tratada previa al proceso de digestión anaerobia con el objetivo de obtener un pH en el intervalo recomendado. Por su parte el pre-tratamiento alcalino, aunque solubiliza parcialmente la hemicelulosa tiene la ventaja de la baja formación de inhibidores, además existe el antecedente de un procedimiento para la mejora de la producción de biogás a partir de la cachaza con la adición de  $\text{Ca(OH)}_2$  a  $30^\circ\text{C}$  (López, 2000), sin embargo su combinación con el pre-tratamiento térmico aún no ha sido estudiada.

El **pre-tratamiento biológico** se basa en el uso de hongos, enzimas o en el ensilaje. Comparado con los tratamientos anteriores los pre-tratamientos biológicos requieren de menos energía, no usan químicos y son conducidos a condiciones ambientales moderadas por lo que la formación de inhibidores a la DA es mínima. Sin embargo, se requieren largos tiempos para el pre-tratamiento lo cual limita su uso a escala comercial (Taherzadeh y Karimi, 2008).

De acuerdo a la revisión anterior, así como a los reportes publicados por varios autores (Fdz-Polanco et al., 2008; Hendriks y Zeeman, 2009; Cano Herranz, 2014), dentro de los pre-tratamientos con alto potencial para la producción de biogás se consideran el pre-tratamiento con  $\text{Ca(OH)}_2$  y con agua caliente presurizada. La aplicación de estos pre-tratamientos a la cachaza solo se reportó para el alcalino a temperatura ambiente (López, 2000), sin embargo no se conoce

sobre los efectos que traería la combinación termo-alkalino sobre la digestión anaerobia de la misma. En el caso de los pre-tratamientos térmicos la mayoría de los reportes existentes son para lodos de depuradoras de residuales o de otros materiales con características diferentes a la cachaza. De ahí que el estudio del efecto de estos pre-tratamientos sobre la cachaza constituye el principal objeto de estudio y aporte de este trabajo. Los aspectos relacionados con los parámetros de trabajo, efectos sobre la biomasa y la producción de metano cuando se aplican ambos pre-tratamientos serán abordados con más detalle a continuación.

El **pre-tratamiento por agua caliente presurizada (LHW)** utiliza agua a elevada temperatura (120°C-230°C) como único solvente (Nitsos et al., 2013). En este pre-tratamiento la alta presión aplicada (0,2-2,8 MPa) mantiene el agua en estado líquido evitando de esta forma pérdidas por volatilización como ocurre durante la explosión con vapor. El agua a alta presión y temperatura penetra la biomasa, hidrata la celulosa e hidroliza la hemicelulosa entre un 80-100% y solubiliza parcialmente la lignina. El pre-tratamiento mediante LHW es altamente efectivo en el incremento del área de superficie accesible de la celulosa y por tanto de su degradabilidad enzimática (Zheng et al., 2014).

También durante el pre-tratamiento LHW la separación del grupo O-acetil y la sustitución de los ácidos urónicos encontrados en la hemicelulosa, genera ácido acético y otros ácidos orgánicos los cuales catalizan la hidrólisis de los polisacáridos, tales como la hemicelulosa en oligosacáridos solubles y luego en azúcares mono-disacáridos.

Las principales ventajas ofrecidas por esta técnica son: no se necesitan de químicos adicionales, no se requieren materiales resistentes a la corrosión y se reduce la cantidad de químicos para neutralizar el hidrolizado en comparación con otros tratamientos (Taherzadeh y Karimi, 2008). Por otra parte, se pueden mencionar como desventajas la formación de compuestos tóxicos e inhibitorios al crecimiento de bacterias y arqueas como los compuestos fenólicos, furfural y HMF (Hendriks y Zeeman, 2009), aunque a bajas concentraciones en comparación al SE como se explicó anteriormente.

Durante la revisión bibliográfica efectuada no se encontró referencia al uso del pre-tratamiento mediante LHW para la cachaza, sin embargo, este ha sido aplicado a una variedad de sustratos (Tabla 1.4) con resultados positivos, incluyendo la excreta vacuna (Budde et al., 2014), residuos de la agricultura como la paja de trigo (Chandra et al., 2012c; Menardo et al., 2012), paja de arroz (Chandra et al., 2012a; Menardo et al., 2012), residuo de la fruta del aceite de palma (O-Thong et

al., 2012), torta de aceite de girasol (Fernandez-Cegri et al., 2012), tallo de girasol y pulpa del aceite de palma (Costa et al., 2013). Se concluye que es más efectivo trabajar a temperaturas medias (120 – 170°C) con tiempos entre 5 y 30 minutos para sustratos como la paja de trigo, excreta vacuna y torta de aceite de girasol. Por el contrario, es necesario aplicar temperaturas altas (200 -230°C) con tiempos entre 10 y 15 minutos para alcanzar elevados rendimientos de metano en el caso de la paja de arroz y el residuo de la fruta del aceite de palma.

Tabla 1.4. Efecto del pre-tratamiento por agua caliente presurizada (LHW) sobre el rendimiento de metano para diferentes sustratos.

Sustratos	Temperatura (°C)/ tiempo (min)	Incremento de rendimiento de metano (%)	Referencia
Paja de trigo	220/10	+20	(Chandra et al., 2012c)
Paja de arroz	220/10	+222	(Chandra et al., 2012a)
Paja de cebada	90/30	+42	(Menardo et al., 2012)
	120/30	+41	
Paja de cebada	90/30	+57	(Menardo et al., 2012)
	120/30	+64	
Paja de arroz	90/30	+5	(Menardo et al., 2012)
	120/30	+32	
Residuo de la fruta del aceite de palma	230/15	+29	(O-Thong et al., 2012)
Pulpa del aceite de palma	200/5	+4	(Costa et al., 2013)
Torta de aceite de girasol	100/4 h	+7	(Fernandez-Cegri et al., 2012)
	150/4 h	-30	
	200/4 h	-25	
	170/5	+20	
Fracción líquida excreta vacuna	160/5	+16	(Monlau et al., 2013a)
	180/5	+9	
	200/5	+0	
	220/5	-18	
Fracción sólida excreta vacuna	160/5	+58	(Budde et al., 2014)
	180/5	+9	
	200/5	+11	
	220/5	-17	
Pulpa de remolacha	160/20	+76	(Ziemiński et al., 2014)

Para mejorar el rendimiento de metano de la paja de trigo Chandra et al. (2012b) probaron una temperatura de 200°C por 10 minutos, logrando un incremento del rendimiento de metano en un 20% por encima de la paja de trigo sin pre-tratar. La misma condición fue aplicada a la paja de arroz, con un 222% de incremento en el rendimiento de metano respecto a la paja no tratada (Chandra et al., 2012a). Para el caso de la paja de trigo se reportó un incremento del 64% a bajas

temperaturas (90°C y 120°C) (Menardo et al., 2012). Budde et al. (2014) estudiaron la excreta vacuna sólida y líquida a diferentes condiciones de temperatura y tiempo de pre-tratamiento. Los mejores rendimientos de metano se obtuvieron a 160°C por 5 minutos con un incremento de 58% y 16% para la fracción sólida y la fracción líquida de la excreta vacuna, respectivamente. A temperaturas superiores a 220°C la abundancia de inhibidores y otras sustancias no digeribles provocaron rendimientos de metano inferiores al material sin tratar.

El pre-tratamiento mediante LHW (200°C por 5 minutos) aplicado a la pulpa del aceite de palma incrementó el rendimiento de metano solo en un 4,2% (Costa et al., 2013). Por otra parte, se reportaron mejores resultados sobre la torta de aceite de girasol según estudios realizados por Monlau et al. (2013) a 170°C durante 5 minutos con un incremento de un 20%, en comparación con el alcanzado por Fernandez-Cegri et al. (2012) a una temperatura inferior. Por el contrario, cuando se aplican severas condiciones (230°C por 15 minutos) al residuo de la fruta del aceite de palma se puede obtener un incremento del 29% (O-Thong et al., 2012).

A partir del análisis realizado se concluye que la composición química y las propiedades estructurales de la biomasa determinan la efectividad del pre-tratamiento mediante LHW. De ahí que las condiciones de pre-tratamiento para cada biomasa deben estudiarse de forma independiente ya que tratamientos beneficiosos para una no lo serán necesariamente para otra.

El **pre-tratamiento alcalino** consiste en la adición de bases diluidas (ej. NaOH, Ca(OH)<sub>2</sub>, KOH y NH<sub>3</sub>. H<sub>2</sub>O) a la biomasa. El pre-tratamiento con álcalis puede causar un hinchamiento de la fibra, lo que conduce a un aumento del área superficial interna, un descenso de la cristalinidad, una separación de las uniones estructurales entre la lignina y los carbohidratos y una ruptura de la estructura de la lignina (Hendriks y Zeeman, 2009). Aunque el NaOH es el más reportado, el uso de Ca(OH)<sub>2</sub> (conocido como “*lime pre-treatment*”, LP), es considerado una opción atractiva por su bajo costo, seguridad y fácil recuperación por la neutralización con CO<sub>2</sub> y recuperación del CaCO<sub>3</sub> insoluble formado (Wyman et al., 2005).

El LP a temperaturas por debajo de 100°C requiere una menor demanda de energía para mantener condiciones térmicas de estado estacionario durante el pre-tratamiento y el uso de reactores presurizados. Otra de las ventajas se relaciona con los bajos niveles de inhibidores a la digestión anaerobia (compuestos fenólicos principalmente) y a la capacidad buffer adicional producto de la incorporación de álcalis. Esto permite ayudar a la neutralización de ácidos orgánicos durante la etapa de digestión atenuando el efecto inhibitor que la acumulación de éstos podría causar.

Desafortunadamente, como la cal es una base débil y tiene una baja solubilidad en agua es menos efectiva que otros álcalis. Sin embargo, con condiciones de pre-tratamiento apropiadas el LP podría incrementar la digestibilidad de la biomasa con un contenido moderado en lignina (Chang y Holtzapple, 2000).

La adición de una carga de 10 g  $\text{Ca(OH)}_2/100\text{g}$  biomasa se estudió para un amplio intervalo de temperaturas entre 25–130°C (Chang et al., 1998). Los resultados de este trabajo arrojaron que a temperatura ambiente (25°C) el LP podría tomar semanas y a altas temperaturas solo fue necesario 2 horas de aplicación para el pre-tratamiento de hierba, solubilizando aproximadamente el 26% de xilano y entre 29–33% de la lignina.

La efectividad del LP ha sido atribuida a una apertura de las “válvulas de acetil” y de las “válvulas de lignina”, es decir la desacetilización y la deslignificación parcial (Chang y Holtzapple, 2000) (Tabla 1.5).

Existe un único estudio donde se reporta la optimización del pre-tratamiento alcalino de la cachaza con  $\text{Ca(OH)}_2$  (López et al., 2005). Estos experimentos fueron conducidos a 30°C a una agitación continua de 500  $\text{min}^{-1}$ , concentración de álcalis a niveles de 20 y 100  $\text{meq Ca(OH)}_2 \text{ L}^{-1}$  y con tiempos de solubilización entre 0 y 6 horas, de acuerdo a un diseño factorial aleatorio  $2^2$ , con réplicas en el centro del plan. El valor óptimo se obtuvo para 80  $\text{meq Ca(OH)}_2 \text{ L}^{-1}$  (equivalente a 3,20  $\text{kg Ca(OH)}_2 \text{ m}^{-3}$  y 3,18  $\text{g Ca(OH)}_2 100 \text{ g}^{-1}\text{ST}$ ) con una duración del pre-tratamiento de 7 horas. La solubilización de la demanda química de oxígeno fue del 14,5%.

Otros estudios donde se combina el pre-tratamiento alcalino con el térmico, conocido como pre-tratamiento termo-alcalino (TA) han sido aplicados para varios tipos de biomasa (usando diferentes agentes alcalinos) con resultados positivos (Fernandes et al., 2009; Rafique et al., 2010; Teghammar et al., 2010; Xie et al., 2011; Sambusiti et al., 2013) (Tabla 1.5).

En la literatura consultada no se encontraron reportes sobre la aplicación del pre-tratamiento TA a la cachaza de caña de azúcar.

Rafique et al. (2010) reportaron para la fracción sólida de la excreta de cerdo, un incremento del 72% sobre el sustrato sin pre-tratar a 5  $\text{g Ca(OH)}_2 100 \text{ g}^{-1}\text{ST}^{-1}$  y 70°C por 1 hora de pre-tratamiento. En otro estudio, Fernandes et al. (2009) compararon el efecto del pre-tratamiento TA sobre tres especies de plantas (paja, heno, helecho) dosificando 100  $\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Ca(OH)}_2$  a 85°C por 16 horas. El pre-tratamiento resultó en menos de un 10% de incremento de la DQO soluble para el heno y en un 15% para la paja y el helecho. El mejor resultado se obtuvo para el helecho, con

un incremento en el rendimiento de metano del 142%. Sin embargo, las otras dos especies no mostraron diferencias significativas respecto al control.

Otros resultados reportados por Teghammar et al. (2010) indican que después del pre-tratamiento de residuos de tubo de papel con  $20 \text{ g L}^{-1}$  NaOH a  $190^\circ\text{C}$  por 30 minutos, se obtuvo un 21% de mejoría en el rendimiento de metano sobre el material sin pre-tratar. El ensayo para la determinación del potencial de metano se realizó a  $55^\circ\text{C}$ .

Tabla 1.5. Efecto del pre-tratamiento alcalino y termo-alcalino sobre el rendimiento de metano para diferentes sustratos.

Sustrato	Condiciones de pre-tratamiento	Incremento $Y_{\text{CH}_4}$	Referencia
<i>Agente: Ca(OH)<sub>2</sub></i>			
Paja de arroz	$8 \text{ g g}^{-1}\text{ST}/25^\circ\text{C}/6 \text{ días}$	+74%	(Song et al., 2013)
Cachaza	$3,20 \text{ g L}^{-1}/30^\circ\text{C}/7\text{h}$		(López et al., 2005)
Fracción sólida de excreta de puerco	$5 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}\text{ST}/70^\circ\text{C}/1\text{h}$	+72%	(Rafique et al., 2010)
Paja	$100 \text{ g L}^{-1}/85^\circ\text{C}/16\text{h}$	+4%	(Fernandes et al., 2009)
Heno		-12%	
Helecho		+142%	
<i>Agente: NaOH</i>			
Residuos de tubos de papel	$20 \text{ g L}^{-1}/190^\circ\text{C}/30 \text{ min}$	+ 21%	(Teghammar et al., 2010)
Ensilaje de hierba seca	$12,5 \text{ g L}^{-1}/100^\circ\text{C}/1,9 \text{ h}$	+39%	(Xie et al., 2011)
Paja de trigo	$10\% \text{ g g}^{-1} \text{ST}/40^\circ\text{C}/24 \text{ h}$	+43%	(Sambusiti et al., 2013)
	$10\% \text{ g g}^{-1} \text{ST}/100^\circ\text{C}/0,5\text{h}$	+67%	
Ensilaje de forraje de sorgo	$10\% \text{ g g}^{-1} \text{ST}/40^\circ\text{C}/24 \text{ h}$	+29%	
	$10\% \text{ g g}^{-1} \text{ST}/100^\circ\text{C}/0,5 \text{ h}$	+32%	

En el caso del ensilaje de hierba seca éste fue pre-tratado a diferentes concentraciones de NaOH (1%, 2,5%, 5% y 7,5%, referido a SV en masa fresca) y a temperaturas de  $20^\circ\text{C}$ ,  $60^\circ\text{C}$ ,  $100^\circ\text{C}$  y  $150^\circ\text{C}$  (Xie et al., 2011). En dicho estudio se alcanzó una solubilización de la DQO hasta un 45% a  $100^\circ\text{C}$  y para las cuatro concentraciones de NaOH. El potencial de metano mejoró entre 10–38,9%, en comparación con el material sin pre-tratar. La condición de pre-tratamiento recomendada por el autor fue:  $100^\circ\text{C}$ , 5% NaOH ( $12,5 \text{ g L}^{-1}$  NaOH) y tiempo de pre-tratamiento entre 1,9 y 3,6 horas.

Como se puede observar, las condiciones óptimas de pre-tratamiento están en función de la concentración de álcalis, temperatura y tiempo del pre-tratamiento y su efectividad depende de la composición y estructura de la biomasa lignocelulósica.

Uno de los parámetros que describe el efecto del pre-tratamiento aplicado es la severidad. A continuación se conceptualiza como se expresa la severidad del pre-tratamiento en función de un parámetro determinado.

### **Severidad del pre-tratamiento**

La severidad del pre-tratamiento fue definida inicialmente de acuerdo a Overend y Chornet (1987) como el efecto del tiempo (t) en la temperatura de la reacción (T) (ecuación 1.5). En sus inicios se aplicó en el control del proceso de pulpeo en la industria del papel. Según estos autores diferentes valores de T y t durante el pre-tratamiento de la pulpa podían conducir a resultados similares en la calidad de la pulpa final y la accesibilidad enzimática. Así t y T se combinaron en un solo factor para evaluar la calidad del proceso de pulpeo.

El parámetro permite comparar condiciones individuales de pre-tratamiento para diferentes valores de T y t en una variable respuesta arbitraria. Más recientemente ha sido enfocado a la producción de etanol en la evaluación de la efectividad de pre-tratamientos químicos (ecuación 1.6) sobre la solubilización de xilanos y lignina (Silverstein et al., 2007), en la conversión a azúcares fermentables y en la formación de compuestos inhibitorios (Panagiotopoulos et al., 2011). En la producción de biogás se ha estudiado el efecto en el rendimiento de metano de la severidad del pre-tratamiento por explosión al vapor de la paja de trigo (Ferreira et al., 2013).

$$R_o = t \cdot e^{\frac{T_r - T_b}{14,75}} \quad (1.5)$$

$$M_o = C^n \cdot t \cdot \exp\left(\frac{T_r - T_b}{14,75}\right) \quad (1.6)$$

Donde  $R_o$  es el factor de severidad,  $M_o$  es el factor de severidad modificado, t es el tiempo de pre-tratamiento (min),  $T_r$  es la temperatura de la reacción ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $T_b$  es la temperatura base ( $100^{\circ}\text{C}$ ), C es la concentración química (% másico), 14,75 es la energía de activación convencional asumiendo una conversión hidrolítica de primer orden y n es una constante arbitraria obtenida con el mejor modelo que ajuste los datos, mientras se mantiene el valor positivo del log  $M_o$  en función del factor de severidad. La severidad del pre-tratamiento para cada condición estudiada se expresa como el logaritmo de  $R_o$  ( $\log R_o$ ) o  $M_o$  ( $\log M_o$ ).

De acuerdo a la bibliografía consultada, resulta de particular interés la posibilidad de aplicación de alternativas de pre-tratamiento diferentes a las ya estudiadas para la cachaza, como lo son el LHW y el TA. Esto implicaría mejorar desde el punto de vista ambiental y económico la disposición final del residuo tratado, con mayores cualidades como biofertilizante a la vez que se obtendría un mayor aporte renovable energético y térmico extra para un complejo azucarero.

Para ello es necesario investigar específicamente cuáles son las condiciones de operación a aplicar durante los pre-tratamientos por LHW y TA, de forma tal que se obtenga un sustrato pre-tratado que pueda ser fácilmente degradado a biogás y sin la presencia de compuestos en concentraciones inhibitorias al proceso de DA.

Otra opción interesante para mejorar el rendimiento de metano de la DA de la cachaza es la co-digestión.

### **1.5.2 Co-digestión**

De acuerdo a Pereda Reyes et al. (2015) la co-digestión puede ser definida como el tratamiento de una mezcla de dos o más sustratos diferentes bajo condiciones anaeróbicas con el fin de mejorar la eficiencia del proceso de DA. Para alcanzar este objetivo se debe determinar la mezcla apropiada de sustratos en base al aporte en materia orgánica de cada uno.

Efectos adicionales de la co-digestión son obtener un mejor balance en parámetros de alimentación tales como: relación C/N, pH/alcalinidad, macro y micronutrientes, materia orgánica biodegradable y materia seca, así como en la dilución de compuestos inhibidores/tóxicos, (Hartmann et al., 2003). Como resultado de la aplicación de condiciones óptimas en la alimentación, se alcanza un proceso más balanceado que posibilita no solo incrementar la producción de biogás, sino también un proceso más estable (Aboudi et al., 2016). Otras ventajas incluyen la posibilidad de costos compartidos, debido a que el equipamiento e infraestructura general pueden ser usados para varios residuos generados en un área cercana (Macias-Corral et al., 2008). En ocasiones el uso de co-sustratos puede ayudar a establecer los contenidos de humedad requeridos dentro del digestor.

La co-digestión ha sido aplicada a un amplio intervalo de residuos, entre los que se destacan la mezcla de residuos porcinos con un alto contenido de  $N-NH_4^+$  y residuos agrícolas como es el caso de la paja de arroz (Contreras et al., 2012); aguas residuales con grasa y residuos de lodos activados (Carrere et al., 2012); excreta de vaca y residuos industriales (Nordell et al., 2016). En otro estudio realizado por Pagés-Díaz et al. (2014) se estudiaron la mezcla de cuatro sustratos (residuos sólidos de matadero, excreta, residuos agrícolas y residuos sólidos municipales) a partir de un diseño de mezclas. El mejor resultado se obtuvo con la mezcla de dichos sustratos a partes iguales, con un incremento de un 31% del rendimiento de metano, en comparación al rendimiento obtenido de acuerdo a las fracciones alimentadas por cada uno. En dicho estudio se ajustó un modelo especial cúbico a los datos experimentales, mostrando los efectos sinérgicos y

antagónicos de la mezcla.

Para la cachaza, la co-digestión con otros residuos cercanos a la industria podría permitir un mejor balance del contenido de humedad en el digestor, así como estabilizar el proceso de digestión al preverse ser inestable debido a la compleja composición de la misma.

En la literatura consultada se encontraron referencias a la co-digestión de la cachaza con excreta vacuna, bagazo y paja de caña (Rouf et al., 2010; Leite et al., 2015b; Janke et al., 2016). Para esos experimentos se probaron dos relaciones cachaza:cosustrato 1:1 y 2:1. La mejor mezcla fue obtenida para una relación 1:1 respecto a la paja de caña con un incremento en la producción de biogás en un 58% (Rouf et al., 2010). Los resultados son contradictorios para el bagazo lo cual se debe a diferencias en el régimen de alimentación (discontinuo o semicontinuo), las características físico-químicas del bagazo y el inóculo utilizado. En otro estudio realizado por Guillermo-Núñez (1986) se mezclaron las aguas residuales de la industria azucarera con cachaza en una relación 4:1 (agua residual: cachaza), obteniéndose resultados positivos en cuanto al funcionamiento del reactor flujo pistón, pero con muy baja reducción de sólidos totales (20%).

No se encontraron otros estudios de residuos localizados cercanos a la industria y altamente contaminantes, como es el caso de vinazas de destilería, la cual podría co-digerirse con la cachaza. La co-digestión de ambos sustratos favorecería el contenido de sólidos presente en la cachaza, la dilución de los compuestos inhibitorios de la vinaza y la exploración de posibles efectos sinérgicos y/o antagónicos de la mezcla de ambos residuos; lo cual se presenta como novedad científica del presente trabajo.

## **1.6 Conclusiones parciales**

1. La cachaza tiene una composición físico-química que permite su tratamiento por vía biológica por lo que constituye un sustrato potencial para el proceso de digestión anaerobia.
2. La presencia de compuestos de lenta degradación en la cachaza (fibra, proteína, grasa y cera) dificultan el adecuado desempeño de la DA de la misma, fundamentalmente de la fase de hidrólisis, lo cual induce el estudio de cómo mejorar la biodegradabilidad de la cachaza con la inclusión de una etapa de pre-tratamiento.
3. En la literatura solo se encontró el uso del pre-tratamiento alcalino y térmico, por separado, para la cachaza. Entre todos los demás pre-tratamientos que se han empleado en materiales lignocelulósicos, ninguno ha sido aplicado a la cachaza. De acuerdo a la

bibliografía consultada resulta de particular interés la posibilidad de aplicación de alternativas de pre-tratamiento como el LHW y el TA para la cachaza, las cuales resultan novedades del presente trabajo.

4. No se encontró en la literatura ningún trabajo que haya evaluado la co-digestión cachaza-vinaza sobre la biodegradabilidad de la misma. Al ser la vinaza un residuo generado también dentro del proceso sucro-alcoholero, el estudio de la co-digestión con cachaza se presenta como una alternativa atractiva de manejo de sustratos en esa industria a la vez que también constituye novedad del presente trabajo.

## **Capítulo 2. Pre-tratamientos de la cachaza para la digestión anaerobia**

### **2.1 Introducción**

En el presente capítulo se expone el estudio experimental de los dos pre-tratamientos aplicados a la cachaza, el termo-alcalino (TA) y por agua caliente presurizada (LHW). Para el diseño experimental se utiliza un diseño central compuesto con dos parámetros de control. El efecto del pre-tratamiento se analiza a través de parámetros como % de solubilización de la Demanda Química de Oxígeno ( $S_{DQO}$ ) y el rendimiento de metano ( $y_{CH_4}$ ). Se realiza un estudio de la cinética del proceso de DA mediante un análisis de regresión no lineal utilizando modelos de primer orden y el modelo modificado de Hill.

### **2.2. Materiales y métodos**

#### **2.2.1 Preparación del sustrato**

La cachaza empleada en los experimentos se recolectó en la Unidad Empresarial de Base Central Azucarero “Melanio Hernández” de la provincia de Sancti Spíritus. Se trabajó con cachaza proveniente de dos zafras: del 2011 para el TA y del 2012 para el LHW. En ambos casos la cachaza se secó al aire y se almacenó por un período menor a dos meses en bolsas de nylon a temperatura ambiente. Posteriormente, el material fue transportado a Bélgica, donde se llevó a cabo el trabajo experimental y se almacenó a 4°C hasta su uso. La transportación se realizó bajo estricto cumplimiento de las regulaciones internacionales para el traslado de material de origen biológico. A todas las muestras se le realizó una caracterización microbiológica que aseguró la ausencia de plagas peligrosas en el tráfico a través de fronteras internacionales, lo que fue certificado por las autoridades fitosanitarias cubanas.

#### **2.2.2 Métodos analíticos**

El contenido de sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), cenizas y pH, se determinaron de acuerdo a las normas establecidas por los métodos estandarizados (APHA et al., 1995). Las muestras para DQO soluble (DQOs) y ácidos grasos volátiles (AGV) fueron centrifugadas a 6000  $\text{min}^{-1}$  por 15 minutos, tomándose la fracción clara para los análisis de DQOs y AGV. Para la determinación de la DQO se empleó un digestor *Hach* y se utilizó el método colorimétrico de reflujo cerrado 5220 D (APHA et al., 1995). Los AGV (ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico y ácido iso-valérico) fueron determinados por cromatografía gaseosa (GC Agilent 7820A) equipado con un detector de ionización de llama con las siguientes características: columna Econocap EC- 1000 (15m L x 530  $\mu\text{m}$  diámetro interno ( $d$ ) x 1,2  $\mu\text{m}$

tamaño de partícula (*p.s.*) y entrada *split/splitless* a 250°C. El gas portador fue el Helio con una presión constante de 18,877 kPa y una relación de *split* de 10:1. La temperatura inicial del horno fue de 80°C, la rampa de calentamiento fue de 10°C min<sup>-1</sup> hasta una temperatura final de 190°C, la cual fue mantenida por 4 minutos. La temperatura del detector fue de 280°C.

El contenido de los iones potasio, hierro, calcio, cobalto, cobre, sodio, manganeso, magnesio y zinc, se analizó por espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP – AES) en un espectrofotómetro Varian Vista – MPX. La composición elemental de carbono (C), nitrógeno (N) e hidrógeno (H) se cuantificó con un analizador elemental Perkin Elmer 2400 Series II CHNS/O. El contenido de oxígeno se calculó por sustracción del porcentaje de C, H y N al contenido de materia seca en la cachaza. Los análisis de sulfato, fosfato y cloruro se determinaron por cromatografía iónica. El contenido de hemicelulosa, celulosa y lignina se determinó por el método de análisis fibra detergente (Soest et al., 1991).

Para la determinación de los extraíbles en la cachaza se realizó una extracción de la cachaza con *Soxhlet*, primero con agua y luego con etanol. El extracto acuoso obtenido a partir de los solventes agua y etanol, se separó en un roto-evaporador a 80°C y 60°C, respectivamente. La cachaza residual se secó en estufa a 60°C hasta peso constante y se mantuvo en un desecador por 24 h. Las proteínas se calcularon a partir del contenido de nitrógeno total, usando un factor de conversión de 6,25 (VDI 4630, 2006).

La fracción líquida se analizó para carbohidratos mono y di-sacáridos (xilosa, arabinosa, fructosa, galactosa, manosa, glucosa, sacarosa, lactosa, celobiosa y maltosa). Los azúcares se determinaron por cromatografía gaseosa (GC Varian 3380), acoplado a un FID: columna CP Sil-5CB (25m L x 0,32µm *d.* x 0,25µm *p.s.*). La temperatura inicial del horno fue de 120°C, la rampa de temperatura fue de 20°C min<sup>-1</sup> hasta una temperatura final de 290°C, mantenida por 3 minutos, la entrada *split/splitless* fue a 280°C. El Hidrógeno fue el gas portador y la temperatura del detector fue de 325°C.

Los furanos aldehídos (hydroximetilfurfural (HMF) y furfural) y ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido vanílico, ácido siríngico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico) se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) -Agilent 1100 Series- equipado con un detector de arreglo de diodos (DAD)-Agilent 1200 Series-. La separación de los compuestos se realizó con una columna Inertsil-ODS (150 mL, x 4,6 mm *i.d.* x 3,3 µm *p.s.*), 5 µl volumen de inyección, condiciones de inyección: 1 ml min<sup>-1</sup>, durante 38 minutos. Se aplicó un gradiente

binario formado por 1% v/v ácido acético en agua destilada (solución A) y 1% v/v ácido acético en metanol (solución B) y distribuido como : 0–5 minutos: 0% A; 5–32 minutos: 50% A, 32–38 minutos: 10% A.

## 2.2.3 Condiciones de los pre-tratamientos

### 2.2.3.1 Pre-tratamiento termo-alcálico

Los parámetros de control usados en el experimento fueron la carga de  $\text{Ca(OH)}_2$  (*lime loading*, LL) y el tiempo de pre-tratamiento (t). Sus niveles se seleccionaron de acuerdo a la información obtenida de la bibliográfica consultada (Tabla 1.5). Para el pre-tratamiento se mantuvo constante una carga de agua de  $10 \text{ g g}^{-1} \text{ ST}^{-1}$  cachaza para todas las corridas (Chang et al., 1998).

El pre-tratamiento se realizó a una temperatura de  $100^\circ\text{C}$ . Se emplearon como reactores, botellas *Schott* de 500 mL, capaces de soportar temperaturas de hasta  $140^\circ\text{C}$ . Se realizó un diseño experimental central compuesto según se muestra en la Tabla 2.1. Los experimentos fueron triplicados y divididos en dos bloques, uno para los puntos factoriales (-1, 1) y otro para los puntos axiales ( $\alpha$ , - $\alpha$ ). Además, se incluyeron ocho puntos centrales (0) con los bloques experimentales para proveer ortogonalidad y estimar el error experimental (Montgomery, 2005). Se realizaron 32 ensayos en total de forma aleatoria (Tabla 2.1). Al alcanzar el tiempo de experimentación los reactores se colocaron en un baño con hielo granizado para finalizar la reacción. Posteriormente el contenido de los reactores fue almacenado a  $4^\circ\text{C}$  hasta su uso posterior.

Tabla 2.1. Matriz de diseño experimental para la planeación del pre-tratamiento termo-alcálico de la cachaza (valores codificados y reales).

	Valores codificados		Valores reales	
	$X_1$	$X_2$	LL ( $\text{g Ca(OH)}_2$ $100 \text{ g}^{-1} \text{ ST}^{-1}$ )	t (h)
A1_4	-1	-1	4	1
A3_4	1	-1	4	3
A1_10	-1	1	10	1
A3_10	1	1	10	3
A2_7	0	0	7	2
A0_7	$-\alpha$	0	7	0,59
A3_7	$\alpha$	0	7	3,41
A2_3	0	$-\alpha$	2,76	2
A2_11	0	$\alpha$	11,24	2

La variable respuesta fue el porcentaje de solubilización de la DQO ( $S_{DQO}$ ), calculado como la proporción de DQO soluble en la DQO total inicial ( $S_{DQO} = \text{DQOs}/\text{DQO}$ ) y expresado en %. La modelación de la superficie respuesta para  $S_{DQO}$  se utilizó para determinar las mejores condiciones del pre-tratamiento y explorar el comportamiento de la  $S_{DQO}$  para valores críticos de LL y t. Las variantes con los mejores resultados en términos de  $S_{DQO}$  se utilizaron para determinar el potencial de biogás.

El impacto del pre-tratamiento en cuanto a LL y t se determinó mediante el factor de severidad según ecuación 1.6 del marco teórico.

### **2.2.3.2 Pre-tratamiento por agua caliente presurizada**

Los ensayos para el pre-tratamiento por agua caliente presurizada fueron conducidos en un Mini Reactor, modelo 4568, de 600 mL de capacidad (Parr Instruments, Moline, USA). Las especificaciones del reactor son las siguientes:

- Material: Acero resistente a la corrosión (T316)
- Resistencia a la presión de la instalación: 200 bar (20 MPa)
- Máxima presión de operación: 40 bar (4 MPa)
- Resistencia a la temperatura de la instalación: 350°C
- Máxima temperatura de operación (limitada por la temperatura a la presión de vapor saturado de 40 bar): 250°C
- Potencia de la manta eléctrica: 780 W
- Potencia del agitador: 1/8 hp  $\approx$  93 W
- Torque del agitador: 6,75 Nm

El reactor está equipado con una válvula de seguridad para aliviar la presión, un agitador tipo ancla, termopar y un tramitador de presión tipo G2 (Ashcroft, Stratford, USA). Los valores de temperatura dentro del reactor, la presión y la velocidad del agitador se recolectaron por un convertidor digital análogo para transmisión de datos (Anexo 1).

Se preparó una mezcla de 100 g de cachaza con 500 g de agua de-ionizada para garantizar una relación líquido: sólido de 5,5 y se alimentó una cantidad de 450 g de la mezcla al reactor. Para el diseño experimental se usó un diseño central compuesto con temperatura (150-200°C) y tiempo (5-20 min) como parámetros de control (Tabla 2.2). Los niveles se fijaron de acuerdo a estudios reportados anteriormente (Costa et al., 2013; Budde, 2015). La velocidad de agitación se ajustó manualmente para evitar frecuencias resonantes. Su valor fue de 350  $\text{min}^{-1}$  como promedio. El

valor de la presión fue equivalente a la del vapor saturado a la temperatura de trabajo. Se trabajó con un incremento en la velocidad de calentamiento de  $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

Los experimentos se repitieron tres veces para los puntos axiales y factoriales y 5 veces para el punto central. En total se realizaron 29 ensayos de forma aleatoria.

Tabla 2.2. Matriz de diseño experimental para la planeación del pre-tratamiento por LHW de la cachaza (valores codificados y reales).

	Valores codificados		Valores reales	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	T (°C)	t (min)
TH 150_5	-1	-1	150	5
TH 150_20	-1	1	150	20
TH 200_5	1	-1	200	5
TH 200_20	1	1	200	20
TH175_12,5	0	0	175	12,5
TH 140_12,5	- $\alpha$	0	140	12,5
TH 210_12,5	$\alpha$	0	210	12,5
TH 175_2	0	- $\alpha$	175	2
TH 175_23	0	A	175	23

Después de completar el tiempo de calentamiento la unidad de calefacción fue retirada y el reactor enfriado a menos de  $50^{\circ}\text{C}$  por inmersión en un baño de agua a temperatura ambiente. Las muestras pre-tratadas se almacenaron a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta su uso posterior. La fracción líquida se centrifugó, se filtró a  $0,2\ \mu\text{m}$  y se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  para su análisis.

El factor de severidad se determinó para cada experimento y cuantifica el efecto combinado del tiempo y la temperatura del pre-tratamiento y es definido según la ecuación 1.5 del marco teórico.

#### 2.2.4. Ensayo para la determinación del potencial de metano

El potencial de metano (BMP, por sus siglas en inglés) se determinó en ensayos en discontinuo bajo condiciones mesofílicas ( $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), de acuerdo a las normas VDI 4630 (2006).

Se emplearon como reactores botellas *Schott* de 500 mL de capacidad. A cada reactor se le adicionó 350 g de inóculo y una cantidad determinada de sustrato para mantener una relación sustrato / inóculo de 0,5 (g SV/ g SV), recomendada en la literatura en el caso de digestión en discontinuo a altas cargas de sólidos, con el fin de evitar una fase de retraso (*lag phase*) muy grande o prevenir la inhibición del proceso (Linke y Schelle, 2000; VDI 4630, 2006; Raposo et al., 2008). La procedencia y las características del inóculo utilizado en cada ensayo se muestran en la Tabla 2.3.

Se realizaron tres repeticiones de cada ensayo y los controles incluyeron el inóculo sin sustrato (blanco) y la cachaza sin pre-tratamiento (control).

Tabla 2.3. Origen y características físico - químicas de los inóculos utilizados en los ensayos para determinar el potencial de metano.

Ensayo BMP	Origen del inóculo	Características del inóculo
BMP para TA	Digestato de una planta de biogás que se alimenta a base de excreta vacuna y como co-sustrato utiliza ensilaje de maíz.	4,7 ST%MF 51,1 SV%ST pH=7,8 AGV/alcalinidad=0,15
BMP para LHW	Digestato de una planta de biogás que se alimenta a base de excreta porcina y como co-sustrato utiliza ensilaje de maíz.	3,56 ST%MF 65,9 SV%ST pH=7,9 AGV/alcalinidad=0,27

Todos los reactores fueron agitados manualmente una vez al día para favorecer el contacto entre el sustrato y los microorganismos. El proceso de digestión se detuvo después de 30 días al detectarse que no se producía más del 1% de volumen diario de metano. Posterior a la digestión se cuantificaron los AGV y se determinó el pH en el contenido residual del reactor.

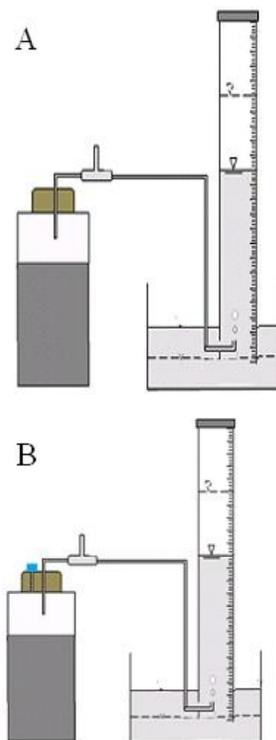


Fig. 2.1. Esquema de la instalación experimental de los ensayos en discontinuo realizados a la cachaza sin pre-tratar y pre-tratada por TA (A) y por LHW (B).

El volumen del gas producido diariamente se determinó por desplazamiento del líquido. Para el ensayo del pre-tratamiento TA el biogás producido se hizo burbujear por una columna con una solución alcalina (NaOH al 3%) contabilizándose directamente el metano (Fig. 2.1A).

Para el ensayo del pre-tratamiento LHW las columnas se llenaron con agua acidificada a pH=2. Se habilitó un puerto adicional situado en la tapa del reactor y se extrajeron muestras del gas contenido en los reactores (5 mL, jeringuilla con cierre a presión) para ser analizadas por cromatografía gaseosa (GC Agilent 6890, Alemania) equipado con un detector de conductividad térmica (TCD) (Fig. 2.1B). Con el volumen de biogás medido y el contenido de metano, se calculó el volumen de metano producido.

El volumen de metano resultante para ambos ensayos fue normalizado a TPN (273 K y 101,29 kPa) y expresado en función del contenido de sólidos volátiles iniciales en la cachaza ( $\text{mL CH}_4 \text{g}^{-1} \text{SV}_{\text{ini}}^{-1}$ ).

### 2.2.5 Evaluación cinética

El comportamiento cinético de la degradación anaerobia de sustratos complejos, como se planteó en el Capítulo 1, se puede describir a través de modelos de reacciones de primer orden ya que éstos se consideran una base sencilla para poder comparar la estabilidad de un proceso con otro, bajo condiciones similares a la práctica (Mähnert, 2007).

En este estudio la evaluación de la cinética del proceso se realizó aplicando el modelo de primer orden de Roediger (ecuación 2.1) (Borja et al., 1991), a través de la constante de velocidad aparente y el modelo modificado de Hill (Mähnert, 2007) (ecuación 2.2), por el comportamiento de la productividad de metano. El máximo rendimiento de metano ( $y_{\text{máx}}$ ), el cual puede ser alcanzado a  $t \rightarrow \infty$ , se calculó mediante el modelo de Roediger.

Los datos experimentales se ajustaron a los modelos mediante análisis de regresión no lineal (Statgraphics Centurión 15.1).

$$y(t) = y_{\text{máx}} \cdot (1 - e^{-kt}) \quad (2.1)$$

$$r_{s(t)} = y_{\text{máx}} \cdot \frac{b \cdot K_M^b \cdot t^{b-1}}{(K_M^b + t^b)^2} \quad (2.2)$$

Donde:

$y_{(t)}$ : Rendimiento de metano acumulativo ( $\text{mL CH}_4 \text{g}^{-1} \text{SV}^{-1}$ )

$y_{\text{máx}}$ : Rendimiento máximo de metano ( $\text{mL CH}_4 \text{g}^{-1} \text{SV}^{-1}$ )

t: Tiempo de digestión (d)

$k$ : Constante de velocidad aparente ( $d^{-1}$ )

$K_M$ : constante de tiempo para la cual se alcanza la mitad de  $y_{m\acute{a}x}$

$b$ : es un parámetro de ajuste del modelo

$r_s(t)$ : Productividad de metano ( $mL\ CH_4\ g^{-1}SV^{-1}\ d^{-1}$ )

Conociendo el máximo rendimiento estimado por el modelo de Roediguer ( $y_{m\acute{a}x}$ ), se puede determinar la eficiencia de la bioconversión ( $\eta$ ) de acuerdo a la ecuación 2.3.

$$\eta = Y_{Metano}^{exp} \cdot 100 / Y_{Metano}^{teor} \quad (\%) \quad (2.3)$$

### 2.2.6 Análisis estadístico

Para el procesamiento estadístico de los parámetros evaluados se empleó el paquete estadístico Statgraphics Centurión 15.1. Se empleó el análisis de varianza de clasificación simple y ANOVA bifactorial y para comparar las medias se utilizó la prueba de intervalos múltiples de Duncan. La significancia de los modelos se evaluó con un nivel de significación del 5% ( $p\text{-valor} \leq 0,05$ ).

## 2.3 Resultados y discusión

### 2.3.1 Caracterización del sustrato

En la Tabla 2.4 se presentan las principales características físico-químicas de la cachaza utilizada en los experimentos. Los resultados obtenidos se encuentran en el intervalo de valores informados por otros autores en varios países como la India (Gangavati et al., 2005; Rouf et al., 2010; Gupta et al., 2011; Radjaram y Saravanane, 2011), Tailandia (Meunchang et al., 2005), Cuba (Sánchez et al., 1996) y los Estados Unidos (Baez-Smith, 2008).

El contenido de ST para la cachaza fresca varía entre 20 y 30% como ha sido reportado anteriormente (Rouf et al., 2010; Radjaram y Saravanane, 2011). La cachaza empleada en la experimentación fue sometida a un proceso de secado por lo que este valor estuvo entre 88-90%, similar al reportado por Sánchez et al. (1996) para cachaza seca. Como se puede apreciar este sustrato presenta un alto contenido de materia orgánica (79,83 y 83,57% de SV en base seca), ligeramente superior para la cachaza usada en el pre-tratamiento LHW.

La composición en fibra varió para ambas cachazas. Un mayor porcentaje de celulosa y menor de hemicelulosa se encontró en la cachaza colectada durante la zafra 2011 respecto a la del 2012. El contenido en lignina fue del 9% para ambas, similar al informado por Rouf et al. (2010). La concentración de estos compuestos, aunque no es alto en comparación con otros materiales como la paja de arroz y el bagazo, le aporta resistencia a este material y baja disponibilidad de este residuo para procesos de bioconversión (fracción refractaria). La inclusión de un paso previo que

mejore las características de este material a partir de su pre-tratamiento podrá incrementar la fracción biodegradable y por ende, el rendimiento de metano.

Tabla 2.4 Caracterización físico-química de la cachaza.

Parámetro	Unidad	Cachaza TA*	Cachaza LHW*	Valores reportados
pH		6,29 ±0,45	6,21 ±0,03	7,5 <sup>a</sup> , (4,5 - 5) <sup>c</sup> , 7,7 <sup>d</sup>
ST	%	88,90±2,27	90,48±0,05	24 <sup>a</sup> , 29 <sup>c</sup> , 89 <sup>f</sup>
SV	%	83,57±5,29	79,83±0,50	76,6 <sup>a</sup> , 82,1 <sup>f</sup>
Ceniza	%	16,42±5,29	20,17±0,50	22,4 <sup>a</sup> , 17,8 <sup>f</sup>
C	%	44,89 ±0,27	N.A.	(41,30 – 44,50) <sup>b</sup>
H	%	6,00 ±0,03	N.A.	(5,0 – 5,6) <sup>b</sup>
N	%	1,70 ±0,13	1,55±0,01	1,8 <sup>d</sup> , (1,1 – 2,5) <sup>b</sup>
Proteína	%	10,62±0,13	9,68±0,01	15,1 <sup>a</sup>
Hemicelulosa	%	21,67±0,06	27,13±0,04	11,4 <sup>a</sup>
Celulosa	%	19,06±0,09	11,34±0,06	10,0 <sup>a</sup>
Lignina	%	9,03±0,08	9,30±0,09	9,3 <sup>a</sup>
Grasa y cera	%	N.A.	9,32±0,07	8,4 <sup>a</sup>
Fósforo	%	1,15±0,23	N.A.	1,8 <sup>b</sup> , 0,65 <sup>c</sup> , 0,96 <sup>d</sup>
Cloruro	%	0,40±0,01	N.A.	
Sulfato	%	N.D.	N.A.	
Ca	%	2,62±0,06	3,09±0,07	2,11 <sup>a</sup> , 4,3 <sup>b</sup> , 2,7 <sup>c</sup> , 7,1 <sup>d</sup>
Fe	%	0,24±0,01	0,25±0,01	0,32 <sup>a</sup> , 0,08 <sup>d</sup>
K	%	0,26±0,00	0,28±0,00	0,40 <sup>a</sup> , 0,9 <sup>b</sup> , 0,28 <sup>c</sup> , 0,39 <sup>d</sup>
Mg	%	0,21±0,01	0,31±0,03	0,33 <sup>a</sup> , 0,7 <sup>b</sup> , 0,40 <sup>d</sup>
Zn	%	0,02±0,00	N.D.	0,01 <sup>a</sup> , 0,008 <sup>b</sup>
Ni	%	< 0,004	N.D.	0,02 <sup>a</sup>
Cu	%	N.D.	N.D.	0,0002 <sup>d</sup>
Co	%	N.D.	N.D.	Trazas <sup>a</sup>
Mn	%	N.D.	0,05±0,00	0,04 <sup>a</sup> , 0,02 <sup>d</sup> , 0,03 <sup>d</sup>
Na	%	N.D.	0,10±0,00	0,1 <sup>d</sup> , 0,18 <sup>c</sup>
PCI	MJ kg <sup>-1</sup> TS <sup>-1</sup>	15,49	N.A.	(11,98 – 17,05) <sup>b</sup>

Los datos están expresados como el valor medio ± desviación estándar. Todos los % son en base seca, excepto para los ST. N.D. significa no detectado. N.A. significa no analizado.

\*Cachaza TA y Cachaza LHW refiere a la cachaza usada en el pre-tratamiento TA y LHW, respectivamente

<sup>a</sup> Rouf et al. (2010); <sup>b</sup> Gangavati et al. (2005); <sup>c</sup> Radjaram y Saravanane (2011); <sup>d</sup> Meunchang et al. (2005); <sup>e</sup> Baez-Smith (2008); <sup>f</sup> Sánchez et al., (1996), <sup>g</sup> Leite et al. (2015).

Las diferencias en la composición química de la cachaza dependen de muchos factores como son la variedad de la caña de azúcar, edafología del suelo, nutrientes aplicados, el proceso de clarificación adoptado, operación de filtración y otros factores ambientales (Velarde et al., 2004).

La cachaza además contiene azúcares, proteínas, así como ceras y grasas, determinados en 8%, 10% y 9% sobre base seca, respectivamente. Si bien los azúcares serán fermentados rápidamente

a propionato o acetato, de acuerdo a varias condiciones ambientales como pH, presión de hidrógeno, temperatura, entre otros, la hidrólisis de las proteínas y las grasas será más lenta (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).

La relación C/N es de 26,4 y se encuentra en el intervalo óptimo (20:1-30:1) que plantea la literatura para un buen desempeño del proceso de digestión anaerobia (Weiland, 2010).

El pH de la cachaza fue de 6,25 como promedio. Este valor está en el intervalo reportado por otros trabajos (Sánchez et al., 1996; Meunchang et al., 2005; Rouf et al., 2010; Radjaram y Saravanane, 2011). Diferentes valores de pH han sido reportados en la literatura lo cual se adjudica a diferencias en el proceso de generación de cachaza, colección, preservación y determinación analítica.

Como se puede observar, la cachaza contiene también varios macro y micro-nutrientes los cuales son de gran importancia en el proceso de digestión anaerobia. Éstos son nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, manganeso y zinc. El contenido de calcio está de acuerdo al reportado para la cachaza procedente de la India (Rouf et al., 2010; Radjaram y Saravanane, 2011), pero es inferior al reportado por Meunchang et al. (2005). Esta variación es altamente dependiente de la cantidad de  $\text{Ca(OH)}_2$  aplicado durante la clarificación del jugo de la caña de azúcar. Otros elementos como hierro, magnesio, potasio, níquel y zinc estuvieron presentes en concentraciones más bajas en comparación a otros reportes (Gangavati et al., 2005; Meunchang et al., 2005; Rouf et al., 2010; Radjaram y Saravanane, 2011). El cobre y cobalto han sido reportados por otros autores (Rouf et al., 2010) pero no fueron detectados en estos análisis. El contenido de fósforo fue similar al valor encontrado por Radjaram y Saravanane (2011).

### **2.3.2 Efecto del pre-tratamiento termo-alcálico sobre la cachaza pre-tratada y la biodegradabilidad de la misma**

Para evaluar el efecto de la concentración de  $\text{Ca(OH)}_2$  y el tiempo de pre-tratamiento sobre la solubilización de la DQO y la producción de AGV, se ensayaron diferentes alternativas de acuerdo al diseño experimental mostrado en la Tabla 2.2. El comportamiento de la DQO se muestra en la Fig. 2.2. Como se puede observar, el porcentaje de solubilización de la DQO ( $S_{DQO}$ ) alcanzado después del pre-tratamiento fue significativamente superior al de la cachaza sin pre-tratar para todas las combinaciones probadas. Este varió entre 28 y 38% en comparación con el control que solo alcanzó el 21,5%. Los valores máximos de  $S_{DQO}$  se obtuvieron para las siguientes combinaciones: A3\_10, A2\_7, A2\_11, A1\_10 y A3\_7. El máximo  $S_{DQO}$  fue alcanzado

para 10 g Ca(OH)<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> ST<sup>-1</sup> con 3 horas, resultando en un incremento de un 16,4% respecto a la cachaza sin pre-tratar.

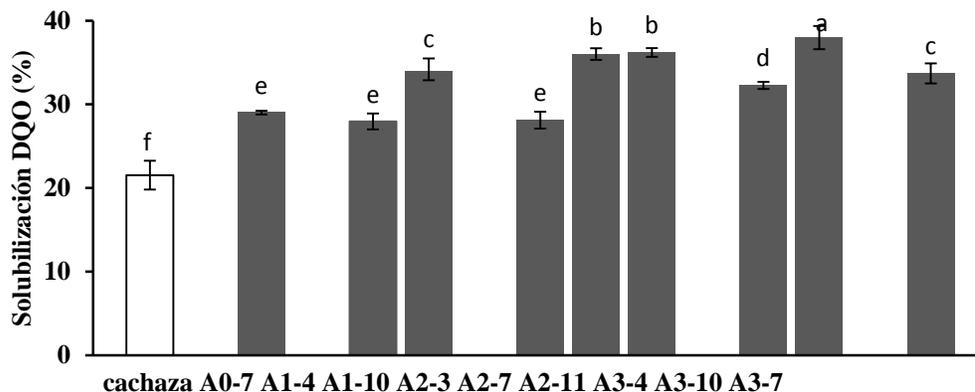


Fig. 2.2. Valores promedios para % solubilización de la DQO para diferentes LL y t.

<sup>a-b</sup> Las alternativas con diferentes letras difieren ( $P < 0,05$ ). La nomenclatura se describe en la Tabla 2.1.

En general, los mejores resultados se obtuvieron cuando se incrementó la LL para el mismo tiempo de pre-tratamiento; exceptuando las 2 horas de pre-tratamiento aplicadas para 7 y 11,24 g Ca(OH)<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> ST<sup>-1</sup>. La solubilización se incrementó, para una misma LL, con el tiempo del pre-tratamiento para la mayoría de los casos, excepto para un t de 3,41 h (7 g Ca(OH)<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> ST<sup>-1</sup>) (Fig. 2.2). Esto se debe a la recondensación de componentes previamente solubilizados tales como los contenidos en la lignina (Ko et al., 2015).

Una menor solubilización obtuvieron López et al. (2005) durante el pre-tratamiento de la cachaza con Ca(OH)<sub>2</sub> a una temperatura más baja (30°C). Los autores alcanzaron hasta un 6% de incremento en la solubilización por encima de la cachaza sin pre-tratar (calculada a partir de la fuente), con una adición de 3,18 g L<sup>-1</sup> de Ca(OH)<sub>2</sub> para un tiempo de pre-tratamiento de 7,33 horas. Un incremento de la  $S_{DQO}$  (15%) similar al obtenido en el presente estudio, reportaron Fernandes et al. (2009) para el pre-tratamiento termo-alcalino de la paja de cultivos varios y el helecho a 85°C, 100 g Ca(OH)<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> y 16 horas.

Tanaka et al. (1997) demostraron la influencia de la temperatura sobre la solubilización en medio alcalino. En el estudio realizado con un residuo de lodo activado, se solubilizaron el 15% de los SV para 4,50 g L<sup>-1</sup> de NaOH sin calentamiento y 70% para 2,25 g L<sup>-1</sup> de NaOH a 130°C. El efecto del pre-tratamiento con NaOH resulta en una mayor solubilización que el Ca(OH)<sub>2</sub> para severidades comparables (Zheng et al., 2014), sin embargo el contenido de Na en el digestato pudiera afectar su calidad como bioabono, por lo cual el Ca(OH)<sub>2</sub> es más recomendable.

Es de señalar que la temperatura tiene un papel importante en la solubilización de la DQO, lo cual favorece la etapa hidrolítica y con ello la productividad de metano, sin embargo si compuestos no deseados son formados puede afectarse el proceso de digestión anaerobia.

Los principales efectos de este pre-tratamiento tal y como se mostró en la Tabla 1.3 del capítulo 1 para la comparación de los diferentes pre-tratamientos son la solubilización de la hemicelulosa y de una parte de la lignina. La solubilización de la hemicelulosa tiene un efecto positivo sobre la degradabilidad de la celulosa. Sin embargo la oxidación de la lignina a compuestos fenólicos solubles es un riesgo por su posible efecto inhibitorio sobre el proceso de digestión anaerobia (Hendriks y Zeeman, 2009). Se trata de un grupo de compuestos muy heterogéneos que se pueden encontrar en forma de monómeros, dímeros y polímeros con una gran variedad de sustituyentes. Entre ellos se encuentran ácidos, aldehídos y alcoholes aromáticos. Dentro de éstos, los compuestos aromáticos de baja masa molar son los que se han mostrado como los más tóxicos para bacterias y metanógenos/archeas (Gossett et al., 1982). También las reacciones de Maillard pueden ocurrir bajo condiciones termo-alcálicas con sustratos que contienen proteínas y carbohidratos, como es el caso de estudio, con la formación de compuestos recalcitrantes como son las melanoidinas (Penaud et al., 1999; Hendriks y Zeeman, 2009).

Varios trabajos confirman lo mencionado anteriormente (Gossett et al., 1982; Teghammar et al., 2010). Gossett et al. (1982) concluyeron que la lignina pre-tratada por tratamiento termo-alcálico en concentraciones por encima de  $1 \text{ g L}^{-1}$  tuvo un mayor efecto inhibitorio para los metanógenos. Teghammar et al. (2010) atribuyeron la baja producción de metano obtenida para residuos lignocelulósicos (residuos de tubos de papel), tratados con NaOH y/o  $\text{H}_2\text{O}_2$  (2%) a altas temperaturas ( $190^\circ\text{C}$ ,  $220^\circ\text{C}$  por 30 minutos), a la alta concentración de compuestos fenólicos en el hidrolizado. Penaud et al. (1999) encontraron que la adición de NaOH ( $> 5 \text{ g L}^{-1}$  NaOH) a biomasa microbiana incrementó la solubilización de la DQO, con la posible formación de melanoidinas a partir de los carbohidratos y proteínas contenidas en la biomasa cruda.

Para una mejor comprensión del efecto del pre-tratamiento, la hidrólisis de la cachaza se vinculó a la severidad del pre-tratamiento a través del factor de severidad  $Mo$  (Fig. 2.3).

Un modelo lineal que relaciona  $S_{DQO}$  con  $\log Mo$  se obtuvo para el pre-tratamiento termo-alcálico de la cachaza (ecuación 2.4). El valor de  $n=1,80$  aportó el mejor coeficiente de determinación ( $R^2 = 0,95$ ). Se obtuvo una excelente correlación entre los valores predichos y los resultados experimentales ( $R^2 = 0,91$ ).

$$S_{DQO} = 7,79 \cdot \log(M_0) + 19,65 \quad (2.4)$$

Los valores más altos de  $S_{DQO}$  se obtuvieron cuando la severidad fue igual a 1,56 o superior. Para valores inferiores a 1,56 (correspondientes a A0\_7, A1\_4 y A2\_3), la  $S_{DQO}$  fue menor, sin diferencias significativas entre ellos (Fig. 2.3 y Tabla 2.5).

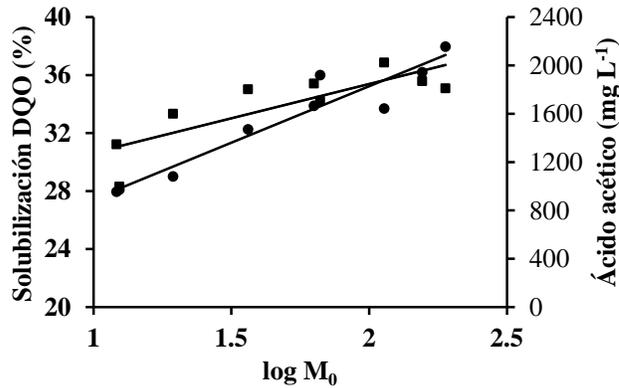


Fig 2.3. Solubilización de la DQO (●) y concentración de ácido acético (■) de acuerdo a la severidad del pre-tratamiento.

El efecto de  $t$  y  $LL$  sobre la  $S_{DQO}$  se evaluaron por la metodología de la superficie de respuesta (Fig. 2.4). El modelo de regresión para  $S_{DQO}$  en función de  $LL$  y  $t$ , se muestra en la ecuación 2.5.

$$S_{DQO} = 8,72 + 9,91t + 3,46LL - 2,01t^2 - 0,18LL^2 \quad (2.5)$$

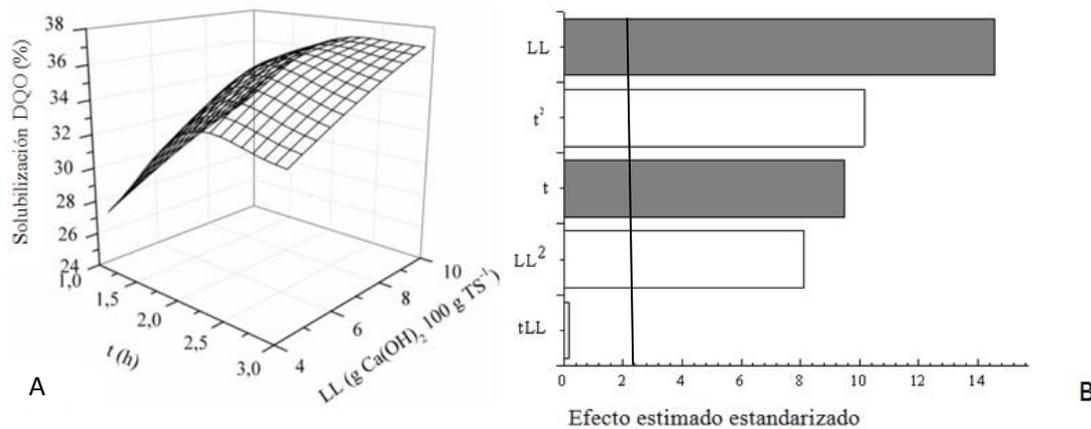


Fig. 2.4. Gráfico de superficie respuesta para el efecto de la  $LL$  y  $t$  ( $t$ ) sobre la solubilización de la DQO (A) y gráfico Pareto para los efectos normalizados (B). Efectos positivos (gris) y negativos (blanco).

El  $R^2$  para el modelo fue 0,92. El estadístico de Durbin-Watson fue de 1,79, indicando que el modelo ajustó bien los datos sin ninguna correlación entre los errores. El gráfico de los residuales normalizados demostró que no hubo anomalía en el estudio.

Los efectos lineales y cuadráticos para LL y t resultaron significativos, no siendo así el efecto interactivo. Los efectos de primer orden para LL y t fueron superiores que sus respectivos efectos cuadráticos ( $LL^2$  y  $t^2$ ). El efecto estimado de la LL fue superior al t por 5,18 unidades (valor absoluto) (Fig. 2.4). Este resultado fue diferente al obtenido por López et al. (2005) a 30°C al mostrar un efecto lineal superior para el t. Como es conocido, a temperaturas más bajas se necesita más tiempo para obtener la misma efectividad del pre-tratamiento (Chang et al., 1998). El punto óptimo obtenido por la ecuación 2.5 fue a las siguientes condiciones: 9,66 g  $Ca(OH)_2$   $100g^{-1} ST^{-1}$  y 2,46 h, con una  $S_{DQO}$  estimada de 37,73%.

En cuanto a la formación de AGV durante el pre-tratamiento termo-alcalino, el ácido acético fue el único AGV identificado. Su concentración se incrementó rápidamente, aún a condiciones moderadas de severidad (Tabla 2.5 y Fig. 2.3).

De acuerdo a la ecuación 2.6, se encontró una relación lineal entre la formación de HAc y la severidad del pre-tratamiento hasta  $\log M_o = 2,05$  ( $R^2 = 0,80$ ). Se obtiene que a valores superiores de severidad del pre-tratamiento la concentración de HAc decrece.

$$HAc = 798,4 \log M_o + 399,4 \quad (2.6)$$

La LL y el t incrementaron la formación de HAc, excepto para 10 g  $Ca(OH)_2$   $100 g^{-1} ST^{-1}$  (Tabla 2.5).

Tabla 2.5. Efecto del pre-tratamiento termo-alcalino sobre el HAc, el porcentaje de DQO solubilizada ( $S_{DQO}$ ) y el pH.

	$\log M_o$	$S_{DQO}$ (%)	HAc ( $mg L^{-1}$ )	pH
Cachaza	0,00	$21,5 \pm 1,7$	N.D.	6,19
A0_7	1,29	$29,0 \pm 0,2$	$1600,9 \pm 22,2$	10,63
A1_4	1,08	$27,9 \pm 0,9$	$1347,7 \pm 21,4$	8,48
A1_10	1,80	$33,9 \pm 1,6$	$1850,6 \pm 7,71$	11,44
A2_3	1,09	$28,1 \pm 1,0$	$997,4 \pm 177,1$	7,73
A2_7	1,82	$36,0 \pm 0,7$	$1707,1 \pm 97,5$	9,69
A2_11	2,19	$36,2 \pm 0,5$	$1870,8 \pm 54,89$	11,87
A3_4	1,56	$32,3 \pm 0,4$	$1802,8 \pm 108,9$	7,69
A3_10	2,28	$38,0 \pm 1,4$	$1811,5 \pm 104,7$	11,13
A3_7	2,05	$33,7 \pm 1,2$	$2024,0 \pm 10,0$	7,87

N.D. no detectado. Los datos se expresan como media  $\pm$  desviación estándar

Con estos resultados es posible afirmar que todos los grupos acetilo fueron hidrolizados a ácido acético después de 1 hora de tratamiento. Resulta interesante que a 7 g  $Ca(OH)_2$   $100 g^{-1} ST^{-1}$  no se encontraron diferencias apreciables entre 0,59 y 2 horas; no obstante, cuando el tiempo se

prolongó a 3,41 horas, se encontró el valor máximo de HAc ( $2024 \text{ mg L}^{-1}$ ). Esto es posible pues para pre-tratamientos alcalinos extendidos, el ácido acético ha sido reportado también como producto de la degradación de otros compuestos como D-xilosa (Oefner et al., 1992).

El ácido acético es generado a partir de la hidrólisis de los grupos acetilo contenidos en la hemicelulosa y su generación depende principalmente de la temperatura, LL y el t hasta que los grupos acetilo son completamente hidrolizados. Para el rastrojo de maíz se obtuvo un 97% de hidrólisis de los grupos acetilo, luego de un pre-tratamiento con cal por dos horas (Kim y Holtzapfle, 2005). En otro estudio realizado con una baja severidad del pre-tratamiento (-1,6), se obtuvo una concentración de ácido acético de  $1 \text{ g L}^{-1}$ , lo que confirma su rápida velocidad de formación (Panagiotopoulos et al., 2011).

Durante el pre-tratamiento termo-alcalino una fracción de las proteínas contenidas en la cachaza debieron solubilizarse. Penaud et al. (1999) reportaron un incremento de la solubilización de la DQO de 10,1%, al variar la temperatura del tratamiento desde condiciones ambientales hasta  $140^{\circ}\text{C}$ , manteniendo la adición de  $26,1 \text{ g NaOH L}^{-1}$ . Como el sustrato analizado fue biomasa microbiana, la solubilización de la DQO fue el resultado de la solubilización de las proteínas.

### **Efecto del pre-tratamiento termo-alcalino sobre la biodegradabilidad de la cachaza en términos de rendimiento de metano**

El pre-tratamiento de la cachaza con  $\text{Ca(OH)}_2$  a  $100^{\circ}\text{C}$  incrementó el rendimiento de metano significativamente para los pre-tratamientos aplicados con  $10 \text{ g Ca(OH)}_2 100 \text{ g}^{-1} \text{ ST}^{-1}$  por 1 hora (A1\_10) y  $11,21 \text{ g Ca(OH)}_2 100 \text{ g}^{-1} \text{ ST}^{-1}$  por 2 horas (A2\_11), con incrementos de 34 y 43%, respectivamente (Fig. 2.5 y Tabla 2.6). No se observaron diferencias significativas entre dichos pre-tratamientos, por lo que A1\_10 es considerada la mejor opción, al necesitar un menor tiempo de pre-tratamiento y una menor carga de  $\text{Ca(OH)}_2$  para llegar a resultados similares. Para el resto de los pre-tratamientos el rendimiento de metano no difiere significativamente respecto al control (Tabla 2.6).

El efecto sobre la biodegradabilidad de la cachaza mediante este pre-tratamiento se adjudica a que las primeras reacciones que tienen lugar durante el pre-tratamiento termo-alcalino, como la solvatación y la saponificación, causan un hinchamiento de la biomasa, lo que la hace más accesible a las enzimas y las bacterias. A concentraciones de álcalis fuertes, otras reacciones como disolución, descortezada de grupos finales, hidrólisis, degradación y descomposición de polisacáridos disueltos, pueden tener lugar.

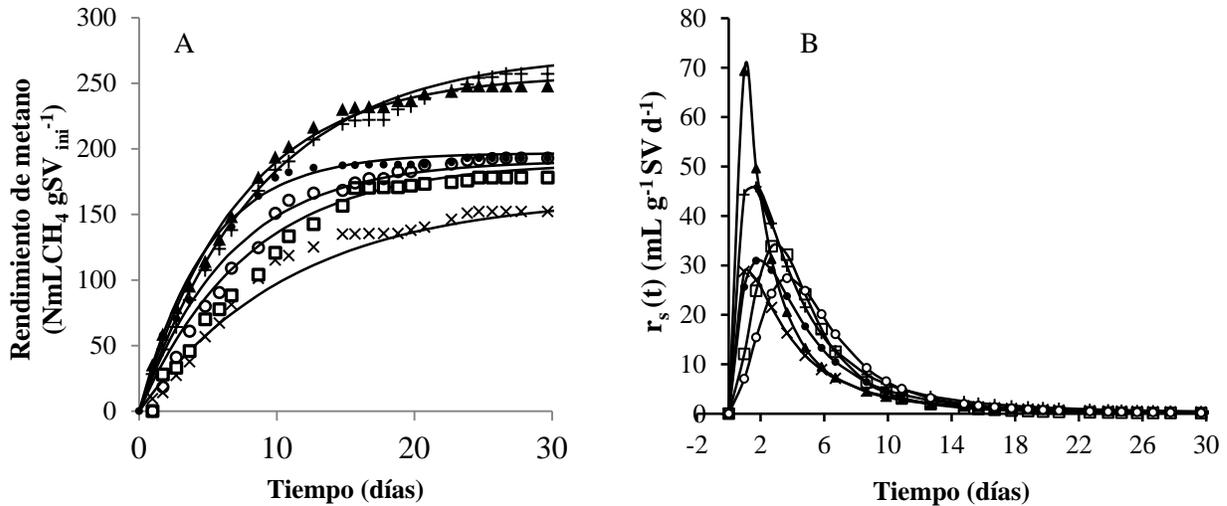


Fig. 2.5. Comportamiento de la producción de metano (A) y la productividad de metano  $r_s(t)$  (B) para la cachaza sin pretratar y pretratada. Cachaza sin pretratar ( $\circ$ ), A1\_10 ( $\blacktriangle$ ), A3\_10 ( $\square$ ), A3\_7 ( $\times$ ), A2\_7 ( $\bullet$ ), A2\_11 ( $+$ ). Con líneas continuas el modelo cinético ajustado.

La extracción alcalina puede causar también la solubilización, redistribución y condensación de la lignina, así como modificaciones en el estado cristalino de la celulosa (Hendricks y Zeeman, 2009). Como resultado, se podría esperar un incremento de la biodegradabilidad, expresado como volumen de metano acumulado por SV. Sin embargo, la biodegradabilidad de la biomasa puede decrecer debido a la formación de compuestos refractarios/tóxicos y a la pérdida de materia orgánica, cuando es severamente tratada (Carlsson et al., 2012).

Tabla 2.6. Máximo rendimiento de metano, constante cinética de primer orden ( $k$ ), eficiencia de la DA ( $\eta$ ), pH inicial ( $\text{pH}_i$ ) y final ( $\text{pH}_f$ ) durante el ensayo.

	$\log M_0$	$y_{\text{máx}}$ (mL CH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> SV <sub>ini</sub> <sup>-1</sup> )	$\eta$ (%)	$k$ (d <sup>-1</sup> )	$\text{pH}_i$	$\text{pH}_f$
Cachaza		191,3±17 <sup>b</sup>	46,5	0,150±0,01 <sup>a,b</sup>	8,15	8,14
A1_10	1,80	256,5±6 <sup>a</sup>	62,4	0,135±0,00 <sup>a,b</sup>	8,07	8,18
A3_10	2,28	189,8±12 <sup>b</sup>	46,2	0,126±0,04 <sup>a,b</sup>	8,11	8,13
A3_7	2,05	163,6±14 <sup>b</sup>	39,8	0,102±0,01 <sup>a</sup>	8,03	8,11
A2_7	1,82	196,8±17 <sup>b</sup>	44,7	0,204±0,02 <sup>b</sup>	8,05	8,10
A2_11	2,19	273,1±31 <sup>a</sup>	66,4	0,112±0,04 <sup>a</sup>	8,17	8,14

<sup>a-b</sup> grupos con diferentes letras difieren ( $P < 0,05$ ). La nomenclatura se describe en la Tabla 2.1.

Los datos se expresan como la media  $\pm$  desviación estándar.

El rendimiento de metano decreció en el momento en el que el tiempo del pre-tratamiento fue prolongado a  $t=3,00$  h y  $t=3,41$  h, cuando se aplicó la misma LL (A1\_10 - A3\_10 y A2\_7 - A3\_7). Existen reportes del incremento en la solubilización de la lignina como uno de los efectos

cuando se aplican tiempos de reacción extensos. Consecuentemente son liberados compuestos fenólicos considerados inhibitorios al proceso de digestión anaerobia. Para  $t < 3$  h, el rendimiento de metano se incrementó con la LL. Al ser prolongado hasta  $t=3,00$  h y  $t=3,41$  h (A3\_10 y A3\_7), el rendimiento decreció drásticamente a pesar de la máxima solubilización observada para A3\_10.

Basado en la composición analizada de la cachaza ( $C_{3,74}H_6O_{2,96}N_{0,12}$ ), se calculó un rendimiento teórico de metano de  $410,98 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ SV}^{-1}$ . Solo el 46,54% de este potencial se obtuvo para la cachaza sin pre-tratar, el cual está en el intervalo de 30% a 60% para material altamente particulado (Angelidaki y W.Sanders, 2004). Para la cachaza pre-tratada A1\_10 se logró un 62% de eficiencia de conversión.

En la literatura consultada no se encontró reporte alguno sobre el pre-tratamiento termo-alcalino de la cachaza, lo cual constituye una **novedad** en el presente trabajo. Dicho pre-tratamiento ha sido, sin embargo aplicado a otros sustratos con incrementos superiores a los obtenidos para la cachaza (Fernandes et al., 2009; Rafique et al., 2010; Teghammar et al., 2010; Xie et al., 2011). Un incremento de un 72% respecto al sustrato sin pre-tratar se obtuvo después del pre-tratamiento de la fracción sólida de la excreta de vaca con  $5 \text{ g Ca(OH)}_2$   $100 \text{ g}^{-1} \text{ ST}^{-1}$  a  $70^\circ\text{C}$  por 1 h (Rafique et al., 2010). En otro estudio realizado por Fernandes et al. (2009) determinaron el efecto del pre-tratamiento termo-alcalino para tres especies de plantas (paja, heno y helecho) con  $100 \text{ g L}^{-1} \text{ Ca(OH)}_2$  a  $85^\circ\text{C}$  por 16 horas. El mejor resultado se obtuvo para el helecho con un aumento del 142% en el rendimiento de metano. Sin embargo, las otras dos especies no mostraron diferencias significativas respecto al control.

El comportamiento de la productividad de metano se muestra en la Fig. 2.5. La  $r_{(s)t}$  se incrementó progresivamente durante los primeros días, alcanzando un máximo el día 2 para A2\_7, A1\_10 y A2\_11 y entre los días 2 y 4 para A3\_7, A3\_10 y la cachaza sin pre-tratar. Este fenómeno pudo estar dado por la alta solubilización en el primer grupo y la presencia de compuestos tóxicos y/o recalcitrantes en el segundo grupo. Una mejor evolución del proceso se observa para A2\_7, en comparación con el resto de los pre-tratamientos.

Existen trabajos publicados en los cuales se informa de la inhibición del proceso de DA debido a la solubilización de la lignina y formación de compuestos fenólicos durante pre-tratamientos termo-alcalinos (Gossett et al., 1982; Gregg y Saddler, 1996; Teghammar et al., 2010). Dichos reportes demostraron que a concentraciones de compuestos fenólicos de hasta  $1970 \text{ mg L}^{-1}$

durante el pre-tratamiento con NaOH y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a altas temperaturas, se afectó el rendimiento de metano (Teghammar et al., 2010). Una fase de retardo y un decrecimiento en la velocidad de producción de metano son los principales efectos causados por compuestos tóxicos como los fenólicos (Teghammar et al., 2010) y por acumulación de AGV (Xie et al., 2011). Los compuestos fenólicos se fraccionan dentro de la membrana celular causando la pérdida de su integridad, lo cual afecta su habilidad para servir como barrera selectiva (Heipieper et al., 1994). Sin embargo, los metanógenos son capaces de adaptarse a dichas condiciones, lo cual puede explicar un ligero incremento en el rendimiento de metano luego de una fase prolongada de digestión.

Por otra parte, los valores de  $k$  variaron entre 0,11 y 0,20 d<sup>-1</sup> (Tabla 2.6). Para condiciones de pre-tratamiento más severas, el valor de  $k$  estimado fue ligeramente inferior respecto al resto de los pre-tratamientos. Para la biomasa pre-tratada el valor de  $k$  puede decrecer debido a sustancias más complejas formadas durante la degradación de los azúcares y la solubilización de la lignina. Por otra parte, un incremento de la solubilización puede traer consigo una mayor acumulación de AGV y por ende, un desbalance del proceso de digestión anaerobia, lo que afecta la velocidad de producción de metano. En comparación con el presente estudio, Sánchez et al. (1996) informó un valor superior de  $k$  para la cachaza no tratada, igual a 0,45 d<sup>-1</sup> para una relación sustrato/inóculo (0,53) similar a la usada en esta investigación. Sin embargo, comparar ambos estudios no es posible debido a diferencias en condiciones ambientales y operacionales (agitación, aclimatación previa del inóculo), lo cual influye significativamente en la cinética del proceso.

Otros parámetros monitoreados en el experimento fueron la concentración de AGV al final del ensayo y el pH inicial y final. El pH inicial estuvo entre 8,05 – 8,17 (Tabla 2.6). Esos valores están en el intervalo operacional de 6,5-8,5 reportado previamente por Weiland (2010) para un proceso de DA. Los valores de pH obtenidos después de la digestión, entre 8,10 – 8,18, fueron similares y en algunos casos ligeramente superiores que los iniciales. El comportamiento del pH durante un proceso de DA está relacionado con la variación en la concentración de AGV durante el ensayo en discontinuo. Los valores de pH al final se deben a la capacidad buffer desarrollada por el CO<sub>2</sub> liberado, la adición de OH<sup>-</sup> durante el pre-tratamiento, la presencia de la capacidad buffer en forma de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> y por el amonio liberado durante la degradación de proteínas contenidas en la cachaza.

Durante la DA del material orgánico particulado la hidrólisis es considerada el paso limitante (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991), pero después del pre-tratamiento termo-alkalino, están disponibles una mayor cantidad de compuestos orgánicos a la actividad enzimática y las sustancias poliméricas extracelulares son degradadas. Como resultado, habrá una mayor concentración de material soluble listo para ser degradado por los microorganismos acidogénicos y la velocidad de hidrólisis será más rápida. Lo anterior causa un retardo de la metanogénesis el cual se convierte en el paso más lento y por ende, limitante durante el proceso de digestión anaerobia.

La concentración de AGV al finalizar el ensayo fue menor que  $40 \text{ mg L}^{-1}$ , con trazas de los ácidos propiónico, butírico, isovalérico y valérico; mientras que el ácido acético no fue detectado. Esto demuestra que los ácidos producidos durante el proceso de DA fueron en su mayoría convertidos a metano, quedando solo trazas confirmando que la DA culminó.

En resumen el pre-tratamiento termo-alkalino mejoró la solubilización de la DQO para la cachaza a medida que la severidad del pre-tratamiento se incrementó. Sin embargo la biodegradabilidad de la misma no incrementa con el aumento de la severidad aunque sí se encuentran valores de severidad para el cual la biodegradabilidad incrementa respecto al control.

### **2.3.3 Efecto del pre-tratamiento por agua caliente presurizada (LHW) de la cachaza pre-tratada sobre su biodegradabilidad**

La fracción líquida de la cachaza pre-tratada y sin pre-tratar se analizó para determinar pH, ácido acético, mono y di-sacáridos, furfural, HMF y ácidos aromáticos, tal como se describió en la sección experimental. A continuación se realizó el ensayo para determinar el potencial de metano, como medida de biodegradabilidad, para todas las condiciones de pre-tratamiento y la cachaza sin pre-tratar.

#### **Efecto del pre-tratamiento sobre la solubilización de la cachaza pre-tratada**

El efecto del pre-tratamiento sobre la solubilización de la DQO y la formación de ácido acético se muestran en la Fig. 2.6.

La solubilización de la DQO se incrementó linealmente con la severidad del pre-tratamiento, con la exclusión del punto  $\log R_0=4,35$  ( $210^\circ\text{C}$ , 12,5 min). Para dicha condición, que constituye el pre-tratamiento más severo aplicado a la cachaza bajo este pre-tratamiento, es posible que haya ocurrido una recondensación de componentes previamente solubilizados a partir de la lignina.

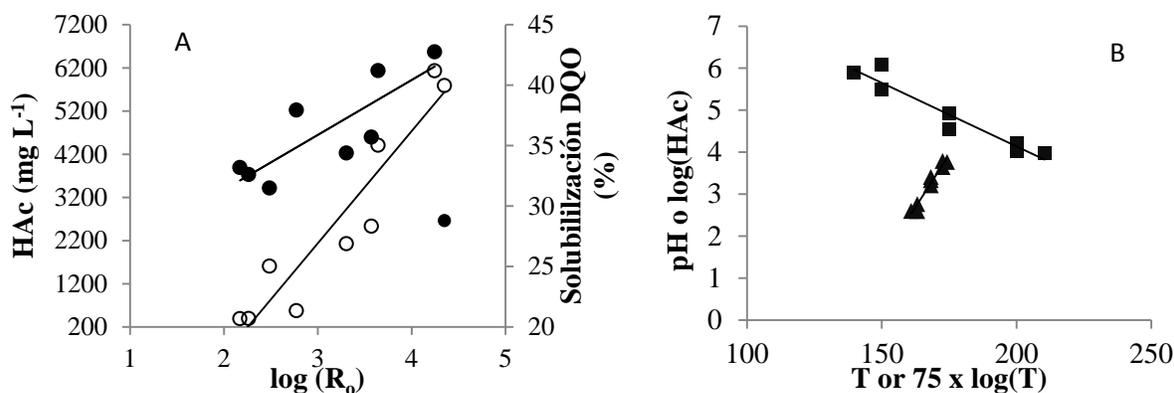


Fig. 2.6 Solubilización de la DQO (●) y concentración de ácido acético (○) como función de la severidad del pre-tratamiento (A). pH (■) y ácido acético (▲) como función de la temperatura (B).

En todos los casos la  $S_{DQO}$  fue significativamente superior para la cachaza pre-tratada que sin pre-tratar. Los valores variaron entre 28,79% - 42,75%, lo cual representa un incremento entre 4,81%-18,77% por encima al de la cachaza sin pre-tratar (23,98%) (Tabla 2.7).

Tabla 2.7. Composición de la DQO soluble (DQOs), % solubilización de la DQO ( $S_{DQO}$ ), ácido acético (HAc) y pH en el hidrolizado.

	log Ro	DQOs (mg L <sup>-1</sup> )	$S_{DQO}$ (%)	HAc (mg L <sup>-1</sup> )	pH
Cachaza	0,00	38133 ± 676	23,9 <sup>a</sup>	265 <sup>a</sup> ± 13	6,21 ± 0,10
TH 150_5	2,17	46066 ± 768	33,2 <sup>cd</sup>	392 <sup>a</sup> ± 8	6,08 ± 0,15
TH 150_20	2,77	52644 ± 769	37,9 <sup>f</sup>	577 <sup>a</sup> ± 11	5,50 ± 0,07
TH 200_5	3,64	68644 ± 2694	41,2 <sup>g</sup>	4408 <sup>d</sup> ± 186	4,22 ± 0,12
TH 200_20	4,25	48400 ± 751	42,7 <sup>g</sup>	6132 <sup>e</sup> ± 83	4,03 ± 0,12
TH 140_12,5	2,26	44444 ± 1081	32,6 <sup>cd</sup>	394 <sup>a</sup> ± 9	5,89 ± 0,03
TH 210_12,5	4,35	37933 ± 1763	28,8 <sup>b</sup>	5787 <sup>e</sup> ± 263	3,96 ± 0,02
TH 175_2	2,49	45266 ± 1763	31,5 <sup>c</sup>	1607 <sup>b</sup> ± 340	4,91 ± 0,03
TH175_23	3,57	47044 ± 769	35,7 <sup>e</sup>	2530 <sup>c</sup> ± 64	4,55 ± 0,06
TH175_12,5	3,31	46377 ± 2036	34,4 <sup>d</sup>	2127 <sup>bc</sup> ± 12	4,75 ± 0,11

<sup>a-f</sup> grupos con diferentes letras difieren ( $P < 0,05$ ). Los datos se expresan como la media ± desviación estándar.

El máximo porcentaje de solubilización fue alcanzado para una temperatura de 200°C con tiempos de 5 y 20 minutos, con valores de 41,19 y 42,75%, respectivamente. Como resultado se obtuvieron incrementos de hasta un 78% con respecto a la cachaza sin pre-tratar.

El  $S_{DQO}$  se incrementó linealmente con el factor de severidad log  $R_0$  (ecuación 2.7), con  $R^2 = 0,68$ .

$$S_{DQO} = 4,54 \cdot \log R_0 + 22,27 \quad (2.7)$$

En ese sentido se han reportado niveles de solubilización superiores a temperaturas elevadas (175-220°C) en comparación con temperaturas moderadas (140-170°C) (Fernandez-Cegri et al., 2012; Nitsos et al., 2013). Durante el pre-tratamiento por LHW de madera de haya, la  $S_{DQO}$  se incrementó hasta un 40% a 220°C por 15 minutos (Nitsos et al., 2013). En otro estudio aplicado a la torta de aceite de girasol se logró incrementar la DQO soluble a 200°C en 369% (Fernandez-Cegri et al., 2012).

Durante el pre-tratamiento por LHW el agua caliente presurizada penetra en la biomasa, hidrata la celulosa y la hemicelulosa y la lignina son solubilizadas por el agua caliente actuando como un ácido durante una primera etapa y el ácido acético generado en el medio en una segunda etapa (Kim et al., 2009; Yu et al., 2010b). El pre-tratamiento por LHW ha sido reportado como altamente efectivo en la ampliación del área de superficie accesible y susceptible de la celulosa, lo que mejora su degradabilidad por microorganismos y enzimas (Zheng et al., 2014).

La xilosa, galactosa, manosa y arabinosa fueron los principales azúcares reductores encontrados en la fracción líquida, estas son formadas por la hidrólisis de los oligosacáridos solubilizados durante el pre-tratamiento y contenidos en la hemicelulosa. La xilosa, como monómero, estuvo presente a bajas concentraciones (0,03 – 0,37g 100 g<sup>-1</sup> cachaza, Fig. 2.7). El máximo valor detectado se corresponde con una severidad  $\log R_o=3,64$  (200°C, 5 min).

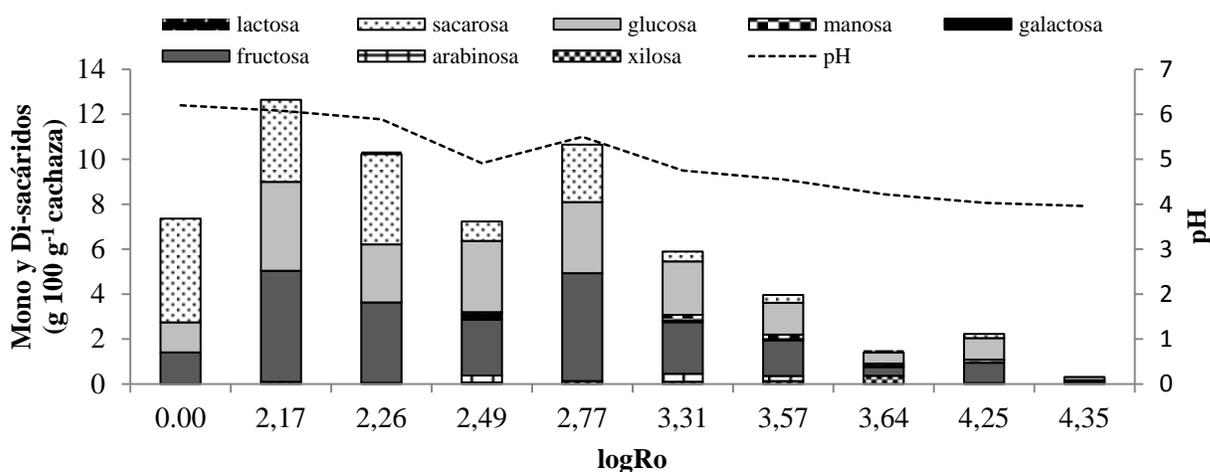


Fig 2.7. Composición de mono y disacáridos en el hidrolizado en función de la severidad del pre-tratamiento y el pH.

Durante el pre-tratamiento por LHW es necesario mantener un pH entre 4 y 7 con vistas a evitar la formación de monosacáridos, los cuales pudieran ser degradados a compuestos como furanos y ácidos orgánicos, inhibidores del proceso de DA, además de actuar como catalizadores de la hidrólisis

del material celulósico (Hendriks y Zeeman, 2009). Sin embargo, como la glucosa, fructosa y sacarosa están presentes en la cachaza cruda, la hidrólisis de los azúcares inició a bajas severidades ( $\log R_o=2,17$ ) y a un pH superior a 4 (Fig. 2.7).

Durante el pre-tratamiento LHW se pueden formar otros sub-productos a partir de la degradación de pentosas, hexosas y la lignina presente. Estos incluyen principalmente al furfural, ácido acético, HMF, ácido fórmico, compuestos fenólicos, entre otros, los cuales pueden ser inhibidores de la digestión anaerobia de acuerdo a su concentración y disponibilidad en el medio (Yu et al., 2010b). Además, la reacción de Maillard puede tener lugar acompañada por la formación de melainodinas. Estos son compuestos recalcitrantes coloreados producidos por reacciones de polimerización a elevadas temperaturas.

En los experimentos realizados se encontraron varios subproductos en el hidrolizado. Estos fueron furfural, HMF, ácido acético y ácidos fenólicos. Su relación con la severidad del pre-tratamiento se muestra en las Fig. 2.6 y Fig. 2.8.

El ácido acético se incrementó casi linealmente con el factor de severidad, hasta valores de 6132 y 5787 mg L<sup>-1</sup> para  $\log R_o$  de 4,25 (200°C por 20 minutos) y 4,35 (210°C por 12,5 minutos), respectivamente (Tabla 2.7 y Fig. 2.6). Un modelo lineal (ecuación 2.8) ajustó bien los resultados experimentales con una R<sup>2</sup> de 0,88. Sin embargo, una mejor correlación (R<sup>2</sup>=0,96) se obtuvo para el ácido acético cuando se omite la influencia del tiempo, lo cual muestra su alta dependencia de la temperatura (ecuación 2.9). El agua caliente separa los vínculos del hemiacetal con la hemicelulosa y libera O-acetil y otros ácidos contenidos en la hemicelulosa (Perez et al., 2007). El pH del hidrolizado decreció de 6,21 a 3,96, muy estrechamente relacionado con la formación de ácido acético (Tabla 2.7 y Fig 2.6). Un modelo lineal correlacionó bien el efecto de la temperatura sobre el pH con un R<sup>2</sup> de 0,93 (ecuación 2.10).

$$HAc = 2599,2 \cdot (\log R_o - 5657,7) \quad (2.8)$$

$$\log(HAc) = 0,099 \cdot (75 \log(T)) - 13,46 \quad (2.9)$$

$$pH = -0,030 T + 10,19 \quad (2.10)$$

Dentro de los ácidos aromáticos analizados en el hidrolizado el ácido p-cumárico predominó en todas las muestras, mientras el ácido ferúlico fue detectado a niveles bajos (Fig. 2.8). Esto concuerda con estudios previos de la caracterización del bagazo de caña de azúcar, fuente de la fibra contenida en la cachaza (Masarin et al., 2011). Ambos ácidos decrecieron a altas

severidades ( $\log R_o = 4,25$  y  $4,35$ ). Estos ácidos cuando están vinculados a metilglucurono-arabino-xilanos son solubilizados a severidades moderadas, el resto permanece vinculado a la lignina a través de ésteres que recubren el oxígeno fenólico hidroxicinámico (Xu et al., 2005). Las concentraciones de los ácidos siríngico y vanílico no variaron a severidades moderadas ( $\log R_o = 2,17-3,57$ ), pero cuando la temperatura fue  $200^\circ\text{C}$ , o superior ( $\log R_o \geq 3,64$ ), se incrementaron debido a la solubilización de la lignina. El comportamiento del ácido gálico no estuvo claramente relacionado con la severidad del pre-tratamiento.

El furfural y el HMF estuvieron presentes en todas las muestras analizadas. Las concentraciones superiores de furfural fueron para  $\log R_o=3,31$  ( $175^\circ\text{C}$ , 12,5 min),  $\log R_o=3,57$  ( $175^\circ\text{C}$ , 23 min) y  $\log R_o=3,64$  ( $200^\circ\text{C}$ , 5 min), con un marcado incremento a  $200^\circ\text{C}$  por 5 minutos (Fig. 2.8).

En el caso del HMF, las concentraciones variaron entre  $34,08$  y  $362,00 \text{ mg L}^{-1}$ , con un valor máximo para  $\log R_o=2,49$  ( $175^\circ\text{C}$ , 2 min). La capacidad del pre-tratamiento hidrotérmico de producir considerables cantidades de furfural bajo determinadas condiciones experimentales; ha sido informada previamente (Hendriks y Zeeman, 2009; Suryawati et al., 2009; Abril et al., 2012; Nitsos et al., 2013). Sin embargo, el HMF es encontrado generalmente a bajas concentraciones debido a la limitada solubilización de la celulosa durante el pre-tratamiento y la consecuente formación de glucosa, principal precursor del HMF (Hendriks y Zeeman, 2009).

Pequeñas cantidades de HMF encontradas a severidades moderadas, se debieron formar a partir de la degradación de glucosa y sacarosa en la cachaza cruda, la cual cuenta hasta un 8,94% expresado en base seca. Por consiguiente, el prolongado tiempo de calentamiento aplicado en los experimentos (entre 60 a 80 minutos dependiendo de la temperatura final del proceso) fue responsable de la formación de productos de la degradación, especialmente a partir de la glucosa soluble extraída.

La máxima concentración de furfural ( $1,21 \text{ g L}^{-1}$ , equivalente a  $0,73 \text{ g}/100 \text{ g}$  cachaza) fue a  $200^\circ\text{C}$  por 5 minutos. Este resultado es similar al reportado por Suryawati et al. (2009) de  $0,72 \text{ g}/100 \text{ g}$  para la hierba pre-tratada a  $200^\circ\text{C}$  por 10 minutos (calculado a partir de valores informados). Los valores en la literatura varían entre  $0,2$  y  $3,1 \text{ g}/100 \text{ g}$  de biomasa para temperaturas de  $200^\circ\text{C}$  y  $220^\circ\text{C}$  y tiempos de pre-tratamiento entre 5-15 minutos (Perez et al., 2007; Suryawati et al., 2009; Yu et al., 2010a; Nitsos et al., 2013).

La concentración de furfural decreció con el incremento del tiempo del pre-tratamiento a  $200^\circ\text{C}$  por 20 minutos, debido a la degradación de los furanos a aldehídos y ácidos orgánicos (Yu et al.,

2010b). Un comportamiento similar fue observado por Suryawati et al. (2009) a 210°C cuando prolongó el tiempo de 10 a 15 minutos.

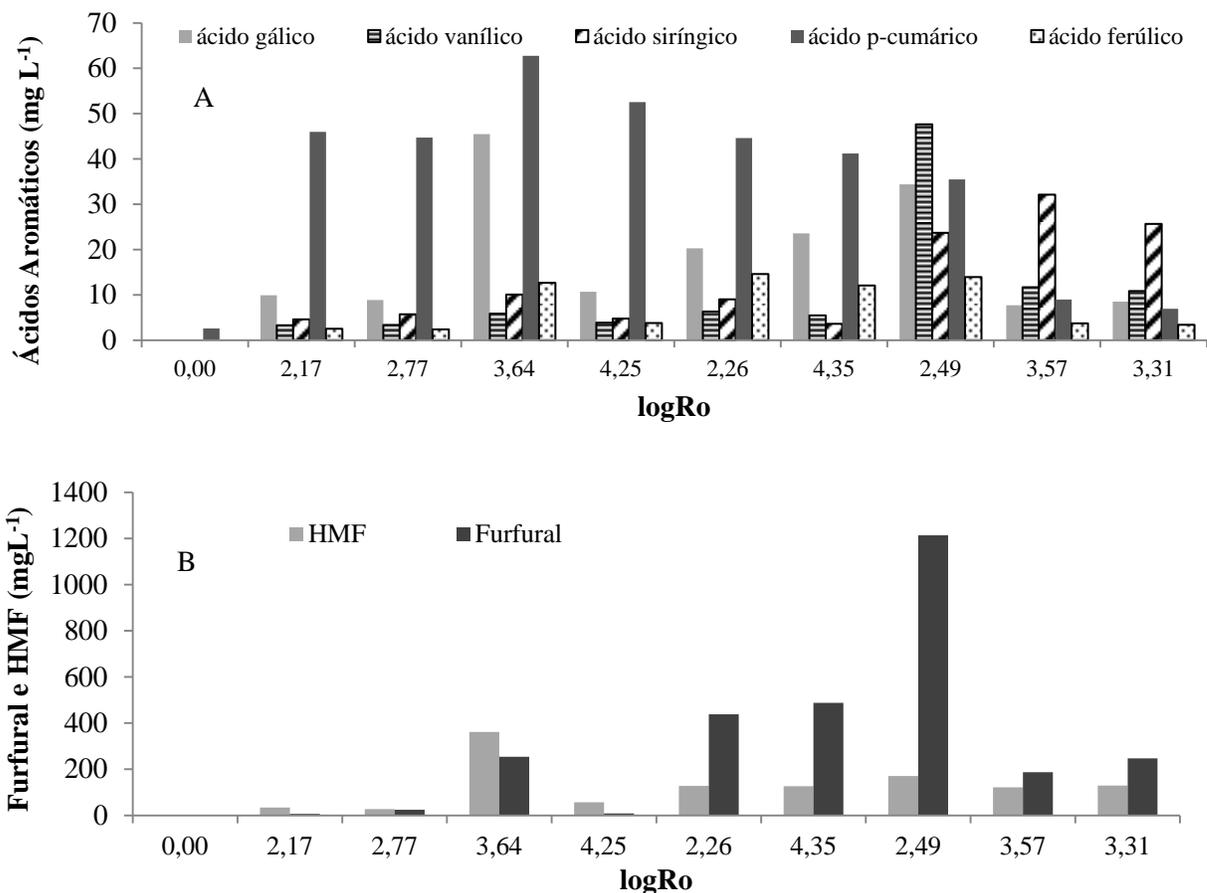


Fig. 2.8. Concentración de ácidos aromáticos (A) y furanos (B) de acuerdo a la severidad del pre-tratamiento ( $\log R_o$ ).

En resumen, aplicar temperaturas de 200°C llevó a un alto grado de solubilización de la materia orgánica, lo cual no implica necesariamente superiores rendimientos de biogás. La formación de compuestos tóxicos y/o complejos y su concentración en el medio son posibles causas de una disminución de esta variable que mide la biodegradabilidad de la cachaza.

### Efecto del pre-tratamiento LHW sobre la biodegradabilidad de la cachaza en términos de rendimiento de metano

Como resultado del BMP aplicado a la cachaza pre-tratada por LHW, se produjo un incremento en el rendimiento de metano para severidades del pre-tratamiento con valores hasta  $\log R_o=3,64$ , con diferencias significativas respecto a la cachaza sin pre-tratar (Tabla 2.8). Rendimientos de metano superiores se obtuvieron a bajas severidades ( $\log R_o=2,17-2,77$ ), lo cual se corresponde con las siguientes condiciones: 140°C por 12,5 minutos, 150°C por 5 y 20 minutos y 175°C por 2

minutos. Para esos pre-tratamientos, los rendimientos de metano variaron de 321,95 a 340,80 mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>SV<sub>in</sub>.

Una relación entre el rendimiento de metano y la severidad del pre-tratamiento fue ajustada a un modelo cuadrático con una R<sup>2</sup>=0,94 (ecuación 2.11).

$$y_{CH_4} = -35,10 \log R_o^2 + 168,98 \log R_o + 123,30 \quad (2.11)$$

La curva muestra un incremento hasta logR<sub>o</sub>=2,77 y un decrecimiento del rendimiento a valores superiores de la severidad del pre-tratamiento (Fig. 2.9).

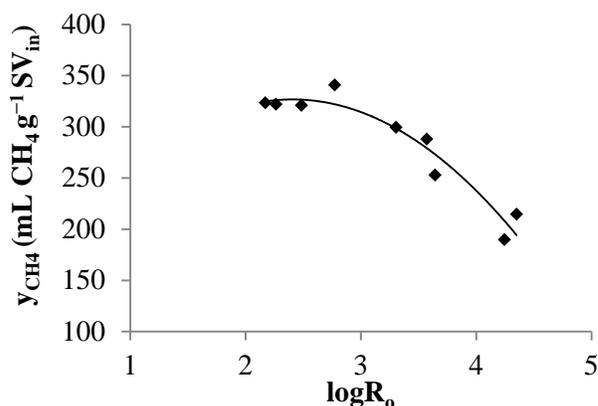


Fig 2.9. Dependencia del rendimiento de metano con la severidad del pre-tratamiento.

El máximo rendimiento de metano obtenido a 150°C y 20 minutos (logR<sub>o</sub>=2,77), representó un incremento en un 63% sobre la cachaza sin pre-tratar (Fig. 2.10). Bajas temperaturas de pre-tratamiento no rompen significativamente los enlaces lignocelulósicos, pero promueven la hidrólisis de la materia orgánica (Wang et al., 1997). Estos efectos benefician la degradación de la materia orgánica por bacterias anaerobias y por ende el rendimiento de metano.

Para una temperatura de 175°C, tiempos superiores a 2 minutos llevaron a una reducción de un 11% en el rendimiento de metano, lo cual sugiere la formación de sustancias recalcitrantes complejas y/o compuestos tóxicos para las condiciones de tratamiento más severas. Dicho comportamiento fue más crítico a altas severidades (3,64; 4,25 y 4,35), las cuales se corresponden con 200°C por 5 minutos, 200°C por 20 minutos y 210°C por 12,5 minutos, respectivamente.

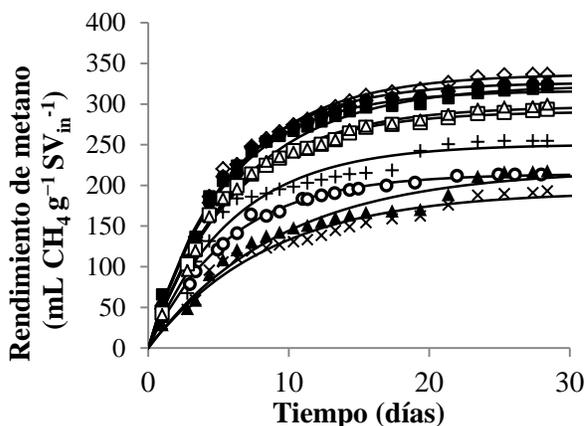


Fig. 2.10. Comportamiento de la producción de metano acumulativa (TPN) para la cachaza sin pre-tratar (○) y pre-tratada a 150°C\_5 min (◈), 150°C\_20 min (◊), 200°C\_5 min (+), 200°C\_20 min (x), 140°C\_12,5 (●), 210°C\_12,5 min (▲), 175°C\_2 min (■), 175°C\_23 min (□), 175°C\_12,5 min (Δ). Con líneas continuas el modelo cinético ajustado.

En comparación con la cachaza sin pre-tratar, el rendimiento de metano se incrementó solo en 20% y 2%, cuando se aplicó 200°C por 5 minutos y 210°C por 12,5 minutos, respectivamente. A 200°C por 20 minutos el rendimiento de metano decreció significativamente en un 9%, comparado con la cachaza sin pre-tratar (Tabla 2.8).

Tabla 2.8. Máximo rendimiento de metano, constante cinética de primer orden (k), pH inicial (pH<sub>i</sub>) y final (pH<sub>f</sub>) durante el ensayo.

	logR <sub>o</sub>	y <sub>máx</sub> (mL CH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> SV <sub>in</sub> <sup>-1</sup> )	k (d <sup>-1</sup> )	pH <sub>i</sub>	pH <sub>f</sub>
Cachaza	0,00	209,17 <sup>b</sup> ± 10,46	0,17 <sup>d</sup> ± 0,017	7,69	7,87
TH150_5	2,17	323,44 <sup>e</sup> ± 3,06	0,18 <sup>d</sup> ± 0,005	7,67	7,77
TH150_20	2,77	340,80 <sup>f</sup> ± 5,31	0,17 <sup>c,d</sup> ± 0,003	7,66	7,75
TH200_5	3,64	252,89 <sup>c</sup> ± 4,12	0,17 <sup>b</sup> ± 0,023	7,27	7,84
TH200_20	4,25	189,76 <sup>a</sup> ± 5,88	0,12 <sup>a</sup> ± 0,000	7,20	7,87
TH140_12,5	2,26	321,95 <sup>e</sup> ± 8,01	0,15 <sup>b,c</sup> ± 0,009	7,80	7,82
TH210_12,5	4,35	214,68 <sup>b</sup> ± 7,53	0,11 <sup>a</sup> ± 0,006	7,14	7,81
TH175_2	2,49	320,94 <sup>e</sup> ± 7,95	0,18 <sup>e</sup> ± 0,001	7,68	7,69
TH175_23	3,57	288,03 <sup>d</sup> ± 4,12	0,17 <sup>d</sup> ± 0,005	7,50	7,82
TH175_12,5	3,31	299,53 <sup>d</sup> ± 4,67	0,16 <sup>c,d</sup> ± 0,002	7,72	7,81

<sup>a-f</sup> grupos con diferentes letras difieren (P < 0,05). Los datos se expresan como la media ± desviación estándar.

Aunque se obtuvieron concentraciones de furfural de 1,21 g L<sup>-1</sup>, se asume que no hubo inhibición a esta concentración (Barakat et al., 2012; Monlau et al., 2012; Monlau et al., 2013b). De manera similar, las concentraciones de HMF y los ácidos fenólicos estuvieron por debajo a las inhibitorias, 3 g L<sup>-1</sup> y 10 g L<sup>-1</sup> respectivamente, de acuerdo a Monlau et al., 2013b. Contrario a la

producción de etanol, estos compuestos pueden ser convertidos a metano en un proceso de digestión anaerobia. Barakat et al. (2012) mostraron rendimientos de metano de 430 y 450 mL g SV<sup>-1</sup> cuando el furfural y el HMF se alimentaron a 2 g L<sup>-1</sup> como única fuente de carbón, pero con una fase de retardo de 4 y 14 días, respectivamente.

Se sugiere que la formación de sustancias complejas recalcitrantes en la matriz del sustrato, conocidas como melainodinas, podrían explicar los bajos rendimientos de metano obtenidos a altas severidades. Tales reacciones son altamente probables para el caso de la cachaza, rica en proteínas y carbohidratos. Para la cachaza pre-tratada a altas severidades se observó un color más oscuro y olor a caramelo (Anexo 2). A la misma conclusión llegaron reportes previos durante el pre-tratamiento hidrotérmico a 170°C de la torta de aceite de girasol (Monlau et al., 2013a), residuos de frutas y vegetales a 175°C (Liu et al., 2012) y excretas porcinas para temperaturas entre 110-150°C (Rafique et al., 2010).

El efecto del tiempo del pre-tratamiento y la temperatura sobre el rendimiento de metano fueron evaluados por la metodología de superficie de respuesta (Fig. 2.11).

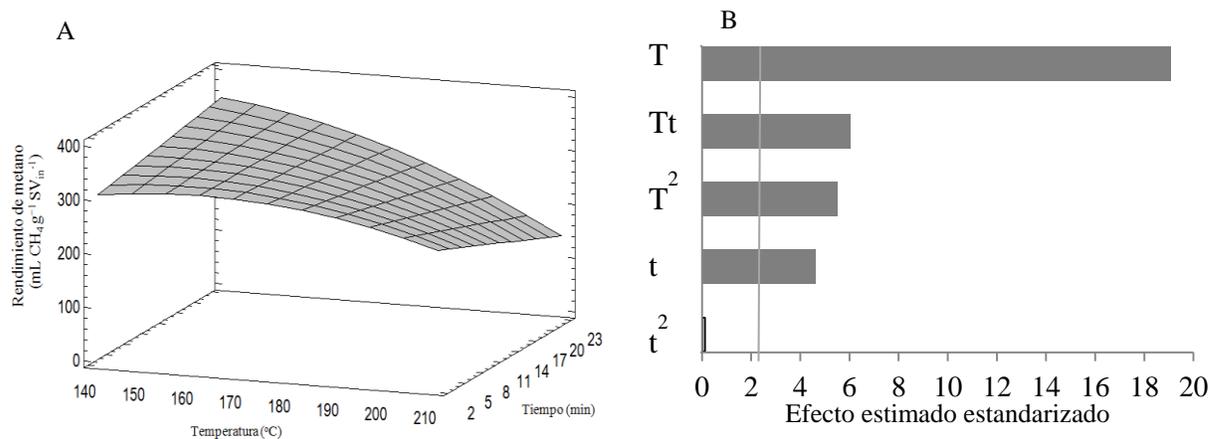


Fig. 2.11. Gráfico de la superficie respuesta del efecto de la T y t sobre el rendimiento de metano (A) y gráfico Pareto para los efectos normalizados (B). Efectos negativos (gris) y positivos (blanco).

La ecuación de regresión matemática (ecuación 2.12) para  $y_{CH_4}$  como función de la temperatura (T) y el tiempo de pre-tratamiento (t), sin el término no significativo  $t^2$ , se muestra a continuación:

$$y_{CH_4} = 9,36 \cdot T + 16,88 \cdot t - 0,028 \cdot T^2 - 0,10T \cdot t - 451,98 \quad (2.12)$$

El coeficiente de determinación ajustado ( $R^2_{aj}$ ) para el modelo fue de 0,94. El estadístico de Durbin-Watson mostró un valor inferior a 2 (1,91), lo cual indica que el modelo ajustó bien sin

correlación en los errores. El efecto negativo de la temperatura fue hasta 4 veces superior en comparación con el resto de los efectos considerados como significativos (Fig. 2.11). El punto óptimo obtenido a partir de la ecuación 2.12 fue para las siguientes condiciones:  $T=150^{\circ}\text{C}$  y  $t=20$  minutos, con un rendimiento de metano estimado de  $337,04 \text{ mLCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{SV}_{\text{in}}^{-1}$ .

El máximo incremento alcanzado en el presente trabajo fue similar al reportado por Budde et al. (2014) a una temperatura moderada ( $160^{\circ}\text{C}$ ), pero para menores tiempo de pre-tratamiento (5 min) y calentamiento ( $25 \text{ min}$ ,  $6^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ). En otro estudio aplicado a la torta de aceite de girasol, un incremento en el rendimiento de metano de un 20% fue observado a  $170^{\circ}\text{C}$  por 5 minutos (Monlau et al., 2013a). Condiciones de pre-tratamiento más severas ( $230^{\circ}\text{C}$  por 15 minutos) fueron efectivas para el incremento del rendimiento de metano de residuos de la fruta de la palma de aceite en un 29% (O-Thong et al., 2012). Sin embargo, estas comparaciones no son válidas debido a la variabilidad en las características del sustrato, el equipamiento usado para el pre-tratamiento, así como las condiciones operacionales (ejemplos, relación sólido/líquido, relación masa/volumen, tiempo de calentamiento, presión, temperatura, tiempo de pre-tratamiento, agitación).

Los valores de  $k$  variaron entre 0,107 a  $0,181 \text{ d}^{-1}$  (Tabla 2.8). Para pre-tratamientos con altas severidades los valores de  $k$  fueron ligeramente inferiores. Lo anterior se debe a la formación de sustancias más complejas a partir de la degradación de los azúcares y la solubilización de la lignina. Una larga fase de retardo y decrecimiento en la velocidad de producción de metano, cuando se aplica este tipo de pre-tratamiento, han sido informados como los principales efectos causados por compuestos inhibitorios, tales como furanos y compuestos fenólicos (Budde et al., 2014) y por acumulación de AGV (Xie et al., 2011).

El pH para todos los experimentos estuvo en el intervalo entre 7,14 y 7,80 en el inicio del ensayo (Tabla 2.8). Dichos valores están en el intervalo operacional de 6,5–8,5, previamente reportado para un proceso de DA (Weiland, 2010). Los valores finales de pH después de la digestión, estuvieron en el intervalo entre 7,69 y 7,87 (Tabla 2.8), de acuerdo a la capacidad buffer desarrollada por el  $\text{CO}_2$  liberado, así como el amonio liberado durante la degradación de las proteínas. La concentración de los AGV al final del ensayo estuvo por debajo de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ .

## 2.4. Conclusiones parciales

1. Se demostró la efectividad del pre-tratamiento termo-alcálico y por agua caliente presurizada en la mejora del porcentaje de solubilización de la DQO, lográndose valores de hasta 43%, lo cual resulta novedoso para el caso de la cachaza.
2. Se logró demostrar la relación entre el factor de severidad del pre-tratamiento y el porcentaje de DQO solubilizada ( $S_{DQO}$ ), así como la modelación matemática que explica dicha relación.
3. Los mayores incrementos del pre-tratamiento TA sobre la biodegradabilidad de la cachaza en términos de rendimiento de metano se obtuvieron a severidades  $\log M_0$  de 1,80 y 2,19. Se lograron incrementos de hasta un 43% en el rendimiento de metano por encima de la cachaza sin pre-tratar. Los mejores resultados fueron para 10 g  $\text{Ca(OH)}_2$  100  $\text{g}^{-1}$   $\text{ST}^{-1}$  por 1 hora y 11,24 g  $\text{Ca(OH)}_2$  100  $\text{g}^{-1}$   $\text{ST}^{-1}$  por 2 horas.
4. Los mayores incrementos del pre-tratamiento por LHW sobre la biodegradabilidad de la cachaza en términos de rendimiento de metano se obtuvieron a bajas severidades ( $\log R_0 = 2,17-2,77$ ). El máximo rendimiento de metano se obtuvo cuando la temperatura aplicada fue de 150°C durante 20 minutos, alcanzándose un incremento de un 63% con respecto a la cachaza sin pre-tratar.
5. Se detectó la presencia de HMF, furfural y de ácidos fenólicos en el hidrolizado de la cachaza pre-tratada por LHW, pero a concentraciones por debajo a las inhibitorias a la digestión anaerobia.
6. El rendimiento de metano fue reducido drásticamente debido a la formación de compuestos inhibitorios/recalcitrantes para tiempos de pre-tratamientos superiores a 3 horas para el pre-tratamiento TA y en el caso de aplicar temperaturas iguales a 200°C durante 20 minutos para el pre-tratamiento LHW.

## **Capítulo 3. Estudio de la mezcla vinaza-cachaza con y sin pre-tratamiento.**

### **3.1 Introducción**

El presente capítulo aborda el estudio de diferentes alternativas para el incremento de la producción de metano a partir de la co-digestión de la cachaza con la vinaza generada en la producción de alcohol. Se exploran además los posibles efectos sinérgicos y antagónicos de la mezcla sobre el rendimiento de metano y la cinética del proceso. Las alternativas que se tuvieron en cuenta fueron:

- ✓ Las combinaciones de mezcla de cachaza sin pre-tratar y vinaza, de acuerdo a un diseño de mezclas de enrejado simplex de dos componentes. El mejor resultado se probó en régimen semicontinuo.
- ✓ La cachaza pre-tratada termo-alcalinamente con 10 g  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  100 g<sup>-1</sup> ST<sup>-1</sup> por 1 hora a 100°C separada en dos fracciones: sólida (SF) y líquida (LF). Se estudian combinaciones de mezcla de tres componentes: LF, SF y vinaza (V), de acuerdo a un diseño de mezcla de enrejado simplex.
- ✓ La cachaza pre-tratada por LHW a 150°C durante 20 minutos separada en dos fracciones: sólida (SF) y líquida (LF). Se estudian combinaciones de mezcla de tres componentes LF, SF y V, de acuerdo a un diseño de mezcla de enrejado simplex.

### **3.2 Materiales y métodos**

#### **3.2.1 Preparación de los sustratos**

La cachaza usada en los experimentos se recolectó durante la zafra 2012, en la Unidad Empresarial de Base Central Azucarero “Melanio Hernández” de la provincia de Sancti Spíritus. La cachaza fue secada al aire y almacenada por un período de seis meses en bolsas de nylon a temperatura ambiente. Posteriormente, el material se transportó a Alemania, donde se llevó a cabo el trabajo experimental y se almacenó a 4°C hasta su uso. La vinaza se colectó en la destilería Paraíso ubicada en el mismo complejo, enfriada y almacenada posteriormente a -20°C para evitar su degradación.

#### **3.2.2 Métodos analíticos**

La DQO, ST, SV y pH se determinaron de acuerdo a los Métodos Estandarizados (APHA et al., 1995). Los análisis para DQO, AGV, ácidos fenólicos y metales se realizaron como se refirió en 2.2.2.

#### **3.2.3 Diseño del experimento**

En el diseño de los experimentos se utilizaron diseños de mezcla formados por componentes puros y mezclas de dos y/o tres componentes (Tablas 3.1 y 3.2). La base usada para el diseño fue el porcentaje de la proporción de DQO con la que cada componente contribuye en la mezcla. Se realizaron tres repeticiones por cada mezcla. Las variables respuesta fueron el rendimiento de

metano máximo ( $y_{m\acute{a}x}$ ) y la productividad de metano ( $r_s(t)$ ), determinados a partir del modelo de Hill modificado (ecuación 3.1) y su derivada (ecuación 3.2), respectivamente.

$$y(t) = y_{m\acute{a}x} \frac{t^b}{K_M^b + t^b} \quad (3.1)$$

$$r_{s(t)} = y_{m\acute{a}x} \cdot \frac{b \cdot K_M^b \cdot t^{b-1}}{(K_M^b + t^b)^2} \quad (3.2)$$

Donde  $y(t)$  es el rendimiento de metano acumulativo ( $\text{mLCH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}^{-1} \text{ alim}$ ),  $r_s(t)$  es la productividad de metano ( $\text{mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}^{-1} \text{ alim d}^{-1}$ )  $y_{m\acute{a}x}$  es el máximo rendimiento de metano determinado cuando  $t \rightarrow \infty$ , la constante de tiempo ( $K_M$ ) para la cual se alcanza la mitad de  $y_{m\acute{a}x}$ ,  $b$  es un parámetro de ajuste y  $t$  el tiempo (días).

Tabla 3.1. Matriz de diseño codificada para dos componentes.

Mezcla	Valor codificado*	
	V	C
C	0	1
V	1	0
V <sub>25</sub> : C <sub>75</sub>	25	75
V <sub>75</sub> : C <sub>25</sub>	75	25
V <sub>50</sub> : C <sub>50</sub>	50	50
V <sub>50</sub> : C <sub>50</sub>	50	50

V: vinaza, C: cachaza

\*expresado como el porcentaje de la proporción de DQO de cada componente

Tabla 3.2. Matriz de diseño codificada para tres componentes.

Mezcla	Valor codificado*		
	V	LF	SF
V	100	0	0
LF	0	100	0
SF	0	0	100
V <sub>67</sub> : LF <sub>0</sub> : SF <sub>33</sub>	66,6	0	33,3
V <sub>67</sub> : LF <sub>33</sub> : SF <sub>0</sub>	66,6	33,3	0
V <sub>33</sub> : LF <sub>0</sub> : SF <sub>67</sub>	33,3	0	66,6
V <sub>33</sub> : LF <sub>67</sub> : SF <sub>0</sub>	33,3	66,6	0
V <sub>33</sub> : LF <sub>33</sub> : SF <sub>33</sub>	33,3	33,3	33,3
V <sub>0</sub> : LF <sub>67</sub> : SF <sub>33</sub>	0	66,6	33,3
V <sub>0</sub> : LF <sub>33</sub> : SF <sub>67</sub>	0	33,3	66,6

\*expresado como el porcentaje de la proporción de DQO de cada componente

V: vinaza, LF: Fracción líquida de la cachaza pretratada, SF: Fracción sólida de la cachaza pretratada

Los modelos de regresión lineal y no lineal (cuadrático, cúbico) se probaron para cada variable respuesta y evaluados por ANOVA. La significancia de los modelos se evaluó con un nivel de significación del 5% ( $p\text{-valor} \leq 0,05$ ). El análisis de los resultados se realizó con el paquete estadístico MINITAB® 14.12.0.

### 3.2.4. Ensayo para la determinación del potencial de metano como medida de biodegradabilidad

Se aplicó el mismo procedimiento descrito en el epígrafe 2.2.4 para el ensayo realizado a la cachaza pre-tratada por LHW.

### 3.2.5. Ensayo en régimen semicontinuo para la co-digestión vinaza-cachaza sin pre-tratar

Los experimentos en semicontinuo se realizaron en tres reactores verticales (reactor CSTR) de 50 L con agitación mecánica (Fig. 3.1). La temperatura se mantuvo bajo condiciones mesofílicas a 37°C por medio de una manta eléctrica situada alrededor del cuerpo del reactor. El contenido de los reactores se mezcló automáticamente durante 20 minutos cada 1 hora a una velocidad de 35 min<sup>-1</sup>. Los reactores se alimentaron manualmente dos veces al día.

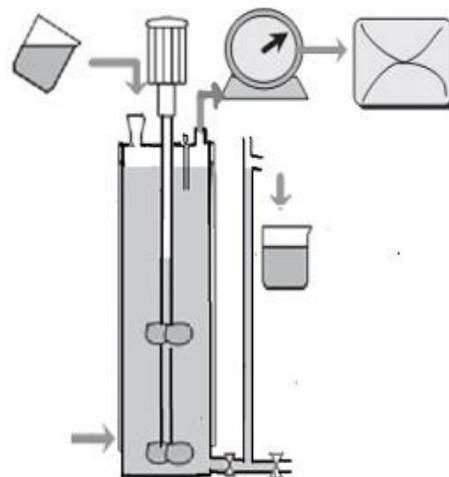


Fig. 3.1. Esquema del experimento en semicontinuo.

Los reactores fueron inicialmente inoculados con lodo anaerobio procedente de una planta de biogás de (Complejo Agroindustrial Pecuario Guayos) que se alimenta con una mezcla de sustratos (agua residual porcina y excreta vacuna). El lodo se tamizó antes de ser inoculado en los reactores.

Un reactor se alimentó con cachaza en mono-digestión y los otros dos se alimentaron con una mezcla de vinaza (75%) y cachaza sin pre-tratar (25%) (en base a la DQO). La mezcla escogida obtuvo una máxima productividad de metano en régimen en discontinuo y permite utilizar toda la vinaza generada en la destilería.

El objetivo del experimento fue evaluar el comportamiento del proceso de DA de la cachaza en mono y co-digestión con vinaza. La carga orgánica se aumentó paulatinamente cada 21 días,

desde  $0,5 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  hasta  $2,2 \text{ kg SV m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ . Como consecuencia el TRH decreció de 99 a 22 días y de 104 a 24 días para los reactores en mono- y co-digestión, respectivamente.

La producción de biogás se midió diariamente por medio de un medidor de volumen de gas por tambor húmedo tipo TG05/6 (Ritter, Alemania) y se corrigió a temperatura y presión normal ( $273,15 \text{ K}$  y  $101,325 \text{ kPa}$ ). La producción específica de biogás y de metano se expresaron en litros normales por kg de SV ( $\text{L kg SV}^{-1}$ ). La composición del biogás producido ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  y  $\text{H}_2\text{S}$ ) se midió dos veces por semana por medio de un analizador de gases Pronova (SSM 6000 Classic, Alemania) equipado con los sensores apropiados. El tiempo total de digestión fue de 119 días. Cinco días por semana se extrajo una muestra de los reactores y se le midió el pH. Una vez a la semana se recolectaron muestras frescas del reactor para determinar ST, SV y  $\text{N-NH}_4^+$  y una cantidad se centrifugó a  $6000 \text{ min}^{-1}$  por 10 minutos. Las muestras filtradas ( $20 \text{ mL}$ ) se usaron para determinar la relación entre la concentración de AGV y la alcalinidad debida al bicarbonato (AI), por titración con  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,1 \text{ N}$  a pH 4,4 y 5,0, respectivamente.

### **3.3 Resultados y discusión**

#### **3.3.1 Caracterización de los sustratos**

Todos los sustratos se analizaron para ST, SV, pH, AGV, NT, DQO, furanos y compuestos fenólicos (Anexo 3). El contenido de ST para los componentes de la mezcla varió entre 3,0% y 20,7% para la LF y SF, respectivamente. Dependiendo de su composición el contenido de ST de las mezclas varió entre 3,7% ( $V_{33}: LF_{67}: SF_0$ ) y 11,1% ( $V_{33}: LF_0: SF_{67}$ ). La máxima proporción de fibra (principalmente lignina y celulosa), proteínas ( $96,8 \text{ g kg}^{-1}$ ) y lípidos (ceras y grasas) estuvieron contenidas en la SF. Estos compuestos pueden llevar a una disminución en la velocidad de producción de metano de acuerdo a una menor velocidad de hidrólisis (Batstone y Jensen, 2011; Zheng et al., 2014).

De acuerdo al pH de cada componente y su porcentaje en la mezcla (Anexo 3), se obtuvieron pH entre 3,9 y 5,2 para todas las mezclas, pero después de añadir el inóculo este se incrementó a 7,3-7,6 (datos no mostrados). Estos valores están dentro del intervalo operacional 6,5 – 8,5 reportado (Weiland, 2010). El contenido de nitrógeno total para la SF es alto ( $15,5 \text{ g kg}^{-1}$ ) en comparación con la V y LF y similar al obtenido para la cachaza sin pre-tratar o cruda. La concentración de compuestos fenólicos estuvo por debajo de los valores inhibitorios reportados para la digestión anaerobia (Monlau et al., 2013b). Sin embargo, valores superiores han sido encontrados para la V

(Wilkie et al., 2000). La composición de los metales en las mezclas está dada principalmente por  $\text{Ca} > \text{K} > \text{Mg} > \text{Na}$ .

La caracterización de los sustratos usados en la experimentación para los estudios en co-digestión se presenta en el Anexo 4. Para este caso se usó cachaza fresca con 27,7% de sólidos totales como promedio. De acuerdo a las características de los componentes de la mezcla sería posible lograr una sinergia de ambos sustratos a partir de una menor acumulación de sólidos en el reactor (por una mayor proporción de DQO alimentada en la mezcla proveniente de vinaza), una capacidad buffer incrementada (por el alto contenido en proteínas de la cachaza y la formación de nitrógeno amoniacal durante su degradación) y un mejor balance de nutrientes como hierro y azufre, los cuales son requeridos para los metanógenos. También la incorporación de las vinazas en la mezcla permite un incremento de la productividad de metano, lo cual sugiere que se obtendrá un comportamiento más estable del reactor en co-digestión durante el régimen de alimentación en semicontinuo.

### **3.3.2 Co-digestión de la cachaza sin pre-tratar con vinaza**

Para el estudio de la co-digestión de la cachaza sin pre-tratar con vinaza se realiza primeramente un ensayo en discontinuo con el objetivo de evaluar los efectos de la mezcla de ambos sustratos sobre el rendimiento de metano y su productividad. A partir de los resultados obtenidos se selecciona la mejor variante de mezcla C: V para comparar a través de un ensayo en semicontinuo, el comportamiento de la cachaza en mono-digestión y en co-digestión con vinaza. De esta forma se evalúa el efecto de los parámetros de operación COV y TRH sobre el rendimiento de metano, la productividad de biogás y de forma general, la estabilidad de la DA.

#### **Estudio en discontinuo para la co-digestión vinaza-cachaza sin pre-tratar**

Un resumen de los resultados del ANOVA se muestra en el Anexo 5. Como se observa el modelo cuadrático para la variable respuesta  $y_{\text{CH}_4}$  fue significativo pero con un bajo ajuste ( $R^2_{\text{aj}}=73\%$ ).

El efecto del componente puro V tiene el mayor coeficiente (240), lo cual indica su alta influencia en las mezcla. El término cuadrático del modelo  $\beta_{\text{V}_C}$  mostró un efecto sinérgico altamente significativo ( $p=0,00$ ), con un valor de 57,5 (Anexo 5).

El modelo lineal tuvo mejor ajuste para  $rs_{\text{CH}_4}$ , con una  $R^2_{\text{aj}}=89\%$  y un valor de p altamente significativo ( $p=0,00$ ), pero no pasó la prueba de bondad en el ajuste. El efecto de la interacción de la cachaza y la vinaza sobre  $rs_{\text{CH}_4}$  fue positivo pero no significativo ( $p=0,56$ ).

A continuación se muestran los modelos cuadrático y lineal para  $y_{CH_4}$  y  $rs_{CH_4}$  (ecuación 3.3 y ecuación 3.4):

$$y_{CH_4} = 239,9x_V + 219,2x_C + 57,5x_Vx_C \quad (3.3)$$

$$rs_{CH_4} = 74,6x_V + 29,8x_C \quad (3.4)$$

A partir del modelo cuadrático la mezcla óptima estimada fue:  $x_V=0,68$  y  $x_C=0,32$ , con un valor de  $y_{CH_4}=245,6$  mL  $CH_4$   $g^{-1}$   $DQO_{alim}$ .

En la Tabla 3.3 se presenta un resumen de los valores de rendimiento de metano ( $y_{m\acute{a}x}$ ) obtenidos a partir del modelo de Hill modificado así como los parámetros cinéticos que describen el proceso de co-digestión. Además se muestran los valores de rendimiento de metano predichos por el modelo lineal y cúbico del diseño de mezcla.

Tabla 3.3. Rendimientos de metano, parámetros cinéticos ( $k$ ,  $K_M$ ) y productividad de metano ( $rs_{CH_4}$ ) para las combinaciones de mezclas.

Mezclas	$y_{m\acute{a}x}$	$y_{CH_4}$ predicho		$k$	$K_M$	$rs_{CH_4}$
	(mL $CH_4$ $g^{-1}DQO_{alim}$ )	(mL $CH_4$ $g^{-1}DQO_{alim}$ )	(mL $CH_4$ $g^{-1}DQO_{alim}$ )			
		*	**			
C	$220,7^c \pm 4$	219	219	$0,16^b$	$5,67^b$	$27,6^e$
V	$239,7^{ab} \pm 6$	240	240	$0,30^a$	$1,99^a$	$60,2^b$
V <sub>25</sub> : C <sub>75</sub>	$231,1^{bc} \pm 5$	224	235	$0,32^a$	$2,83^a$	$45,9^d$
V <sub>75</sub> : C <sub>25</sub>	$244,8^{ab} \pm 5$	235	245	$0,33^a$	$2,14^a$	$69,6^a$
V <sub>50</sub> : C <sub>50</sub>	$247,6^a \pm 10$	229	244	$0,33^a$	$2,70^a$	$50,1^c$

\*Rendimientos de metano obtenidos a partir de la parte lineal del modelo (efectos antagónicos o sinérgicos no están presentes)

\*\*Rendimientos de metano obtenidos a partir del modelo (efectos antagónicos o sinérgicos están presentes)

El  $y_{m\acute{a}x}$  fue de 221 y 240 mL  $CH_4$   $g^{-1}$   $DQO_{alim}$  para la cachaza y la vinaza, respectivamente y varió entre 231 y 248 mL  $CH_4$   $g^{-1}$   $DQO_{alim}$ , para las diferentes proporciones en la mezcla (Fig. 3.2). El rendimiento obtenido para la vinaza está dentro del intervalo reportado (220-270 mL  $CH_4$   $g^{-1}$   $DQO_{alim}$ ), por otros autores (Siles et al., 2011; España-Gamboa et al., 2012; Leite et al., 2015a). Para la cachaza se obtuvo un valor medio de 221,7 mL  $CH_4$   $g^{-1}$   $DQO_{alim}$ , el cual expresado en base a SV es de 270 mL  $CH_4$   $g^{-1}$   $SV_{alim}$ , similar al determinado a partir de cachaza fresca colectada en noviembre por Leite et al. (2015a); pero superior a los valores obtenidos en los ensayos en discontinuos para el pre-tratamiento por LHW y termo-alcalino en el presente trabajo para la cachaza sin pre-tratamiento y en estudios previos (Guillermo-Nuñez, 1986; Rouf et al., 2013; Leite et al., 2015a). Dichas diferencias se atribuyen principalmente a la variación en el material

fácilmente biodegradable presente en la cachaza y a las características del inóculo usado durante los distintos ensayos.

El máximo rendimiento de metano se obtuvo para la mezcla V<sub>50</sub>:C<sub>50</sub>, con un valor de 247,6 mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> DQO<sub>alim</sub> (Tabla 3.3), pero sin diferencias significativas con V<sub>75</sub>:C<sub>25</sub> y el componente puro vinaza. Este valor fue superior en un 12% respecto a la cachaza sola y en un 3% respecto a la vinaza.

El rendimiento de metano predicho por el modelo cuadrático fue ligeramente superior al predicho por el modelo lineal. Este fue 5%, 5% y 6% superior para las mezclas V<sub>25</sub>:C<sub>75</sub>, V<sub>75</sub>:C<sub>25</sub> y V<sub>50</sub>:C<sub>50</sub> respectivamente, lo cual confirma la presencia de efectos sinérgicos en la mezcla.

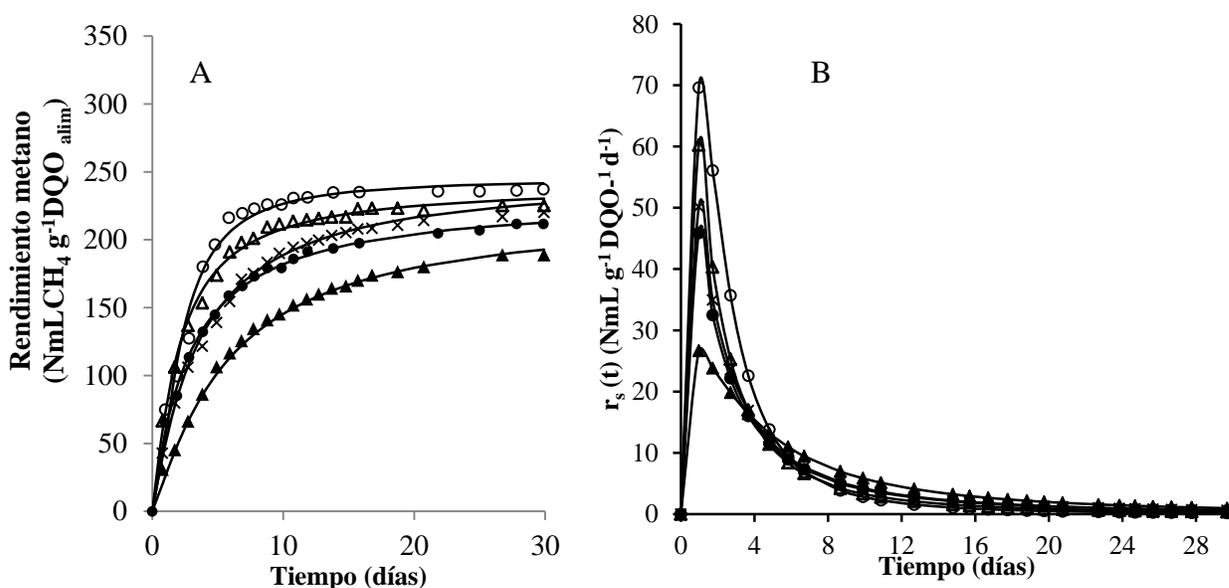


Fig. 3.2. Rendimiento de metano (A) y productividad específica de la producción de metano (B) correspondiente a diferentes composiciones de la mezcla durante los ensayos en discontinuo. V (Δ), C (▲), V<sub>25</sub>:C<sub>75</sub> (●), V<sub>75</sub>:C<sub>25</sub> (○), V<sub>50</sub>:C<sub>50</sub> (x). Con líneas continuas el modelo cinético ajustado.

Los efectos sinérgicos son atribuidos principalmente a un mejor balance de los nutrientes en la mezcla, una disminución de la acumulación de ST (la mayor proporción de DQO alimentada se debe a la vinaza) y al incremento de la capacidad buffer del sistema. Esto muestra que la co-digestión vinaza-cachaza sin pre-tratar podría ser una opción eficiente para la producción de biogás y el tratamiento de residuos generados en la industria sucro-alcoholera.

En la literatura consultada se encontraron reportes de la co-digestión de cachaza con otros residuos de la industria azucarera a diferentes relaciones de mezcla cachaza : co-sustrato, como la

paja de caña (2:1, 1:1), bagazo (2:1, 1:1) y excreta de vaca (2:1, 1:1) (Rouf et al., 2010). La producción de biogás se incrementó en 13% y 58% para mezclas en igual proporción de cachaza-bagazo y cachaza-paja de caña, respectivamente, respecto al rendimiento de la cachaza como mono-sustrato. Sin embargo, como el rendimiento de la paja de caña y el bagazo no se determinó, no es posible concluir si hubo presencia de un efecto sinérgico de la mezcla. Para las mezclas con excreta de vaca la producción de biogás decreció. En un estudio más reciente en régimen semicontinuo, realizado para una relación cachaza:bagazo de 2,33:1, el rendimiento de biogás obtenido en co-digestión fue un 33% inferior en comparación a la cachaza en mono-digestión (Janke et al., 2016). El efecto de la combinación de diferentes parámetros en la co-digestión, tales como macronutrientes y micronutrientes, relación C/N, pH/alcalinidad, inhibidores/compuestos tóxicos, son mejor explorados en ensayos en régimen semicontinuo que en ensayos en discontinuo donde el efecto del inóculo es significativo, mientras que en semicontinuo después de un período de puesta en marcha y estabilidad del proceso, donde se mantiene una alimentación diaria y el reactor opera por largos períodos de tiempo, el inóculo se puede mostrar “adaptado”, por tanto, se pueden evaluar con mayor precisión los efectos sinérgicos o antagónicos de las mezclas.

En cuanto a los parámetros cinéticos del proceso, se obtuvieron valores significativamente superiores de  $k$  para la  $V$  y sus mezclas ( $0,30-0,33 \text{ d}^{-1}$ ). El máximo valor de  $r_{s(\text{CH}_4)}$  fue para  $V_{75}:C_{25}$  ( $69,6 \text{ NmLCH}_4 \text{ g}^{-1}\text{DQO}_{\text{alim}} \text{ d}^{-1}$ ), debido a un mejor balance de micro y macronutrientes. Lo anterior cobra un significado práctico en la implementación de la digestión anaerobia de la cachaza porque brinda la posibilidad de trabajar con tiempos de retención hidráulico inferiores durante un proceso a régimen semicontinuo, o asegurar un proceso más estable.

### **Estudio de la co-digestión vinaza-cachaza sin pre-tratar en régimen semicontinuo**

El proceso de DA en co-digestión mostró una mejor estabilidad que para la cachaza en mono-digestión (Fig. 3.3). La relación AGV/AI para la cachaza en co-digestión con vinaza se mantuvo como promedio en 0,2, lo cual demuestra que es posible incrementar carga orgánica al reactor pero con una mayor proporción de cachaza en la mezcla con el fin de trabajar a  $\text{TRH} > 20$  días, lo cual es recomendable para reactores CSTR. El pH se mantuvo entre 7,3 y 7,6 durante todo el experimento para un buen desarrollo del proceso (Anexo 5).

El mejor rendimiento de metano para la relación de mezcla estudiada ( $V_{75}:C_{25}$ , en base a DQO;  $V_{73}:C_{27}$ , en base a SV), mostró los mejores resultados para COV de  $1,8 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  y  $2,2 \text{ kg SV}$

$\text{m}^{-3}\text{d}^{-1}$ , con TRH de 29 y 24 días, respectivamente. Bajo esas condiciones se obtuvieron como promedio rendimientos de metano de 368 y 365  $\text{L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ , con productividades de biogás de 1,4 y 1,6  $\text{L L}^{-1} \text{ reactor}$ , respectivamente.

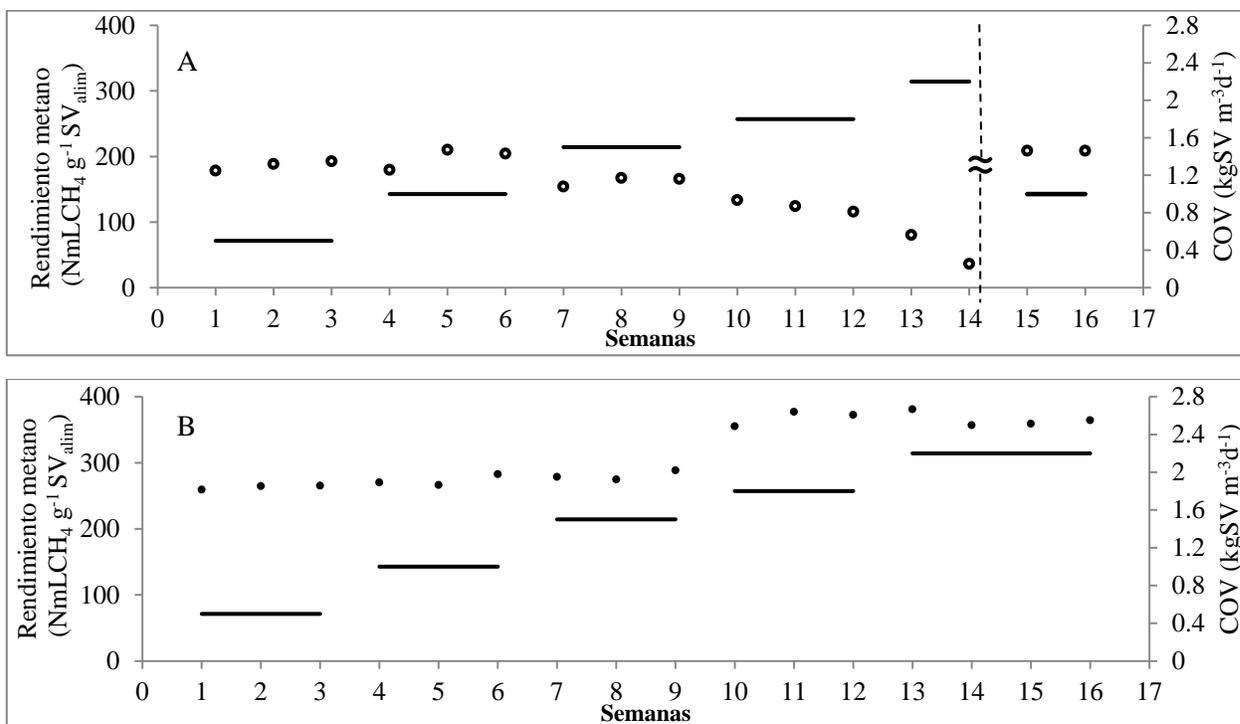


Fig. 3.3. Comportamiento del rendimiento de metano en función de la COV para la cachaza en mono-digestión (A) y en co-digestión con vinaza (B).

El rendimiento de metano en co-digestión ( $266 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ DQO}$ ) fue un 13% superior al esperado, de acuerdo a los rendimientos de metano obtenidos en mono-digestión a partir de la cachaza ( $221 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ DQO}$ ) y la vinaza ( $240 \text{ L CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ DQO}$ ) en régimen discontinuo y la DQO aportada en la mezcla por cada uno. En comparación al mejor rendimiento de la cachaza obtenido en mono-digestión para una COV de  $1 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  el aumento fue 64%, superior al obtenido en el ensayo en discontinuo (12%). No ha sido encontrada en la literatura consultada ninguna experiencia en semicontinuo para la vinaza y cachaza en co-digestión.

El contenido de metano en el biogás se mantuvo en 51% como promedio en el inicio y se incrementó hasta 62% v/v para cargas superiores, dado por la degradación de grasas y proteínas presentes en la cachaza las cuales incrementan el contenido de metano en el biogás.

La cachaza en mono-digestión comenzó a decrecer el rendimiento de metano para COV superiores a  $1,5 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ , con una caída significativa del rendimiento de metano a  $1,8 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  y una inhibición parcial de las archaeas metanógenas a  $2,2 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  (Anexo 6).

La relación AGV/AI fue de 0,2 para COV hasta  $1,5 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  y subió a 0,4 a una COV=  $1,8 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ . Para esas cargas el pH se mantuvo en el intervalo óptimo considerado para un proceso de DA, debido a la capacidad buffer aportada por el bicarbonato y por el amonio formado durante la degradación de las proteínas. De la misma forma el contenido de  $\text{CH}_4$  estuvo entre 56-61% para COV hasta  $1,5 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ , con una caída a 53% para COV de  $1,8 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  con TRH menor de 30 días.

Para una COV de  $2,2 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$  el pH se mantuvo en 7,0 durante la primera semana, pero tuvo una caída drástica hasta 5,9 en la segunda semana. Como resultado, el rendimiento de metano disminuyó desde  $80,5 \text{ L kg SV}^{-1}$  hasta  $36,3 \text{ L kg SV}^{-1}$  y el contenido de  $\text{CH}_4$  decreció de 50% a 39%. La causa estuvo en una elevada acumulación de AGV y la baja capacidad buffer del sistema, con una relación AGV/AI de 3,7 (AGV= $2332 \text{ mg L}^{-1}$  y AI= $625 \text{ mg L}^{-1}$ ), durante los días de fallo. El bajo contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  durante esta carga tampoco aportó capacidad buffer al sistema que justificara una mayor estabilidad ante el aumento de la concentración de AGV. Es conocido que una caída del pH por debajo de 6,6 afecta de forma adversa la actividad de los metanógenos, mientras que un pH de 6,2 se convierte en tóxico. Evidentemente, esto fue lo que sucedió en este caso. La producción de ácido sin embargo, se mantiene aún al valor mencionado de pH. Los microorganismos acidogénicos pueden continuar su producción de ácidos a 4,5-5,0 (Chandra et al., 2012b). Luego de dosificar NaOH 6N al reactor y parar la alimentación durante 21 días, el proceso se recuperó paulatinamente.

Janke et al. (2016) estudiaron la mono-digestión de cachaza y su co-digestión con bagazo en semicontinuo. Durante el experimento en mono-digestión se logró trabajar a COV de hasta  $3 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ . Sin embargo, en este caso el inóculo usado fue una mezcla de varios digestatos obtenidos en diferentes ensayos en discontinuo a escala de laboratorio adaptados al sustrato cachaza, lo cual permitió empezar a una alta COV ( $2 \text{ kg SV m}^{-3}\text{d}^{-1}$ ) y lograr un buen desarrollo del proceso de digestión anaerobia, con valores de rendimiento de metano de  $278 \text{ mL gSV}^{-1}$ , similar al obtenido en los ensayos en discontinuo (Leite et al. 2015). Cuando se inocularon los reactores de mezcla con excreta vacuna para los experimentos realizados en co-digestión, el proceso tuvo algunas inestabilidades y el rendimiento fue 50% inferior al de la cachaza en mono-digestión.

Aunque los autores no evaluaron el efecto antagónico o sinérgico de la co-digestión bagazo-cachaza, a partir del rendimiento de biogás reportado por Janke et al. (2015) para la cachaza (480

mL gSV<sup>-1</sup>) y el informado para bagazo (473 mL gSV<sup>-1</sup>) (Paoli et al., 2011), se podría esperar un rendimiento de biogás para la mezcla estudiada (B<sub>58</sub>C<sub>42</sub>: 58% SV aportados por el bagazo y 42% por la cachaza) de 476 mL gSV<sup>-1</sup>, de acuerdo al rendimiento de cada sustrato en la mezcla y la proporción de SV aportada por cada uno. Sin embargo, el rendimiento obtenido (320 mL gVS<sup>-1</sup>) fue un 32% inferior al esperado, lo cual demuestra un efecto antagónico en la mezcla cachaza-bagazo. En ese caso la adición a la cachaza de un sustrato con un alto contenido en fibra no mejoró el rendimiento de metano ni la estabilidad del proceso de DA. Se puede concluir entonces que los resultados de la co-digestión de la cachaza sin pre-tratar con la vinaza obtenidos en el presente trabajo, además de ser novedad, constituyen un aporte importante en el establecimiento de una mezcla que sí aporta resultados sinérgicos en el tratamiento de dichos residuos.

### 3.3.3 Co-digestión de la cachaza pre-tratada con vinaza

Para este estudio se mezclaron tres componentes: fracción líquida de la cachaza pre-tratada, fracción sólida de la cachaza pre-tratada y la vinaza. Las mezclas se prepararon de acuerdo al porcentaje de DQO añadido de cada componente. Se evaluó el efecto sinérgico o antagónico de la interacción de los componentes sobre el rendimiento de metano.

#### Efecto de la mezcla cachaza pre-tratada por TA y vinaza

Un resumen de los resultados del ANOVA se muestra en el Anexo 5. El modelo cúbico es el único que cumple con los criterios de mínimo error y alta R<sub>aj</sub><sup>2</sup>, además mostró bondad en el ajuste con un valor de p superior a 0,05 (0,53).

La significancia de cada coeficiente del modelo cuadrático mostró efectos antagónicos significativos para los términos cuadráticos β<sub>LF\_SF</sub> y β<sub>LF\_V</sub> (p<0,05) y un efecto sinérgico no significativo para β<sub>SF\_V</sub> (p>0,05). El componente puro LF tuvo el máximo coeficiente (293), lo cual indica la alta influencia de éste en las mezclas (Anexo 5).

En los términos cúbicos del modelo se identificaron efectos sinérgicos para β<sub>LF\_SF\_V</sub> y δ<sub>SF\_V</sub> (SF-V), pero solo fue significativo el último. Los restantes términos (δ<sub>LF\_V</sub> (LF-V) y δ<sub>LF\_SF</sub> (LF-SF)) fueron considerados antagónicos con un efecto significativo (p<0,05).

El modelo cúbico estimado, después de descartar los términos no significativos, es mostrado en la ecuación 3.5:

$$\begin{aligned}
 Y_{CH_4} = & 292,5x_{LF} + 189,7x_{SF} + 252,3x_V - 130x_{LF}x_V & (3.5) \\
 & - 109,8x_{LF}x_{FS} + 378,1x_{SF}x_V(x_{SF} - x_V) \\
 & - 334,8x_{LF}x_{SF}(x_{LF} - x_{SF}) - 147,4x_{LF}x_V(x_{LF} - x_V)
 \end{aligned}$$

En la Tabla 3.4 se presenta un resumen de los valores de rendimiento de metano ( $y_{\text{máx}}$ ) obtenidos por el modelo de Hill modificado, el modelo cúbico (donde se considera que hubo efecto sinérgico o antagónico por la mezcla) y los valores predichos por los términos lineales solamente (donde se considera que no hubo efecto sinérgico ni antagónico por la mezcla). El  $y_{\text{máx}}$  varió entre 186 y 298 mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> DQO<sub>alim</sub> para los componentes puros y entre 206 y 247 mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> DQO<sub>alim</sub>, para las diferentes proporciones de la LF, SF y V en la mezcla. El mayor rendimiento de metano fue alcanzado para la LF, con un valor de 298 mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> DQO<sub>alim</sub> (Fig. 3.4).

Tabla 3.4. Rendimientos de metano experimental y predicho, constante cinética de primer orden (k) y productividad de metano (r<sub>CH<sub>4</sub></sub>) para las combinaciones de mezclas.

Mezclas	$y_{\text{máx}}$	$y_{\text{CH}_4}$ predicho		$k$	$r_{\text{CH}_4}$
	(NmL CH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> DQO <sub>alim</sub> )	(NmL CH <sub>4</sub> DQO <sub>alim</sub> )	(NmL CH <sub>4</sub> DQO <sub>alim</sub> )		
		*	**		
V	267 <sup>b</sup> ± 31	252	252	0,38 <sup>a</sup>	72 <sup>a</sup>
LF	298 <sup>a</sup> ± 6	292	292	0,19 <sup>cd</sup>	47 <sup>b</sup>
SF	186 <sup>e</sup> ± 5	189	189	0,22 <sup>bc</sup>	33 <sup>c</sup>
V <sub>67</sub> : LF <sub>0</sub> : SF <sub>33</sub>	206 <sup>de</sup> ± 5	231	203	0,21 <sup>bc</sup>	35 <sup>c</sup>
V <sub>67</sub> : LF <sub>33</sub> : SF <sub>0</sub>	247 <sup>bc</sup> ± 3	265	223	0,21 <sup>bc</sup>	43 <sup>b</sup>
V <sub>33</sub> : LF <sub>0</sub> : SF <sub>67</sub>	242 <sup>bc</sup> ± 29	210	238	0,22 <sup>b</sup>	44 <sup>b</sup>
V <sub>33</sub> : LF <sub>67</sub> : SF <sub>0</sub>	236 <sup>c</sup> ± 4	279	214	0,17 <sup>d</sup>	34 <sup>c</sup>
V <sub>33</sub> : LF <sub>33</sub> : SF <sub>33</sub>	228 <sup>cd</sup> ± 11	244	218	0,22 <sup>b</sup>	42 <sup>b</sup>
V <sub>0</sub> : LF <sub>67</sub> : SF <sub>33</sub>	208 <sup>de</sup> ± 6	258	233	0,20 <sup>bc</sup>	34 <sup>c</sup>
V <sub>0</sub> : LF <sub>33</sub> : SF <sub>67</sub>	224 <sup>cd</sup> ± 3	248	220	0,21 <sup>bc</sup>	42 <sup>b</sup>

\*Rendimientos de metano obtenidos a partir de la parte lineal del modelo (efectos antagónicos o sinérgicos no están presentes)

\*\*Rendimientos de metano obtenidos a partir del modelo cúbico (efectos antagónicos o sinérgicos están presentes)

Las interacciones sinérgicas y antagónicas para las mezclas de dos y tres componentes son presentadas en la Tabla 3.4. Se muestran dos valores de  $y_{\text{CH}_4}$  predichos: el primero referido a los términos lineales del modelo cúbico solamente y el segundo incluye además los términos cuadráticos y cúbicos del modelo. El rendimiento de metano obtenido experimentalmente ( $y_{\text{máx}}$ ) para casi todas las mezclas fue inferior al predicho ( $y_{\text{CH}_4}^*$ ) de acuerdo al rendimiento de los componentes puros y su proporción en la mezcla. Solo para la mezcla V<sub>33</sub> : LF<sub>0</sub> : SF<sub>67</sub> el  $y_{\text{máx}}$  fue superior al predicho ( $y_{\text{CH}_4}^*$ ), con un incremento del 13% respecto al rendimiento de metano esperado.

En cuanto a la cinética en los ensayos, se observó un mejor comportamiento para V con una máxima  $r_s(t) = 72 \text{ NmL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{alim}} \text{ d}^{-1}$  y  $k = 0,38 \text{ d}^{-1}$  (Fig. 3.4). Para el resto de las mezclas los valores obtenidos fueron significativamente menores.

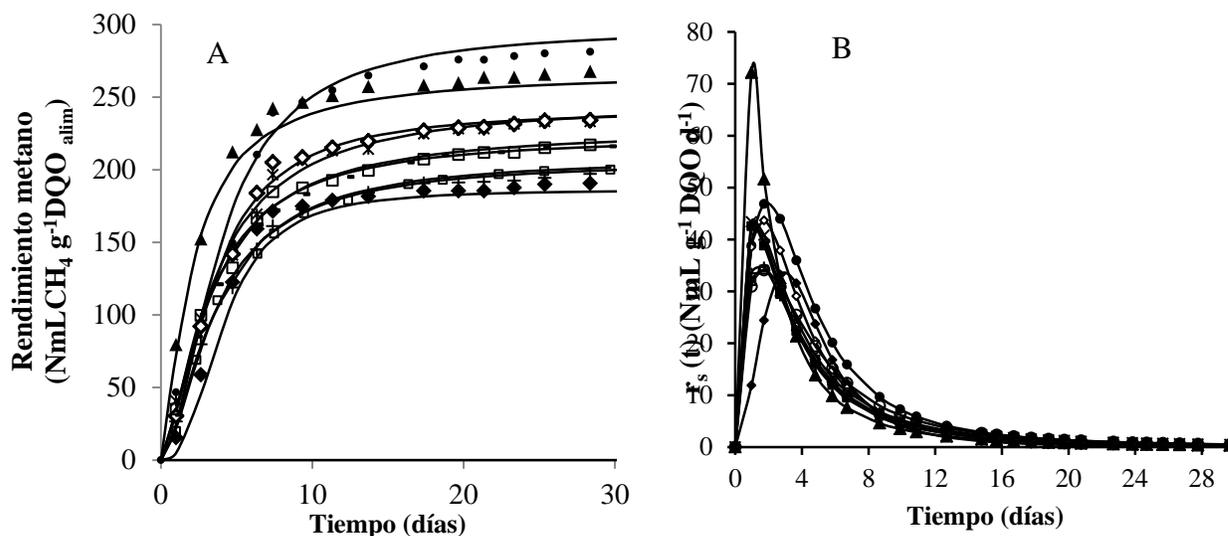


Fig. 3.4. Rendimiento de metano (A) y productividad específica de la producción de metano (B) correspondiente a diferentes composiciones de la mezcla durante los ensayos en discontinuo. V ( $\blacktriangle$ ), SF ( $\blacklozenge$ ), LF ( $\bullet$ ),  $V_{67} : LF_0 : SF_{33}$  (+),  $V_{67} : LF_{33} : SF_0$  (x),  $V_{33} : LF_0 : SF_{67}$  ( $\diamond$ ),  $V_{33} : LF_{67} : SF_0$  ( $\circ$ ),  $V_{33} : LF_{33} : SF_{33}$  ( $\blacksquare$ ),  $V_0 : LF_{67} : SF_{33}$  ( $\square$ ),  $V_0 : LF_{33} : SF_{67}$  (-). Con líneas continuas el modelo cinético ajustado.

### Efecto de la mezcla cachaza pre-tratada LHW y vinaza

Los resultados del ANOVA se muestran en el Anexo 5. Todos los modelos con excepción del lineal, cumplen con los criterios de mínimo error y alta  $R_{aj}^2$ . Sin embargo, el modelo cúbico completo fue el único que mostró bondad en el ajuste con un valor de  $p > 0,05$  (0,29).

La adición de dos y tres componentes al modelo lineal mejoró significativamente el ajuste del modelo de acuerdo a los valores de  $R_{aj}^2$ . La significancia de cada coeficiente del modelo se muestra en el Anexo 5. El componente puro LF tiene el máximo coeficiente (369), lo cual indica la alta influencia de éste en las mezclas. Todos los términos cuadráticos mostraron efectos antagónicos, pero solo el coeficiente  $\beta_{LF_V}$  tiene un efecto antagonista significativo ( $p = 0,000$ ).

Los términos cúbicos indican un efecto antagónico sobre el rendimiento de metano, con la máxima influencia para el coeficiente  $\delta_{LF_{SF_V}}$  (-767), seguido por  $\delta_{LF_V (LF_V)}$  (-344). Ambos coeficientes mostraron una interacción altamente significativa con  $p=0,001$  y  $0,000$ ,

respectivamente. Los términos cúbicos ( $\delta_{LF\_SF}$  (LF-SF) y  $\delta_{SF\_V}$  (SF-V)) tuvieron un efecto sinérgico (80) o antagónico (-109), pero no significativo ( $p>0,05$ ).

El modelo cúbico seleccionado, sin considerar los términos no significativos, se muestra a continuación (ecuación 3.6):

$$Y_{CH_4} = 370,7x_{LF} + 247,8x_{SF} + 266,4x_V - 410,0x_{LF}x_V - 817,6x_{LF}x_{SF}x_V - 357,2x_{LF}x_V(x_{LF} - x_V) \quad (3.6)$$

En la Fig. 3.5 se muestra la superficie de respuesta obtenida con un diagrama triaxial, así como el gráfico de contorno en función de los componentes de la mezcla.

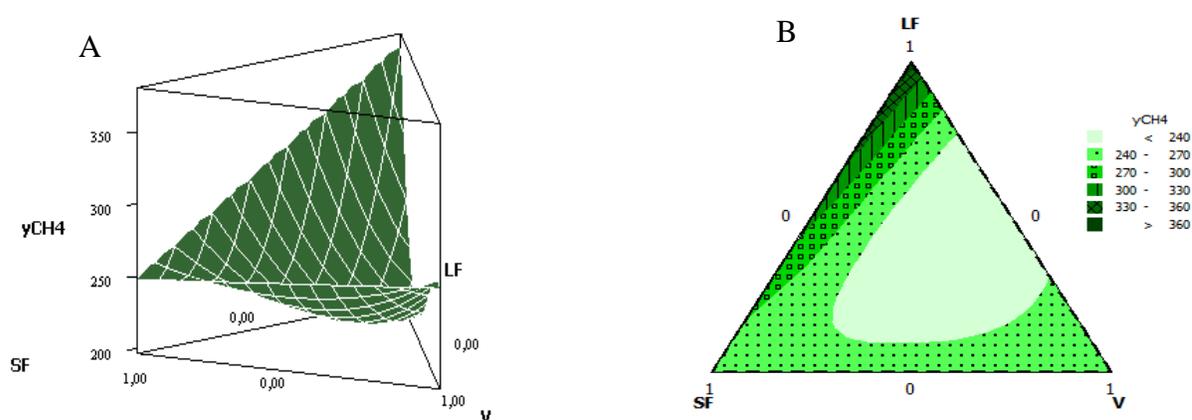


Fig. 3.5. Superficie respuesta tri-dimensional (A) y el gráfico del contorno de la respuesta (B) para el rendimiento de metano.

Se observa que la LF tuvo el máximo rendimiento de metano. Se obtuvieron rendimientos menores cerca del vértice correspondiente al componente puro V, lo cual demuestra su efecto antagónico en la mezcla. Se observa también un efecto antagónico entre la SF y la V, pero es menos obvio al tener ambos sustratos rendimientos similares. Cuando la V no estuvo presente en la mezcla la biodegradabilidad se incrementó desde SF a LF. El valor óptimo de rendimiento se obtuvo para el componente puro LF con  $370,7 \text{ NmL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{alim}}$ .

En la Tabla 3.5 se presenta un resumen de los valores de  $y_{\text{máx}}$  obtenidos por el modelo de Hill modificado, el modelo cúbico (donde se considera que hubo efecto sinérgico o antagónico por la mezcla) y los valores predichos por los términos lineales solamente (donde se considera que no hubo efecto sinérgico ni antagónico por la mezcla). El rendimiento de metano varió entre 249 y  $369 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{alim}}$  para los componentes puros y entre 217 y  $283 \text{ mL CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ DQO}_{\text{alim}}$  para las diferentes proporciones de ellos en la mezcla.

Tabla 3.5. Rendimientos de metano experimental y predicho, constante cinética de primer orden (k) y productividad de metano ( $r_{\text{SCH}_4}$ ) para las combinaciones de mezclas.

Mezclas	$Y_{\text{máx}}$ (NmL CH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> DQO <sub>alim</sub> )	$Y_{\text{CH}_4 \text{ predicho}}$ (NmL CH <sub>4</sub> DQO <sub>alim</sub> )		g <sup>-1</sup> k (d <sup>-1</sup> )	$r_{\text{SCH}_4}$ (NmL CH <sub>4</sub> g <sup>-1</sup> DQO <sub>alim</sub> d <sup>-1</sup> )
	*	**			
V	271 <sup>de</sup> ± 20	266	266	0,38 <sup>a</sup>	84 <sup>a</sup>
LF	369 <sup>a</sup> ± 21	371	371	0,24 <sup>c</sup>	57 <sup>e</sup>
SF	249 <sup>f</sup> ± 11	248	248	0,18 <sup>d</sup>	38 <sup>f</sup>
V <sub>67</sub> : LF <sub>0</sub> : SF <sub>33</sub>	255 <sup>ef</sup> ± 6	260	260	0,33 <sup>b</sup>	66 <sup>c</sup>
V <sub>67</sub> : LF <sub>33</sub> : SF <sub>0</sub>	237 <sup>fg</sup> ± 5	301	240	0,34 <sup>b</sup>	68 <sup>c</sup>
V <sub>33</sub> : LF <sub>0</sub> : SF <sub>67</sub>	254 <sup>ef</sup> ± 6	260	260	0,21 <sup>d</sup>	45 <sup>d</sup>
V <sub>33</sub> : LF <sub>67</sub> : SF <sub>0</sub>	218 <sup>gh</sup> ± 12	336	214	0,39 <sup>a</sup>	73 <sup>b</sup>
V <sub>33</sub> : LF <sub>33</sub> : SF <sub>33</sub>	217 <sup>h</sup> ± 6	295	219	0,33 <sup>b</sup>	63 <sup>d</sup>
V <sub>0</sub> : LF <sub>67</sub> : SF <sub>33</sub>	335 <sup>b</sup> ± 6	330	330	0,31 <sup>b</sup>	57 <sup>e</sup>
V <sub>0</sub> : LF <sub>33</sub> : SF <sub>67</sub>	283 <sup>cd</sup> ± 9	289	289	0,25 <sup>c</sup>	54 <sup>e</sup>

\*Rendimientos de metano obtenidos a partir de la parte lineal del modelo (sin efectos antagónicos o sinérgicos no están presentes)

\*\*\*Rendimientos de metano obtenidos a partir del modelo cúbico (efectos antagónicos o sinérgicos están presentes)

La LF produjo el mayor rendimiento de metano en comparación con la V y SF (Fig 3.6), el cual fue un 48% superior respecto a la SF. Este resultado es de esperar debido a que sustancias difíciles de degradar tales como grasas, ceras, celulosa y lignina permanecieron en la SF. Por el contrario, la LF estuvo formada por compuestos hidrolizados y fácilmente degradables. Resultados similares se obtuvieron para la torta de aceite de girasol pre-tratada a 150°C por 4 h, con un rendimiento de metano para la LF 122% superior al de la SF (Fernandez-Cegri et al., 2012).

Para la vinaza el rendimiento obtenido de 271mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>DQO<sub>alim</sub> es similar a otros informados de 250 mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>DQO<sub>alim</sub> y 263 mL CH<sub>4</sub> g<sup>-1</sup>DQO<sub>alim</sub> (Siles et al., 2011; España-Gamboa et al., 2012). El bajo rendimiento de metano a partir de vinaza ha sido atribuido a la presencia de compuestos fenólicos y recalcitrantes (Chandra et al., 2008), altos niveles de potasio, así como altas concentraciones de sulfato y su reducción a sulfuro (España-Gamboa et al., 2011; Barrera et al., 2014).

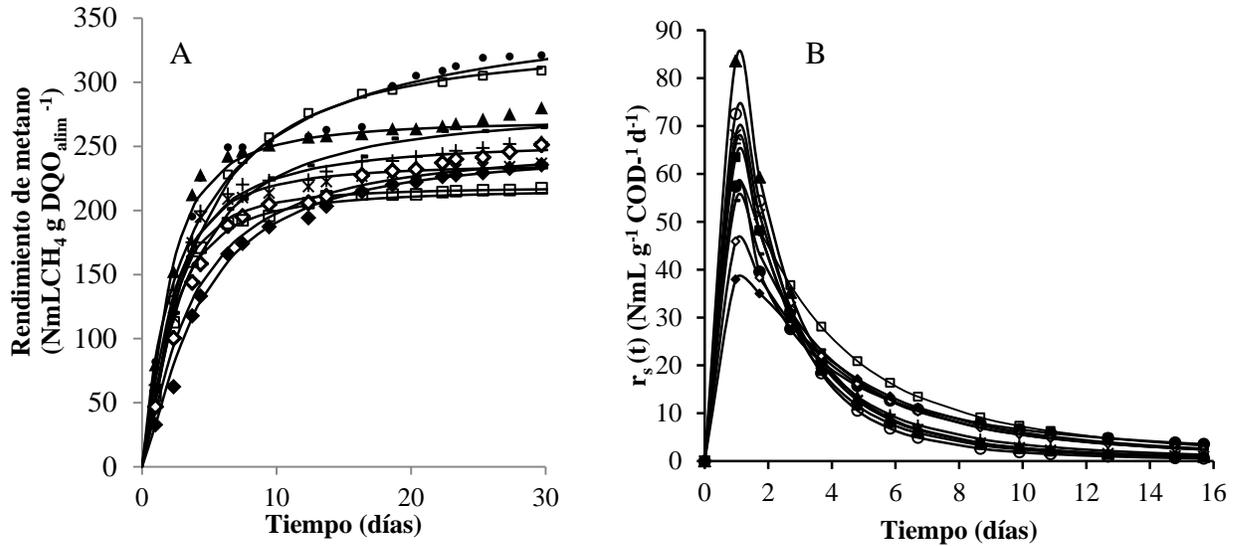


Fig. 3.6. Rendimiento de metano (A) y productividad específica de la producción de metano (B) correspondiente a diferentes composiciones de la mezcla durante los ensayos en discontinuo. V (▲), SF (◆), LF (●), V<sub>67</sub>:LF<sub>0</sub>:SF<sub>33</sub> (+), V<sub>67</sub>:LF<sub>33</sub>:SF<sub>0</sub> (x), V<sub>33</sub>:LF<sub>0</sub>:SF<sub>67</sub> (◇), V<sub>33</sub>:LF<sub>67</sub>:SF<sub>0</sub> (○), V<sub>33</sub>:LF<sub>33</sub>:SF<sub>33</sub> (■), V<sub>0</sub>:LF<sub>67</sub>:SF<sub>33</sub> (□), V<sub>0</sub>:LF<sub>33</sub>:SF<sub>67</sub> (-). Con líneas continuas el modelo cinético ajustado.

Sin embargo, se obtuvo un mejor comportamiento de los parámetros cinéticos para V y V<sub>33</sub>:LF<sub>67</sub>:SF<sub>0</sub>, con valores máximos para k (0,38 y 0,39 d<sup>-1</sup>) y la productividad de metano ( $r_s(t)=84 \text{ NmL g}^{-1} \text{ DQO}^{-1} \text{ d}^{-1}$  y  $r_s(t)=73 \text{ NmL g}^{-1} \text{ DQO}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) (Fig. 3.6). Para las mezclas SF, LF, V<sub>33</sub>:LF<sub>0</sub>:SF<sub>67</sub> y V<sub>0</sub>:LF<sub>33</sub>:SF<sub>67</sub>, se obtuvieron valores de k inferiores a 0,26.

En el caso de la LF, la alta biodegradabilidad de los componentes presentes en el hidrolizado resulta en una rápida formación de AGV. Una fase de retardo y disminución de la velocidad de producción de metano se reportan como los principales efectos causados por la presencia de compuestos inhibitorios como los fenólicos y furanos (Budde et al., 2014), así como por la acumulación temporal de AGV (Xie et al., 2011). Para la SF el valor de k fue el mínimo (0,18) al ser esta la fracción menos biodegradable.

Las interacciones sinérgicas y antagónicas para las mezclas de dos y tres componentes se presentan en la Tabla 3.5. Se muestran dos  $y_{\text{CH}_4}$  predichos: el primero referido a los efectos lineales solamente y el segundo incluye los términos cuadráticos y cúbicos del modelo. El rendimiento de metano obtenido ( $y_{\text{máx}}$ ) es similar al primero ( $y_{\text{CH}_4^*}$ ) para el caso de los componentes puros y mezclas sin V y mezclas sin LF. Cuando se combina la V y la LF, la parte

lineal del modelo no predice adecuadamente el valor del rendimiento de metano. Por ello se puede plantear que la interacción entre V y LF tiene un alto efecto antagónico sobre el rendimiento de metano. Los valores de  $y_{\text{máx}}$  para  $V_{67}:LF_{33}:SF_0$ ,  $V_{33}:LF_{67}:SF_0$  y  $V_{33}:LF_{33}:SF_{33}$ , fueron 25%, 57% y 34% menor que los predichos.

Con relación a la SF, el  $y_{\text{CH}_4}$  para las mezclas binarias que incluyeron a SF tiene un comportamiento aditivo. De acuerdo a esto, las diferencias entre el  $y_{\text{CH}_4}$  predicho \* y el  $y_{\text{CH}_4}$  predicho \*\* y la similitud entre el  $y_{\text{CH}_4}$  predicho \*\* y el  $y_{\text{máx}}$ , son determinadas por la no inclusión de SF en la mezcla binaria.

### 3.4 Conclusiones parciales

1. El diseño de mezcla de enrejado simple para dos y tres componentes permitió explorar los efectos sinérgicos y antagónicos de las mezcla de la cachaza sin pre-tratar y pre-tratada con la vinaza.
2. Se demostró la validez del uso de la co-digestión vinaza-cachaza sin pre-tratar como alternativa para incrementar los rendimientos en metano de la digestión de la cachaza, sin embargo no lo es en el caso que la cachaza sea pre-tratada por métodos termo-alcalinos o por agua caliente presurizada.
3. En la co-digestión de vinaza-cachaza sin pre-tratar en régimen discontinuo se obtuvieron incrementos en el rendimiento de metano de hasta 6%, respecto al valor predicho por el modelo lineal y hasta un 12% en comparación al de la cachaza en mono-digestión.
4. En la co-digestión de vinaza-cachaza sin pre-tratar en régimen semicontinuo el rendimiento de metano fue un 13% superior al esperado, de acuerdo a los rendimientos en mono-digestión y a la proporción de cachaza y vinaza en la mezcla. De igual forma se incrementó hasta un 64% en comparación al de la cachaza en mono-digestión.
5. La interacción entre la vinaza y la fracción líquida de la cachaza pre-tratada, por métodos termo-alcalinos o por agua caliente presurizada, resultó en un efecto antagónico significativo en el rendimiento de metano, con una caída de hasta 57% en comparación al rendimiento predicho por el modelo lineal.
6. De acuerdo a los resultados del trabajo la mejor alternativa para la co-digestión vinaza-cachaza es la mezcla de la cachaza sin pre-tratar con la vinaza en una proporción vinaza:cachaza de 75:25 en base al porcentaje de la demanda química de oxígeno.

## **Capítulo 4. Valoración energética, económica y ambiental del pre-tratamiento y codigestión de la cachaza**

### **4.1 Introducción**

En el presente capítulo se hace una valoración energética, económica y ambiental de los pre-tratamientos aplicados a la cachaza y su codigestión con vinaza. Se utiliza como estudio de caso la Unidad Empresarial Básica (UEB) central azucarero Melanio Hernández, ubicado en Tuinicú municipio Taguasco, en la provincia Sancti Spíritus. Esta unidad cuenta con una capacidad potencial de molida de  $4600 \text{ t d}^{-1}$  y opera un promedio de 130 días al año. Por su parte, la destilería anexa tiene una capacidad de producción de  $700 \text{ hL d}^{-1}$  de alcohol Técnico “A y B” y opera un promedio de 285 días al año. Se proponen dos escenarios considerando un ingenio azucarero sin y con destilería anexa. La planta de biogás producirá biogás y fertilizante orgánico a partir de aprovechar toda la cachaza para el escenario A y la cachaza y vinaza generadas para el escenario B. Se considera que el biogás producido será destinado a alimentar un motor de combustión interna, en el que se obtendrá energía eléctrica para su venta a la red y usar el calor residual de los gases de escape como fuente energética para cubrir la demanda térmica del pre-tratamiento de la cachaza.

### **4.2 Propuesta de alternativas**

En la actualidad la cachaza se emplea en la fertilización cañera luego de un proceso de compostaje, mientras que las vinazas son utilizadas en el riego de las áreas cañeras aledañas después de ser tratadas en un sistema de lagunas. El primer caso se usó como escenario de referencia para un ingenio azucarero sin destilería anexa (A0) y ambos destinos constituyen el escenario de referencia para un ingenio azucarero con destilería anexa (B0).

Las alternativas de estudio se propusieron de acuerdo a los resultados que se obtuvieron con el pre-tratamiento y la co-digestión de la cachaza en los capítulos 2 y 3 y considerando dos escenarios: Escenario A) Ingenio azucarero sin destilería anexa y Escenario B) Ingenio azucarero con destilería anexa.

#### Para el escenario A:

A1: DA de la cachaza sin pre-tratar en reactores CSTR.

A2: DA de la cachaza pre-tratada por LHW ( $150^{\circ}\text{C}$  por 20 minutos) en reactores CSTR.

A3: DA de la cachaza pre-tratada por TA ( $10 \text{ g Ca(OH)}_2 \text{ 100g}^{-1}\text{ST}$  por una hora a  $100^{\circ}\text{C}$ ) en reactores CSTR.

#### Para el escenario B:

B1: DA de la cachaza sin pre-tratar en reactores CSTR y la vinaza en UASB.

B2: DA de la cachaza pre-tratada por LHW (150°C por 20 minutos) en reactores CSTR y la vinaza en UASB.

B3: DA de la cachaza pre-tratada por TA (10 g Ca(OH)<sub>2</sub> 100g<sup>-1</sup>ST por una hora a 100°C) en reactores CSTR y la vinaza en UASB.

B4: DA de la cachaza sin pre-tratar con la vinaza (para la mezcla C<sub>25</sub>:V<sub>75</sub> en base al porcentaje de DQO en la mezcla) en reactores CSTR.

#### **4.2.1 Valoración energética de las alternativas**

Para la valoración energética se consideró alimentar el biogás a un grupo electrógeno, con lo cual se obtiene energía eléctrica para ser vendida a la red (EE) y energía térmica proveniente de los gases de escape (ET), recuperada en una caldera de recuperación para producir vapor a baja presión (Cano Herranz, 2014) (Anexo 7). Otros escenarios que recomiendan la incorporación del biogás a la red de gas natural, su embotellamiento, o usarlo directamente para generar vapor en una caldera, podrían ser analizados en trabajos futuros al ser estrategias de aplicación que cobran auge en los momentos actuales (Nelles et al., 2014).

Las principales consideraciones para el balance energético se muestran en el Anexo 8. Los cálculos se realizaron para una planta que trabaja 300 días al año, a la cual se alimentan 70 t d<sup>-1</sup> de cachaza (3,5% de cachaza en caña) y 964 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> de vinaza (1,45 m<sup>3</sup> vinaza hL<sup>-1</sup> alcohol).

Se partió de realizar un balance energético para el escenario de un ingenio azucarero sin destilería anexa (A1-A3), con el objetivo de valorar si es posible cubrir el requerimiento térmico del pre-tratamiento de la cachaza con la energía térmica recuperada por la quema del biogás producido durante la digestión anaerobia de la cachaza pre-tratada. Luego se valora el escenario de un ingenio azucarero con destilería anexa, con lo cual se incorpora además la DA de la vinaza en reactores UASB (B1-B3) y CSTR (B4).

#### **Valoración energética para el escenario A con las alternativas A1-A3**

El cálculo de la energía térmica consumida en cada pre-tratamiento (ET<sub>C</sub>, kWh d<sup>-1</sup>), la energía térmica recuperada (ET<sub>R</sub>, kWh d<sup>-1</sup>), la energía térmica requerida (ET<sub>Q</sub>, kWh d<sup>-1</sup>), en función de la eficiencia del reactor de hidrólisis y la energía eléctrica generada (EE, kWh d<sup>-1</sup>), se realizó según las ecuaciones 4.1- 4.4 (Cano Herranz, 2014).

$$ET_c \left( \frac{kWh}{d} \right) = m \cdot c_p \cdot \Delta T \cdot t_p / 3600 \quad (4.1)$$

$$ET_R \left( \frac{kWh}{d} \right) = y_B \cdot V_c \cdot \eta_t \quad (4.2)$$

$$ET_Q \left( \frac{kWh}{d} \right) = ET_R / \eta_H \quad (4.3)$$

$$EE \left( \frac{kWh}{d} \right) = y_B \cdot V_c \cdot \eta_e \quad (4.4)$$

Donde  $m$  es la masa de la mezcla de cachaza y agua a alimentar ( $\text{kg h}^{-1}$ ),  $c_p$  es la capacidad calorífica de la mezcla (se considera que es igual a la del agua,  $4,18 \text{ kJ kg}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ),  $\Delta T$  es el incremento en la temperatura (K),  $t_p$  es el tiempo de pre-tratamiento (h),  $t_{ST}$  los ST alimentados ( $\text{t d}^{-1}$ )  $y_B$  es el rendimiento de biogás ( $\text{m}^3 \text{ d}^{-1}$ ),  $V_c$  es el valor calorífico del biogás ( $\text{kWh m}^{-3}$ ),  $\eta_t$  la eficiencia térmica de grupo electrógeno (%),  $\eta_e$  la eficiencia eléctrica de grupo electrógeno (%) y  $\eta_H$  la eficiencia del reactor de hidrólisis. Los valores de  $\eta_t$  y  $\eta_e$  están en función de la capacidad del motor instalado (Tabla 4.1). Para la energía eléctrica consumida ( $EE_C$ ) durante los pre-tratamientos se utilizó un índice de  $3,1 \text{ kWh } t_{ST}^{-1}$  (Budde, 2015).

**Tabla 4.1.** Resumen del balance energético para la cachaza sin pretratar y pretratada.

Alternativas	Generación				Consumo			Neto	
	Biogás-metano ( $\text{m}^3 \text{ d}^{-1}$ ) ( $\text{m}^3_{\text{CH}_4} \text{ d}^{-1}$ )	Potencia Eléctrica (kW)	EE (MWh $\text{d}^{-1}$ )	ET <sub>R</sub> (MWh $\text{d}^{-1}$ )	EE <sub>C</sub> (MWh $\text{d}^{-1}$ )	ET <sub>C</sub> (MWh $\text{d}^{-1}$ )	ET <sub>RQ</sub> (MWh $\text{d}^{-1}$ )	ET <sub>N</sub> (MWh $\text{d}^{-1}$ )	EE <sub>N</sub> (MWh $\text{d}^{-1}$ )
A1	5484 3290	633 ( $\eta_e=38,1$ $\eta_t=48,4$ )	12,2	17,3	1,2			17,3	11,0
A2	8856 5313	1266 ( $\eta_e=38,1$ $\eta_t=48,4$ )	19,7	27,9	2,1	9,6	12,1	15,8	17,7
A3	6668 4001	834 ( $\eta_e=39,8$ $\eta_t=43,9$ )	15,5	19,0	1,6	7,5	9,4	9,7	13,9

ET<sub>C</sub>: energía térmica que se consume para cada pre-tratamiento, ET<sub>R</sub>: energía térmica recuperada, ET<sub>Q</sub>: energía térmica requerida, EE: energía eléctrica generada, EE<sub>C</sub>: energía eléctrica consumida, ET<sub>N</sub>, EE<sub>N</sub>: energía térmica y eléctrica netas.  $\eta_e$ : eficiencia eléctrica y  $\eta_t$ : eficiencia térmica para motores de gas marca Jenbacher (GE Jenbacher GmbH & Co OHG, 2015).

En la Tabla 4.1 se muestran los valores de las corrientes energéticas, tanto para la cachaza sin pre-tratar como para las dos variantes de pre-tratamiento. La energía eléctrica neta proveerá beneficios a partir de su venta a la red eléctrica, mientras que los gases de escape del grupo electrógeno (típicamente entre  $460^\circ\text{C}$ - $550^\circ\text{C}$ ) generan vapor entre 6-12 bar (600-1200 kPa) y el

agua caliente obtenida del sistema de enfriamiento del motor puede ser usada para bajos requerimientos térmicos del proceso como el calentamiento del digestor (GIZ., 2013).

La energía térmica recuperada en la digestión anaerobia de la cachaza pre-tratada por los pre-tratamientos TA (A3) y LHW (A2) superó a la energía térmica recuperada con la digestión anaerobia de la cachaza sin pre-tratar (A1) en 10% y 61%, respectivamente y a la energía eléctrica generada en 27% y 61%, respectivamente (Tabla 4.1).

La energía térmica requerida para los pre-tratamientos TA y LHW representó el 49% y 43%, respectivamente, de la energía térmica recuperada por la digestión anaerobia de la cachaza pre-tratada, por lo que se concluye que ambos pre-tratamientos se autoabastecen. Por su parte el consumo de energía eléctrica es 5,4% y 5,3% de la energía eléctrica generada por la digestión anaerobia de la cachaza pre-tratada por TA y LHW, respectivamente.

La energía eléctrica y térmica neta diaria para las alternativas de estudio estuvo entre 11-18 MWh y 10-17 MWh, respectivamente (Anexo 10). Las alternativas que consideran la cachaza sin pre-tratar (A1) y pre-tratada por LHW (A2) fueron la de mayor energía térmica (17 MWh) y eléctrica (18 MWh) netas, respectivamente.

#### Valoración energética para el escenario B con las alternativas B1-B4

Dentro de las alternativas analizadas, la alternativa B2 fue la que obtuvo una mayor producción diaria de energía eléctrica y térmica (70 MWh y 98 MWh), sin embargo la B4 fue la de mayor energía neta. Esto se debe al alto consumo de energía eléctrica (10 MWh) durante la operación de la planta de biogás con UASB (0,44 kWh/m<sup>3</sup> biogás por Obaya et al. (2005)), el cual representa el 19% de la energía producida (Fig. 4.1). Para la planta de biogás con reactores CSTR el consumo de energía eléctrica es del 10% de acuerdo a GIZ. (2013).

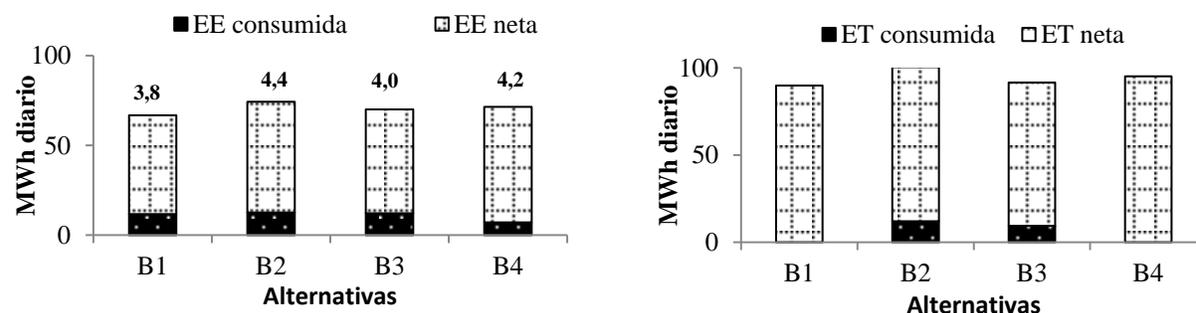


Fig. 4.1: Balance energético diario para las alternativas de estudio B1-B4. Sobre las barras los MW de potencia instalada. EE: energía eléctrica y ET: energía térmica.

Con relación a la energía térmica las dos alternativas con pre-tratamiento (B2 y B3) tuvieron un consumo de 12 y 9 MWh, respectivamente, debido a los requerimientos del pre-tratamiento de la cachaza (Anexo 10).

La energía eléctrica y térmica neta diaria para las alternativas de estudio osciló entre 55-64 MWh y 82-95 MWh, respectivamente (Fig. 4.1). Esta sería suficiente para cubrir el 100% de la demanda diaria de electricidad (12 MWh) y calor (56,2 MWh) que se necesita para la producción de alcohol del complejo azucarero-alcoholero Melanio Hernández. La alternativa que considera la co-digestión de cachaza con vinaza en reactores CSTR (B4) fue la de mayor energía eléctrica y térmica neta con 64 MWh y 95 MWh, respectivamente.

#### **4.2.2 Valoración económica de las alternativas**

Para la valoración económica se determinó el costo total de inversión, el costo total de producción y el flujo de caja para cada alternativa de estudio. Para el cálculo del capital fijo invertido y el capital total de la inversión se utilizó la metodología recomendada por Peters y Timmerhaus (1991).

La estimación del equipamiento para la planta de biogás se realizó de acuerdo a la regla a la 0,6 y se actualizó su valor. Para la planta con reactores CSTR los sustratos son la cachaza en mono-digestión sin pre-tratar, pre-tratada y en co-digestión con vinaza. En este caso se utilizó como referencia la oferta realizada por la empresa alemana Biogás Nord a la UEB Melanio Hernández de \$ 911 556 para el costo del equipamiento para un volumen total de reactores de 6231 m<sup>3</sup>. A este se le añade el costo del equipamiento para el pre-tratamiento y el del grupo electrógeno, el cual incluye sistema de recuperación de calor y la interconexión a la red eléctrica (Anexo 9).

Como planta de referencia para estimar la inversión de la planta de biogás para la vinaza se usó la planta de Heriberto Duquesne, en la provincia Villa Clara (Obaya et al., 2005) con una inversión de \$2 449 609,00 para un volumen total de reactores de 3600 m<sup>3</sup>.

El cálculo del volumen total de los reactores (Tabla 4.2) se realizó sobre la base de la carga orgánica volumétrica (COV) a alimentar. Esta es de 1,0 kg SV/m<sub>R</sub><sup>3</sup>d para la cachaza sin pre-tratar y 3 kg SV/m<sub>R</sub><sup>3</sup>d para la cachaza pre-tratada y la cachaza sin pre-tratar en co-digestión con vinaza, de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo en régimen semicontinuo. Para la vinaza digerida en reactores UASB se usó una COV de 10 kg DQO/m<sup>3</sup>d (Obaya et al., 2005).

La misma metodología se aplicó para la estimación de la inversión del reactor de hidrólisis para el pre-tratamiento por LHW de acuerdo a información brindada por Budde (2015) (Anexo 8).

Para el pre-tratamiento TA se calculó la capacidad del tanque de preparación para la lechada de hidróxido de calcio y del reactor de hidrólisis y se estimó la inversión por Matches (2014). Para la estimación del costo de inversión del grupo electrógeno se utilizaron índices en función de la potencia eléctrica instalada (EPA, 2008).

La purificación del biogás producido en reactores UASB y el CSTR para la co-digestión se basó en un procedimiento biológico de bajo costo que permite disminuir la concentración de  $H_2S(g)$  en el biogás hasta 99%, con tiempos de residencia de 30 minutos y 48 min (Fernández Santana et al., 2005). Esta metodología se aplica actualmente en la planta de biogás de la UEB Heriberto Duquesne de la provincia Villa Clara.

En la determinación de los costos fijos y variables se utilizó la metodología recomendada por Peters y Timmerhaus (1991). Los índices y precios para los cálculos se presentan en el Anexo 8. La depreciación se consideró lineal a lo largo de 20 años para estructuras físicas y de 10 años para el equipamiento técnico instalado. El capital se remunera a una tasa de interés de 10%. Se asume una tasa de inflación del 8% y una tasa de impuesto del 30%.

Para los ingresos de la planta de biogás se tuvo en cuenta la venta de la electricidad generada, la sustitución del petróleo consumido fuera de zafra por la destilería, la venta del  $CO_2$  dejado de emitir respecto a la situación de referencia, la venta del fertilizante orgánico, la venta del agua de riego y el servicio de tratamiento de la vinaza (solo para las alternativas B1-B4).

Los indicadores dinámicos de la inversión para cada alternativa, el valor actual neto (VAN), la Tasa Interna de Retorno (TIR) y el Período de Recuperación al Descontado (PRD), se determinaron para tres posibles escenarios (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Escenarios considerados para el análisis económico.

Escenario	Precio electricidad \$/kWh	Precio fertilizante CSTR \$/t	Precio lodo UASB \$/t
Pesimista	0,131	0	0
Base	0,131	49,54	67,11
Optimista	0,184	69,35	93,95

Para la conformación de los escenarios se tuvo en cuenta la variabilidad del precio de venta de los principales productos de la planta de biogás: la electricidad y el fertilizante orgánico.

El precio de venta del kWh generado a partir de energías renovables se establece previo acuerdo entre la Organización Básica Eléctrica (OBE) y el cliente. Su valor depende de varios factores

como el origen de la biomasa, la infraestructura eléctrica existente en el lugar, costos de conexión y horario de entrega (6:00 am-5:00 pm, 5:00 pm-10:00 pm, 10:00 pm-6:00 am). Para la UEB Melanio Hdez el kWh generado a partir de bagazo se vende a 0,13, 0,25 y 0,09 pesos (ordenado de acuerdo a horario de entrega), mientras que para el complejo porcino Guayos el kWh generado a partir de biogás se vende a 0,16, 0,32 y 0,09 pesos. De acuerdo a estos valores y a que se propone un tiempo de servicio diario entre 16-19 horas, se utilizaron en el análisis dos precios de venta del kWh: el valor inferior (0,131 \$/kWh) para el escenario base y pesimista y un valor superior (0,184 \$/kWh) para el escenario optimista.

Para el fertilizante orgánico obtenido a partir de la fracción sólida del digestato del reactor CSTR se utilizó el precio de venta del compost que se produce a partir de cachaza con un precio promedio de 49,54 \$/t suministrado por la APA del central azucarero Uruguay y del lodo del reactor UASB de acuerdo al precio reportado anteriormente (Obaya et al., 2005), las cuales conformaron el escenario base. Para el escenario pesimista no se consideró la venta del lodo y el fertilizante orgánico. El escenario optimista considera un precio superior de acuerdo a otros reportes (GIZ., 2013).

### **Valoración económica de las alternativas A1-A3**

En el Anexo 9 se presenta el desglose del costo de inversión de las alternativas A1-A3 para el escenario de un ingenio azucarero sin destilería anexa. La alternativa A2 tuvo el mayor capital total invertido con 5,4 millones de pesos, debido a que es la de mayor capacidad instalada (1266 kW) e incluye el costo del pre-tratamiento por LHW de la cachaza. Sin embargo, al ser la alternativa de mayor ingreso con 1,5 millones de pesos anuales, obtuvo un flujo de caja anual de \$ 903 782,92. La mayor contribución en los ingresos fue para la venta de electricidad (52%) (Tabla 4.3).

Para todas las alternativas se consideró que solo se consume agua para dilución en época de no zafra. En época de zafra se generan 2760 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> de aguas residuales procedentes del proceso de producción de azúcar. Estas aguas pueden utilizarse para la reducción del contenido de ST de la cachaza en la alimentación de forma que el contenido en el reactor sea <8% ST (se necesitan 140 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup>).

En el cálculo de los indicadores dinámicos de la inversión se obtuvo que para el escenario pesimista no se recuperó la inversión inicial para ninguna de las alternativas. Para los escenarios base y optimista todas las alternativas fueron rentables económicamente (TIR>10%), pero la que

considera la cachaza pre-tratada por LHW mostró ser la más rentable con TIR del 15% y 24% y una recuperación de la inversión en 7,2 años y 4,9 años, respectivamente (Anexo 10).

Tabla 4.3. Ingresos, costos de producción y flujo de caja para A1-A3 (escenario base).

	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
<b>Conceptos</b>			
Capital fijo invertido	4 799 023,17	5 369 940,95	4 668 333,50
<b>Ingresos</b>			
Venta electricidad	459 223,07	778 370,46	586 067,17
Ahorro petróleo	82 831,86	148 832,51	101 643,13
Créditos de carbono	47 456,73	45 245,88	46 676,95
Agua de riego	61 551,78	61 551,78	61 551,78
Venta de fertilizante	465 220,99	465 220,99	465 220,99
<b>Total de Ingresos</b>	<b>1 116 284,43</b>	<b>1 499 221,62</b>	<b>1 261 160,02</b>
<b>(-) Costos de producción</b>			
<i>Costos Directos</i>			
Materia prima	41 860,00	41 860,00	41 860,00
Agua	5 930,17	5 930,17	5 930,17
Cal hidratada	0,00	0,00	110 154,59
Electricidad	87 726,14	154 864,33	105 491,82
Mantenimiento	9 598,05	10 739,88	9 336,67
Mano de Obra	21 600,00	21 600,00	21 600,00
<i>Costos Fijos</i>			
Depreciación	316 735,53	354 416,10	308 110,01
Seguros	1 919,61	2 147,98	1 867,33
Impuestos	4 799,02	5 369,94	4 668,33
<b>C. Total de producción</b>	<b>490 168,52</b>	<b>596 928,40</b>	<b>609 018,93</b>
<b>(=) Flujo de Caja</b>	<b>626 115,91</b>	<b>902 293,23</b>	<b>652 141,09</b>

#### **Valoración económica de las alternativas B1-B4**

En el Anexo 9 se presenta el desglose del costo de inversión de las alternativas B1-B4 para el escenario de un ingenio azucarero con destilería anexa. La alternativa B2 tuvo el mayor capital total invertido con 13,7 millones de pesos, por ser la de mayor capacidad instalada (1266 kW+3177 kW) y al costo del pre-tratamiento de la cachaza por LHW. El ingreso para el escenario base varió entre 6,1 (B1) y 6,5 millones de pesos anuales (B2) (Tabla 4.4). La mayor contribución en los ingresos fue la venta de electricidad (44-46%).

El máximo valor del flujo de caja fue para la co-digestión de cachaza y vinaza (B4) (Tabla 4.4).

Para esta alternativa se sustituye toda el agua de dilución por vinaza y no se adiciona  $\text{Ca(OH)}_2$  al proceso. Además el consumo de electricidad es inferior a las alternativas que consideran alimentar vinaza en UASB, lo cual tiene un efecto significativo en los costos debido a que el precio de compra de la electricidad (\$0,226 kWh) es superior al precio de venta (\$0,131 kWh).

Tabla 4.4. Ingresos, costos de producción y flujo de caja para B1-B4 (escenario base).

	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>	<b>B4</b>
<b>Conceptos</b>				
Capital fijo invertido	12 967 916,02	13 538 833,79	12 837 226,35	11 697 930,65
<b>Ingresos</b>				
Venta electricidad	2 684 290,39	3 003 437,78	3 045 561,36	2 754 737,08
Ahorro petróleo	444 041,53	510 042,18	462 852,80	508 233,32
Créditos de carbono	154 101,32	151 968,39	153 355,78	152 873,57
Servicio tratamiento vinaza	1 157 100,00	1 157 100,00	1 157 100,00	1 157 100,00
Agua de riego	1 135 900,27	1 135 900,27	1 135 900,27	329 840,47
Venta de fertilizante	563 342,28	563 342,28	563 342,28	1 214 992,66
<b>Total de Ingresos</b>	<b>6 138 775,79</b>	<b>6 521 790,91</b>	<b>6 518 112,49</b>	<b>6 117 777,10</b>
<b>(-) Costos de producción</b>				
<i>Costos Directos</i>				
Materia prima	41 860,00	41 860,00	41 860,00	41 860,00
Agua	43 897,51	43 897,51	43 897,51	0,00
Cal hidratada	203 360,33	203 360,33	313 514,92	0,00
Electricidad	801 820,52	868 958,71	819 586,20	148 693,40
Mantenimiento	25 935,83	27 077,67	25 674,45	23 395,86
Mano de Obra	50 400,00	50 400,00	50 400,00	50 400,00
<i>Costos Fijos</i>				
Depreciación	855 882,46	893 563,03	847 256,94	772 063,42
Seguros	5 187,17	5 415,53	5 134,89	4 679,17
Impuestos	12 967,92	135 38,83	12 837,23	11 697,93
<b>C. Total de producción</b>	<b>2 041 311,73</b>	<b>2 148 071,61</b>	<b>2 160 162,14</b>	<b>1 052 789,78</b>
<b>(=) Flujo de Caja</b>	<b>4 097 464,06</b>	<b>4 373 719,30</b>	<b>4 357 950,35</b>	<b>5 064 987,32</b>

Para todas las alternativas se consideró que solo se consume agua para dilución en época de no zafra. En época de zafra se generan  $2760 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$  de aguas residuales procedentes del proceso de producción de azúcar. Estas aguas pueden utilizarse para la dilución de la vinaza hasta una DQO de  $20 \text{ kg m}^{-3}$  (se necesitan  $1955 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ ).

Los indicadores dinámicos de la inversión mostraron rentabilidad económica para todos los escenarios evaluados. La mejor rentabilidad fue para la alternativa que considera la cachaza en

co-digestión con vinaza (B4) con una TIR entre 28%-49% y recuperación de la inversión entre 4,3-2,5 años. Para esta alternativa el valor del VAN alcanzó los 27 millones de pesos para el escenario optimista (Fig. 4.2 y Anexo 10).

El análisis financiero concluyó que para ingenios azucareros con destilería de alcohol anexa es preferible, desde el punto de vista económico, la alternativa de co-digerir la cachaza sin pre-tratar y la vinaza en reactores CSTR.

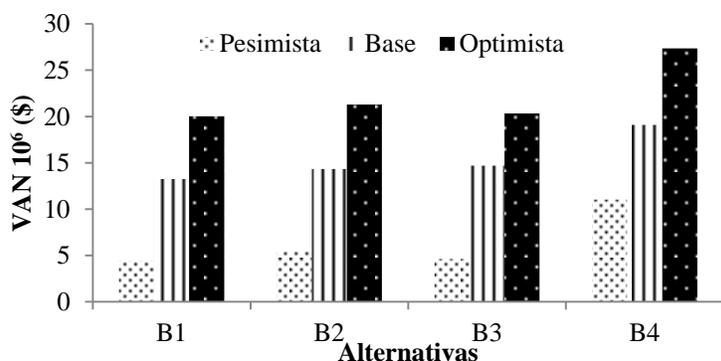


Fig. 4.2. Variación del VAN para las alternativas propuestas.

#### 4.2.3 Valoración ambiental de las alternativas

Para la valoración ambiental de las alternativas se estimó el potencial de mitigación de la producción de biogás en comparación con el escenario de referencia. Se consideró para este escenario la producción de compost a partir de cachaza y su aporte en carbono orgánico al suelo para el escenario base A0 y adicionalmente el tratamiento de las vinazas generadas en la producción de alcohol en un sistema de lagunas y su uso final en el fertirriego aportando carbono orgánico al suelo para el escenario base B0.

El inventario de análisis de ciclo de vida se llevó a cabo mediante balances de materia y energía para un flujo de entrada diario de 70 t d<sup>-1</sup> de cachaza y 964 m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup> de vinaza (Anexo 11). El sistema para cada alternativa y sus límites se muestra en el Anexo 12.

Las principales consideraciones para el estudio fueron las siguientes:

- Las emisiones gaseosas de las lagunas se calcularon a partir de la multiplicación de la productividad de metano  $R_{CH_4}$  (Lm<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>) y el área ocupada de las lagunas, donde DQOr es la DQO eliminada (kg DQO d<sup>-1</sup>) y  $T_a$  es la T ambiente promedio (°C) (Toprak, 1995; Wu y Chen, 2011).

$$R_{CH_4} = 0,456 \cdot (DQOr)^{0,243} \cdot T_a^{0,856}$$

- El contenido de carbono orgánico (Corg) en el lodo producido en el UASB se asumió como 0,0313 kmol C/ kg DQO biomasa (Batstone et al., 2002), donde la DQO en la biomasa es 1,222 kg DQO/kg biomasa (Kalyuzhnyi y Fedorovich, 1998). La producción de lodo se determinó a partir de balance de masa asumiendo que el 10% DQO eliminada es anaeróbicamente convertida a biomasa (Braun, 2007). Para el CSTR se tuvo en cuenta los sólidos volátiles eliminados a biogás y la entrada de agua y cenizas al reactor.
- La generación de electricidad y calor a partir del biogás producido, así como el aporte en fertilizante orgánico (Corg) fueron variables para las alternativas consideradas. Se consideró constante el aporte en N, P y K.
- Se asumió un 2% de pérdidas de biogás durante el proceso de producción, generación de energía y en el almacenamiento del efluente digerido (Meyer-Aurich et al., 2012).
- Para el estudio del compostaje de la cachaza se usaron los índices informados por Velarde et al. (2004) y las emisiones producto del compostaje que por defecto propuso IPCC (2006).

Emisión CH <sub>4</sub> del compostaje	kg kg <sup>-1</sup> residuo	0,004
Emisión N <sub>2</sub> O del compostaje	kg kg <sup>-1</sup> residuo	0,0003

Para el análisis del ACV se utilizó el software libre OpenLCA versión 1.3.1 (Openlca, 2014) con la Base de Datos (BD) Ecoinvent 2.2 y la metodología ReCiPe con categorías de impactos finales en una perspectiva jerárquica (Goedkoop et al., 2008). Se estudiaron las categorías finales “Calidad del Ecosistema”, “Salud Humana” y “Recursos Fósiles”. La metodología ReCiPe permitió determinar la contribución de las categorías de intermedias a las categorías finales. Todos los impactos ambientales fueron cuantificados en “puntos”.

### **Valoración ambiental para las alternativas A1-A3**

A partir del ACV se obtuvo una mejora en el perfil ambiental respecto al escenario base, lo cual se evidenció en la reducción entre un 62% (A3) y un 97% (A2) de la puntuación total respecto A0 (Fig 4.3).

La mayor contribución al impacto total la tuvo la “Salud humana” la cual representó del 43-49%. Este resultado se atribuyó principalmente a la categoría de impacto intermedio “Cambio climático” (54-62%) y se debe a la quema de combustible fósil en la refinería para suplir la electricidad requerida. La “Toxicidad humana” (32-36%) y la “Formación de material particulado” tuvieron una contribución menor (6-12%) (Fig. 4.3).

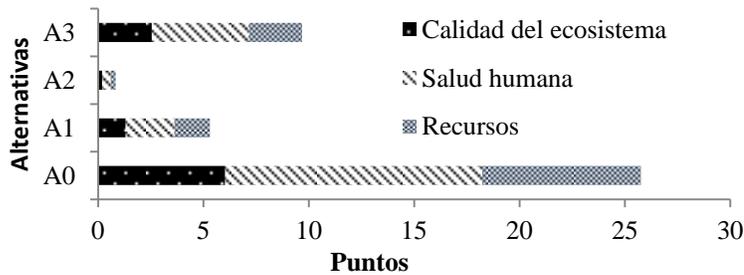


Fig. 4.3. Distribución de impactos en categorías finales para las alternativas evaluadas (A1-A3) y el escenario base A0.

### Valoración ambiental para las alternativas B1-B4

A partir del ACV se obtuvo una mejora en el perfil ambiental respecto al escenario base, lo cual se evidenció en la reducción entre un 62% (B3) y un 75% (B4) de la puntuación total respecto B0 (Fig. 4.4).

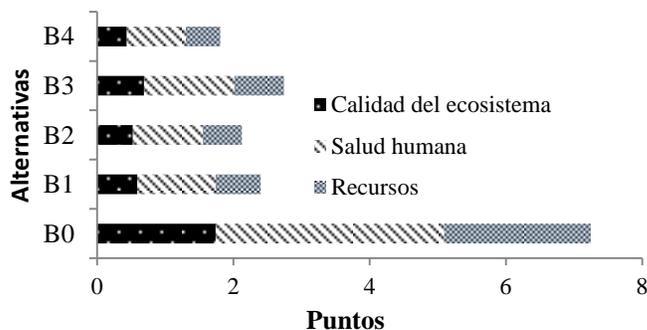


Fig. 4.4. Distribución de impactos en categorías finales para las alternativas evaluadas (B1-B4) y el escenario base B0.

La mayor contribución al impacto total la tuvo la “Salud humana” la cual representó del 46-48%. Este resultado se atribuyó principalmente a la categoría de impacto intermedio “Cambio climático” (56-57%) y se debe a la quema de combustible fósil en la refinería para suplir la electricidad requerida y a la producción de CaO para las alternativas con vinaza tratada en el reactor UASB. La “Toxicidad humana” (29-34%) y la “Formación de material particulado” (9-14%) tuvieron una contribución menor (Fig. 4.5).

Las categorías de “Calidad del ecosistema” y “Recursos” contribuyeron entre 24-30% a la puntuación total. La “Calidad del ecosistema” estuvo influenciada principalmente por la categoría de impacto “Cambio climático” (89-91%) y en segundo lugar por la “Transformación de la

tierra” (7-8%). Por último, la categoría de impacto final “Recursos naturales” fue 100% atribuida al agotamiento de los recursos, debido al uso de combustibles fósiles para la generación de energía en Cuba (Fig. 4.6).

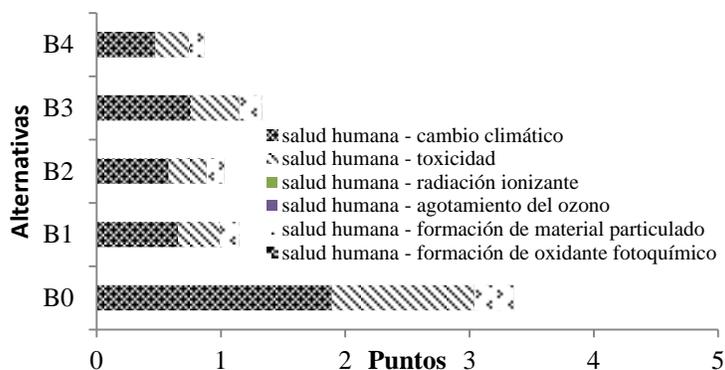


Fig 4.5. Distribución de los impactos para la categoría final salud humana.

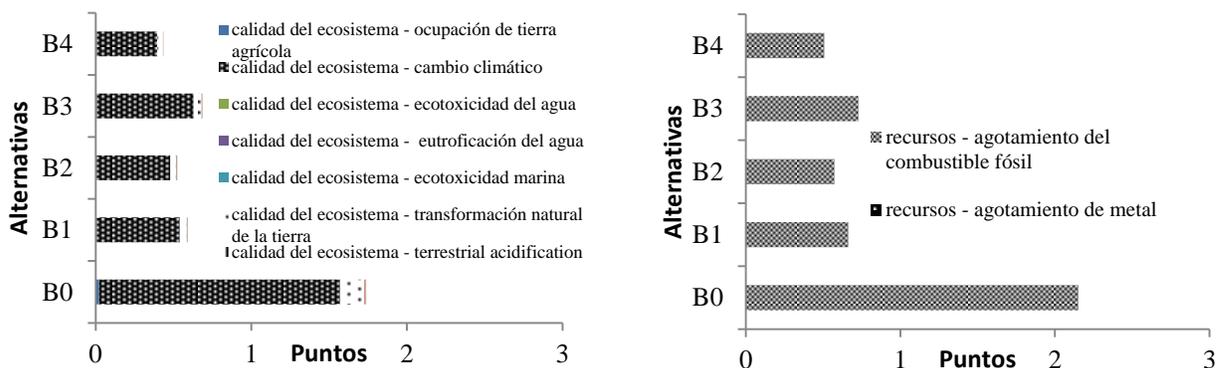


Fig 4.6. Distribución de los impactos para las categorías finales “Calidad del ecosistema” y los “Recursos”.

De acuerdo con los resultados obtenidos a partir del análisis energético, económico y ambiental de las alternativas consideradas en el manejo de la cachaza para su uso como sustrato en la producción de biogás, la digestión de la cachaza pre-tratada por agua caliente presurizada en reactores CSTR (A2) resultó la más viable para el escenario de un ingenio azucarero sin destilería anexa, mientras que la alternativa de co-digestión de la cachaza sin pre-tratar con la vinaza (B4) fue la más viable para el escenario de un ingenio azucarero con destilería anexa. Los esquemas de ambas propuestas se muestran en los Anexos 7 y 13.

### 4.3 Conclusiones parciales

1. El requerimiento térmico para el pre-tratamiento por agua caliente presurizada (LHW) y termo-alcalino (TA) se autoabastece a partir de la energía térmica recuperada en la digestión anaerobia de la cachaza pre-tratada.

2. Para las alternativas que consideran la digestión de vinaza, la energía producida sería suficiente para cubrir el 100% de la demanda diaria de energía eléctrica (12,0 MWh) y térmica (56,2 MWh) en la producción de alcohol. La energía máxima neta diaria se obtiene con la co-digestión vinaza-cachaza sin pre-tratar (65 MWh y 90 MWh).
3. El análisis de ciclo de vida realizado permitió evaluar los impactos ambientales respecto a la alternativa base, obteniéndose mejoras de hasta un 97% para la digestión anaerobia de la cachaza pre-tratada por agua caliente presurizada, además resultó ser la más viable desde el punto de vista económico y energético por lo que esta alternativa se considera la más apropiada para el escenario de un ingenio azucarero sin destilería anexa.
4. La alternativa de co-digestión de la vinaza con cachaza obtuvo una mejora del perfil ambiental respecto al escenario base de 75%, además resultó ser la más viable desde el punto de vista económico y energético por lo que se considera la más apropiada para el escenario de un ingenio azucarero con destilería anexa.

## **Conclusiones finales**

1. La eficiencia del proceso de bioconversión (biodegradabilidad) de la cachaza se favoreció al emplearse los pre-tratamientos termo-alcálico y por agua caliente presurizada, incrementando el rendimiento de metano respecto a la cachaza sin tratar en 43% y 63% respectivamente.
2. La co-digestión de vinaza y cachaza sin pre-tratar en sistema discontinuo y semicontinuo, mostró un efecto sinérgico sobre el rendimiento de metano, superando el rendimiento de metano respecto a la cachaza sin pre-tratar en un 12% y 64%, respectivamente.
3. La mezcla de la vinaza con la fracción líquida y fracción sólida de la cachaza pre-tratada por termo-alcálico y agua caliente presurizada, mostró efectos antagónicos significativos sobre el rendimiento de metano, o no tuvo ningún efecto, por lo que no se sugiere su aplicación.
4. La alternativa más viable desde el punto de vista económico, energético y ambiental se obtuvo cuando se analizó la cachaza pre-tratada por agua caliente presurizada y la vinaza, para producir biogás y fertilizante, en reactores CSTR y UASB, respectivamente en un ingenio que no tenga destilería anexa.
5. La alternativa más viable desde el punto de vista energético, económico y ambiental para un ingenio azucarero con destilería anexa es la co-digestión de la vinaza con la cachaza sin pre-tratar en reactores CSTR.

## **Recomendaciones**

1. Evaluar el efecto del tiempo de calentamiento en el pre-tratamiento por agua caliente presurizada, tiempo de enfriamiento y tiempo de pre-tratamiento para temperaturas entre 150 - 175°C.
2. Estudiar en régimen semicontinuo las mejores condiciones obtenidas en el pre-tratamiento de la cachaza.
3. Incorporar otros escenarios referidos a otros usos del biogás y efectos del almacenamiento de la cachaza, para su valoración económica, energética y ambiental.

## Referencias

- Aboudi, K., Álvarez-Gallego, C.J., Romero-García, L.I. 2016. Evaluation of methane generation and process stability from anaerobic co-digestion of sugar beet by-product and cow manure. *J Biosci Bioeng*, **121**(5), 566-572.
- Abril, M., Medina, Abril., A. 2012. Sugar cane bagasse prehydrolysis using hot water. *Braz J Chem Eng*, **29**(01), 31-38.
- Ahring, B.K., Sandberg, M., Angelidaki, I. 1995. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* , **43** (3), 559-565.
- Alvarez, R., Lidén, G. 2008. Semi-continuous co-digestion of solid slaughterhouse waste, manure, and fruit and vegetable waste. *Renew Energ*, **33**(4), 726-734.
- Angelidaki, I., Ahring, B.K. 1995. Establishment and Characterization of an Anaerobic Thermophilic (55-Degrees-C) Enrichment Culture Degrading Long-Chain Fatty-Acids. *Appl Environ Microb*, **61**(6), 2442-2445.
- Angelidaki, I., Ahring, B.K. 1993. Thermophilic digestion of livestock waste: the effect of ammonia *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **38**, 560-564.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., van Lier, J.B. 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Sci Technol*, **59**(5), 927-934.
- Angelidaki, I., W.Sanders. 2004. Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, **3**(2), 117-129.
- APA Uruguay. 2015. Tarifa de precios de productos. Contabilidad y finanzas. Unidad empresarial de Atención al Productor (APA) Central azucarero Uruguay. Comunicación personal 4/1/2015.
- APHA, AWWA, WEF. 1995. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th ed.* American Public Health Association/America Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Baez-Smith, C. 2008 Production of Bioenergy Using Filter Cake Mud in Sugar Cane Mill Factories. in: *SPRI*. Florida, USA.
- Banco Central de Cuba. 2015. Boletín de información económica. Año No 10, 28/10 (<http://www.bc.gob.cu>).
- Barakat, A., Monlau, F., Steyer, J.-P., Carrere, H. 2012. Effect of lignin-derived and furan compounds found in lignocellulosic hydrolysates on biomethane production. *Bioresour Technol*, **104**(0), 90-99.
- Barredo, M., Evison, L. 1991. Effect of propionate toxicity on methanogen-enriched sludge, methanobrevibacter smithii, and methanospirillum hungatii at different pH values. *Applied & Environmental Microbiology*, **57**(6), 1764-1769.
- Barrera, E.L., Spanjers, H., Romero, O., Rosa, E., Dewulf, J. 2014. Characterization of the sulfate reduction process in the anaerobic digestion of a very high strength and sulfate rich vinasse. *Chem Eng J*, **248**, 383-393.
- Barreto Torrella, S., Rodríguez, D., Oquendo Ferrer, H. 2006. Eficiencia económica de dos plantas alimentadas con cachaza. *Centro Azúcar*, **33**(1).
- Batstone, D., Jensen, P. 2011. Anaerobic process, (Ed.) E. B.V., pp. 615-638.
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S.V., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W.T.M., Siegrist, H., Vavilin, V.A. 2002. The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). *Water Sci Technol*, **45**(10), 65-73.
- Bobleter, O. 1994. Hydrothermal degradation of polymers derived from plants. *Prog. Polym. Sci.*, **19**, 797-841.
- Borja, R., Martín, A., Maestro, R., Alba, J.M., Fiestas, J.A. 1991. Cinética del proceso de depuración de alpechín previamente biotratado via aerobia. *Grasas y Aceites*, **42**(3), 194-201.

- Braun, R. 2007. Anaerobic digestion: a multi-faceted process for energy, environmental management and rural development. in: *Improvement of crop plants for industrial end uses*, (Ed.) R. P, Springer, Dordrecht, pp. 335–415.
- Browne, J.D., Murphy, J.D. 2013. Assessment of the resource associated with biomethane from food waste. *Appl. Energ.*, **104**, 170-177.
- Budde, J. 2015. Improving digestibility of cattle waste by thermobarical treatment: Lab-scale experiments and assessment of full-scale model application. PhD thesis. Lebenswissenschaftlichen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin.
- Budde, J., Heiermann, M., Suárez-Quiñones, T., Plöchl, M. 2014. Effects of thermobarical pretreatment of cattle waste as feedstock for anaerobic digestion. *Waste Manag.*, **34**(2), 522–529.
- Buswell, A.M., Müller, H.F. 1952. Mechanism of methane fermentation. *Ind. Eng. Chem.*, **44** 550–552.
- Cano Herranz, R. 2014. Pretreatment technologies to enhance solid wastes anaerobic digestion. Tesis de Doctorado. Universidad de Valladolid, España.
- Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F. 2012. The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: A review. *Waste Manage*, **32**(9), 1634-1650.
- Carrere, H., Rafrafi, Y., Battimelli, A., Torrijos, M., Delgenes, J.P., Motte, C. 2012. Improving methane production during the codigestion of waste-activated sludge and fatty wastewater: Impact of thermo-alkaline pretreatment on batch and semi-continuous processes. *Chem Eng J*, **210**, 404-409.
- Casdelo Gutiérrez, N.L. 2005. Desarrollo de una tecnología integral para el aprovechamiento de la cera cruda de caña. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas. Departamento de Ingeniería Química. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas.
- Chandra, R., Naresh, R.B., Rai, V. 2008. Melanoidins as major colourant in sugarcane molasses based distillery effluent and its degradation. *Bioresour Technol*, **99**, 4648–4660.
- Chandra, R., Takeuchi, H., Hasegawa, T. 2012a. Hydrothermal pretreatment of rice straw biomass: A potential and promising method for enhanced methane production. *Appl Energ*, **94**(0), 129-140.
- Chandra, R., Takeuchi, H., Hasegawa, T. 2012b. Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **16**, 1462– 1476.
- Chandra, R., Takeuchi, H., Hasegawa, T., Kumar, R. 2012c. Improving biodegradability and biogas production of wheat straw substrates using sodium hydroxide and hydrothermal pretreatments. *Energy*, **43**(1), 273-282.
- Chang, V.S., Holtzapple, M. 2000. Fundamentals factors affecting biomass reactivity. *Appl. Biochem. Biotechnol.* (84-86), 5-37.
- Chang, V.S., Nagwani, M., Holtzapple, M.T. 1998. Lime pretreatment of crop residues bagasse and wheat straw. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **74**, 135–159.
- Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *BioresourTechnol*, **99**(10), 4044-4064.
- Chen, Y.R., Hashimoto, A.G. 1980. Substrate utilization kinetic model for biological treatment process. *Biotechnol. Bioeng.*, **22**, 2081-2095.
- Christofoletti, C.A., Escher, J.P., Correia, J.E., Marinho, J.F.U., Fontanetti, C.S. 2013. Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use. *Waste Manag*, **33**(12), 2752-2761.
- Cirne, D.G., Paloumet, X., Björnsson, L., Alves, M.M., Mattiasson, B. 2007. Anaerobic digestion of lipid-rich waste—Effects of lipid concentration. *Renew Energ*, **32**(6), 965-975.
- Contois, D.E. 1959. Kinetics of bacterial growth. Relationship between population density and specific growth rate of continuous cultures. *Journal of Genetic and Microbiolog*, **21**, 40-50.
- Contreras, L.M. 2013. Digestión anaerobia de residuos de la agroindustria arrocera cubana para la producción de biogás. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas.
- Contreras, L.M., Schelle, H., Sebrango, C.R., Pereda, I. 2012. Methane potential and biodegradability of rice straw, rice husk and rice residues from the drying process. *Water Sci Technol*, **65**(6), 1142-1149.

- Costa, A.G., Pinheiro, G.C., Pinheiro, F.G.C., Dos Santos, A.B., Santaella, S.T., Leitão, R.C. 2013. Pretreatment strategies to improve anaerobic biodegradability and methane production potential of the palm oil mesocarp fibre. *Chem. Eng. J.*, **230**(0), 158-165.
- De Vrieze, J., Hennebel, T., Boon, N., Verstraete, W. 2012. Methanosarcina: The rediscovered methanogen for heavy duty biomethanation. *Bioresource Technol*, **112**(0), 1-9.
- Deublein, D., Steinhauser, A. 2011. *Biogas from waste and renewable resources: an introduction. 2nd ed. Weinheim ed.*
- Donoso-Bravo, A., Perez-Elvira, S.I., Fdz-Polanco, F. 2010. Application of simplified models for anaerobic biodegradability tests. Evaluation of pre-treatment processes. *Chem Eng J*, **160**(2), 607-614.
- Driessen, W.J.B.M., Tielbaard, M.H., Vereijken, T.L.F.M. 1994. Experience on anaerobis treatment of distillery effluent with the UASB process. *Wat Sci Technol*, **30**(12), 193-201.
- Eastman, J.A., Ferguson, J.F. 1981. Solubilization of particulate organic-carbon during the acid phase of anaerobic-digestion *Journal Water Pollution Control Federation*, **53**(3), 352-366.
- EPA. 2008. Environmental Protection Agency. Catalog of CHP Technologies. Technology Characterization: Reciprocating Engines. <http://www.epa.gov>, Fecha de acceso 12/03/2014.
- España-Gamboa, E., Mijangos-Cortes, J., Barahona-Perez, L., Dominguez-Maldonado, J., Hernandez-Zarate, G., Alzate-Gaviria, L. 2011. Vinasses: characterization and treatments. *Waste Manage Res*, **29**(12), 1235-1250.
- España-Gamboa, E., Mijangos-Cortés, J.O., Hernández-Zárate, G., Maldonado, J.A.D., Alzate-Gaviria, L.M. 2012. Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. *Biotechnol Biofuels*, **5**(82).
- Fdz-Polanco, F., Velazquez, R., Perez-Elvira, S.I., Casas, C., del Barrio, D., Cantero, F.J., Fdz-Polanco, M., Rodriguez, P., Panizo, L., Serrat, J., Rouge, P. 2008. Continuous thermal hydrolysis and energy integration in sludge anaerobic digestion plants. *Water Sci Technol*, **57**(8), 1221-1226.
- Feng, X., Karlsson, A., Svensson, B., Bertilsson, S. 2010. Impact of trace metal addition on biogas production from food industrial waste-linking process to microbial communities. *FEMS Microbiol Eco*, **74**(226-240).
- Fengel, D., Wegener, G. 1984. *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. 1st ed.* Berlin: Walter de Gruyter.
- Fernandes, T.V., Klaasse Bos, G.J., Zeeman, G., Sanders, J.P.M., van Lier, J.B. 2009. Effects of thermochemical pre-treatment on anaerobic biodegradability and hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, **100**(9), 2575-2579.
- Fernandez-Cegri, V., De la Rubia, M.A., Raposo, F., Borja, R. 2012. Effect of hydrothermal pretreatment of sunflower oil cake on biomethane potential focusing on fibre composition. *Bioresour Technol*, **123**, 424-429.
- Fernández Santana, E., Rodríguez Muñoz, S., Franco Rico, R. 2005. Procedimiento de Purificación Biológica. Factible para Diferentes Fuentes de Energía. *Revista CENIC. Ciencias Químicas.*, **36**.
- Ferreira, L.C., Donoso-Bravo, A., Nilsen, P.J., Fdz-Polanco, F., Pérez-Elvira, S.I. 2013. Influence of thermal pretreatment on the biochemical methane potential of wheat straw. *Bioresour Technol*, **143**(0), 251-257.
- Fonte, A., Tabla, Y. 1999. Generación de biogás a partir de cachaza con diferentes características. *Tecnología Química*, **19**(1), 10-17.
- Gangavati, P.B., Safi, M.J., Singh, A., Prasad, B., Mishra, I.M. 2005. Pyrolysis and thermal oxidation kinetics of sugar mill pressmud. *Thermochimica Acta*, **428**, 63-70.
- GE Jenbacher GmbH & Co OHG. 2015. Motores de gas de la marca General Electric Jenbacher (<https://information.jenbacher.com>).
- GIZ. 2013. Guía sobre el Biogás. Desde la producción hasta el uso. 5ta ed, (Ed.) F.N.R.e. V, FNR, Abt. Öffentlichkeitsarbeit, pp. 246.

- Goedkoop, M., Heijungs, R., Huijbregts, M., Schryver, A.D., Struijs, J., Zelm, R.v. 2008. *ReCiPe. A life cycle impact assessment method which comprises harmonised category indicators at the midpoint and the endpoint level. First edition. Report I: Characterisation. ed.*
- González-Suárez, A., Pereda-Reyes, I., Pozzi, E., Silva, A.J.d., Oliva-Merencio, D., Zaiat, M. 2016. Effect of Natural Mineral on Methane Production and Process Stability During Semi-Continuous Mono-Digestion of Maize Straw. *Appl Biochem Biotechnol*, DOI 10.1007/s12010-015-1965-8.
- Gossett, J.M., Stuckey, D.C., Owen, W.F., McCarty, P.L. 1982. Heat treatment and anaerobic digestion of refuse. *J. Environ. Eng. Div.*, **108**, 437–454.
- Gregg, D., Saddler, J. 1996. A techno-economic assessment of the pretreatment and fractionation steps of a biomass-to-ethanol process. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **57-58**(1), 711-727.
- Guillermo-Núñez, A.A. 1986. Bases para el diseño de la tecnología de tratamiento anaeróbico de la cachaza y los residuales líquidos azucareros. tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas. ICINAZ, La Habana, Cuba.
- Gujer, W., Zehnder, A.J.B. 1983. Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Sci Technol*, **15**(8-9), 127-167.
- Gupta, N., Tripathi, S., Balomajumder, C. 2011. Characterization of pressmud: A sugar industry waste. *Fuel*, **90** 389–394.
- Harada, H., Uemura, S., Chen, A.-C., Jayadevan, J. 1996. Anaerobic treatment of a recalcitrant distillery wastewater by a thermophilic UASB reactor. *Bioresource Technol*, **55**(3), 215-221.
- Hartmann, H., Angelidaki, I., Arhing, B. 2003. Co-digestion of the organic fraction of municipal waste with other waste types. in: *Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes*, IWA Publishing, UK.
- Hashimoto, A.G., Chen, Y.R., Varel, V. H., P., R. L. . 1979. Anaerobic fermentation of animal manure. *Joint Meeting of American Society of Agricultural Engineering and Canadian Society of Agricultural Engineering. Winnipeg. Canada.*
- Heipieper, H.J., Weber, F.J., Sikkema, J., Keweloh, H., de Bont, J.A.M. 1994. Mechanisms of resistance of whole cells to toxic organic solvents. *Trends in Biotechnology*, **12**(10), 409-415.
- Hendriks, A.T.W.M., Zeeman, G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol*, **100**(1), 10-18.
- HF Biotec Berlin GmbH. 2010. Planta de biogás para excretas de gallina, pavo y residuos de Opuntia. Proyecto biogás Chile.
- Holtzapple, M., Humphrey, A., Taylor, J. 1989. Energy requirements for the size reduction of poplar and aspen wood. *Biotechnol Bioeng*, **33**, 207-210.
- ICIDCA. 1990. *Manual de los derivados de la caña de azúcar. 2da ed.*
- IPCC. 2006. Directrices del IPCC de 2006 para los Inventarios Nacionales de Gases de Efecto Invernadero: Desechos- Tratamiento y eliminación de aguas residuales.
- IPCC. 2013. The physical science basis. In: Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- IPROYAZ. 2007. Estudio de pre-factibilidad de plantas de biogás. Empresa Azucarera: “Melanio Hernández”. Nro 6050684TG01000.
- Janke, L., Leite, A.F., Nikolausz, M., Radetski, C.M., Nelles, M., Stinner, W. 2016. Comparison of start-up strategies and process performance during semicontinuous anaerobic digestion of sugarcane filter cake co-digested with bagasse. *Waste Manag*, **48**, 199-208.
- Kalyuzhnyi, S.V., Fedorovich, V.V. 1998. Mathematical modelling of competition between sulphate reduction and methanogenesis in anaerobic reactors. *Bioresource Technol*, **65**(3), 227-242.
- Karim, K., Hoffmann, R., Klasson, K.T., Al-Dahhan, M.H. 2005. Anaerobic digestion of animal waste: Effect of mode of mixing. *Water Res*, **39** (15), 3597-3606.
- Khwairakpam, M., Bhargava, R. 2009. Bioconversion of filtermud using vermicomposting employing two exotic and one local earthwormspecies. *Bioresour Technol*, **100**(23), 5846-5852.

- Kim, S., Holtzapfle, T.M. 2005. Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresour. Technol.*, **96**, 1994–2006.
- Kim, Y., Mosier, N.S., Ladisch, M.R. 2009. Enzymatic Digestion of Liquid Hot Water Pretreated Hybrid Poplar. *Biotechnol Progr*, **25**(2), 340-348.
- Ko, J.K., Kim, Y., Ximenes, E., Ladisch, M.R. 2015. Effect of liquid hot water pretreatment severity on properties of hardwood lignin and enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnol Bioeng*, **112**(2), 252-262.
- Leitão, R.C., Haandel, A.C.v., Zeeman, G., Lettinga, G. 2006. The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: A review. *Bioresour Technol*, **97**, 1105–1118.
- Leite, A.F., Janke, L., Harms, H., Zang, J.W., Fonseca-Zang, W.A., Stinner, W., Nikolausz, M. 2015a. Assessment of the Variations in Characteristics and Methane Potential of Major Waste Products from the Brazilian Bioethanol Industry along an Operating Season. *Energy Fuels*, **29**(7), 4022–4029.
- Leite, A.F., Janke, L., Lv, Z., Harms, H., Richnow, H.-H., Nikolausz, M. 2015b. Improved Monitoring of Semi-Continuous Anaerobic Digestion of Sugarcane Waste: Effects of Increasing Organic Loading Rate on Methanogenic Community Dynamics. *Int. J. Mol. Sci.*, **16**, 23210-23226.
- Lettinga, G., Hulshoff Pol, L.W. 1991. UASB Process design for various types of wastewaters. *Water Sci Technol*, **24** (8), 87-107.
- Li, C., Champagne, P., Anderson, B. 2013. Biogas production performance of mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion with fat, oil, and grease in semi-continuous flow digesters: effects of temperature, hydraulic retention time, and organic loading rate. *Environ Technol*, **34**(13-14), 2125-2133.
- Linke, B., Schelle, H. 2000. Solid State Anaerobic Digestion of Organic Wastes. in: *AgEng 2000. EurAgEng*. Warwick, UK, pp. 1-10.
- Liu, X., Wang, W., Gao, X., Zhou, Y., Shen, R. 2012. Effect of thermal pretreatment on the physical and chemical properties of municipal biomass waste. *Waste Manage*, **32**, :249–255.
- López, M. 2000. Procedimiento de pretratamiento para mejorar la digestión anaeróbica de residuos sólidos. Tesis presentada en opción al grado científico de doctor en ciencias técnicas. Cujae. Ciudad de la Habana.
- López, M.T., Espinosa, M.C., Escobedo, A. 2005. Estudio Comparativo del Pretratamiento Químico para mejorar La Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos. *Revista CENIC*, **36**.
- Macias-Corral, M., Samani, Z., Hanson, A., Smith, G., Funk, P., Yu, H., Longworth, J. 2008. Anaerobic digestion of municipal solid waste and agricultural waste and the effect of co-digestion with dairy cow manure. *Bioresour. Technol.*, **99**, 8288–8293.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D., Clark, D.P. 2010. Brock: Biology of microorganisms. San Francisco, USA, Benjamin Cummings.
- Mähnert, P. 2007. Kinetik der Biogasproduktion aus nachwachsenden Rohstoffen und Gülle. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum agriculturalarum (Dr. rer. agr.). Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin.
- Masarin, F., Gurpilhares, D.B., Baffa, D.C., Barbosa, M.H., Carvalho, W., Ferraz, A., Milagres, A.M. 2011. Chemical composition and enzymatic digestibility of sugarcane clones selected for varied lignin content. *Biotechnol Biofuels*, **4**(1), 55.
- Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Macé, S., Astals, S. 2011. Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling. *Critical Reviews in Biotechnology*, ; **31**(2): 99–111, **31**(2), 99-111.
- Matches. 2014. Matches' Process Equipment Cost Estimates. Consultado 3/5/2015. <http://www.matche.com>.
- Mc Carty, P.L. 1964. *Anaerobic Waste Treatment Fundamentals. Part Two. Environmental Requirements and Control. Public Works for October* 123-126.

- Menardo, S., Airoidi, G., Balsari, P. 2012. The effect of particle size and thermal pre-treatment on the methane yield of four agricultural by-products. *Bioresour Technol*, **104**(0), 708-714.
- Meunchang, S., Panichsakpatana, S., Weaver, R.W. 2005. Co-composting of filter cake and bagasse; by-products from a sugar mill. *Bioresour. Technol.*, **96** 437–442.
- Meyer-Aurich, A., Schattauer, A., Hellebrand, H.J., Klauss, H., Plochl, M., Berg, W. 2012. Impact of uncertainties on greenhouse gas mitigation potential of biogas production from agricultural resources. *Renewable Energy*, **37**(1), 277-284.
- Monlau, F., Barakat, A., Steyer, J.P., Carrere, H. 2012. Comparison of seven types of thermo-chemical pretreatments on the structural features and anaerobic digestion of sunflower stalks. *Bioresour Technol*, **120**, 241-247.
- Monlau, F., Latriille, E., Da Costa, A.C., Steyer, J.-P., Carrère, H. 2013a. Enhancement of methane production from sunflower oil cakes by dilute acid pretreatment. *Appl Energy*, **102**(0), 1105-1113.
- Monlau, F., Trably, E., Barakat, A., Quemeneur, M., Steyer, J.P., Carrère., H. 2013b. Do by-products of thermochemical treatment of lignocellulosic materials inhibit anaerobic mixed cultures? Overview of recent findings. *13<sup>th</sup> World Congress on Anaerobic Digestion. Recovering (bio) Resources for the World.*, 25-28 June 2013, Santiago de Compostela, España.
- Monod, J. 1949. The growth of bacterial cultures. *An. Rev. Microbiol.* **3**, 373-376.
- Montgomery, D.C. 2005. *Design and analysis of experiments. 6th ed.* Wiley.
- Mosche, M., Jordening, H. 1998. Detection of very low saturation constants in anaerobic digestion: influences of calcium carbonate precipitation and pH. *Applied Microbiology & Biotechnology* **49**(6), 793-799.
- Nelles, M., Daniel-Gromke, J., Liebetrau, J., Rensberg, N. 2014. Technical challenges for biogas production. *BiogasWorld 2014*, Berlin.
- Nielsen, H.B., Ahring, B.K. 2006. Responses of the biogas process to pulses of oleate in reactors treating mixtures of cattle and pig manure. *Biotechnol Bioeng*, **95**(1), 96-105.
- Nitsos, C.K., Konstantinos, A.M., T.Kostas, S. 2013. Optimization of Hydrothermal Pretreatment of Lignocellulosic Biomass in the Bioethanol Production Process. *ChemSusChem*, **6**, 110 – 122.
- Nordell, E., Nilsson, B., Nilsson Påledal, S., Karisalmi, K., Moestedt, J. 2016. Co-digestion of manure and industrial waste – The effects of trace element addition. *Waste Manage*, **47, Part A**, 21-27.
- O'Rourke, J.T. 1968. Kinetics of anaerobic treatment at reduced temperatures. PhD Thesis. PhD Thesis, Stanford Univ.
- O-Thong, S., Boe, K., Angelidaki, I. 2012. Thermophilic anaerobic co-digestion of oil palm empty fruit bunches with palm oil mill effluent for efficient biogas production. *Appl Energy*, **93**, 648-654.
- Obaya, M.C., Valdés, E., Lorenzo, Y., Gallardo, M., León, O.L., Diez, K., Morales, M. 2005. Mecanismos de desarrollo limpio en una planta de tratamiento de vinazas de azúcar con reactores UASB. Consideraciones técnicas y económicas sobre su aplicación. *Tecnología del agua*, **263**, 52-59.
- Obaya, M.C., Valdés, E., Valencia, R., León, O.L., Morales, M., Pérez, O., Díaz, S., Valdivia, O., Rojas Martínez, G. 2004. Tratamiento combinado de las vinazas de destilería y residuales azucareros en reactores UASB. *Tecnología del agua*, **249**, 78-85.
- Oefner, P.J., Lanziner, A.H., Bonn, G., Bobleter, O. 1992. Quantitative studies on furfural and organic acid formation during hydrothermal, acidic and alkaline degradation of D-xylose. *Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly*, **123**(6), 547-556.
- Openlca. 2014. The open source software for LCA and Sustainability Assesment. Bajado Septiembre 2014. <http://www.openlca.org/>.
- Overend, R.P., Chornet, E. 1987. Fractionation of lignocellulosics by steam-aqueous pretreatments. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. A*, **321**, 526-533.
- Pagés-Díaz, J., Pereda-Reyes, I., Taherzadeh, M.J., Sárvári-Horváth, I., Lundin, M. 2014. Anaerobic co-digestion of solid slaughterhouse wastes with agro-residues: Synergistic and antagonistic interactions determined in batch digestion assays. *Chem Eng J*, **245**(0), 89-98.

- Pagés Díaz, J., Pereda Reyes, I., Lundin, M., Sárvári Horváth, I. 2011. Co-digestion of different waste mixtures from agro-industrial activities: Kinetic evaluation and synergetic effects. *Bioresource Technol*, **102**(23), 10834-10840.
- Palmqvist, E., Hahn-Hägerdal, B. 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresour Technol*, **74**, 25-33.
- Panagiotopoulos, I.A., Bakker, R.R., de Vrije, T., Koukios, E.G. 2011. Effect of pretreatment severity on the conversion of barley straw to fermentable substrates and the release of inhibitory compounds. *Bioresource Technology*, **102**(24), 11204-11211.
- Paoli, F.D., Bauer, A., Leonhartsberger, C., Amona, B., Amona, T. 2011. Utilization of by-products from ethanol production as substrate for biogas production. *Bioresource Technol*, **102** 6621–6624.
- Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gómez, E. 1991. Kinetics of Anaerobic Treatment: A Critical Review. *Critical Reviews in Environmental Control*, **21**(5, 6), 411 - 490.
- Penaud, V., Delgenés, J.P., Moletta, R. 1999. Thermo-chemical pretreatment of a microbial biomass: influence of sodium hydroxide addition on solubilization and anaerobic biodegradability. *Enzyme and Microbial Technology*, **25** 258–263.
- Pereda, I. 2007. Potencialidad de los residuos mineros como estimulantes del proceso de digestión anaerobia. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas. CUJAE. Ciudad de La Habana.Cuba.
- Pereda Reyes, I., Pagés Díaz, J., Sárvári Horváth, I. 2015. Anaerobic Biodegradation of Solid Substrates from Agroindustrial Activities — Slaughterhouse Wastes and Agrowastes. in: *Biodegradation and Bioremediation of Polluted Systems - New Advances and Technologies*, (Ed.) InTech., pp. 32-64.
- Pereira, M.A., Pires, O.C., Mota, M., Alves, M.M. 2005. Anaerobic biodegradation of oleic and palmitic acids: Evidence of mass transfer limitations caused by long chain fatty acid accumulation onto the anaerobic sludge. *Biotechnol Bioeng*, **92**(1), 15-23.
- Perez, J.A., Gonzalez, A., Oliva, J.M., Ballesteros, I., Manzanares, P. 2007. Effect of process variables on liquid hot water pretreatment of wheat straw for bioconversion to fuel-ethanol in a batch reactor. *J Chem Technol Biot*, **82**(10), 929-938.
- Peters, M.S., Timmerhaus, K.D. 1991. *Plant design and economics for Chemical Engineers. 4th ed.*
- Pycke, B.F.G., Etchebehere, C., Van de Caveye, P., Negroni, A., Verstraete, W., Boon, N. 2011. A time-course analysis of four full-scale anaerobic digesters in relation to the dynamics of change of their microbial communities. *Water Science and Technology*, **63** (4), 769-775.
- Quiminet. 2015. Consultado 10/04/2015. <http://www.quiminet.com>.
- Radjaram, B., Saravanane, R. 2011. Assessment of optimum dilution ratio for biohydrogen production by anaerobic co-digestion of pressmud with sewage and water. *Bioresour. Technol.*, **102** 2773–2780.
- Rafique, R., Poulsen, T.G., Nizami, A.-S., Asam, Z.-u.-Z., Murphy, J.D., Kiely, G. 2010. Effect of thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatments to enhance methane production. *Energy*, **35**(12), 4556-4561.
- Raposo, F., Borja, R., Rincón, B., Jiménez, A.M. 2008. Assessment of process control parameters in the biochemical methane potential. *Biomass and Bioenergy*, **32** 1235–1244.
- Rouf, M.A., Bajpai, P.K., Jotshi, C.K. 2010. Optimization of Biogas Generation from Press Mud in Batch Reactor. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.*, **45**(4), 371-376.
- Rouf, M.A., Islam, M.S., Bajpai, P.K., Jotshic, C.K. 2013. Techno-economic assessment of biogas production from press mud in Bangladesh. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.*, **48**, 51-58.
- Rutz, D., Janssen, R. 2008. *Biofuel technology handbook. 2nd. ed.* München, Germany: WIP Renewable Energies.
- Sambusiti, C., Monlau, F., Ficara, E., Carrere, H., Malpei, F. 2013. A comparison of different pre-treatments to increase methane production from two agricultural substrates. *Appl Energ*, **104**, 62-70.
- Sánchez, E., Borja, R., Lopez, M. 1996. Determination of the Kinetic Constants of Anaerobic Digestion of Sugar Mill- Mud –Waste (SMMW). *Bioresour. Technol.*, **56**, 245-249.

- Schnürer, A., Jarvis, Å. 2009. *Mikrobiologisk handbok för biogasanläggningar. Rapport U2009:03* Avfall Sverige, Svenskt Gastekniskt Center (SGC).
- Sen, B., Chandra, T.S. 2007. Chemolytic and solid-state spectroscopic evaluation of organic matter transformation during vermicomposting of sugar industry wastes. *Bioresour Technol*, **98**(8), 1680–1683.
- Sendeco2. 2015. Sistema europeo de negociación de CO2. <http://www.sendeco2.com>. Consultado 12/2/2015.
- Siles, A., García-García, I., Martín, A., Martín, M.A. 2011. Integrated ozonation and biomethanization treatments of vinasse derived from ethanol manufacturing. *J Hazard Mat*, **188**(1–3), 247–253.
- Silverstein, R.A., Chen, Y., Sharma-Shivappa, R.R., Boyette, M.D., Osborne, J. 2007. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks. *Bioresour. Technol.*, **98** (16), 3000-3011.
- Soest, P.V., Robertson, J., Lewis, B. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **74**(10), 3583 - 3597.
- Soler da Silva, M.A., Kliemann, H.J., De-Campos, A.B., Madari, B.E., Borges, J.D., Gonçalves, J.M. 2012. Effects of vinasse irrigation on effluent ionic concentration in Brazilian Oxisols. *African Journal of Agricultural Research* **8**(45), 5664-5672.
- Song, Z., Yang, G., Han, X., Feng, Y., Ren, G. 2013. Optimization of the alkaline pretreatment of rice straw for enhanced methane yield. *Biomed Res Int*, 1-9.
- Speece, R. 2008. *Anaerobic Biotechnology and Odor/Corrosion Control for Municipalities and industries*. Nashville, TN:Archae Press.
- Sundberg, C., Al-Soud, W.A., Larsson, M., Alm, E., Yekta, S.S., Svensson, B.H., Sørensen, S.J., Karlsson, A. 2013. 454 pyrosequencing analyses of bacterial and archaeal richness in 21 full-scale biogas digesters. *Fems Microbiology Ecology*, **85**(3), 612-626.
- Suryawati, L., Wilkins, M.R., Bellmer, D.D., Huhnke, R.L., Maness, N.O., Banat, I.M. 2009. Effect of hydrothermolysis process conditions on pretreated switchgrass composition and ethanol yield by SSF with *Kluyveromyces marxianus* IMB4. *Process Biochem*, **44**(5), 540-545.
- Taherzadeh, M.J., Karimi, K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *Int J Mol Sci*, **9**(9), 1621-1651.
- Tanaka, S., Kobayashi, T., Kamiyama, K.I., Bildan, L.N.S. 1997. Effects of thermochemical pretreatment on the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Wat. Sci. Technol.*, **35**(8), 209 –215.
- Teghammar, A., Yngvesson, J., Lundin, M., Taherzadeh, J.M., Sárvári, H.I. 2010. Pretreatment of paper tube residuals for improved biogas production. *Bioresour. Technol.*, **101** 1206–1212.
- Thauer, R.K., Kaster, A.K., Seedorf, H., Buckel, W., Hedderich, R. 2008. Methanogenic archaea: Ecologically relevant differences in energy conservation. *Nature Reviews Microbiology*, **6**(8), 579-591.
- Toprak, H.k. 1995. Temperature and organic loading dependency of methane and carbon dioxide emission rates of a full-scale anaerobic waste stabilization pond. *Water Research*, **29**(4), 1111-1119.
- Totla, P., Dhamankar, S., Inamdar, H., Lokhande, V. 2015. Techno Market Feasibility Study and Risk Analysis of Bio-Compressed Natural Gas (Bio-CNG) Project in India. *International Journal on Applications in Civil and Environmental Engineering*, **1**(4), 16-19.
- Tsai, W.T., Chen, H.P., Lai, C.W., Hsien, K.J., Lee, M.S., Yang, J.M. 2003. Preparation of adsorbents from sugarcane manufacturing by-product filter-mud by thermal activation. *J Anal Appl Pyrol*, **70**(2), 399–411.
- UEB Heriberto Duquesne. 2015. Tarifa de precios de productos. Contabilidad y finanzas. Unidad empresarial básica empresa azucarera Heriberto Duquesne. Comunicación personal 4/4/2015.
- UEB Melanio Hernández. 2015. Tarifa de precios de productos. Contabilidad y finanzas. Unidad empresarial básica Central azucarero Melanio Hernández. Comunicación personal 4/1/2015.
- VDI 4630. 2006. Fermentation of Organic Materials. Characterisation of the Substrates, Sampling, Collection of Material Data, Fermentation Tests. Handbuch Energietechnik

- Velarde, S.E., León, O.M., Cuéllar, A.I., Villegas, D.R. 2004. *Producción y aplicación de compost. 1th ed*, La Habana. Cuba.
- Vera, L.M. 2000. Extracción de alcoholes de alto peso molecular a partir de la cachaza y sus derivados. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas. Departamento de Ingeniería Química. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
- Wang, Q., Noguchi, C., Hara, Y., Sharon, C., Kakimoto, K., Kato, Y. 1997. Studies on anaerobic digestion mechanism: Influence of pretreatment temperature on biodegradation of waste activated sludge. *Environ Technol*, **18**(10), 999-1008.
- Ward, A.J., Hobbs, P.J., Holliman, P.J., Jones, D.L. 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*, **99**(17), 7928-7940.
- Weiland, P. 2010. Biogas production: current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **85**, 849-860.
- Wijekoon, K.C., Visvanathan, C., Abeynayaka, A. 2011. Effect of organic loading rate on vfa production, organic matter removal and microbial activity of a two stage thermophilic anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource Technol*, **102**(9), 5353-5360.
- Wilkie, A.C., Riedesel, K.J., Owens, J.M. 2000. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. *Biomass & Bioenergy*, **19**, 63-102.
- Wu, B., Chen, Z. 2011. An integrated physical and biological model for anaerobic lagoons. *Bioresource Technology*, **102**(8), 5032-5038.
- Wyman, C.E., Dale, B.E., Elander, R.T., Holtzapple, M., Ladisch, M.R., Lee, Y.Y. 2005. Comparative sugar recovery data from laboratory scale application of leading pretreatment technologies to corn stover. *Bioresour. Technol.*, **96**, 2026 – 2032.
- Xie, S., Frost, J.P., Lawlor, P.G., Wu, G., Zhan, X. 2011. Effects of thermo-chemical pre-treatment of grass silage on methane production by anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.*, **102** 8748-8755.
- Xu, F., Sun, R.-C., Sun, J.-X., Liu, C.-F., He, B.-H., Fan, J.-S. 2005. Determination of cell wall ferulic and p-coumaric acids in sugarcane bagasse. *Analytica chimica acta*, **552**(1-2), 207-217.
- Yadvika, Santosh, Sreekrishnan, T.R., Kohli, S., Rana, V. 2004. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques—a review. *BioresourTechnol*, **95**(1).
- Yang, S., Kataeva, I. 2009. Efficient degradation of lignocellulosic plant biomass, without pretreatment, by the thermophilic anaerobe "Anaerocellum thermophilum" DSM 6725. *Appl Environ Microb*, **75**, 4762-4769.
- Yu, G., Yano, S., Inoue, H., Inoue, S., Endo, T., Sawayama, S. 2010a. Pretreatment of Rice Straw by a Hot-Compressed Water Process for Enzymatic Hydrolysis. *Appl Biochem Biotech*, **160**(2), 539-551.
- Yu, Q., Zhuang, X.S., Yuan, Z.H., Wang, Q., Qi, W., Wang, W., Zhang, Y., Xu, J.L., Xu, H.J. 2010b. Two-step liquid hot water pretreatment of Eucalyptus grandis to enhance sugar recovery and enzymatic digestibility of cellulose. *Bioresour Technol*, **101**(13), 4895-4899.
- Zhang, C., Xiao, G., Peng, L., Su, H., Tan, T., 2013. The anaerobic co-digestion of food waste and cattle manure. *Bioresource Technol.*, **129**, 170-176.
- Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F., Li, Y. 2014. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*.
- Ziemiński, K., Romanowska, I., Kowalska-Wentel, M., Cyran, M. 2014. Effects of hydrothermal pretreatment of sugar beet pulp for methane production. *Bioresource Technol*, **166**(0), 187-193.

Del tema han sido publicados o presentados en eventos científicos los siguientes artículos:

#### **Publicaciones en la Web of Science**

1. López González, L.M., Reyes, I.P., Romero, O.R., Budde, J., Heiermann, M., Vervaeren, H. 2015. Antagonistic effects on methane yield of liquid hot-water pretreated press mud fractions codigested with vinasse. *Energy & Fuels*, 29(11), 7284-7289.
2. López González, L.M., Pereda Reyes, I., Dewulf, J., Budde, J., Heiermann, M., Vervaeren, H. Effect of liquid hot water pre-treatment on sugarcane press mud methane yield. 2014. *Bioresource Technology*, 169, 284-290.
3. López González, L.M., Vervaeren, H., Pereda Reyes, I., Dumoulin, A., Romero Romero, O., Dewulf, J.. Thermo-Chemical pre-Treatment to Solubilize and Improve Anaerobic Biodegradability of Press mud. 2013. *Bioresource Technology*, 131, 250–257.

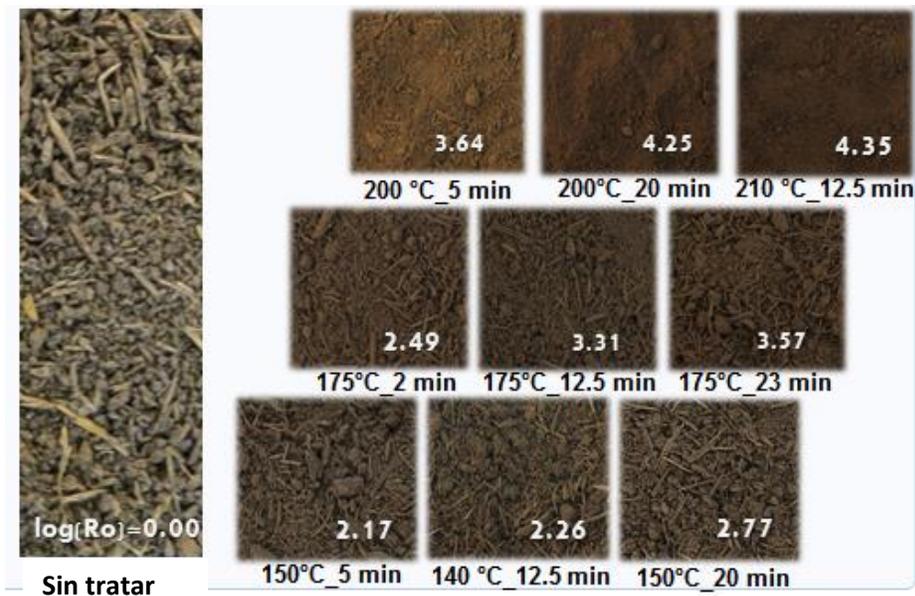
#### **Eventos**

1. *Antagonistic effects on methane yield of pretreated press mud fractions codigested with vinasse.* AD 14 World Congress on Anaerobic Digestion. Chile 2015.
2. *Methane yield and subproducts formation from press mud pretreated by liquid hot water.* International Congress about Sugars and Subproducts. Diversification. Cuba 2015
3. *Thermal hydrolysis energy integration in the anaerobic digestion process of sugar cane press mud y Biogas production from industrial residues blend: Optimization using mixture design.* VI International Symposium of Environment. Cuba 2015.
4. *Effect of pre-treatment severity on LHW pre-treatment of sugar cane press mud for methane conversion.* XI DAAL. Cuba 2014.
5. *Thermo-chemical pre-treatment to solubilize and improve anaerobic biodegradability of press mud.* AD 13 World Congress on Anaerobic Digestion. España 2013.

Anexo 1. Instalación para el pre-tratamiento por agua caliente presurizada.



Anexo 2. Imágenes de la cachaza sin tratar y pre-tratada (fracción sólida) por agua caliente presurizada. En letras blancas el factor de severidad log Ro.



Anexo 3. Composición química de los sustratos usados para la preparación de las mezclas.

Componente	Unidad	LF	SF	LF	SF	V	C
		A <sub>1_10</sub>	A <sub>1_10</sub>	TH <sub>150_20</sub>	TH <sub>150_20</sub>		
DQO	g kg <sup>-1</sup>	32,1	220,1	52,6	204,1	58,3	794,6
COT	g kg <sup>-1</sup>	12,0	82,5	19,7	76,5	21,9	297,9
TN	g kg <sup>-1</sup>			0,03	15,5	0,6	15,8
C/N				737,4	5,0	34,2	18,8
pH		10,7	11,1	4,9	5,2	3,9	6,3
ST	%MF	3,1	21,5	3,0	20,7	5,6	93,0
SV	%MF	2,6	15,7	2,4	16,5	4,1	65,6
SV	%ST	84,8	73,2	80,0	79,8	73,5	70,1
Ácido acético	mg L <sup>-1</sup>	1469,1	N.A.	576,7	N.A.	2805,1	265,6
Furfural	mg L <sup>-1</sup>	N.D.	N.A.	8,6	N.A.	4,2	N.D.
HMF	mg L <sup>-1</sup>	N.D.	N.A.	56,6	N.A.	5,4	N.D.
Ácido gálico	mg L <sup>-1</sup>	N.D.	N.A.	10,7	N.A.	17,3	N.D.
Ácido vanílico	mg L <sup>-1</sup>	6,8	N.A.	3,9	N.A.	30,9	N.D.
Ácido siríngico	mg L <sup>-1</sup>	4,3	N.A.	4,8	N.A.	32,4	N.D.
p- cumárico	mg L <sup>-1</sup>	97	N.A.	52,6	N.A.	2,6	2,6
Ácido ferúlico	mg L <sup>-1</sup>	141	N.A.	3,8	N.A.	6,3	N.D.
Ca	%ST	7,7	7,2	4,1	3,3	3,3	4,3
K	%ST	0,5	0,3	1,4	0,4	7,4	0,3
Mg	%ST	0,7	0,4	0,7	0,4	0,9	0,3
Mn	%ST	N.D.	0,05	N.D.	0,1	N.D.	0,05
Na	%ST	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	0,10
Zn	%ST	N.D.	0,01	N.D.	0,03	N.D.	< 0,004
Fe	%ST	N.D.	0,09	N.D.	N.A.	N.D.	N.D.
Ni	%ST	N.D.	N.D.	N.D.	N.A.	N.D.	N.D.

V: vinaza, LF: Fracción líquida de la cachaza pre-tratada, SF: Fracción sólida de la cachaza pre-tratada por pre-tratamiento termo-alcalino (A1\_10) y agua caliente presurizada (TH150\_20)

N.A. no analizado

N.D. no detectado

Anexo 4. Composición química de los sustratos usados para el ensayo en semicontinuo.

Componente	Unidad	Cachaza	Vinaza
ST	% MF	27,7	5,3
SV	% ST	80,8	78,6
Ceniza	% ST	19,2	21,4
DQO	g kg <sup>-1</sup>	284,5	62,3
pH		6,3	4,8
Proteína	g kg <sup>-1</sup>	30,6	3,8
Grasas	g kg <sup>-1</sup>	25,6	0,03
Azúcar	g kg <sup>-1</sup>	22,5	31,6
Carbono	g kg <sup>-1</sup>	122,5	21,7
Nitrógeno Total	g kg <sup>-1</sup>	4,7	0,6
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	g kg <sup>-1</sup>	ND	5,6 10 <sup>-3</sup>
Fósforo	g kg <sup>-1</sup>	3,1	0,1
Sulfato	g kg <sup>-1</sup>	ND	1,8
C:N ratio	-	26:1	36:1

N.A. no analizado

N.D. no detectado

Anexo 5. Resumen de los resultados de la ANOVA y coeficientes de regresión estimados de acuerdo a los modelos.

**Para la mezcla cachaza sin pretratar–vinaza.**

Resumen de los resultados de la ANOVA.

Variable Respuesta	Suma de Cuadrados	Error Estándar	Grados de libertad	de $R^2$ (%)	$R^2_{aj.}$ (%)	p-valor
<b>YCH4</b>						
<b>Lineal</b>						
Regresión	534	9	1	47,10	40,49	0,03
Bondad Ajuste	427		3			0,08
Error Puro	173		5			
<b>Cuadrático</b>						
Regresión	362	6	1	78,96	72,94	0,01
Bondad Ajuste	66		2			0,45
Puro Error	173		5			
<b>rSCH4</b>						
<b>Lineal</b>						
Regresión	2509	9	1	90,80	89,65	0,00
Bondad Ajuste	221		3			0,01
Error Puro	33		5			
<b>Cuadrático</b>						
Regresión	13	6	1	91,27	88,77	0,56
Bondad Ajuste	208		2			0,00
Error Puro	33		5			

Coeficientes de regresión estimados, errores estándares y significancia estadística.

Coeficiente	Estimado	Error Estándar	p-valor
<b>YCH4</b>			
$\beta_v$	240	4	
$\beta_c$	219	4	
$\beta_{v_c}$	57	18	0,014
<b>rSCH4</b>			
$\beta_v$	75	3	
$\beta_c$	30	3	

**Para la mezcla cachaza pre-tratada por pre-tratamiento TA–vinaza.**

Resumen de los resultados del ANOVA.

Modelos	Suma de Cuadrados	Error Estándar	Grados de libertad	R <sup>2</sup> (%)	R <sup>2</sup> <sub>aj.</sub> (%)	p-valor
<b>Lineal</b>						
Regresión	11969	22	2	46,19	42,21	0,00
Falta de ajuste	11581		7			0,00
Error Puro	2361		20			
<b>Cuadrático</b>						
Regresión	3468	21	2	53,74	48,40	0,00
Falta de ajuste	9625		6			0,00
Error Puro	25912		20			
<b>Cúbico</b>						
Regresión	7959	10	3	90,30	87,21	0,00
Falta de ajuste	153		2			0,53
Error Puro	2361		20			

Coefficientes de regresión estimados, errores estándares y significancia estadística obtenida para el modelo cúbico.

Coefficiente	Estimado	Error Estándar	p-valor
$\beta_{LF}$	293	6	
$\beta_{SF}$	186	6	
$\beta_V$	249	6	
$\beta_{LF\_SF}$	-106	28	0,001
$\beta_{LF\_V}$	-126	28	0,000
$\beta_{SF\_V}$	29	28	0,314
$\beta_{LF\_SF\_V}$	19	204	0,928
$\delta_{LF\_V (LF-V)}$	-156	63	0,000
$\delta_{LF\_SF (LF-SF)}$	-343	63	0,023
$\delta_{SF\_V (SF-V)}$	378	63	0,000

**Para la mezcla cachaza pre-tratada por LHW y vinaza.**

Resumen de los resultados del ANOVA.

Modelos	Suma de Cuadrados	Error Estándar	Grados de libertad	de $R^2$ (%)	$R^2_{aj.}$ (%)	p-valor
<b>Líneal</b>						
Regresión	22831	40	2	34,17	29,30	0,00
Bondad ajuste	41654		7			0,00
Error Puro	2324		20			
<b>Cuadrático</b>						
Regresión	35680	18	3	87,58	84,99	0,00
Bondad ajuste	5974		4			0,00
Error Puro	2324		20			
<b>Cúbico Especial</b>						
Regresión	2336	16	1	89,73	88,09	0,00
Bondad ajuste	4538		5			0,00
Error Puro	2324		20			
<b>Cúbico</b>						
Regresión	3920	11	1	95,60	94,68	0,00
Bondad ajuste	617		4			0,29
Error Puro	2324		20			

Coefficientes de regresión estimados, errores estándar y significancia estadística obtenida para el modelo cúbico.

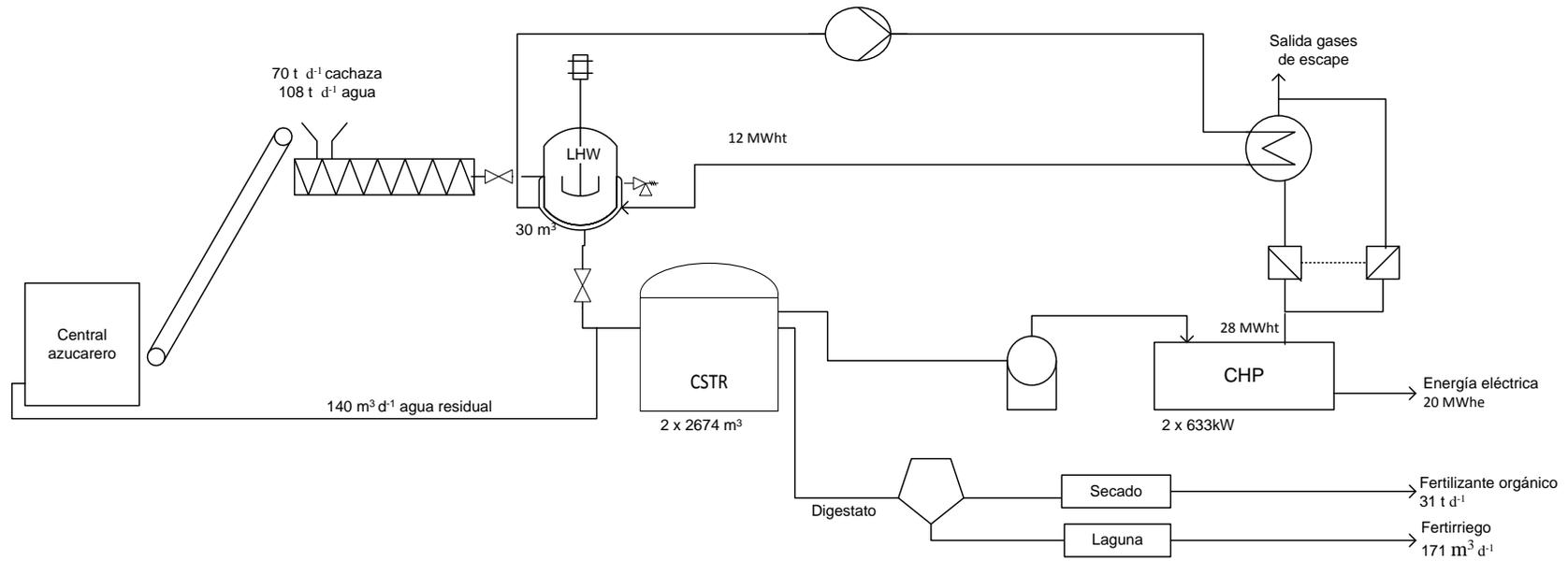
Coefficiente	Estimado	Error Estándar	p-valor
$\beta_{LF}$	369	6	
$\beta_{SF}$	249	6	
$\beta_V$	271	6	
$\beta_{LF\_SF}$	-2	28	0,940
$\beta_{LF\_V}$	-416	28	0,000
$\beta_{SF\_V}$	-21	25	0,457
$\beta_{LF\_SF\_V}$	-767	202	0,001
$\delta_{LF\_V (LF-V)}$	-344	62	0,000
$\delta_{LF\_SF (LF-SF)}$	80	62	0,213
$\delta_{SF\_V (SF-V)}$	-109	62	0,097

Anexo 6. Principales parámetros del proceso de digestión anaerobia para la cachaza sin pre-tratar en mono- y co-digestión con vinaza.

Semanas	1-3		4-6		7-9		10-12		13-16*	
Parámetros	Mono-Digestión	Co-Digestión								
g cachaza	100,4	27,7	200,9	58,5	301,3	86,0	361,6	103,0	442,0	128,0
g vinaza		379,2		848,0		1180,0		1435,0		1740,0
g agua	351,6		703,1		1054,7		1265,6		1546,9	
COV (g VS L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	0,5	0,5	1,0	1,0	1,5	1,5	1,8	1,8	2,2	2,2
TRH (días)	99,6	104,3	49,8	49,6	33,2	35,4	27,7	29,4	22,6	24,1
y <sub>Biogás</sub> (L kg <sub>VS</sub> <sup>-1</sup> )	304,4	513,9	350,9	529,1	270,0	532,4	234,7	601,7	126,9	586,0
CH <sub>4</sub> (%)	61,3	51,2	56,4	51,6	60,2	52,7	53,1	61,2	46,0	62,4
y <sub>CH<sub>4</sub></sub> (L kg <sub>SV</sub> <sup>-1</sup> )	186,6	263,1	198,0	273,0	162,4	280,6	124,6	368,2	58,4	365,3
y <sub>CH<sub>4</sub></sub> (L kg <sub>DQO</sub> <sup>-1</sup> )	153,0	191,8	162,4	142,3	133,2	222,3	102,1	268,3	47,9	266,2
Productividad Biogás (L L <sub>reactor</sub> <sup>-1</sup> )	0,2	0,3	0,4	0,7	0,4	1,0	0,2	1,4	0,1	1,6
pH	6,9	7,4	6,9	7,6	7,2	7,3	7,1	7,4	6,2	7,4
AGV/AI (g AGV gCaCO <sub>3</sub> <sup>-1</sup> )	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,7	0,2
NH <sub>4</sub> -N (g kg <sup>-1</sup> )	0,39	0,61	1,40	0,31	1,50	0,22	0,17	0,12	0,05	0,10
ST (%)	3,40	2,40	3,45	2,60	3,46	2,78	3,41	3,01	3,52	3,40
SV (%)	1,70	1,50	1,93	1,60	2,00	1,70	2,09	1,80	2,31	1,90
SV/ST (%)	50	63	56	62	58	61	61	60	66	56

\* Para la cachaza en mono-digestión solo se muestran resultados de las semanas 13 y 14.

Anexo 7. Esquema de flujo para la alternativa de digestión anaerobia de cachaza pre-tratada LHW en reactor CSTR (A2).



Anexo 8. Principales consideraciones utilizadas para la valoración energética y económica.

<b>Datos generales</b>			<b>Referencia</b>
Densidad metano a 0°C	kg m <sup>-3</sup>	0,72	(VDI 4630, 2006)
Densidad biogás a 0°C	kg m <sup>-3</sup>	1,28	
Horas de operación al año	h	300	
<b>Datos generales para la valoración energética</b>			
PCI metano	MJ kg <sup>-1</sup>	50,01	
PCI biogás	kJ m <sup>-3</sup>	21604,32	
PCI metano	kJ m <sup>-3</sup>	36007,2	(GIZ., 2013)
Capacidad calorífica del agua (c <sub>p</sub> )	kJ kg <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	4,18	
Valor calorífico del biogás (V <sub>C</sub> )	kWh m <sup>-3</sup>	6,5	
Eficiencia reactor hidrólisis (η <sub>H</sub> )	%	80	(Cano Herranz, 2014)
<b>Consideraciones para la valoración económica</b>			
Inversión equipamiento planta de biogás con reactor CSTR	\$ m <sup>3</sup> reactor	911 556,00 6 231	(IPROYAZ, 2007)
Inversión equipamiento planta de biogás con reactor UASB	\$ m <sup>3</sup> reactor	700 161,00 3600	(Obaya et al., 2005)
Inversión reactor de hidrólisis LHW	\$ m <sup>3</sup> reactor	250 000,00 3 m <sup>3</sup>	(Budde, 2015)
Índice de costo de mantenimiento	% CFI	2	(Peters and Timmerhaus, 1991)
Índice de costo de electricidad CSTR	% m <sup>3</sup> biogás	5	(GIZ., 2013)
Índice de costo de electricidad UASB	kWh/m <sup>3</sup> biogás	0,44	(Obaya et al., 2005)
Consumo Ca(OH) <sub>2</sub>	kg/ m <sup>3</sup> vinaza	3,7	(UEB Heriberto Duquesne, 2015)
Precio Ca(OH) <sub>2</sub>	\$/t	190	(Quiminet, 2015)
Precio compra cachaza	\$/t	2	(APA Uruguay, 2015)
Precio compra kWh	\$/kWh	0,226	(UEB Melanio Hernández, 2015)
Precio del agua	\$/m <sup>3</sup>	0,25	(UEB Melanio Hernández, 2015)
Precio del petróleo	\$/t	324,9	(Banco Central de Cuba, 2015)
Precio venta kWh	\$/kWh	0,131	(UEB Melanio Hernández, 2015)
Precio venta digestato CSTR	\$/t	49,53	(APA Uruguay, 2015)
Precio venta agua de riego	\$/m <sup>3</sup>	1,20	(HF Biotec Berlin GmbH, 2010)
Precio lodo UASB	\$/t	67,1	(Obaya et al., 2005)
Precio venta del carbono evitado	\$/t	6,48	(Sendeco2, 2015)
1 t CH <sub>4</sub>	t CO <sub>2</sub> eq	34	(IPCC, 2013)
Servicio tratamiento vinaza	\$/m <sup>3</sup>	4	(Obaya et al., 2005)

Anexo 9. Desglose del costo total de inversión para las alternativas de estudio.

Costos de inversión	A1	A2	A3
Volumen total reactor (m <sup>3</sup> )	15 767	5 349	5 349
Equipamiento planta biogás (\$)	1 591 068,04	831 740,09	831 740,09
Equipamiento pre-tratamiento cachaza (\$)	0,00	982 126,15	242 513,90
Equipamiento para grupo electrógeno (\$)	1 133 070,00	1 234 350,00	1 492 860,00
<b>Adquisición del equipamiento (\$)</b>	<b>2 724 138,04</b>	<b>3 048 216,24</b>	<b>2 567 114,00</b>
Costo directo total (\$)	4 113 448,43	4 602 806,53	4 001 428,72
Costo indirecto total (\$)	373 803,86	398 271,77	368 202,88
Capital fijo invertido (\$)	<b>4 799 023,17</b>	<b>5 369 940,95</b>	<b>4 668 333,50</b>
<b>Capital total invertido (\$)</b>	<b>4 853 505,93</b>	<b>5 430 905,27</b>	<b>4 719 675,78</b>

Costos de inversión	B1	B2	B3	B4
Volumen total reactor (m <sup>3</sup> )	21 746	11 327	11 327	19 569
Equipamiento planta biogás (\$)	2 638 083,30	1 878 755,36	1 878 755,36	1 811 223,38
Equipamiento pre-tratamiento (\$)	0,00	982 126,15	242 513,90	0,00
Equipamiento grupo electrógeno (\$)	4 723 080,00	4 824 360,00	5 082 870,00	4 829 040,00
<b>Adquisición del equipamiento (\$)</b>	<b>7 361 163,30</b>	<b>7 685 241,51</b>	<b>7 204 139,26</b>	<b>6 640 263,38</b>
Costo directo total (\$)	11 115 356,59	11 604 714,68	11 003 336,87	10 026 797,70
Costo indirecto total (\$)	892 030,71	916 498,61	886 429,72	669 471,32
Capital fijo invertido (\$)	12 967 916,02	13 538 833,79	12 837 226,35	11 697 930,65
<b>Capital total invertido (\$)</b>	<b>13 115 139,28</b>	<b>13 692 538,62</b>	<b>12 981 309,13</b>	<b>11 830 735,91</b>

Anexo 10. Resumen de los indicadores para la valoración energética, económica y ambiental de las alternativas.

### Alternativas A1-A3

<b>ALTERNATIVAS</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>
<b>Balance energético diario</b>			
EE producida (MWh d <sup>-1</sup> )	12,2	19,7	15,5
EE consumida (MWh d <sup>-1</sup> )	1,2	2,1	1,6
<b>EE neta (MWh d<sup>-1</sup>)</b>	<b>11,0</b>	<b>17,7</b>	<b>13,9</b>
ET producida (MWh d <sup>-1</sup> )	17,3	27,9	19,0
ET consumida (MWh d <sup>-1</sup> )	0,0	12,1	9,4
<b>ET neta (MWh d<sup>-1</sup>)</b>	<b>17,3</b>	<b>15,8</b>	<b>9,7</b>
<b>Indicadores económicos/Escenario</b>			
<b>Pesimista</b>			
VAN (\$)	-2 484 748,87	-1 404 604,00	-2 265 727,68
PRD (años)	>10	>10	>10
TIR	-4%	3%	-3%
<b>Base</b>			
VAN (\$)	259 882,49	1 340 027,37	478 903,68
PRD (años)	9,2	7,2	8,6
TIR	11%	15%	12%
<b>Optimista</b>			
VAN (\$)	2 186 525,85	3 973 383,99	2 669 904,14
PRD (años)	6,0	4,9	5,5
TIR	19,2%	24,3%	21,3%
<b>Categorías de impacto ambiental</b>			
Calidad del ecosistema	6,03	1,31	0,20
Salud humana	12,20	2,31	0,40
Recursos	7,53	1,69	0,23
<b>Puntuación total</b>	<b>25,76</b>	<b>5,30</b>	<b>0,83</b>

EE: Energía eléctrica, ET: Energía térmica

## Alternativas B1-B4

<b>ALTERNATIVAS</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>	<b>B4</b>
<b>Balance energético diario</b>				
EE producida (MWh d <sup>-1</sup> )	67	74	70	72
EE consumida (MWh d <sup>-1</sup> )	12	13	12	7
<b>EE neta (MWh d<sup>-1</sup>)</b>	<b>55</b>	<b>62</b>	<b>58</b>	<b>64</b>
ET producida (MWh d <sup>-1</sup> )	90	100	92	95
ET consumida (MWh d <sup>-1</sup> )	0	12	9	0
<b>ET neta (MWh d<sup>-1</sup>)</b>	<b>90</b>	<b>88</b>	<b>82</b>	<b>95</b>
<b>Indicadores económicos/Escenario</b>				
<b>Pesimista</b>				
VAN (\$)	4 400 882,81	5 481 433,68	4 620 082,40	11 042 841,30
PRD (años)	6,60	6,20	6,50	4,30
TIR	17,0%	18,2%	17,4%	27,8%
<b>Base</b>				
VAN (\$)	13 254 404,95	14 334 955,82	14 695 033,14	19 091 847,80
PRD (años)	4,10	4,00	3,90	3,10
TIR	29,1%	29,7%	31,1%	38,8%
<b>Optimista</b>				
VAN (\$)	20 022 829,57	21 300 628,50	20 342 086,13	27 365 202,34
PRD (años)	3,2	3,1	3,2	2,5
TIR	37,4%	37,9%	38,1%	49,3%
<b>Categorías de impacto ambiental</b>				
Calidad del ecosistema	0,59	0,53	0,69	0,44
Salud humana	1,15	1,03	1,33	0,87
Recursos	0,66	0,57	0,73	0,51
<b>Puntuación total</b>	<b>2,40</b>	<b>2,13</b>	<b>2,74</b>	<b>1,81</b>

EE: Energía eléctrica, ET: Energía térmica

Anexo 11. Tabla de flujos de entradas y salidas para cada alternativa estudiada y la referencia.

**Alternativas A1-A3**

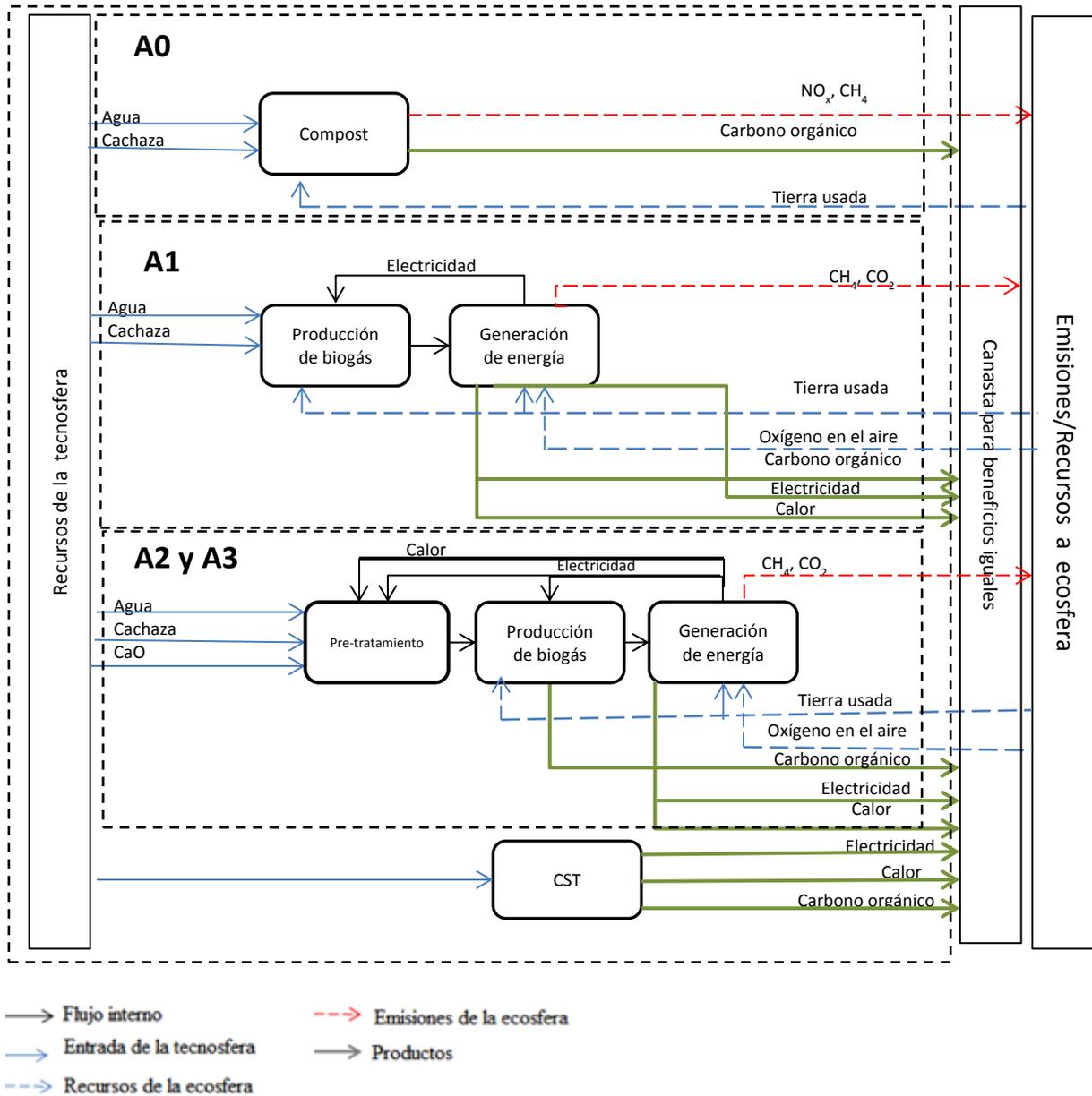
	Unidades	A0	A1	A2	A3
<b>Entrada de la tecnosfera</b>					
Agua (30°C)	t	46,7	118,6	118,6	118,6
CaO (85%)	t	0,0	0,0	0,0	1,9
Aguas residuales	t	0,0	90,7	90,7	90,7
<b>Entrada de la ecosfera</b>					
Oxígeno en el Aire	t	0,0	6,2	9,9	7,5
Tierra usada	m <sup>2</sup>	11,1	27,4	21,6	21,6
<b>Entrada de energía</b>					
Energía eléctrica	MWh	0,0	1,2	2,1	1,6
Energía térmica	MWh	0,0	0,0	12,1	9,4
<b>Salida a la tecnosfera: Productos</b>					
Energía eléctrica	MWh	0,0	12,2	19,7	15,5
Energía térmica	MWh	0,0	17,3	27,9	19,0
<b>Salida a la ecosfera: Emisiones al suelo</b>					
Carbono orgánico	t	2,2	4,6	2,3	8,4
<b>Salida a la ecosfera: Emisiones al aire</b>					
CH <sub>4</sub>	t	0,466	0,051	0,083	0,062
CO <sub>2</sub>	t	0,000	0,072	0,116	0,087
NO <sub>x</sub>	t	0,035	0,000	0,000	0,000

## Alternativas B1-B4

	Unidades	B0	B1	B2	B3	B4
<b>Entrada de la tecnosfera</b>						
Agua (30 °C)	t	46,7	1266,1	1266,1	1266,1	0,0
CaO (85%)	t	0,0	3,6	3,6	5,5	0,0
Aguas residuales	t	0,0	968,2	968,2	968,2	0,0
<b>Entrada de la ecosfera</b>						
Oxígeno en el Aire	t	0,0	33,0	36,8	34,3	35,2
Tierra usada	m <sup>2</sup>	523,3	45,4	39,6	39,6	38,0
<b>Entrada de energía</b>						
Electricidad	MWh		11,7	12,6	12,2	7,2
Calor	MWh		0,0	12,1	9,4	0,0
<b>Salida a la tecnosfera: Productos</b>						
Electricidad	MWh	0,0	66,8	74,3	70,1	71,5
Calor	MWh	0,0	89,8	100,4	91,6	95,1
<b>Salida a la ecosfera: Emisiones al suelo</b>						
Carbono orgánico	t	8,2	11,4	9,1	10,6	8,4
<b>Salida a la ecosfera: Emisiones al aire</b>						
CH <sub>4</sub>	t	2,306	0,275	0,307	0,286	0,293
CO <sub>2</sub>	t	0,000	0,385	0,429	0,400	0,410
NO <sub>x</sub>	t	0,035	0,000	0,000	0,000	0,000

Anexo 12. Sistema para cada alternativa y sus límites.

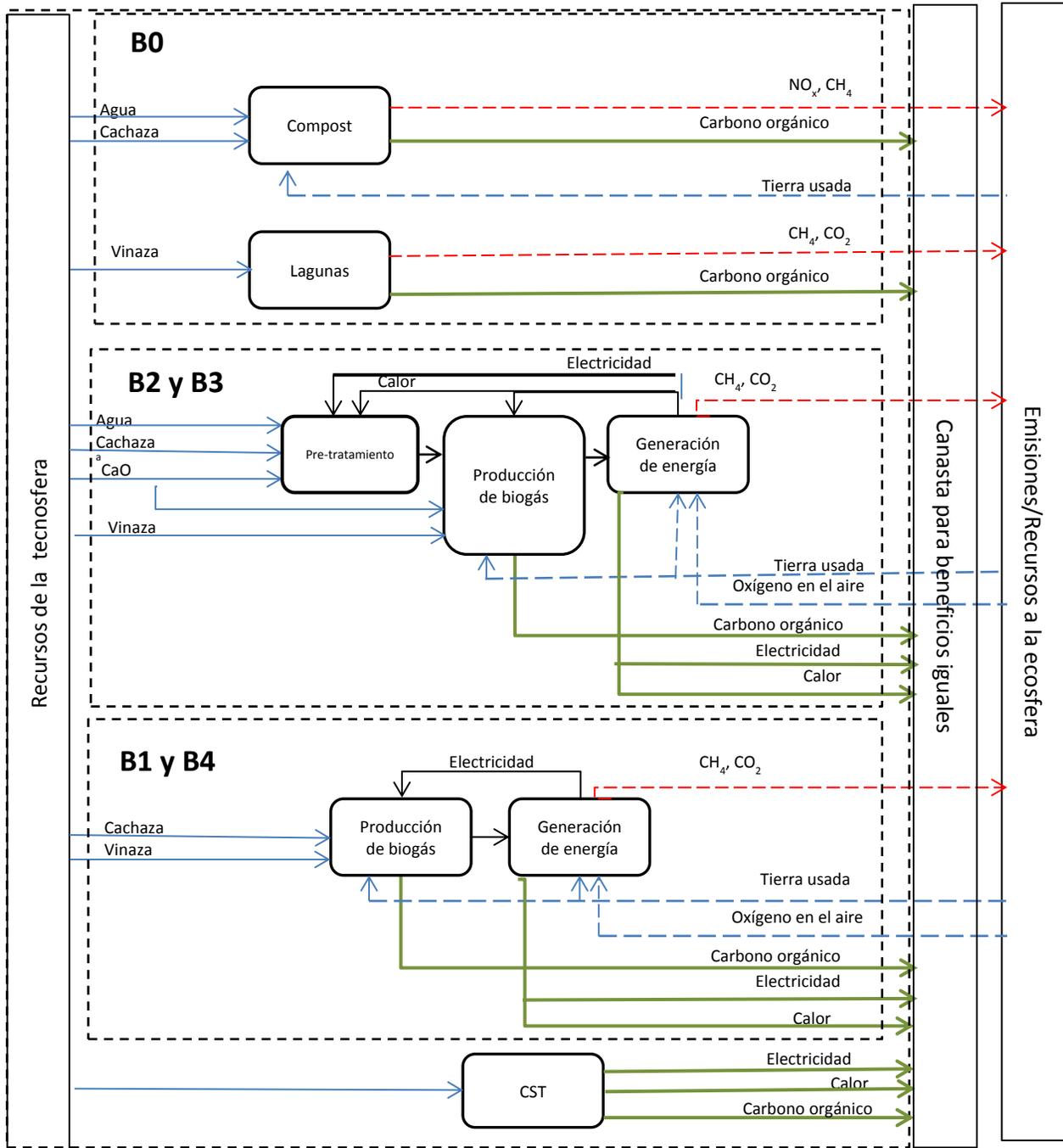
Alternativas A1-A3 y referencia A0



Solo se consume CaO para A3.

La Cadena de Suministro Tradicional (CST) son los suministradores tradicionales de productos (la electricidad generada en plantas de fuel o el fertilizante en la fábrica de fertilizantes químicos). Ellos suplen la diferencia respecto al valor máximo entre las alternativas propuestas.

**Alternativas B1-B4 y referencia B0**



Anexo 13. Esquema de flujo para la alternativa de co-digestión cachaza sin pre-tratar con vinaza (B4).

