



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLÁS DE HIDALGO  
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**Producción de biogás en un reactor anaerobio a partir de los residuos de la  
cactácea *Opuntia ficus indica* y de la nixtamalización**

Tesis que presenta

**Iris Sandoval Rojas**

a la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería Química como  
requisito parcial para obtener el grado de

**DOCTORA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA**

Directora: **Dra. Ma. del Carmen Chávez Parga**

Co-Director: **Dr. José Apolinar Cortés**

Morelia, de Ocampo, Mayo 2024.

---

## ***Dedicatoria***

A Dios, por la vida que me ha otorgado, por permitirme perseguir mis sueños y por nunca abandonarme. Reconozco especialmente su presencia constante en los momentos más difíciles, así como por enviar personas que han dejado una marca indeleble en mi vida para siempre.

*A Germán*, mi amor incondicional, que ha estado a mi lado sin reservas. Su presencia en mi vida ha sido un regalo invaluable que nunca dejaré de apreciar. *A mi padre*, que Dios lo tenga en su gloria, por haber sido mi compañero constante y por escucharme siempre. Su presencia y apoyo han sido un faro en mi vida, y su recuerdo seguirá iluminando mi camino. *A mi madre*, quien siempre ha creído en mí, incluso en mis momentos más difíciles y cuando he fallado. Su inquebrantable apoyo y amor incondicional son mi mayor fortaleza, y su presencia constante en mi vida es un regalo que nunca dejaré de valorar."

A mis hermanas y hermanos, quienes siempre han estado a mi lado y han sido mi apoyo incondicional. Les agradezco por todo lo que han hecho por mí y por el amor y la compañía que siempre me han brindado.

***¡Un acto sincero de bondad provoca otro!***

---

## Resumen

### **Producción de biogás en un reactor anaerobio a partir de los residuos de la cactácea *Opuntia ficus indica* y de la nixtamalización.**

Iris Sandoval Rojas

Marzo 2024

#### **Doctorado en Ciencias en Ingeniería Química**

Directores de tesis: Dra. Ma. Carmen Chávez Parga, Dr. José Apolinar Cortés

En el contexto de aprovechamiento de residuos agrícolas, la producción de biogás a partir de la digestión anaerobia (DA) se presenta como una alternativa sostenible; Sin embargo, el residuo de la cactácea *Opuntia ficus indica* (OFI), se tiene desafíos particulares debido a que el pH ácido, elevado contenido de fibra insoluble, que podría ocasionar retardos en la etapa hidrolítica debido a su difícil degradación, así como la generación excesiva de ácidos grasos volátiles, lo que puede provocar una inhibición de los microorganismos en las etapas acetogénicas y metanogénicas, lo cual puede provocar una disminución de metano en el biogás. Es por eso que el objetivo central de esta investigación es potenciar la producción de metano, mediante técnicas como la aplicación de pretratamientos, y la codigestión. Por otra parte, la parte experimental se dividió en tres etapas, las cuales son: producción de metano (CH<sub>4</sub>) a partir de la combinación de pretratamientos en el residuo OFI en un reactor anaerobio a escala piloto (Etapa uno); pruebas de *Biochemical Methane Potential* (BMP) a partir de un diseño de experimentos Taguchi L<sub>9</sub> para realizar los pretratamientos combinados y la co-digestión del residuo de nixtamalización, al fin de encontrar la combinación de pretratamientos y co-digestión del ensayo BMP (Etapa dos) y la operación en un reactor semicontinuo con la mejor prueba BMP de la etapa dos, donde se evaluaron la remoción del residuo, producción de biogás y su concentración y las variables de monitoreo (Etapa tres). Los resultados obtenidos fueron la adaptación del inóculo al sustrato pretratado residuo OFI y la producción de biogás con una concentración de CH<sub>4</sub> de 65% - 75%. La co-digestión del residuo OFI y el residuo de nixtamalización la concentración de CH<sub>4</sub> fue de 65.20%.

**Palabras Clave:** Metano, Digestión anaerobia, Residuo, Nopal, Nejayote.

---

## Abstract

In the context of agricultural waste utilization, biogas production through anaerobic digestion (AD) emerges as a sustainable alternative. However, the residue of the cactus *Opuntia ficus-indica* (OFI) presents particular challenges due to its acidic pH, high content of insoluble fiber, which could cause delays in the hydrolytic stage due to its difficult degradation, as well as excessive generation of volatile fatty acids, which may lead to inhibition of microorganisms in the acetogenic and methanogenic stages, resulting in a decrease in methane content in the biogas. Therefore, the main objective of this research is to enhance methane production through techniques such as the application of pretreatments and co-digestion.

Furthermore, the experimental part was divided into three stages, which are: Stage one is methane (CH<sub>4</sub>) production from the combination of pretreatments on the OFI residue in a pilot-scale anaerobic reactor. Stage two, Biochemical Methane Potential (BMP) tests based on a Taguchi L<sub>9</sub> experimental design to carry out combined pretreatments and co-digestion of the nixtamalization residue, to find the optimal combination of pretreatments and co-digestion from the BMP assay. Stage three was a process in a semi-continuous reactor with the best trial from stage two, where the removal of the residue, biogas production and its concentration, and monitoring variables were evaluated. The results obtained included the adaptation of the inoculum to the pretreated OFI residue and biogas production with a methane concentration of 65%-75%. Co-digestion of the OFI residue and nixtamalization residue resulted in a methane concentration of 65.20%.

**Keywords:** Methane, Anaerobic digestion, Residue, Nopal (*Opuntia ficus-indica*), Nejayote (nixtamalization residue).

---

## CONTENIDO

Resumen	
Abstract	
Índice de Figuras	V
Índice de Tablas	VI
Glosario	VII
Nomenclatura	XI
Agradecimientos	XIII
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1 Generalidades	1
1.2 Antecedentes	3
1.3 Justificación	6
1.4 Planteamiento del problema	7
1.5 Hipótesis	7
1.6 Objetivos	8
1.6.1 Objetivo General	8
1.6.2 Objetivos Específicos	8
<b>2. Marco Teórico</b>	<b>9</b>
2.2 Biocombustibles	9
2.3 Residuos	9
2.3.1 Clasificación de los residuos	9
2.3.2 Residuos agroindustriales	9
2.4 Cactácea <i>Opuntia ficus indica</i> (nopal)	12
2.4.1 Origen, distribución y Taxonomía de la cactácea <i>Opuntia ficus</i>	12
2.4.2 Composición fitoquímica y fisicoquímica del nopal	12
2.4.3 Estructura y composición de los principales polisacáridos presentes nopal	13
2.5 Gramínea <i>Zea mays</i> (maíz)	14
2.5.1 Composición del maíz	14
2.5.2 El proceso de nixtamalización	14
2.5.3 Cambios fisicoquímicos en el maíz debido al proceso de Nixtamalización	15
2.5.4 El agua residual del proceso de Nixtamalización (Nejayote)	16
2.6 Digestión anaerobia	16
2.6.1 Etapas de la DA	
2.6.1.1 Hidrólisis extracelular	18

---

<b>2.6.1.2</b> Acidogénesis	18
<b>2.6.1.3</b> Acetogénesis	19
<b>2.6.1.4</b> Metanogénesis	19
<b>2.7</b> Variables de operación, estado y factores que afectan la digestión anaerobia	20
<b>2.7.1</b> Inóculo	21
<b>2.7.2</b> Tiempo de retención hidráulica (TRH)	21
<b>2.7.3</b> Tasa de carga Orgánica (TCO)	22
<b>2.7.4</b> pH	22
<b>2.7.5</b> Temperatura	23
<b>2.7.6</b> Conductividad	24
<b>2.7.7</b> Alcalinidad	24
<b>2.7.8</b> Ácidos grasos volátiles	27
<b>2.7.9</b> Nutrientes	28
<b>2.7.10</b> Relación COD:N:P y C:N:P:S	28
<b>2.7.11</b> Relación C:N	28
<b>2.7.12</b> Sólidos	29
<b>2.7.13</b> Relación residuo /Inóculo	29
<b>2.8</b> Pretratamientos	30
<b>2.9</b> Co-digestión	32
<b>2.10</b> La filosofía de Taguchi	32
<b>2.11</b> <i>Biochemical methane potential</i> (BMP)	34
<b>2.12</b> Bioreactor UASB	35
<b>3. Metodología</b>	37
<b>3.1 Etapa uno.</b> Producción de CH <sub>4</sub> a partir de la combinación de pretratamientos y recirculación del efluente sobre el residuo OFI	37
<b>3.1.1</b> Caracterización fisicoquímica del inóculo y sustrato (residuo OFI) Métodos analíticos	37
<b>3.1.2.</b> Aplicación de la combinación de los pretratamientos en el residuo OFI	37
<b>3.1.3.</b> Inoculación del reactor anaerobio y adaptación del inóculo al sustrato pretratado	37
<b>3.1.4.</b> Implementación del digestato (Efluente) en la recirculación como agua de dilución.	37
<b>3.1.5.</b> Análisis de la producción de biogás con respecto al comportamiento de los parámetros fisicoquímicos.	38

---

<b>3.1.6.</b> Rendimiento de biogás	38
<b>3.2 Etapa dos</b> Evaluación de la producción de CH <sub>4</sub> a partir de la combinación de pretratamientos y la co-digestión.	38
<b>3.3 Etapa tres:</b> Evaluación de la mejor combinación de factores y co-digestión del ensayo <i>BMP</i> en un reactor anaerobio a escala piloto	39
<b>3.3.1</b> Enriquecimiento del inóculo	39
<b>3.3.2</b> Proceso para el enriquecimiento del inóculo aerobio a anaerobio	39
<b>4. Resultados y Discusión</b>	40
<b>4.1 Etapa 1</b>	40
<b>4.1.1.</b> Caracterización fisicoquímica del residuo OFI e inóculo	40
<b>4.1.2.</b> Operación general del sistema anaerobio semicontinuo	40
<b>4.1.3.</b> Consumo de la materia orgánica (SV)	41
<b>4.1.4.</b> Comportamiento del pH y la conductividad	43
<b>4.1.5.</b> Comportamiento de la alcalinidad y la relación alfa	45
<b>4.1.6.</b> Producción de biogás y rendimiento	46
<b>4.2 Etapa 2</b>	47
<b>4.2.1</b> Caracterización del residuo OFI (sustrato), residuo del proceso de nixtamalización (cosustrato) e inóculo	47
<b>4.2.2.</b> Producción de Biogás y evaluación del incremento de CH <sub>4</sub>	48
<b>4.3 Etapa 3</b>	49
<b>4.3.1</b> Enriquecimiento del Inóculo	50
<b>4.3.1.1</b> Caracterización de las excretas de ganado vacuno e inóculo	50
<b>4.3.1.2</b> Comportamiento de pH	51
<b>4.3.1.3</b> Comportamiento de la Conductividad eléctrica	51
<b>4.3.1.4</b> Comportamiento de la Alcalinidad	52
<b>4.3.1.5</b> Relación de sólidos	53
<b>5. Conclusiones y perspectivas</b>	55
<b>Aportaciones</b>	56
<b>REFERENCIAS</b>	57

---

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Clasificación de los residuos (Adaptación de Amasuomo y cols., 2016; Sath y cols.,2018)	10
<b>Figura 2.</b> Residuos agroindustriales y sus tipos. Adaptación (Sadh y cols., 2018; Di Bella y cols., 2022, Díaz-Montes y cols., 2023)	11
<b>Figura 3.</b> Esquema del proceso de nixtamalización, adaptación (Rosentrarte y cols., 2006).	15
<b>Figura 4.</b> Diagrama esquemático del proceso de digestión anaerobia. Diferentes grupos tróficos: (a) bacterias fermentativas, (b) bacterias acetogénicas, (c) bacterias homoacetogénicas, (d) arqueas metanogénicas hidrogenotróficas, (e) arqueas metanogénicas acetoclásticas (Adaptado de Saha y cols., 2020; Bella y cols., 2021).	17
<b>Figura 5.</b> Procesos de conversión de biomasa (Adaptado de Naik y cols., 2010; Kumari y cols., 2018; Kumar y cols., 2019).	31
<b>Figura 6.</b> Métodos para medición en el sistema <i>BMP</i>	35
<b>Figura 7.</b> Reactor anaerobio UASB	36
<b>Figura 8.</b> Diagrama del proceso anaerobio con recirculación en la producción de metano	38
<b>Figura 9.</b> SV en el sistema	42
<b>Figura 10.</b> Remoción de SV en el sistema	43
<b>Figura 11.</b> Comportamiento del pH	44
<b>Figura 12.</b> Comportamiento la conductividad	45
<b>Figura 13.</b> Comportamiento de la alcalinidad	46
<b>Figura 14.</b> Comportamiento de la relación alfa	46
<b>Figura 15.</b> Porcentaje de CH <sub>4</sub> en el biogás	47
<b>Figura 16.</b> Producción de biogás a partir de la codigestión y pretratamientos	49
<b>Figura 17.</b> Comportamiento del pH	51
<b>Figura 18.</b> Comportamiento de la conductividad	52
<b>Figura 19.</b> Comportamiento de la alcalinidad	53
<b>Figura 20.</b> Comportamiento de la relación $\alpha$	53
<b>Figura 21.</b> Comportamiento de la relación de SV/ST	54

---

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Composición química de la cactácea <i>Opuntia ficus</i> ( <i>Opuntia sp.</i> ) con base a 100 g de materia fresca y las fibras en peso seco.	12
<b>Tabla 2.</b> Polisacáridos estructurales de cinco especies de <i>Opuntia</i> .	13
<b>Tabla 3.</b> Composición química del grano de maíz	14
<b>Tabla 4.</b> Métodos de titulación pertenecientes al grupo de estimación teórica por equilibrio ácido-base.	26
<b>Tabla 5.</b> Caracterización del sustrato (residuo) e inóculo	40
<b>Tabla 6.</b> Operación general del sistema anaerobio semicontinuo	41
<b>Tabla 7.</b> Caracterización del residuo OFI, de nixtamalización e inóculo	48
<b>Tabla 8.</b> Caracterización de las excretas y del inóculo	50

### Glosario:

**Ácidos Grasos Volátiles (Agv's):** Categoría que especifica a ácidos grasos que se distinguen por tener cadenas carbonadas de menos de seis átomos de carbono. Su alta volatilidad se atribuye a la corta longitud de estas cadenas. Durante el proceso de digestión anaerobia, los Agv's desempeñan un papel fundamental como intermediarios en la formación del metano.

**Alcalinidad:** Medida del contenido de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos, principalmente de calcio, magnesio, sodio y potasio fundamentalmente; se expresa en mg CaCO<sub>3</sub>/L. Esta medición constituye un indicador crucial de la capacidad tampón del proceso de digestión anaerobia.

**Biocombustible:** Combustibles derivados de materiales biológicos, como plantas y residuos orgánicos, utilizados como alternativa más sostenible a los combustibles fósiles, contribuyendo a la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero. Ejemplos comunes incluyen el biogás.

**Biomasa:** Cantidad de productos generados mediante el proceso de fotosíntesis, los cuales son susceptibles de ser convertidos en combustible útil para los seres humanos. Esta cantidad se expresa en unidades de superficie y volumen.

**Biogás:** Gas combustible compuesto principalmente por metano (CH<sub>4</sub>), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) y vapor de agua (H<sub>2</sub>O). Se genera a través de reacciones bioquímicas de biodegradación de la materia orgánica, facilitadas por la acción de microorganismos en condiciones de ausencia de oxígeno.

**Biorreactor:** Dispositivo diseñado para proporcionar un entorno controlado que favorece el crecimiento y la actividad de microorganismos, células animales o plantas, con el propósito de llevar a cabo procesos biológicos o bioquímicos.

**Cactácea:** Planta perteneciente a la familia de las cactáceas, conocida por sus características adaptaciones a entornos áridos, como la capacidad de almacenar agua en su tallo suculento y la presencia de espinas.

**Conductividad eléctrica:** Propiedad que tienen algunos materiales para permitir el flujo de corriente eléctrica a través de ellos. Se debe a la presencia de cargas eléctricas

móviles, como electrones o iones, que pueden moverse libremente en el material, facilitando el paso de la corriente eléctrica.

**Codigestión:** Proceso en el cual diferentes tipos de sustratos orgánicos, como residuos alimenticios, desechos agrícolas y lodos de depuradoras, se mezclan y se someten a un tratamiento anaerobio conjunto para producir biogás.

**Demanda Química de Oxígeno (DQO o DQOT):** Concentración de la masa de oxígeno equivalente a la cantidad de dicromato consumida por la materia disuelta y suspendida cuando una muestra de agua se trata con este oxidante bajo condiciones definidas.

**Demanda Química de Oxígeno Soluble (DQOs):** La biomasa consume más rápidamente (en pocos minutos), generando una rápida y elevada demanda de oxígeno. Los compuestos que conforman esta fracción son sustancias solubles, de bajo peso molecular, como es el caso de azúcares, alcoholes y ácidos grasos.

**Digestión anaerobia:** Proceso biológico donde microorganismos descomponen materia orgánica en ausencia de oxígeno, generando biogás y productos digeridos.

**Hemicelulosa:** Polisacárido presente en las paredes celulares de las plantas, que se compone de unidades de azúcares variados como glucosa, xilosa, manosa y otros, la hemicelulosa es más soluble en agua y menos estructurada, desempeñando un papel importante en la matriz amorfa de la pared celular vegetal.

**Inóculo:** Se refiere a la introducción deliberada de microorganismos (como bacterias, hongos o virus) o de una sustancia que contiene estos microorganismos en un medio o sistema específico.

**Lignina:** Polímero complejo y amorfo que se encuentra en las paredes celulares de las plantas. Proporciona rigidez y resistencia a las estructuras celulares, y su función principal es actuar como un agente aglutinante, fortaleciendo la pared celular.

**Metano:** Gas incoloro e inodoro con la fórmula química  $\text{CH}_4$ . Es el hidrocarburo más simple y está compuesto por un átomo de carbono y cuatro átomos de hidrógeno. El metano es un componente principal del gas natural, también es conocido como un gas de efecto invernadero.

**Mucilago:** Sustancia viscosa y gelatinosa, principalmente compuesta de polisacáridos, que se encuentra en plantas, algas y microorganismos. Este polímero

lineal heterogéneo, estrechamente relacionado con las pectinas, tiene propiedades pegajosas y de retención de agua.

**Nejayote:** Líquido que resulta de la cocción del maíz en agua con cal. Es un subproducto que se genera durante el proceso de nixtamalización, los principales compuestos químicos que puede contener es alcalinidad, hidratos de carbono, compuestos de maíz, otros iones (calcio, potasio).

**pH:** Medida de acidez o basicidad de una solución acuosa. Se expresa en una escala numérica que va de 0 a 14, donde 7 es neutro. Un pH por debajo de 7 indica acidez, mientras que un pH por encima de 7 indica basicidad. También es la actividad relativa de los iones de hidrógeno en la disolución:

$$pH = -\log a_{H^+} = -\log$$

**Pretratamientos:** Operaciones y procesos realizados antes de una etapa principal o proceso, con el objetivo de preparar o mejorar las condiciones para esa etapa subsiguiente. En diversos contextos, el pretratamiento puede implicar la preparación de materiales.

**Relación Alfa ( $\alpha$ ):** Proporción molar entre la alcalinidad debida al bicarbonato ( $\text{NaHCO}_3$ ) y la alcalinidad total. Se utiliza para entender la composición de la alcalinidad y cómo contribuyen las diferentes especies químicas a la capacidad buffer del agua.

**Residuo:** Sustancia, objeto o material que queda después de un proceso o actividad y que se considera no deseado o sin valor en ese contexto particular. Los residuos pueden tomar diversas formas, incluyendo sólidos, líquidos o gases.

**Sólidos Suspendidos Totales (SST):** Material constituido por los sólidos sedimentables, los sólidos suspendidos y coloidales que son retenidos por un filtro de fibra de vidrio con poro de 1,5  $\mu\text{m}$  secado y llevado a masa constante a  $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ .

**Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV):** Aquellos sólidos suspendidos que se volatilizan en la calcinación a  $550^\circ\text{C} \pm 50^\circ\text{C}$ .

**Sólidos Totales (ST):** Es el residuo que permanece en una cápsula después de evaporar y secar una muestra a  $105^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ .

**Sólidos Totales Volátiles (STV):** Cantidad de materia orgánica e inorgánica que se volatiliza por el efecto de la calcinación a  $550^\circ\text{C} \pm 50^\circ\text{C}$ .

**Tasa de carga orgánica:** Parámetro importante porque indica la cantidad de sólidos volátiles para alimentar al reactor cada día, tiene grandes efectos en la eliminación de DQO y en el rendimiento durante períodos continuos de operación a largo plazo.

**Tiempo de retención Hidráulico:** Periodo en el que el sustrato soluble reside dentro del reactor junto con la biomasa, otros autores describen el TRH como el tiempo que toma una partícula cuando entra y atraviese el reactor y alcance el puerto de salida.

### Nomenclatura:

Símbolo	Descripción
Agv's	Ácidos Grasos Volátiles
BMP	Prueba de potencial bioquímico de producción de metano
C/N/P	Relación Carbono / Nitrógeno / Fósforo
Ca (OH) <sub>2</sub>	Hidróxido de calcio
CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de calcio
CaO	Óxido de calcio
CH <sub>4</sub>	Metano
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
DA	Digestión Anaerobia
H <sub>2</sub>	Hidrógeno
H <sub>2</sub> S	Ácido sulfhídrico
NH <sub>3</sub>	Amoníaco
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Amonio
NmL <sub>biogás</sub> / NmL <sub>metano</sub>	Mililitros normales de biogás o metano
N <sub>T</sub>	Nitrógeno total
O <sub>2</sub>	Oxígeno
OF	<i>Opuntia ficus</i>
OFI	<i>Opuntia ficus indica</i>

P <sub>T</sub>	Fósforo total
SST	Sólidos Suspendidos Totales
SSVT	Sólidos Suspendidos Volátiles Totales
ST	Sólidos totales
SVT	Sólidos Totales Volátiles
TRH	Tiempo de retención Hidráulica

---

## Agradecimientos

A *dios* que en todo momento estuvo conmigo, guiando mi camino, para poder enfrentar adversidades

A *mi familia* que, aunque están lejos siempre están conmigo y apoyándome en cada decisión.

A la *Dra. Ma. Del Carmen* y al *Dr. José apolinar* que, me permitieron trabajar bajo su asesoría, gracias por contribuir en mi formación como profesional y humana.

Al *Dr. Rafael Maya*, por el aporte a mi trabajo para poder mejorar el trabajo de tesis, al *Dr. Jaime Espino* y al *Dr. Javier Lara* por sus aportes en el trabajo de investigación.

A *DCIQ Julio Cesar Jacuinde* que, siempre me alentó a seguir adelante como un hermano mayor.

A *DCIQ Luis Germán* que, me animó a creer en mí cuando yo no creía en mí, a tener confianza, compartiendo el trabajo, las alegrías y tristezas, gracias por creer en mí.

A los estudiantes que me apoyaron en el grupo de trabajo de investigación: Fernanda, Zaaret, David, liz, Sam, Diego, Fatima, Alexia, Yes, Vanessa, Luis.

Y en general a todas las personas que me acompañaron en este transcurso, gracias por todo.

A la *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Posgrado de Ingeniería Química*, por darme la oportunidad de superarme profesionalmente.

A *CONAHCYT*, por la beca otorgada durante el periodo de marzo 2020 a febrero 2024.

A el *Programa de Investigación de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH*, por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo del proyecto de tesis.

## 1. Introducción

### 1.1. Generalidades

En los últimos años los problemas ambientales se han incrementado a causa del uso de los combustibles fósiles, los cuales han generado del orden de 21.3 mil millones de toneladas de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) anuales. De igual forma, los residuos en forma líquida y/o sólida al ser vertidos sobre cuerpos de agua y/o rellenos sanitarios en su proceso de descomposición natural, generan gases de efecto invernadero y lixiviados, contaminación de suelos y mantos acuíferos que afectan significativamente a todos los ecosistemas (Yildiz, 2018; SEMARNAT, 2016). Se estima que los procesos naturales de captación de CO<sub>2</sub> sólo pueden absorber la mitad de esta cantidad de emisiones.

En el contexto global actual, se tiene la tendencia hacia las fuentes de energía renovable como parte de una estrategia integral para mitigar el cambio climático y reducir las emisiones de gases de efecto invernadero a nivel mundial (Yildiz, 2018; Fernández, 2012). Este enfoque ha impulsado el desarrollo y la aplicación de tecnologías innovadoras que aprovechan los residuos orgánicos como materia prima para la generación de energía, estableciendo así una nueva categoría de biocombustibles conocidos como de segunda generación.

Los biocombustibles de segunda generación se distinguen por su capacidad para utilizar una amplia variedad de residuos orgánicos, incluidos los residuos agrícolas y agroindustriales, para la producción de bioenergía (Faba y cols., 2014). Estos residuos, que de otra manera podrían ser desechados o convertirse en una fuente de contaminación ambiental, se convierten en una valiosa fuente de energía renovable mediante procesos de conversión avanzados (Ghosh y cols., 2017).

La utilización de residuos como biomasa para la generación de energía presenta múltiples beneficios; en primer lugar, contribuye a reducir la dependencia de los combustibles fósiles, ayudando a diversificar la matriz energética y a garantizar la seguridad energética a largo plazo. Además, al utilizar materiales orgánicos disponibles localmente, se promueve el desarrollo económico y la creación de empleo en las comunidades rurales y agrícolas. Diversos estudios han demostrado el potencial y la

viabilidad técnica de los biocombustibles de segunda generación a partir de residuos orgánicos. Ghosh y colaboradores (2017) han destacado la eficacia de estas tecnologías en la transformación de residuos agrícolas y agroindustriales en fuentes de energía sostenible y de bajo impacto ambiental.

Los desperdicios por podas de la cactácea *Opuntia ficus indica* (nopal), en estudios realizados se muestra que la cactácea *Opuntia ficus* posee características importantes para el proceso de la digestión anaerobia debido a que posee un elevado porcentaje de hidratos de carbono con un bajo contenido de lignina (Cruz, 2015). Así mismo, estos estudios han resaltado la compatibilidad del cactácea *Opuntia ficus* para implementar la co-digestión con otros residuos debido a que su principal ventaja radica en el aprovechamiento de la sinergia de las mezclas compensando las carencias de cada uno de los sustratos por separado.

Además de incrementar el potencial de producción de biogás, la adición de cosustratos fácilmente biodegradables confiere estabilidad adicional al sistema. Este efecto puede deberse al aumento en la biomasa activa, generando mayor resistencia a fenómenos de inhibición; también los pretratamientos se comenzaron a implementar debido a que estos ayudan a la degradación de algunas macromoléculas y solubilizan la materia orgánica (Pascual y cols, 2011). Los residuos del proceso de nixtamalización del maíz representan una alternativa viable para utilizarse como cosustrato con los residuos de la poda de la cactácea *Opuntia ficus indica*, debido a que el primero es un sustrato alcalino mientras que el segundo es un sustrato ácido. Así mismo, el residuo de la nixtamalización del maíz contiene una variedad amplia de nutrientes que podrían favorecer la producción de biogás.

Sin embargo; el control del proceso de digestión anaerobia (DA) en un reactor anaerobio puede ser afectada por la inhibición de bacterias, debido al no tener las condiciones favorables para el desarrollo de estas. Entre los controles principales se tiene el sustrato, el cual juega un papel importante, debido a que es el alimento para el primer grupo de bacterias las cuales se encuentran en la primera etapa de la digestión

anaerobia, la cual es la hidrolítica y debe ser controlada; esto porque si esta etapa no produce o produce exceso de los intermediarios, puede perjudicar las etapas siguientes inhibiendo el sistema.

El objetivo del presente trabajo tiene como finalidad el control y estabilización del proceso de la DA, que se evaluará en un reactor anaerobio, las mejores condiciones de producción de metano, al implementar la codigestión de un sustrato líquido (residuo de nixtamalización) y un sustrato sólido (residuo de nopal), considerando diferentes condiciones de pretratamientos combinados (mecánico, térmico, químico y de concentración), a partir de un diseño de experimentos Taguchi  $L_9$  para las pruebas BMP, y posteriormente, las condiciones de la prueba BMP con mayor rendimiento de metano se implementan en un reactor a escala piloto.

## 1.2. Antecedentes

Calabrò y cols., (2017); en la investigación implementaron tres técnicas de pretratamiento (térmicos, alcalinos, ácidos) sobre la composición química de la biomasa *Opuntia ficus*, usaron un diseño de experimentos factorial compuesto con tres factores a tres niveles, se empleó un modelo de regresión utilizando un total de 10 pruebas BMP, los rendimientos de  $\text{CH}_4$  fueron de 289 hasta 604 NmL  $\text{gSV}^{-1}$  adicional; según los resultados, se encontró que sólo el tratamiento previo con ácido clorhídrico (HCl) fue significativo para aumentar la generación de metano.

Belay y cols., (2021); evaluaron un pretratamiento alcalino con peróxido de hidrógeno (AHP), en los cladodios de nopal (*Opuntia ficus-indica*), para la producción de biogás, la concentración del  $\text{H}_2\text{O}_2$  fue de 30% p/p, en la fase de experimentación usaron tiempos de 3,6,9 y 12 horas con una temperatura de 30°C y 180 rpm para la disociación de lignina. Los experimentos de la DA fueron a una temperatura de 37 °C con los cladodios pretratados. El pretratamiento con peróxido de hidrógeno alcalino fue el que obtuvo mayor cantidad de biogás 877.9  $\pm$ 15.12 ml de biogás/g SV a 1613.5  $\pm$ 10.76 ml de biogás/g SV, lo que representa un incremento del 83.4 % y disminuyó después de nueve

horas de tratamiento a  $1398.8 \pm 17.8$  ml de biogás/gVS. Además, los rendimientos de metano medidos oscilan entre  $302.48 \pm 0.33$  y  $602.65 \pm 3.24$  ml CH<sub>4</sub>/g SV.

España-Gamboa y cols., (2018); en el estudio *Corn industrial wastewater (nejayote): a promising substrate in Mexico for methane production in a coupled system (APCR-UASB)*, presentó resultados sobre el potencial de metano al emplear como sustrato el nejayote, el sistema que usaron para el proceso de la DA fue en dos fases, un bioreactor de columna empacada (APCR) para optimizar la fase acidogénica y un biorreactor de manto de lodo de flujo ascendente (UASB) para potenciar el proceso metanogénico. El sistema fue capaz de remover el 96% de COD, con un 84% de CH<sub>4</sub> y un rendimiento de  $282 \text{ Lkg}^{-1}$  de COD.

Ramos-Suárez y cols., (2014), en el trabajo de investigación explicaron que la biomasa de *Scenedesmus* no es un sustrato adecuado para la digestión anaerobia debido a su baja biodegradabilidad y bajo rendimiento de biogás. La finalidad del estudio fue evaluar la codigestión de la biomasa de microalgas *Scenedesmus* y cladodios de *Opuntia máxima*, la parte experimental consto de evaluar posibles efectos sinérgicos en diferentes mezclas de ambos sustratos. La mezcla con mayor rendimiento de metano se digirió en modo semicontinuo a diferentes concentraciones de VS. La materia prima compuesta por 75 % de *O. maxima* y 25 % de *Scenedesmus* (base VS) mostró el mayor rendimiento de metano, aumentando un 66,4 % y un 63,9 % el de *Scenedesmus* y *O. maxima*, respectivamente. La codigestión de la biomasa de *O. maxima* y *Scenedesmus* mejoró el proceso de digestión anaeróbica y evitó la inhibición causada por la baja relación C/N de las microalgas

Ramírez-Arpide y cols., (2017); evaluaron el ciclo de vida de la producción de biogás a través de co- digestión anaerobia de cladodios de nopal (pencas) y estiércol de vaca (lechera), en este estudio el análisis se llevó a cabo, para evaluar los impactos ambientales asociados con el proceso y el equilibrio energético de la producción, usando una línea de base y tres escenarios que tenían diferente sistema agrícola y estrategias de gestión de almacenamiento, los datos fueron obtenidos en un biodigestor de 10 litros.

Estos indicaron que el sistema de agricultura ecológica disminuye el impacto ambiental en un 22.5% en la categoría de potencial de calentamiento global, pero aumenta la acidificación potencial de cationes y de eutrofización potencial impacto valores de 47.2 y 45% respectivamente, mientras que cubre los resultados de los digestores en una reducción del 2.3% en el potencial de calentamiento global y en una reducción de 1.7% en el potencial de formación de ozono fotoquímico. Los resultados de la producción de biogás a partir de cladodios de nopal y co-digestión, ofrece una producción de energía limpia debido a el potencial de calentamiento global tiene un valor menor que la reportada como materias primas similares. El uso de estas dos biomásas combina las ventajas de una planta de biomasa que se acumula eficientemente y existe la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero mediante el uso de uno de los principales residuos en la producción de productos lácteos.

Panizio y cols., (2020). Evaluaron la codigestión de aguas residuales de mataderos (SWW) con *Opuntia ficus-indica* (OFI) en condiciones semicontinuas, estudiaron cuatro experimentos a diferentes proporciones para la mezcla 100% SWW, 75% SWW/25% OFI, 25% SWW/75% OFI y 100% OFI, a condiciones mesofílicas ( $38 \pm 1^\circ\text{C}$ ), así como el monitoreo de los parámetros del proceso para inferir las diferencias en los biorreactores, como la producción de biogás, el contenido de metano, el potencial redox, el pH, la alcalinidad, el  $\text{NH}_4\text{-N}$  y los  $\text{Agv}'\text{s}$  se utilizaron para inferir las diferencias en los biorreactores, como resultado obtuvieron que es Biodigestor 2 (75% SWW y 25% OFI) presentó el mejor rendimiento acumulado de biogás y contenido de metano con 86 L y 57% (v/v), respectivamente. En el resto de reactores se observó inhibición del proceso de producción de biogás. Los resultados mostraron que la codigestión de SWW con residuos de OFI mejoró el rendimiento del proceso en términos de producción de biogás.

Espinosa-Solares y cols., (2022); en el estudio titulado *Biochemical methane potential of Opuntia ficus-indica (L.) Mill. cladodes in co-digestion with cow manure*. Resaltan la relevancia del uso de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill como sustrato para la producción de biogás ( $\text{CH}_4$ ), es por eso que con el fin de mejorar el Potencial Bioquímico

de Metano (BMP), el objetivo del estudio fue evaluar la influencia de diferentes proporciones de materias primas de cladodios en la codigestión con estiércol de vaca (CM) (OF:CM, 0:100 a 95:5) para determinar la mejor condición de co-digestión que mejora BMP. Dos sistemas de codigestión tuvieron un BMP estadísticamente significativamente más alto que el sistema de monodigestión, con mejoras en el intervalo de 80 a 92 %. No se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos de codigestión probados. Estos resultados demuestran que la codigestión de biomasa y CM mejoró la producción de metano a través de la digestión anaeróbica, con implicaciones importantes para la producción de bioenergía.

### **1.3. Justificación**

La creciente necesidad de abordar problemas ambientales, como el uso de combustibles fósiles y el manejo inadecuado de residuos, ha impulsado una tendencia global hacia la generación de energía renovable a partir de la biomasa (residuos), como son los residuos agrícolas, agroindustriales, gramíneas forrajeras de alta producción y la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos entre otros. Los residuos son considerados sustratos para combustibles de segunda generación. Para la generación de biogás se han empleado en su mayoría los residuos anteriormente mencionados.

A partir del residuo de la cactácea OFI (nopal-penca), de los desperdicios por podas de los cultivos de nopalito como verdura, en el fruto (tuna) y de la grana (empleada para obtención de colorante). En estudios realizados se muestra que el nopal tiene características que favorecen al proceso de digestión anaerobia, como su elevado porcentaje de hidratos de carbono, su bajo contenido de lignina, y su elevada relación de C/N/P, carbono/nitrógeno/fósforo (Cruz, 2015).

Sin embargo; en el proceso de la DA existen problemas de control y estabilización, debido a variables (pH, tamaño de partícula, alcalinidad, Agv's, temperatura, etc, ) que afectan directamente las etapas (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis, metanogénesis) de las DA por lo que se buscan alternativas para resolver dichos problemas, una de las

alternativas es el uso de pretratamientos en el sustrato y la co-digestión estos ayudan a obtener parámetros que benefician el proceso de la DA como: tamaño de partícula del residuo, el pH, la degradación de algunas macromoléculas y solubilizan la materia orgánica (Pascual y cols., 2011).

En este estudio se tiene como finalidad la producción de biogás (metano) a partir del control de variables que afectan el proceso anaerobio (tamaño del residuo, carga orgánica, pH, temperatura y solubilización) a partir de pretratamientos combinados y la co-digestión con el residuo de nixtamalización en el proceso de alimentación.

#### **1.4. Planteamiento del problema**

El proceso de la DA para la generación de biogás ( $\text{CH}_4$ ) con fines energéticos, así como para el tratamiento de residuos lignocelulósicos, y de altas cargas orgánicas, actualmente presenta dificultades debido a el control y la estabilización, estas dificultades son causadas por variables y factores como el pH, tamaño de residuo, y control de carga orgánica del sustrato, que afectan directamente al proceso anaerobio.

Por lo tanto, es necesario implementar alternativas para mejorar el proceso de la DA para la generación de biogás; entre las alternativas se tiene el residuo de la cactácea *Opuntia ficus indica* (OFI) con una la co-digestión con el residuo de la nixtamalización del maíz (nejayote) y la combinación de pretratamientos combinados (mecánico, químico, térmico y concentración) para lograr la estabilización y control del proceso anaerobio, para incrementar la producción de  $\text{CH}_4$  en el biogás en un reactor anaerobio semicontinuo.

#### **1.5. Hipótesis**

Cuando se implemente la co-digestión del residuo de la cactácea *Opuntia ficus indica* con el residuo líquido de la nixtamalización y se aplique la combinación adecuada de pretratamientos mecánico, químico, térmico y de concentración sobre los residuos de la Cactácea (*Opuntia ficus indica*); se logrará la estabilización y el control del proceso

anaerobio en términos de pH, alcalinidad, temperatura, carga orgánica, tiempo de retención de sólidos, lo que tendrá como consecuencia el incremento del rendimiento en la producción de biogás con mayor concentración de metano y un mayor potencial energético.

## **1.6. Objetivos**

### **1.6.1. Objetivo general**

Evaluar la co-digestión del residuo de la cactácea *Opuntia ficus indica* y del nejayote y pretratamientos combinados para el control y estabilización del proceso anaerobio para la producción de biogás (CH<sub>4</sub>) en reactores anaerobios por lotes (Ensayo BMP) y semi-continuos.

### **1.6.2. Objetivos Especificos**

- Conocer la composición el residuo de la cactácea *Opuntia ficus indica* (sustrato), del residuo líquido de la nixtamalización (co- sustrato) y del inóculo.
- Identificar los factores que tienen mayor influencia en el proceso anaerobio para implementar pretratamientos y la co-digestión del residuo de *Opuntia ficus indica* con el residuo líquido de nixtamalización.
- Establecer los factores de control a tres diferentes niveles a partir de un diseño de experimentos Taguchi L<sub>9</sub>, y posteriormente aplicarlo en pruebas de Potencial Bioquímico de Metano (BMP)
- Evaluar la producción de biogás a partir de la prueba BMP con un mayor contenido de NmL de CH<sub>4</sub>

## **2. Marco Teórico**

### **2.1. Biocombustibles**

Los biocombustibles, derivados de fuentes biológicas, son una alternativa sostenible a los combustibles fósiles y se clasifican en tres generaciones: Primera generación: Utiliza cultivos alimentarios como maíz y caña de azúcar para producir etanol y biodiesel. Genera preocupaciones por la competencia con la producción de alimentos y el uso de tierras agrícolas. Segunda generación: Se enfoca en materiales no alimentarios como residuos agrícolas y forestales, y en biocombustibles avanzados como celulosa y biodiesel de algas. Aborda algunas preocupaciones de la primera generación pero enfrenta desafíos tecnológicos y económicos. Tercera generación: Se basa en organismos genéticamente modificados y microorganismos para producir biocombustibles avanzados como biogás y bioproductos químicos, con el objetivo de superar limitaciones anteriores. Ofrece potencial para una solución más eficiente y sostenible a los desafíos energéticos (Demirbas, 2009; Gnansounou y Dauriat, 2010; Knothe, 2008).

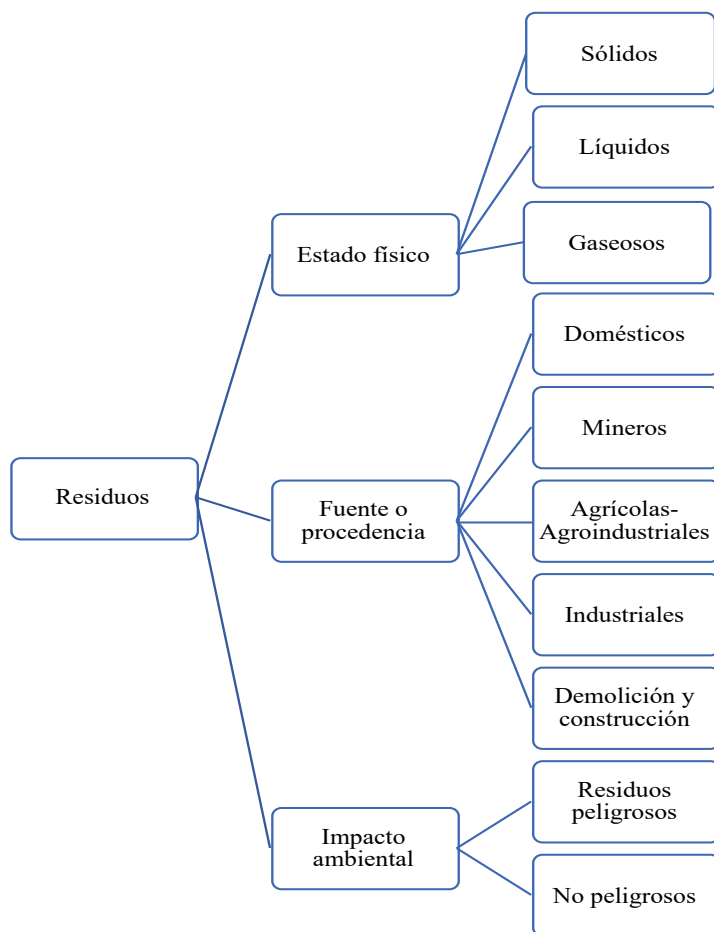
### **2.2. Residuos**

Los residuos se pueden definir como los subproductos inservibles de las actividades humanas que contienen físicamente la misma sustancia que está disponible en el producto útil. Los residuos también se han definido como cualquier producto o material que es improductivo para el productor, en general la mayoría de las actividades humanas generan residuos (Amasuomo y Baird, 2016). En los últimos años, la tasa y la cantidad de generación de residuos han ido en aumento. A medida que aumenta el volumen de los residuos, también aumenta la variedad de los mismos.

#### **2.2.1. Clasificación de residuos**

Los residuos se presentan diferentes formas y su clasificación se puede expresar de varias formas. Algunas características comunes utilizadas en la clasificación de residuos incluyen los estados físicos, las propiedades físicas, los potenciales reutilizables, los potenciales biodegradables, la fuente de producción y el grado de impacto ambiental. White y cols., (1995) afirmaron que los residuos se pueden clasificar en términos

generales en tres tipos principales según sus estados físicos; estos son residuos líquidos, sólidos y gaseosos. Aunque está claro que existen varias clasificaciones en diferentes países. La clasificación más empleada se ilustra a continuación (Figura 1).



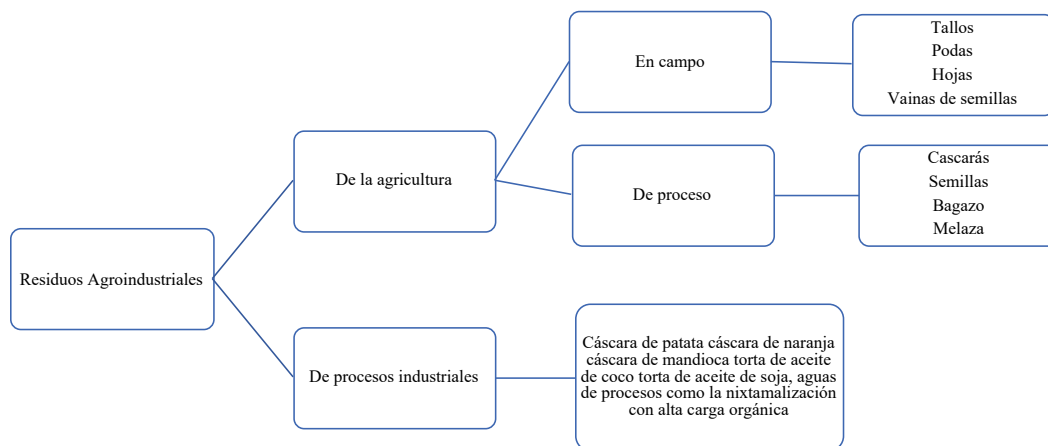
**Figura 1.** Clasificación de los residuos (Adaptación de Amasuomo y cols., 2016; Sath y cols., 2018).

### 2.3.2. Residuos agroindustriales

Un residuo agroindustrial es un subproducto o desecho generado durante los procesos de producción en la industria agrícola o agroalimentaria (Figura 2). Estos residuos son materiales que no se utilizan en la producción principal de alimentos, pero aún tienen valor potencial para otros usos o pueden ser reciclados de alguna manera. Los residuos agroindustriales pueden incluir una variedad de materiales. (Rojas-González y cols., 2019; Casas-Godoy y cols., 2021). Los residuos agroindustriales se

pueden dividir en siete grupos: cereales, raíces y tubérculos, plantas oleaginosas, frutas y verduras, productos cárnicos, pescados y mariscos y productos lácteos (Casas-Godoy y cols., 2021).

Los residuos agrícolas y agroindustriales, al ser compuestos orgánicos, que, si representan un riesgo para la atmósfera, pero también representan una posible fuente para la elaboración de hongos como alimentos y otros productos de base biológica, como biofertilizantes y bioenergía (Sadh y cols., 2018). Los residuos agrícolas y agroindustriales se pueden clasificar en dos residuos de la agricultura y residuos del proceso o a nivel industrial, en los residuos obtenidos a partir del proceso del cultivo pueden ser tallos, podas, hojas (Sadh y cols., 2018; Di Bella y cols., 2022 ), por otra parte en los residuos de los procesos industriales se pueden encontrar, cascara de frutas, verduras etc, así como aguas con alta carga organica y nutrientes, y tortas o bagazo de aceites (Sadh y cols., 2018; Díaz-Montes y cols., 2023) como se muestra en la Figura 2.



**Figura 2.** Residuos agroindustriales y sus tipos. Adaptación (Sadh y cols., 2018; Di Bella y cols., 2022, Díaz-Montes y cols., 2023).

## 2.4. Cactácea *Opuntia ficus indica* (nopal)

### 2.4.1. Origen, distribución y taxonomía de cactácea *Opuntia ficus*

La cactácea *Opuntia ficus* es originaria de América tropical y subtropical, actualmente se encuentra en condiciones agroclimáticas, silvestre o cultivada, en toda América, además, se han difundido a África, Asia, Europa y Oceanía. Pertenece a la familia Cactácea. La taxonomía es sumamente compleja debido a múltiples razones, entre otras porque sus fenotipos presentan gran variabilidad según las condiciones ambientales, se encuentran frecuentemente casos de poliploidía, se reproducen en forma sexual o asexual y existen numerosos híbridos interespecíficos (Sáenz, 2006).

### 2.4.2. Composición fitoquímica y fisicoquímica del nopal

Los nopales son considerados como una buena fuente de  $\beta$ -caroteno o provitamina A (11.3-53.5  $\mu\text{g}/100\text{g}$  de muestra fresca) y ácido ascórbico o vitamina C (7-22mg/ 100g de muestra fresca). En lo que respecta a la composición química de la porción comestible del nopal y los frutos de *Opuntia ficus-indica*, se pueden encontrar principalmente azúcares, proteínas y lípidos; algunos minerales incluyendo calcio, potasio y magnesio, fibra dietética además de otros importantes fitoquímicos. La fibra del nopal está integrada por celulosa, hemicelulosa, pectina, lignina y gomas. Esta composición varía en función de su edad y zona de cultivo, siendo los cladodios quienes tienen la mayor demanda desde el punto de vista industrial, considerando que cuando los brotes son jóvenes o tiernos (10-15 cm) se utilizan para la producción de nopal verdura o nopalitos para su comercialización en fresco, y cuando están parcialmente lignificados (cladodios de 2 a 3 años) son usados principalmente para la producción de harinas y productos deshidratados (Tabla 1) (Sáenz y cols., 2006).

**Tabla 1.** Composición química de la cactácea *Opuntia ficus* (*Opuntia sp.*) con base a 100 g de materia fresca y las fibras en peso seco.

Concepto	Contenido (g)	Compuestos funcionales	Contenido (g)
Humedad	88-95	Niacina	0.30-0.46
Carbohidratos	3-7	Ácido ascórbico	7-22

Cenizas	1-2	Fitomenadiona	5.3
Proteínas	0.5-1.7	Carotenos totales	11.3-53.5
Lípidos	0.2	Clorofila <sub>a+b</sub>	11.52
Elementos	Contenido (g)	Fibras	g / 100 g (peso seco)
Fósforo	16	Lignina	7-22
Potasio	257	Celulosa	9-19
Calcio	93	Hemicelulosa	4-10
Magnesio	52		
Hierro	1.6		
Manganeso	0.5		
Cobre	0.1		
Zinc	0.3		

**Fuente:** Blanco-Macías *y cols.*, 2008; Aguilar-Sánchez *y cols.*, 2007; Loayza y Chávez, 2007; Feugang *y cols.*, 2006; Magallanes-Quintanar *y cols.*, 2004; Rodríguez, 2006; Sáenz, 1997.

### 2.4.3. Estructura y composición de los principales polisacáridos presentes en el nopal

En el nopal (Tabla 2) el principal material constituyente de la pared celular es la fibra insoluble, en este se pueden encontrar polisacáridos como la celulosa, hemicelulosa, lignina. Mientras que en la fracción de fibra soluble se tienen pectinas y mucílago. Las concentraciones de estos componentes suelen variar, sus propiedades fisicoquímicas así dependen de factores como la especie y variedad del nopal, su edad y proceso de producción. Algunos reportes muestran la variabilidad de estos polisacáridos en el nopal (Góngora, 2016; Palacios *y cols.*, 2012).

**Tabla 2.** Polisacáridos estructurales de cinco especies de *Opuntia*.

Polisacáridos (g/100 g peso seco)	Especies				
	<i>streptacantha</i>	<i>hyptiacantha</i>	<i>megacantha</i>	<i>albicarpa</i>	<i>ficus indica</i>
Especie					
Mucílago	7.18	8.47	7.40	6.89	11.75
Pectina	2.53	1.58	2.59	1.88	1.83
Hemicelulosa débilmente unida	8.65	6.32	7.89	4.89	4.59
Hemicelulosa fuertemente unida	3.70	2.38	3.18	1.63	2.30
Celulosa	4.89	5.47	4.63	5.25	5.49

**Fuente:** (Palacios *y cols.*, 2012; Góngora, 2016).

## 2.5 Gramínea *Zea mays* (maíz)

Es un cereal de origen andino y mexicano hace unos 7,000 años atrás, su expansión al resto del mundo se llevó a cabo en el siglo XV cuando los conquistadores europeos lo exportaron desde entonces su cultivo y consumo se incrementó ampliamente, ocupando hasta una tercera parte de la dieta del humano, ganado y otros animales (Silvano, 2016).

### 2.5.1. Composición del maíz

Según datos de la FAO (*Food and Agriculture Organization*, por sus siglas en inglés) el grano de maíz maduro se encuentra estructurado entre 80%p y 85%p de endospermo, 10%p a 12%p de germen (embrión), 2%p a 3%p de aleurona (estructura que une al grano con la espiga), y 5%p a 6%p de pericarpio (cáscara). Su composición química se resume en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Composición química del grano de maíz.

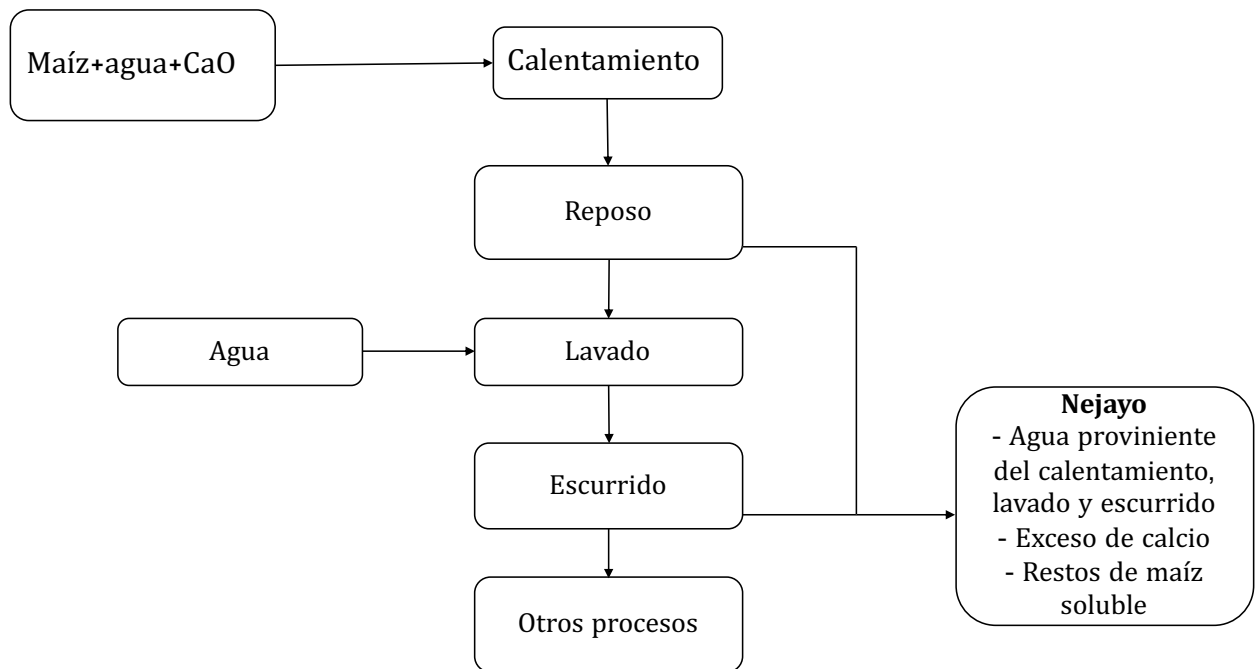
Componente químico	Endospermo (%)	Germen (%)	Pericarpio (%)	Aleurona (%)
Proteínas	8.0	18.4	3.7	19
Extracto etéreo (grasa cruda)	0.8	33.2	1.0	ND
Fibra cruda (Hemicelulosa, Celulosa, Lignina)	2.7	8.8	86.7	ND
Cenizas	0.3	10.5	0.8	ND
Almidón	87.6	8.3	7.3	ND
Azúcar	0.62	10.8	0.34	ND

ND: No Determinado; FAO, 2010.

### 2.5.2. El proceso de nixtamalización

El término nixtamalización se refiere al proceso de calentamiento y remojo de maíz en una solución de cal (CaO) o ceniza de madera. El proceso a detalle consiste en: a) calentar el maíz en agua (entre 125 y 160 L por cada 50 kg de maíz) con CaO (0.1-

5.0 %) a 80° C por 0.25-3.0 h; b) reposar el licor resultante durante 12-24 h; c) lavar el licor reposado con agua en proporción 1:3 (3L de agua por kg de maíz), y d) escurrir el exceso de agua. Finalmente, el producto resultante es el nixtamal, el cual se utiliza para la elaboración de masa o harina que pueden ser usadas para la fabricación de tortillas, botanas, panes, tostadas y otros productos (Figura 3).



**Figura 3.** Esquema del proceso de nixtamalización, adaptación (Rosentrarte y cols., 2006).

### 2.5.3. Cambios fisicoquímicos en el maíz debido al proceso de nixtamalización

El proceso de nixtamalización produce cambios físicos, estructurales y químicos que mejoran la calidad nutricional del maíz, también provoca la pérdida de algunos nutrientes (Gómez y cols., 2000). Cabe mencionar que la pérdida de materia ocurrida es influenciada por distintos parámetros tales como el tipo de maíz, la dureza del endospermo, el tipo de cal utilizado, las temperaturas de cocción, los tiempos de remojo, temperatura, y fricción durante el lavado (Medina y cols., 2009; Rosentrarte y cols., 2006).

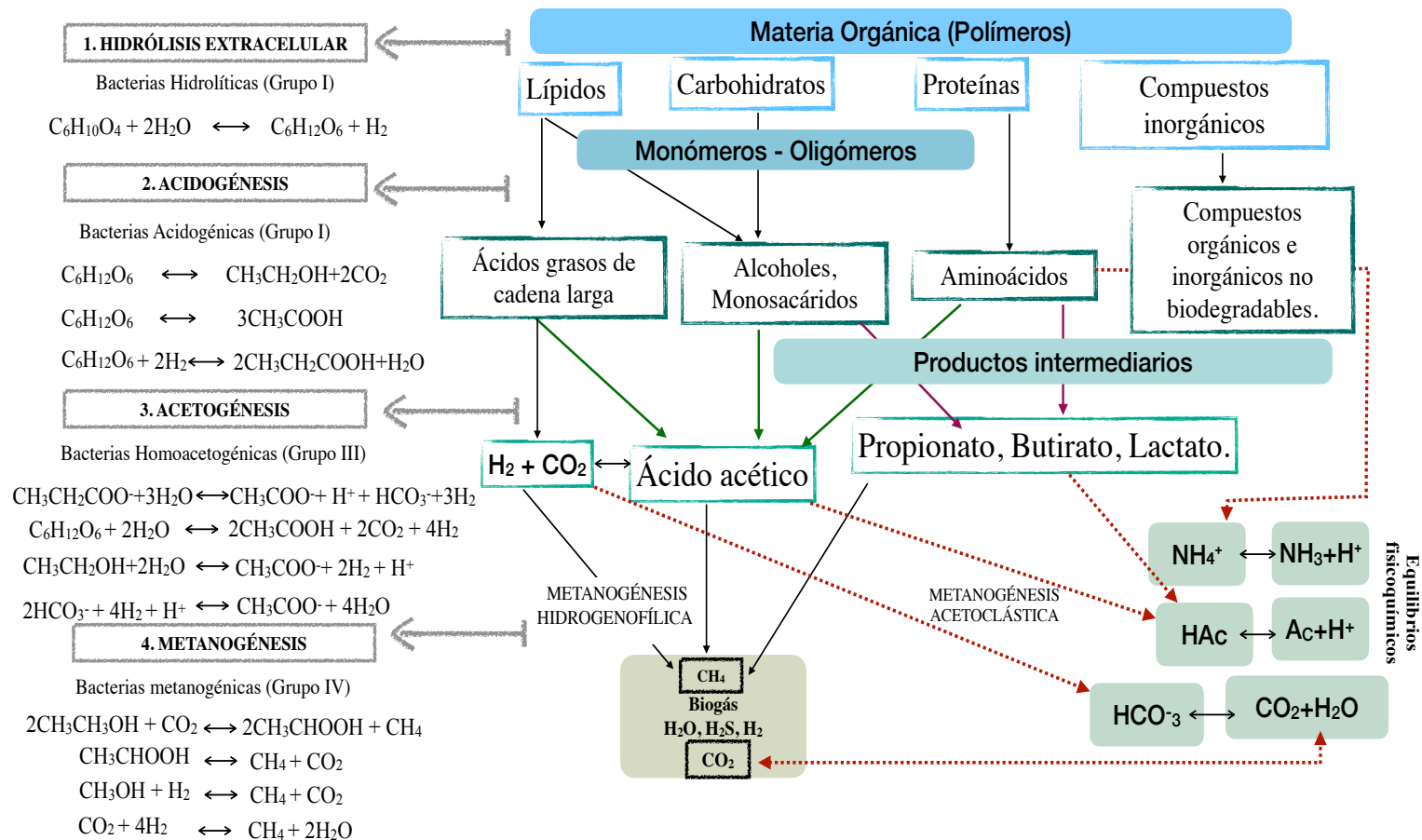
Entre los cambios ocurridos durante el proceso se encuentran: a) solubilización y disolución del tejido del pericarpio (generalmente en la capa del endocarpio) lo cual facilita su remoción física durante el proceso de calentamiento y lavado; b) gelatinización parcial del almidón en el endospermo; c) desnaturalización parcial de las proteínas tanto del endospermo como del germen; d) hidratación del almidón, y e) penetración y absorción del calcio dentro de las matrices del endospermo y el germen que producen el hinchamiento y ablandamiento de los granos, lo cual permite una mayor facilidad en la molienda y generación de masa, producto que consiste en una mezcla de polímeros de almidón (amilosa y amilopectina) intactos y una porción parcialmente gelatinizada (Gómez y cols., 2000).

#### **2.5.4. El agua residual del proceso de nixtamalización (Nejayote)**

El agua residual generada durante el proceso de nixtamalización es conocida como nejayote. Se encuentra compuesta por un porcentaje de peso de agua de 92% a 94% y de residuos de maíz de 6% a 8%, entre los que figuran partes del pericarpio, endospermo, germen, carotenoides (pigmentos responsables del color amarillo característico del nejayote), y calcio (Velazco y cols., 1997).

#### **2.6 Digestión anaerobia**

La digestión anaerobia (DA) es un proceso metabólico complejo que ocurre en condiciones anóxicas o en ausencia de oxígeno (Figura 4), en el cual intervienen consorcios microbianos, los cuales descomponen la materia orgánica y se obtiene un producto gaseoso rico en energía llamado “biogás” (Laiq Ur Rehman y cols., 2019; Saha y cols., 2020).



**Figura 4.** Diagrama esquemático del proceso de digestión anaerobia. Diferentes grupos tróficos: (a) bacterias fermentativas, (b) bacterias acetogénicas, (c) bacterias homoacetogénicas, (d) arqueas metanogénicas hidrogenotróficas, (e) arqueas metanogénicas acetoclásticas (Adaptado de Saha y cols., 2020; Bella y cols., 2021).

## 2.6.1. Etapas de la de la DA

### 2.6.1.1. Hidrolisis extracelular

Las etapas de la DA, se dividen en cuatro de las cuales la primera es la Hidrolisis; con la cual comienza el proceso de descomposición de la materia orgánica, como los polímeros, carbohidratos, proteínas, lípidos en (o transformados en) mono y oligómeros solubles, llevado a cabo por asociaciones sintróficas de consorcios bacterianos, donde las enzimas hidrolíticas excretadas por las bacterias descomponen los polímeros (Kasinath y cols., 2021; Saha y cols., 2020). Las bacterias hidrolíticas anaeróbicas se encuentran principalmente en diferentes ecosistemas naturales como suelos, aguas residuales, rumen de animales, compost y lodos de AD (Saha y cols., 2020).

La degradabilidad de diferentes polímeros depende del tipo, composición y complejidad de los polímeros; por ejemplo, la hidrólisis de los carbohidratos tiene lugar en unas pocas horas, mientras que la hidrólisis de las proteínas y los lípidos puede tardar unos días. De manera similar, la degradación de la lignocelulosa y la lignina es lenta e incompleta. También se ha confirmado que las bacterias hidrolíticas no pueden producir enzimas sin celulosoma (Laiq Ur Rehman y cols., 2019). Además, las bacterias hidrolíticas presentes en la DA se clasifican en cinco phylas diferentes: Firmicutes, Bacteroidetes, Fibrobacter, Spirochaetes, Thermotogae los cuales metabolizan carbohidratos (Yap y cols., 2018).

### 2.6.1.2 Acidogénesis

La acidogénesis es el segundo paso o etapa de la DA; la etapa de la acidogénesis se considera la reacción más rápida en la conversión de la materia compleja, de los productos de la etapa de la hidrólisis, como el azúcar, los aminoácidos y los ácidos grasos de cadena larga, que actúan como sustrato para las bacterias acidogénicas (Kasinath y cols., 2021; Laiq Ur Rehman y cols., 2019).

Las bacterias acidogénicas emplean los productos de la etapa de la hidrólisis como sustratos, y los degradan aún más en ácidos orgánicos de cadena corta que contienen principalmente moléculas de carbono C1-C5 (Laiq Ur Rehman y cols., 2019);

los cuales son ácido butírico, el ácido propiónico, el acetato y el ácido acético con la liberación de algunos otros compuestos como alcoholes, hidrógeno y dióxido de carbono (Laiq Ur Rehman y *cols.*, 2019; Saha y *cols.*, 2020; Bella y *cols.*, 2021)

Normalmente, la concentración de los iones de hidrógeno formados intermedicamente afecta el tipo de productos de fermentación; es decir, cuanto menos compuestos reducidos (acetato) se forman con el aumento de la presión parcial del hidrógeno y viceversa, Se puede decir que la acidogénesis se produce mediante hidrogenación y deshidrogenación dependiendo del metabolismo microbiano (Laiq Ur Rehman y *cols.*, 2019; Saha y *cols.*, 2020).

#### **2.6.1.3. Acetogénesis**

La acetogénesis es la tercera etapa del proceso metabólico de la DA, que involucra la conversión de compuestos orgánicos, como los productos finales de la fermentación, en acetato ( $C_2H_3O_2$ ), dióxido de carbono ( $CO_2$ ) e hidrógeno ( $H_2$ ). Este proceso es llevado a cabo por ciertos microorganismos llamados acetogénicos o acetógenos. La producción de acetato por el primer grupo de bacterias se denomina bacterias homoacetogénicas y reducen constantemente el  $H_2$  y el  $CO_2$  a acetato, por ejemplo, durante la fermentación del etanol, se utiliza  $CO_2$  e  $H_2$  para producir acetato (Laiq Ur Rehman y *cols.*, 2019; Bella y *cols.*, 2021).

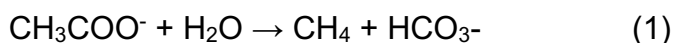
#### **2.6.1.4. Metanogénesis**

La metanogénesis es la cuarta etapa y final de la DA y es llevada a cabo por arqueas metanogénicas. Entre sus características distintivas se encuentra la capacidad de oxidar el hidrógeno ( $H_2$ ), reducir y utilizar el dióxido de carbono ( $CO_2$ ). Además, las bacterias metanogénicas utilizan  $H_2$  y  $CO_2$ , junto con formiato, metanol y acetato, como sustratos en ausencia de oxígeno ( $O_2$ ) y producen metano ( $CH_4$ ) como producto final (Wagner y *cols.*, 2018; Lyu y *cols.*, 2018). Los metanógenos son microorganismos de crecimiento lento y tienen una estricta naturaleza anaeróbica (altamente sensibles al  $O_2$ ). Solo pueden degradar compuestos orgánicos limitados como fuente de carbono y energía (Lyu y *cols.*, 2018). Se han identificado 65 especies diferentes de metanógenos,

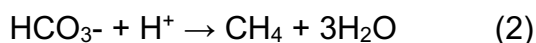
que se agrupan en cinco órdenes: *Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobianes*, *Methanosarcinales* y *Methanopyrales*.

Las principales vías de reacción realizadas de forma sinérgica por las Archeas metanogénicas se describen en la reacción numero 1 a la 5 (Cremonez y cols., 2021; Karthikeyan y cols., 2013).

- 1. Descarboxilación del acetato (Reacción de acetoclastia):** En esta reacción (1), el acetato ( $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ) se descompone en metano ( $\text{CH}_4$ ) y bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) en presencia de agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ).



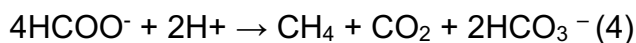
- 2. Reducción de bicarbonato (Reacción de formación de bicarbonato):** Esta reacción muestra la formación de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) y metano ( $\text{CH}_4$ ) a partir de la combinación de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) y protones ( $\text{H}^+$ ).



- 3. Descomposición del metanol:** En esta reacción, el metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) se descompone en dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ).



- 4. Descomposición del formiato (Reacción de descomposición del formiato):** El formiato ( $\text{HCOO}^-$ ) se descompone en metano ( $\text{CH}_4$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) en presencia de protones ( $\text{H}^+$ ).



- 5. Reducción del dióxido de carbono (Reacción de hidrogenotrofia):** Esta reacción implica la reducción del dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) utilizando hidrógeno ( $\text{H}_2$ ) para producir metano ( $\text{CH}_4$ ) y agua ( $\text{H}_2\text{O}$ ).



## 2.7 Variables de operación, estado y factores que afectan la digestión anaerobia

El proceso de digestión anaerobia (DA) se puede llevar a cabo en una variedad de sistemas y reactores, que pueden funcionar con alimentación intermitente o continua, con control de temperatura o sin control, emplear inóculo mixto ó cultivos aislados. En

términos generales, para el trato de residuos agroindustriales y agrícolas es necesario el control de parámetros clave que influyen en el proceso de la DA, entre estos parámetros se tiene la naturaleza del inóculo, el sustrato o residuo empleado, tiempo de retención hidráulica (TRH), pH, Alcalinidad, relación de C/N/P, temperatura, conductividad, relación alfa, nitrógeno, fósforo, ácidos grasos volátiles (Agv's) (Mosquera y cols., 2020; Cremonez y cols., 2021).

### 2.7.1 Inóculo

El inóculo es un paso fundamental para el desempeño del proceso de la DA, se emplean lodos de digestores de tratamiento de residuos con características similares, se recomienda para reducir a fase de retraso y se adapte en menor tiempo. Se recomienda la adición del inóculo al inicio del proceso debido que evita problemas relacionados con la inhibición y acelera el proceso de digestión, sin embargo, aunque esta práctica limita el volumen útil disponible en el reactor o el TRH (Cremonez y cols., 2021).

### 2.7.2 Tiempo de retención hidráulica (TRH)

El Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) se define como el periodo en el que el sustrato soluble reside dentro del reactor junto con la biomasa, otros autores describen el TRH como el tiempo que toma una partícula cuando entra y atraviese el reactor y alcance el puerto de salida (Cremonez y cols., 2021). También se puede expresar como el período que tarda el flujo que confiere el sustrato orgánico, desde el inicio del tratamiento hasta el final o la salida del efluente por unidad de tiempo, según Chatterjee y cols., 2019). El tiempo de retención hidráulico y microbiológico, se calcula con la siguiente formula (ecuación 1).

$$TRH = \frac{V (m^3)}{Q (m^3/h)} \quad (1)$$

$TRH$  = tiempo de retención hidráulico

$V$  = Volumen ( $m^3$  ó  $L$ )

$Q$  = Caudal – gasto ( $m^3/h$ )

### 2.7.3 Tasa de Carga Orgánica (TCO)

La Tasa de Carga Orgánica (TCO), también conocida como OLR (Organic Loading Rate, en inglés), se define como la cantidad de material biodegradable que se introduce en un sistema por unidad de tiempo y superficie o volumen, uno de los principales parámetros de diseño para la DA seca continua (Sanabria y cols., 2017; Rocamora y cols., 2020). Además, se considera un factor crítico, lo que indica la cantidad de sólidos volátiles que se alimentan a un reactor anaeróbico en un día determinado (Sandoval Rojas., 2020). Los valores favorables para los procesos anaerobios pueden variar debido a la naturaleza del sustrato los cuales se encuentran en un intervalo de 0.65 a 19.0 KgVS/m<sup>3</sup>/d.

$$OLR = \frac{Q * Concentración (DQO, SV)}{V} = \frac{Alimentación (gSV/L)}{TRH (d)} \quad (2)$$

$$OLR = \text{tiempo de retención hidráulico} \left( \frac{gSV/L}{d} \right)$$

$$Q = \text{Caudal} - \text{gasto} \left( m^3/h \right)$$

TRH = tiempo de retención hidráulico

$$V = \text{Volumen} (m^3 \text{ ó } L)$$

### 2.7.4 pH

El pH es una medida importante en química, biología y diversas aplicaciones industriales y ambientales. Controlar y mantener el pH adecuado es esencial en muchos procesos químicos, sistemas de tratamiento de agua, procesos biológicos y en la vida cotidiana, debido que influye en la solubilidad de sustancias, la actividad de enzimas, microorganismos y la calidad del agua, entre otros aspectos. En los sistemas biológicos como reactores anaerobios es importante mantener el pH dentro de los valores recomendados que son:

Bella y cols, en el 2021 menciona que para un funcionamiento eficaz el pH debe estar entre 6.7 a 7. Por otra parte, Sanabria en el 2017 menciona que las bacterias hidrolíticas

y fermentativas son menos sensibles y pueden sobrevivir en un intervalo de 4 a 8.5, pero las bacterias metanogénicas son bastante sensibles a las variaciones del pH y se recomienda que estén en un pH de 6.8 a 7.6; y, por ende, se sugiere que el pH se mantenga dentro de un intervalo más estrecho el proceso en general (Mirmohamadsadeghi y cols., 2019).

### 2.7.5 Temperatura

La temperatura es un factor crítico en el proceso de digestión anaeróbica, y puede tener un impacto significativo en la eficiencia y la estabilidad del proceso. Las fluctuaciones de temperatura pueden afectar negativamente a las poblaciones de microorganismos involucrados en la digestión anaeróbica, especialmente a los metanógenos, que son sensibles a los cambios en la temperatura (Laiq Ur Rehman y cols., 2019; Collins y cols., 2023). En general, el proceso de la DA se ha desarrollado en tres intervalos de temperatura (Laiq Ur Rehman y cols., 2019; Collins y cols., 2023):

1. **DA Psicrófila:** Este proceso se lleva a cabo a temperaturas bajas, generalmente en el intervalo de 10 a 20 °C, aunque la actividad microbiana es más lenta a estas temperaturas en comparación con los procesos mesofílicos y termofílicos, la digestión anaeróbica psicrófila todavía puede ser efectiva en la degradación de materia orgánica en ciertas condiciones, como en climas fríos o en aplicaciones específicas.
2. **DA Mesófila:** Este proceso se realiza a temperaturas generalmente en el intervalo de 30 a 40 °C. La DA mesófila es la más comúnmente utilizada y es efectiva en una amplia gama de aplicaciones, incluida la digestión de lodos de depuradoras de aguas residuales y la producción de biogás a partir de residuos orgánicos.
3. **DA Termófila:** generalmente en el intervalo de temperatura es de 50 a 60 °C o incluso más altas. La DA termófila tiene la ventaja de una mayor velocidad de degradación de materia orgánica y una mayor producción de biogás en comparación con los procesos mesofílicos. Es adecuada para aplicaciones que requieren una rápida degradación de sustratos orgánicos y la eliminación de patógenos.

### 2.7.6 Conductividad eléctrica (CE)

La conductividad eléctrica o electrolítica (EC) es una medida que indica la capacidad de una solución para conducir una corriente eléctrica (HACH). La conductividad indica la cantidad de iones contenida en una solución; de manera que es la capacidad de los electrones de desplazarse en el agua de un grupo a otro de electrodos viene dada más que por las moléculas de agua en sí mismas, es por eso que los iones disueltos en el medio y serán estos iones los que transporten los electrones (HACH).

La conductividad eléctrica (siemens por metro (S/m) o en micro - Siemens por centímetro ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) indica de manera indirecta la cantidad de sales minerales disueltas en el sistema (Fregoso y *cols.*, 2001), lo cual se relaciona con los sólidos disueltos. En una corriente de proceso, TDS (Sólidos Totales Disueltos) se mide comúnmente con un analizador de conductividad. Sin embargo, esta medida es sólo una aproximación, lo cual se basa en un factor de multiplicación de 0,4 a 0,75 veces el valor de conductividad cruda. La variación es debido al tipo de sólido disuelto (s) que están en la muestra (HACH). Actualmente estudios han relacionado la conductividad eléctrica (CE) con el mecanismo de Transferencia directa de electrones entre especies (DIET).

### 2.7.7 Alcalinidad

La alcalinidad en el proceso de la DA, se refiere a la capacidad amortiguadora natural del sistema (Obileke y *cols.*, 2020; Issah y *cols.*, 2020). La capacidad amortiguadora o tampón en los procesos de DA significa la capacidad de minimizar el cambio de pH cuando se producen ácidos en los digestores (Ecuación 3,4,5). Todos los sistemas ácidos/bases débiles presentes en los digestores que contribuyen a la capacidad tampón comúnmente incluyen: subsistemas de carbonato, amonio, fosfato, Agv's y sulfuro, las ecuaciones de equilibrio y balance de masa para el subsistema de carbonatos en teoría son (Sun y *cols.*, 2016):

$$\frac{(H^+)[HCO_3^-]}{[H_2CO_3^*]} = K'_{c1} \quad (3)$$

$$\frac{(H^+)[CO_3^{2-}]}{[HCO_3^-]} = K'_{c2} \quad (4)$$

$$C_T = [H_2CO_3^*] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}] \quad (5)$$

Donde:

() denota actividad

[] indica molaridad

**K1** es igual a la constante de equilibrio aparente y

**CT** es la concentración total de carbono inorgánico.

La alcalinidad se mide en términos de la concentración de iones hidroxilo (OH<sup>-</sup>) y bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) en el agua o en el sistema. Este parámetro es importante en los sistemas de producción de biogás porque afecta significativamente la eficiencia y estabilidad de la DA (Obileke y cols., 2020). La alcalinidad en la investigación realizada por Aramrueang y cols., 2022, donde realizaron un tratamiento con Calcium hydroxide treatment, se mantuvo una alcalinidad del efluente o digestato de 15.97 ± 0.28 g CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, mientras el reactor control tuvo una alcalinidad de 13.39 ± 0.33 g CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. Por otra parte, Ali y cols., en el 2019, su efluente manejo alcalinidades de hasta 3,425.4 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>.

### Estimación teórica por equilibrio ácido-base

La principal característica de esta categoría de métodos de titulación es que los resultados se calculan directamente a partir de equilibrios químicos, el procedimiento de titulación, esta categoría se puede dividir en dos subgrupos, a saber, titulación retrospectiva (valoración inversa) y titulación ácida directa. Los métodos que pertenecen a este grupo se enumeran en la Tabla 4 (Sun y cols., 2016).

### Valoración inversa

Es un procedimiento relativamente más complicado para la estimación simultánea de Agv<sub>sT</sub> y la alcalinidad de carbonatos. Este enfoque incluye elevar el pH inicial de la muestra a pH > 11 usando una base fuerte y valorar desde pH 11.0 a pH 9.4, 6.9, 4.0 y

2.2 para expulsar prácticamente todas las especies del sistema carbonatado en forma de CO<sub>2</sub>. Luego, la muestra se vuelve a valorar entre pH 4.0 y 6.9 para derivar la concentración total de especies del sistema Agv's<sub>T</sub> y la alcalinidad de carbonatos (Sun y cols., 2016).

**Tabla 4.** Métodos de titulación pertenecientes al grupo de estimación teórica por equilibrio ácido-base.

<b>Valoración inversa</b>	Eliminación de CO <sub>2</sub> a pH 3.3–3.5 (ebullición). Eliminación de CO <sub>2</sub> a pH 3 (aireación) Eliminación de CO <sub>2</sub> a pH 4.0–4.5 con ebullición y valoración inversa al pH inicial. Eliminación de CO <sub>2</sub> a pH 2.2 mediante rociado con aire
<b>Titulación directa</b>	Titulación a pH 5.75 para TCA Titulación de pH de 5.75 a 4.3 para TVFA

Adaptación (Sun y cols., 2016)

### Titulación directa

La principal característica de este método es la titulación de la muestra hasta puntos finales de pH específicos sólo con ácido., Jenkins y cols., en 1983 propusieron un método para la determinación de la alcalinidad valorando directamente la muestra a pH 5.75 llamado relación Alpha ( $\alpha$ ). Ripley y cols en 1986, sugirieron que se puede obtener una determinación aproximada de la concentración de Agv's mediante una titulación adicional de 5.75 a 4.3 (Ecuación 6). Este procedimiento es más sencillo, por otro lado, también ha sido criticado por su falta de precisión y su insensibilidad a los cambios de concentración de Agv's.

Tal y como establecen Jenkins y cols. (1983), el seguimiento de la evolución de la operación del reactor (ecuación 6) se efectuó por medio de la relación de alcalinidades alfa ( $\alpha$ ), definida como:

$$\alpha = \frac{\text{Alcalinidad a pH 5.75}}{\text{Alcalinidad a pH 4.33}} \quad (6)$$

Jenkins propone determinar la alcalinidad al titulad hasta el valor de pH 5.75 aparte del valor 4.3, después de calcular el valor de la relación ( $\alpha$ ), y el valor recomendado es 0.5, debido que este valor mide la capacidad amortiguadora de los bicarbonatos del sistema respecto a la disociación de todos los ácidos débiles involucrados, precisamente los Agv's. Se dice que cuando se tiene una relación ( $\alpha$ ) a la unidad 0.5, indicador de un sistema estable, al cual se puede proceder al incremento de carga (Hernández y cols., 2000).

### 2.7.8 Ácidos Grasos Volátiles (Agv's)

Los ácidos grasos volátiles (Agv's) son ácidos carboxílicos saturados o insaturados, cuya estructura química posee cadenas cortas de carbono, comunmente de seis átomos de carbono, o menos, tales como el ácido acético, fórmico, propionato, butírico, valérico. Los Agv's son ácidos orgánicos solubles en agua, y que pueden ser destilados a presión atmosférica (Escobar, 2022); Sin embargo los Agv's pueden ser tóxicos, pero se consideran más tóxicos lo de cadena larga, y el acético es considerado como el ácido menos tóxico, se considera que el propionato es más inhibidor que el butirato, Esto se debe a que la conversión de butirato a acetato es lenta y se lleva a cabo en presencia de acetato, pero hasta que todo el butirato y el acetato no han sido degradados, el propionato no se degrada a acetato y se acumula en el reactor (Fernández Güelfo, 2008).

Aramrueang y cols., en el 2022 la concentración total de Agv's, fue de  $18.9 \pm 2.5$  g L<sup>-1</sup>, después de la digestión, los Agv's del digestor control cambiaron a  $18.1 \pm 1.2$  g L<sup>-1</sup>, sin embargo, los digestores tratados mostraron una reducción de Agv's a  $1.5 \pm 0.1$  gL<sup>-1</sup> por biocarbón,  $4.3 \pm 1,4$  g L<sup>-1</sup> por hidróxido de calcio y  $15.1 \pm 1.3$  gL<sup>-1</sup> por adición de hidróxido de sodio, respectivamente. Se menciona que el hidróxido de calcio neutraliza con éxito concentraciones de Agv's de hasta 10, 000 mgL<sup>-1</sup> sin efectos nocivos

sobre los metanógenos, en contraste con el uso de hidróxido de sodio donde la toxicidad del sodio limita su uso para neutralizar Agv's por encima de 2, 000 mgL<sup>-1</sup>.

### 2.7.9 Nutrientes

Los microorganismos necesitan nutrientes cruciales, como nitrógeno y fósforo, para llevar a cabo de manera efectiva la descomposición y estabilización de los residuos orgánicos. El nitrógeno es esencial para la síntesis de proteínas, componentes de la pared celular y ácidos nucleicos por parte de los microorganismos. Por otro lado, el fósforo es esencial tanto para el crecimiento microbiano como para mantener un pH óptimo. Además, desempeña un papel fundamental en el sistema de generación de energía de las poblaciones bacterianas. De manera similar al nitrógeno, el fósforo también resulta imprescindible para el crecimiento y el mantenimiento de las células bacterianas (Hussain y cols., 2015).

### 2.7.10 Relación COD/ N/P y C/N/P/S

En la literatura se menciona que el requerimiento de los nutrientes es bajo, debido a se debe a la baja formación de biomasa(microorganismos) de nutrientes de los elementos C: N:P:S - 600/15/5/3 es suficiente para la metanización (Fricke y cols., 2007), Hussain y cols., en el 2015 muestran varias relaciones de COD: N:P, y de diferentes sustratos entre ellas están: 300/4.5/1, 300/1.5/1, 300/10.8/2.7, 300/7.5/1.5, por otra parte Nguyen y cols., 2015 la relación que muestran son 350/7/1 para cuando se tiene en conjunto las bacterias, cuando está en la hidrólisis y acidogénesis la relación es de 100:5:1 y en la metanogénesis de 120:5:1. para el residuo del nopal la relación de COD: N:P, fue de 466.80/7.9/1 (Rojas y cols., 2023).

### 2.7.11 Relación C/N

En el proceso de la DA los compuestos de nitrógeno reducidos no son eliminados, es por eso que se recomienda una relación de C/N en el material de alimentación el cual debe oscilar entre 20 y 30 para garantizar un suministro suficiente de nitrógeno para la producción celular y la degradación del carbono presente en el proceso, y para evitar al

mismo tiempo un exceso de nitrógeno, que podría provocar a concentraciones tóxicas de amonio (Fricke y cols., 2007; Nguyen y cols., 2015).

### 2.7.12 Sólidos

Los sólidos volátiles (SV) generalmente se tratan como una medida de la fracción orgánica de los sólidos totales, aunque una descripción más precisa sería la cantidad de materia en un lodo que se pierde por ignición. Se demostró que el contenido de sólidos volátiles biodegradables (SV) impactaba la predicción de la tasa de producción de biogás y el cálculo de la tasa de carga orgánica y la relación carbono/nitrógeno (C/N). Desde los años setenta, el indicador más utilizado para evaluar el rendimiento de los digestores ha sido la cantidad de metano producido por unidad de sólidos totales (TS) o sólidos volátiles (VS) de cualquier sustrato determinado (Jimenez y cols., 2015).

La hidrolización de materias primas con un alto contenido de sólidos presenta ventajas como una mayor capacidad de operación del reactor, un menor consumo de energía para calentamiento y un menor uso de agua. No obstante, un exceso de sólidos puede aumentar la viscosidad de las mezclas, lo que puede resultar en un mal mezclado y un alto consumo de energía. Además, un incremento en el contenido de sólidos (5% a 40%) conlleva a la presencia de inhibidores y sólidos insolubles, lo que disminuye la eficiencia de la conversión hidrolítica. Además, una concentración de sólidos alta (TS > 15%) en la materia prima requiere un tiempo de retención mucho más largo de lo habitual (10-15 días). Por lo tanto, generalmente se considera que un contenido de sólidos del 15-20 % en la materia prima es el límite superior para la hidrólisis y acidogénesis en reactores mixtos (Van y cols., 2020).

### 2.7.13. Relación alimento / inóculo

La relación alimento/ inóculo ó sustrato/inóculo, en sus siglas en ingles F/I, es considerado como un factor clave para mejorar el proceso anaerobio, debido a que en unas pruebas realizadas de exceso de lodos sin tratar realizadas en Alemania en reactores discontinuos con diferentes F/I (de 0.15 a 8.37) demostraron que al disminuir el porcentaje de inóculo (una alta relación de F/I), la “fase de retraso” inicial en la producción de biogás se prolonga, pero la producción específica total de biogás

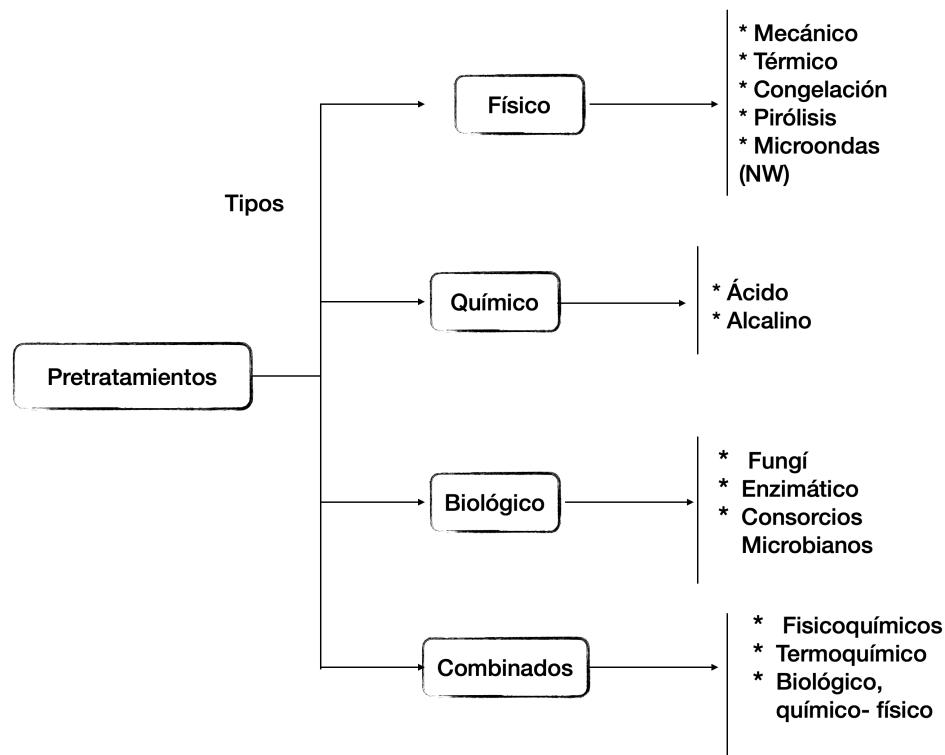
permanece aproximadamente constante, independientemente de F/I. Se evaluó que el intervalo óptimo de F/I, en términos de producción de biogás y reducción de sólidos volátiles, estaba entre 0.5 y 2 para lodos no tratados (Braguglia y *cols.*, 2006), también se le atribuye un posible efecto directo en la fase latente, entre menor es la relación de 2.0 se afirma que la fase es más corta, y en una relación de F/I, existe una menor cantidad de microorganismos disponibles para transformar los productos de fermentación, lo que puede ocasionar una acumulación de agv's (Alexis y *cols.*, 2015).

### **2.8. Pretratamientos**

Un pretratamiento, en el contexto de la producción de biogás a partir de biomasa lignocelulósica, se define como un conjunto de operaciones unitarias aplicadas a la materia prima antes de someterla al proceso de digestión anaerobia. Este proceso tiene como objetivo descomponer la estructura compleja de la biomasa, facilitando la liberación de los componentes orgánicos y mejorando su accesibilidad para la acción de microorganismos en la etapa de digestión (Figura 5).

En términos más específicos, un pretratamiento busca reducir la recalcitrancia de la biomasa, que se refiere a la resistencia de los materiales lignocelulósicos a ser degradados. Algunas de las operaciones comunes de pretratamiento incluyen la molienda, la aplicación de agentes químicos, la hidrólisis ácida, la vaporización, entre otras (Dias y *cols.*, 2010; Taherzadeh y Karimi, 2008).

La presencia de compuestos de lenta degradación que limitan el acceso a materiales más fácilmente degradables (como la lignina o los derivados de la esporopolenina), ha motivado la utilización de distintos pretratamientos para garantizar la biodisponibilidad de los sustratos y disminuir los tiempos de retención del proceso. Estos pretratamientos pueden ser similares o idénticos a los empleados en la obtención de bioetanol de segunda generación (explosión, tratamientos ácidos y alcalinos, empleo de microorganismos fibrolíticos) o más novedosos, como la utilización de microondas (Jackowiak y *cols.*, 2009) o ultrasonidos para desestabilizar estructuras o agregados (Apul y *cols.*, 2010).



**Figura 5.** Procesos de conversión de biomasa (Adaptado de Naik y cols., 2010; Kumari y cols., 2018; Kumar y cols., 2019).

En los últimos años, los investigadores han dedicado atención al pretratamiento en la biomasa para la producción de biogás debido a que se ha reconocido que es un paso esencial antes de la degradación. En general, los métodos de pretratamiento son: físicos, químicos, biológicos, combinados, no está en duda de que el pretratamiento tenga potencial para superar las desventajas cinéticas en la digestión anaerobia y aumentando la producción de biogás de biomasa lignocelulósica (Yua y cols., 2019; Kainthola y cols., 2019; Kumar y cols., 2019).

Objetivos principales de un proceso de pretratamiento efectivo son (Kumari y cols., 2018):

1. Formación de azúcares directamente por hidrólisis,
2. Para evitar la pérdida o degradación de azúcares formados,
3. Para limitar la producción de productos inhibidores,
4. Para reducir las demandas de energía, y

5. Para minimizar el costo de producción de biocombustibles.

## 2.9. Co-digestion

La co-digestión, según Angelidaki y Ellegaard (2003), se caracteriza por el tratamiento simultáneo de múltiples sustratos orgánicos en un sistema de digestión anaerobia. Este proceso tiene como objetivo mejorar tanto la eficiencia como la calidad del biogás producido. La mezcla de diferentes sustratos permite diversificar los insumos, optimizando así la relación carbono/nitrógeno y generando sinergias que benefician el rendimiento global del proceso. En consonancia con la definición proporcionada por Demirel y Scherer (2008), la co-digestión implica la fermentación simultánea de diversos sustratos orgánicos. Este enfoque busca aprovechar las sinergias entre los materiales involucrados, para favorecer las condiciones del proceso de digestión anaerobia. La combinación de diferentes sustratos no solo mejora la eficiencia, sino que también contribuye a la diversificación de los insumos utilizados en el proceso.

Zhang y *cols.*, (2014) definen la co-digestión como el proceso de mezclar y tratar conjuntamente diversos sustratos orgánicos en un sistema de digestión anaerobia. En este contexto, se busca no solo optimizar la relación carbono/nitrógeno, sino también aprovechar las sinergias entre los diferentes sustratos para mejorar la producción de biogás. Factores como el tamaño de partícula de los residuos y la carga orgánica influyen en la eficacia de este proceso, proporcionando oportunidades para ajustes y mejoras específicas. Mata-Alvarez y *cols.*, (2011) contribuyen a la comprensión de la co-digestión al describirla como la fermentación simultánea de diferentes materiales orgánicos en un sistema de digestión anaerobia. Su definición destaca la búsqueda de una mayor estabilidad del proceso y la mejora de las características del biogás producido. La combinación de sustratos orgánicos diversos en este proceso ofrece una solución prometedora para la eficiencia y sostenibilidad de la producción de biogás.

## 2.10. La Filosofía de Taguchi

La filosofía Taguchi se refiere a un enfoque de mejora de la calidad y diseño desarrollado por el Dr. japonés Genichi Taguchi. Este enfoque se centra en la optimización de productos y procesos para reducir la variabilidad y mejorar la calidad. Genichi Taguchi es conocido por sus contribuciones a la ingeniería de calidad y

estadísticas aplicadas (Salazar, 1998; Naranjo, 2019). Taguchi propone un enfoque estructurado que consta de tres etapas principales en el desarrollo de un producto o proceso (Soto, 1996; Trejos y cols., 2012):

1. **Diseño del Sistema (System Design):** Esta es la primera etapa en el proceso de desarrollo de un producto o proceso. En esta etapa, se define el sistema en su conjunto, incluyendo sus objetivos, especificaciones y requerimientos generales. Se identifican los factores clave que influirán en la calidad y el rendimiento del sistema. Taguchi enfatiza la importancia de comprender completamente los objetivos del sistema y cómo los factores afectan esos objetivos.
2. **Diseño de Parámetros (Parameter Design):** Una vez que se ha definido el sistema en la etapa de diseño del sistema, la siguiente etapa es el diseño de los parámetros. Esto implica identificar los factores y niveles específicos que influirán en el proceso o producto y diseñar experimentos para optimizar estos factores. El objetivo es encontrar la combinación óptima de factores y niveles que minimice la variabilidad y maximice la calidad del producto o proceso
3. **Diseño de Tolerancia (Tolerance Design):** En esta etapa, se establecen las tolerancias para los parámetros diseñados en la etapa anterior. Las tolerancias se definen de manera que el producto o proceso sea robusto y capaz de mantener un rendimiento de alta calidad incluso en presencia de variaciones naturales en las condiciones de operación. El diseño de tolerancias se basa en la idea de que es necesario prevenir defectos y variaciones en lugar de simplemente detectarlos y corregirlos.

La filosofía de Taguchi busca diseñar productos y procesos que sean resistentes a las variaciones y que produzcan resultados de alta calidad de manera consistente. A través de estas tres etapas, se busca minimizar la variabilidad y reducir la sensibilidad del sistema a las fluctuaciones en las condiciones de operación. Esto, a su vez, conduce a una mejora sostenible de la calidad y la satisfacción del cliente, es importante mencionar que también otras de sus aportaciones en el campo de calidad fue:

- Función de pérdida
- Arreglos ortogonales y las gráficas lineales
- Robustez

La razón S/N es considerada como valor característico de desempeño de cada corrida experimental, se busca maximizar el valor de la razón S/N para obtener las condiciones de operación más robustas. Las ecuaciones de los tres tipos de razón S/R se presentan a continuación (Gutiérrez Pulido y cols., 2008):

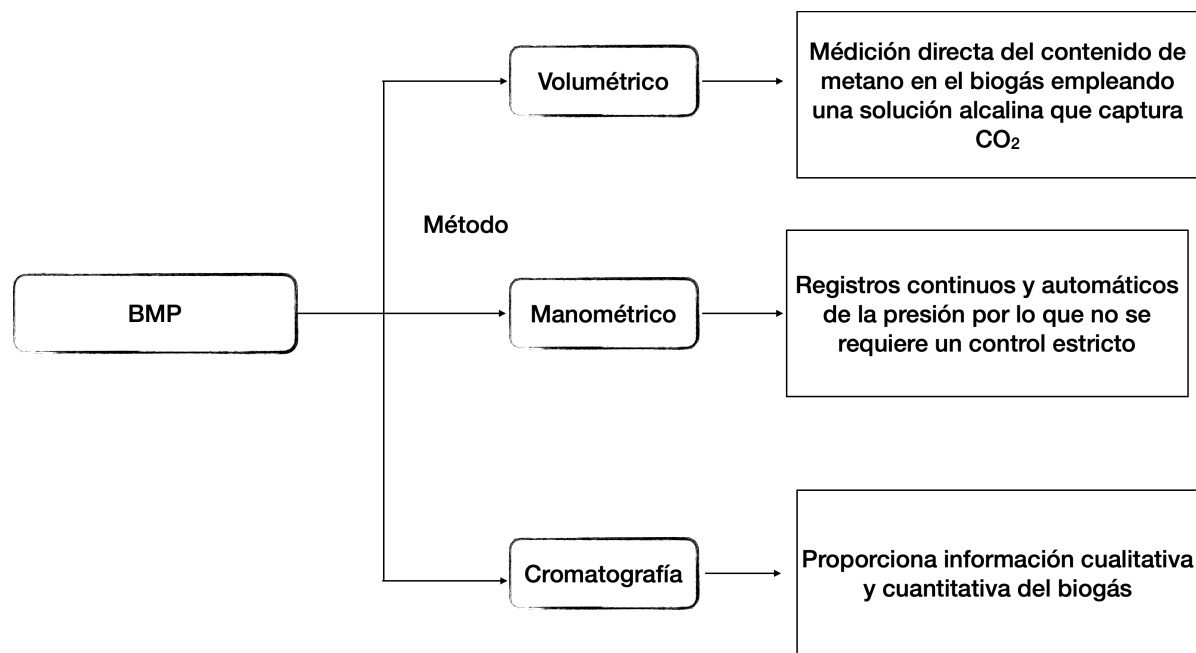
- Más pequeño es mejor.
- Nominal es mejor.
- Más grande es mejor.

Los datos recolectados de los experimentos del arreglo ortogonal pueden ser analizados utilizando el método grafico de respuesta (Navarrete, 2012).

### 2.11. Biochemical methane potential (*BMP*)

La prueba *BMP* o potencial bioquímico de metano (*PBM*), sirve para evaluar de forma rápida si un residuo puede ser correctamente degradado y así producir  $\text{CH}_4$ . El valor experimental está dado como  $\text{mL CH}_4/\text{gSV}$  adicionados al reactor. La biodegradabilidad de un sustrato está indicada por el rendimiento de  $\text{CH}_4$ , es decir, por el porcentaje de sólidos que se adicionan o destruyen durante la digestión anaerobia (Figura 6).

Sin embargo, no se ha definido un método estándar para determinar el *BMP*, diversos autores han propuesto procedimientos de ensayo para inferirlo al utilizar diferentes relaciones sustrato: inóculo (S:I) o al modificar las condiciones de temperatura, pH, tamaño de partícula del sustrato y/o agitación (figura 6) (Lesteur y cols., 2010). Con base en lo anterior, en el presente trabajo se utilizan las relaciones sustrato: inóculo 1:2 y 1:3 para determinar al final del proceso cuál tendrá un mejor efecto en los resultados de *BMP* con la mezcla de residuos elegidos (Sánchez Reyes y cols., 2016).



**Figura 6.** Métodos para medición en el sistema *BMP*.

### 2.12. Reactor anaerobio RAFA

El reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB por sus siglas en inglés) se desarrolló entre los años 1976-1980 por el Profesor Gatzke Lettinga de la Universidad de Wageningen en Holanda; es un contenedor hermético, el cual sirve para llevar a cabo procesos anaerobios debido a su diseño, está constituido por tres partes importantes (Figura 7).

Las cuales son: entrada de sustrato, salida o efluente y cámara y salida de biogás; la corriente de entrada de sustrato se localiza en la parte inferior y se conecta a un difusor interno que favorece la distribución del sustrato y el contacto con el lodo anaerobio, esto favorece la expansión del manto de lodos cuando el flujo de entrada es controlado, así mismo, al ingreso del sustrato al reactor ocasiona el desplazamiento del líquido tratado mediante la corriente de salida o efluente en la parte superior del reactor, finalmente en la parte superior se ubica la cámara de gases la cual ocupa un 10% del volumen total y el biogás contenido sale del reactor mediante la corriente de salida de biogás en la base superior la cual regularmente está acoplado un sistema de captación y endulzamiento mediante soluciones alcalinas y cuantificación por desplazamiento de líquido.

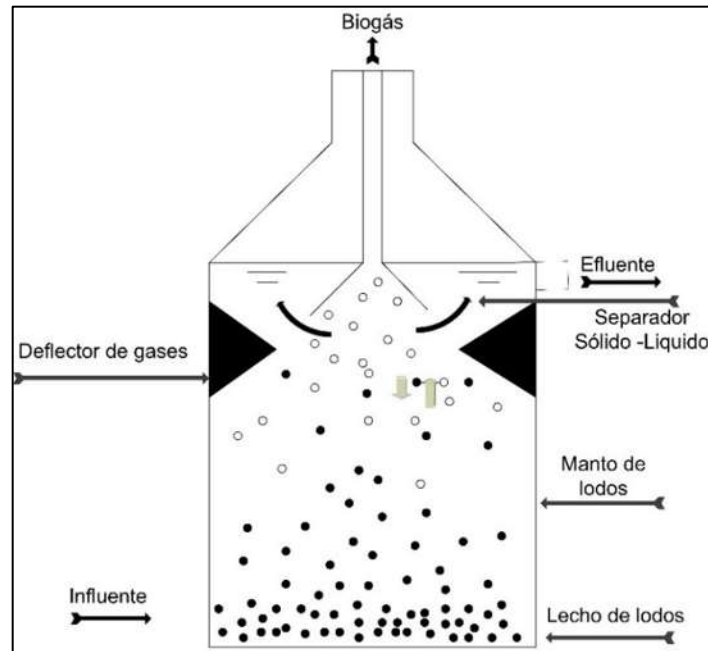


Figura 7. Reactor anaerobio UASB.

### 3. Metodología

**3.1 Etapa uno.** Producción de CH<sub>4</sub> a partir de la combinación de pretratamientos y recirculación del efluente sobre el residuo OFI

#### 3.1.1. Caracterización fisicoquímica del residuo OFI y del inóculo

La caracterización fisicoquímica del inóculo y del residuo OFI se realizó a partir de los parámetros: DQO (Demanda Química de Oxígeno) con el método 8000 HACH, temperatura con la norma NMX-AA-007-SCFI-2013, pH con la NMX-AA-008-SCFI-2000, alcalinidad NMX-AA-036-SCFI-2001, conductividad NMX-AA-093-SFCI-2000 Nitrógeno Total (N<sub>T</sub>) método 8075 HACH, Fósforo Total (P<sub>T</sub>) método HACH 10127, Sólidos Totales (ST), Sólidos Totales Volátiles (STV), Sólidos Suspendidos Totales (SST) Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) a partir de la norma NMX-AA-034-SCFI-2015.

#### 3.1.2. Aplicación de la combinación de los pretratamientos en el residuo OFI

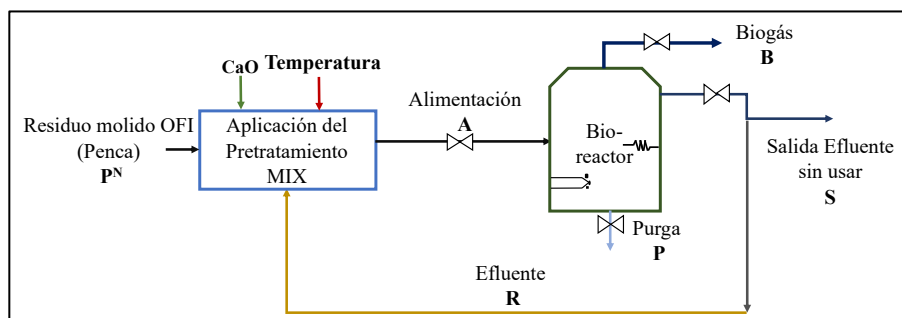
La aplicación de los pretratamientos combinados, se realizó mediante molienda gruesa (0.1-0.2 mm), adición de CaO para el ajustar el pH a 8.5 y el incremento de temperatura del agua a 40°C (En este proceso posteriormente se empleará el efluente como agua de dilución), hasta ajustar la concentración de a 20.15-26.17 gSVL<sup>-1</sup>, y se evaluaron en tres residuos por podas con respecto a la madurez del cultivo: OFI<sub>1</sub> 6 años, OFI<sub>2</sub> 8 años, OFI<sub>3</sub> 5 años (Rojas y cols., 2023).

#### 3.1.3. Inoculación del reactor anaerobio y adaptación del inóculo al sustrato pretratado

La inoculación del reactor se realizó mediante la adición del 30 % de inóculo con respecto al volumen del biorreactor. Durante el proceso, la alimentación del residuo se realizó a concentraciones de 10.08 a 14 gSVL<sup>-1</sup>, para permitir la adaptación paulatina de los consorcios microbianos al sustrato pretratado, el periodo de operación a esta concentración fue llevado a cabo hasta que se alcanzó una remoción del 70% de los SV alimentados [3].

#### 3.1.4. Implementación del digestato (Efluente) en la recirculación como agua de dilución

La implementación del efluente (digestato) como agua de dilución para el control de la concentración a  $20.15\text{-}26.17\text{ gSVL}^{-1}$ , se realizó después de alcanzar el periodo de adaptación del inóculo (Figura 8) al residuo pretratado, el porcentaje empleado fue del 90% y 80%.



**Figura 8.** Diagrama del proceso anaerobio con recirculación en la producción de metano

### 3.1.5. Análisis de la producción de biogás con respecto al comportamiento de los parámetros fisicoquímicos.

Se realizó el análisis de los parámetros fisicoquímicos pH, conductividad, Alcalinidad, relación alfa, ST y SV, para evaluar el comportamiento en la operación del reactor y determinar su impacto en el rendimiento del metano en el biogás.

### 3.1.6. Rendimiento de biogás

El rendimiento en la producción del biogás se evaluó a través del volumen producido de biogás con respecto de los gSV consumidos.

## 3.2 Etapa dos Evaluación de la producción de $\text{CH}_4$ a partir de la combinación de pretratamientos y la co-digestión.

Se realizó un diseño de experimentos (DE) Taguchi  $L_9$  (3), en donde se consideraron los factores; proporción de nopal pretratado-nejayo, relación R/M y pretratamiento térmico, a tres niveles diferentes, para una concentración de  $30\text{gDQOL}^{-1}$  ( $23.89\text{ gSVL}^{-1}$ ) y pH a 8.5, además se consideraron los testigos de nopal y nejayo sin mezcla ni pretratamiento. La evaluación de la producción de  $\text{CH}_4$  en el biogás se realizó a través de la prueba Potencial Bioquímico de Metano (PBM) (4). El análisis de biogás se realizó por cromatografía de gases. Se evaluaron los rendimientos para la producción de biogás, y metano producido mediante las relaciones  $\text{NmL}_{\text{biogás}}\text{gSV}^{-1}$  y  $\text{NmL}_{\text{CH}_4}\text{gSV}^{-1}$  respectivamente

**3.3. Etapa tres:** Evaluación de la mejor combinación de factores y co-digestión del ensayo *BMP* en un reactor anaerobio a escala piloto

### **3.3.1. Enriquecimiento de un inóculo anaerobio con excretas de ganado vacuno**

El inóculo se obtuvo de un reactor biológico aerobio de lodos activados de un tren de tratamiento de aguas residuales de uso doméstico, el cual se almacenó en un recipiente de polietileno de alta densidad a 4°C, posteriormente se transvasó a un reactor hermético en donde se mantuvo con control de temperatura a 35°C. Las excretas del ganado vacuno se obtuvieron del Frigorífico y Rastro Municipal de Morelia, para su recolección se utilizaron bolsas de polietileno de baja densidad, posteriormente se almacenó en un refrigerador a 2.5°C en un recipiente de polietileno de alta densidad.

### **3.3.2. Proceso para el enriquecimiento del inóculo aerobio a anaerobio**

El proceso para realizar el enriquecimiento del inóculo, se realizó con base en la metodología de García *et al.*, 2012, la cual se llevó a cabo con frecuencia de alimentación de cada 72 horas, mezclando una suspensión de hidróxido de calcio  $\text{Ca(OH)}_2$  en agua a temperatura de 40°C con las excretas del ganado vacuno a concentración de 8% de sólidos; la mezcla resultante se filtró con una malla de apertura de 1 mm y se adicionó al reactor.

## 4. Resultados

**4.1. Etapa 1:** Producción de CH<sub>4</sub> a partir de la combinación de pretratamientos (Tabla 5) sobre el residuo OFI en un reactor anaerobio semicontinuo a escala piloto. La aplicación de la combinación de los pretratamientos para la alimentación se obtuvo de un anterior estudio (Sandoval y cols., 2022).

### 4.1.1. Caracterización fisicoquímica del residuo OFI e inóculo

Los resultados de la Tabla 5 muestran, que el inóculo, tiene las condiciones favorables para iniciar el proceso de la DA en la etapa de adaptación, debido a que el pH fue de 6.98, la alcalinidad de 5.6 gCaCO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup>, la relación alfa de 0.65 y los SSV de 32.0 gL<sup>-1</sup>, parámetros que se encuentran dentro de los valores recomendados (García., 2012; Yang y cols., 2015; Jenkis., 1983 ). Con respecto al sustrato, se observa que de los parámetros caracterizados los críticos son: el pH con un valor de 4.54 y la alcalinidad de 1.52 gCaCO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup> en promedio, debido a que se puede inhibir el proceso de la DA (Rojas y cols., 2023; Alanis., 2016).

**Tabla 5.** Caracterización del sustrato (residuo) e inóculo

Parámetro	Residuo OFI <sub>1</sub>	Residuo OFI <sub>2</sub>	Residuo OFI <sub>3</sub>	Inóculo
SV (g L <sup>-1</sup> )	46.30±6.09	58.28±0.97	43.54±5.1	47.90±0.41
DQO	60.33±0.01	66.96±0.01	56.95±0.03	56±0.03
SSV (g L <sup>-1</sup> )	41.23±9.9	60.96±6.06	40.64±2.93	32.00±0.03
Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	6.51±0.04	4.66±0.008	6.66±0.02	6.95±0.04
pH	4.53±0.03	4.65±0.04	4.45±0.04	6.98±0.01
Alcalinidad (g CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	1.44±0.03	1.76±0.01	1.38±0.01	5.6±0.08
Relación alfa (α)	--	--	--	0.65±0.02

### 4.1.2. Operación general del sistema anaerobio semicontinuo

La operación del sistema anaerobio, se dividió en cuatro etapas la primera fue la adaptación con un periodo de 30 días, donde se empleó un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 8,6 y 4 días con una concentración de SV de 11.35 a 23.66 gSVL<sup>-1</sup>,

con una tasa de carga orgánica (ORL) de 2.2 a 5.5 gSV/L/d, en el caso del proceso del empleo de la recirculación al 90% en sustitución del agua de dilución para controlar la concentración de la alimentación, el periodo fue sólo de 78 días, donde se empleó el residuo OFI 1 y residuo OFI 2, con una concentración constante de 21.91 gSVL<sup>-1</sup> y con un OLR de 5.5. En el caso de la etapa 3 con el proceso del empleo del 80% del efluente fue en un periodo de 77 días (invierno), empleando el residuo OFI 2 y residuo OFI 3 y con una concentración en la alimentación de 16.24 a 24.02 gSVL<sup>-1</sup> (Tabla 6).

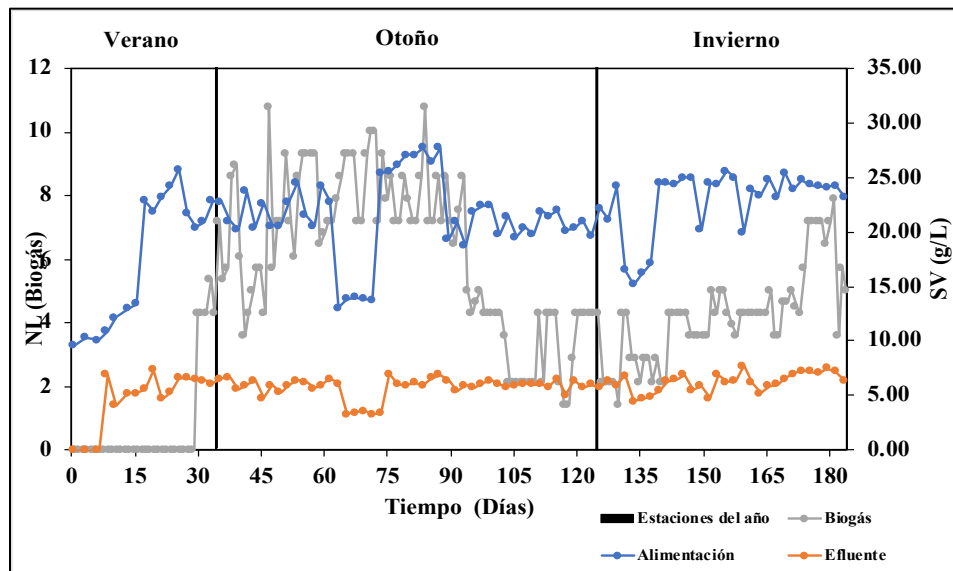
**Tabla 6.** Operación general del sistema anaerobio semicontinuo

Residuo	Edad del nopal (Años)	Etapas	Días	Estaciones del año	TRH (Días)	gSV/L	ORL gSV/L/d	pH	T °C
OFI 1	6	Adaptación del inóculo al residuo OFI pretratado	31	Verano	8,6,4	11.35 - 23.66	2.2 - 5.5	8.5	35
		Proceso de recirculación efluente al 90%	78	Otoño		21.91	5.5		
OFI 2	8	Proceso de recirculación efluente al 90%			78	Otoño	4		
		Proceso de recirculación del efluente al 80%	77	Invierno					
OFI 3	5	Proceso de recirculación del efluente al 80%			77	Invierno	4	16.24 - 24.02	4.1- 5.5

#### 4.1.3. Consumo de la materia orgánica (SV)

En la figura 9 y 10, se muestran las concentraciones de SV en la alimentación y salida del reactor, sus porcentajes de remoción y la producción de biogás. Durante los primeros 16 días de alimentación el reactor mantuvo una concentración promedio del OFI<sub>1</sub> a 11.35±1.39 gSVL<sup>-1</sup> (Figura 9), con una remoción en promedio de 59.99 ± 2.81% (Figura 10), posteriormente del día 18 al 30 se incrementó la concentración de alimentación a 22.85±1.61 gSVL<sup>-1</sup>, debido a que los parámetros fisicoquímicos se encontraban dentro de los valores recomendados (García., 2012; Jacuinde., 2018), con

un incremento en la remoción hasta  $71.23 \pm 6.32\%$ , valor dentro de los reportados en el proceso de adaptación (Rojas y cols., 2023; Alanis., 2016).



**Figura 9.** SV en el sistema

A partir del día 31 inicio la producción de biogás, y en ese día se implementó la recirculación al 90% del efluente como agua de dilución, y se mantuvo la concentración en  $22.02 \pm 1.41 \text{ gSVL}^{-1}$  hasta el día 62, en este periodo se presentó una remoción de  $72.29 \pm 1.93\%$ . A partir del día 64, se alimentó el reactor con un residuo de nopal de diferente madurez ( $\text{OFI}_2$ ), y con la finalidad de realizar la readaptación se disminuyó la concentración de alimentación hasta  $13.71 \pm 0.33 \text{ gSVL}^{-1}$  y en este periodo se obtuvo una remoción del  $74.61 \pm 0.9\%$ ; a partir del día 74 y hasta el día 130 la concentración de alimentación se mantuvo en  $22.55 \pm 2.79 \text{ gSVL}^{-1}$  con remoción del  $72.65 \pm 2.76\%$  y el uso del efluente fue del 80% (en el día 106). A partir del día 132 se alimentó el reactor con un residuo  $\text{OFI}_3$ , y se disminuyó nuevamente la concentración de alimentación hasta  $16.26 \pm 3.23 \text{ gSVL}^{-1}$ , durante este periodo de readaptación la remoción se mantuvo en  $70.96 \pm 1.60\%$ ; posteriormente del día 140 al 184 se mantuvo la alimentación en  $24.02 \pm 1.34 \text{ gSVL}^{-1}$ , con una remoción del 72.75%. A pesar de las diferencias entre los tres OFI alimentados, se observa que aún con estos cambios la remoción se mantuvo dentro de los valores recomendados (Kovalev y cols., 2021; Wang y cols., 2016).

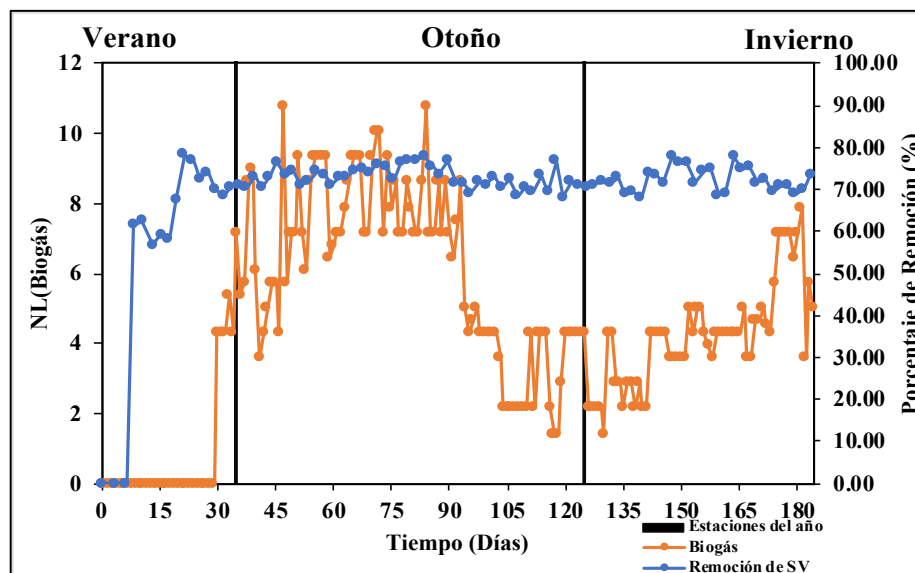
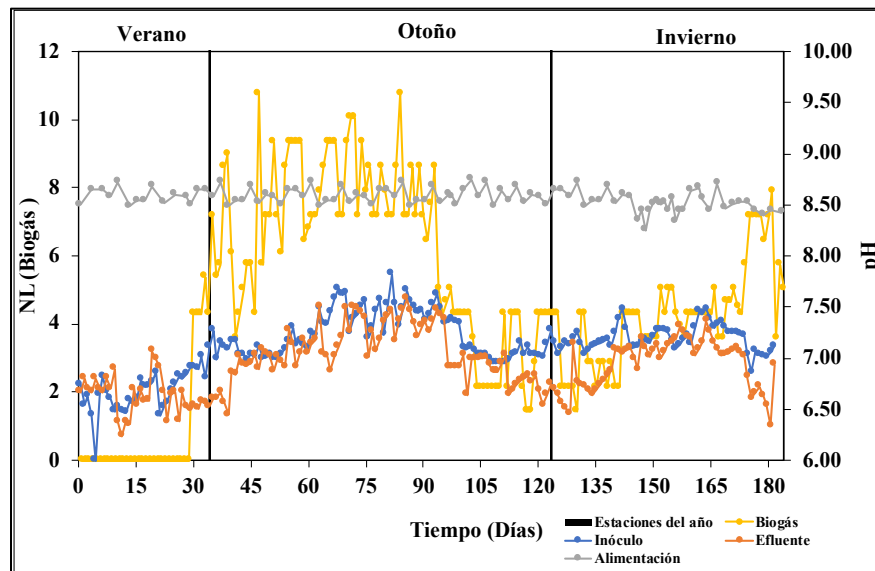


Figura 10. Remoción de SV en el sistema

#### 4.1.4. Comportamiento del pH y la conductividad

El pH (Figura 11) del sistema en la etapa de adaptación, en el inóculo en promedio fue de  $6.63 \pm 0.17$ , en el efluente de  $6.64 \pm 0.19$ , valores dentro del recomendado (Jacuinde., 2017; Alanís., 2017), y en la alimentación al tener el pretratamiento químico mantuvo un pH constante de  $8.59 \pm 0.07$ , después de iniciar la producción de biogás del día 31 al 184, el pH del inóculo fue de  $7.18 \pm 0.22$ , en el efluente de  $6.94 \pm 0.30$  dentro de los valores que favorecen la DA (Jacuinde., 2017; Rojas y cols., 2023), y de la alimentación  $8.52 \pm 0.1$ , en general el pH se mantuvo dentro de los valores que favorecen el proceso anaerobio (Rojas y cols., 2023).



**Figura 11.** Comportamiento del pH

La conductividad (Figura 12), cuantifica de manera indirecta los ácidos orgánicos disociados (Alanís.,2017; Ogata y cols., 2016), en el proceso de adaptación, en el inóculo, efluente y alimentación en promedio la conductividad fue de  $5.73 \pm 1.2$ ;  $5.86 \pm 1.2$ ;  $10.24 \pm 12.93 \text{ mScm}^{-1}$ , respectivamente, donde se mantuvieron dentro de los valores recomendados por Alanís en el 2017 ( $4 - 10 \text{ mScm}^{-1}$ ), en la producción de biogás (del día 31 al 184) la conductividad del inóculo incremento a  $11.68 \pm 2.52 \text{ mScm}^{-1}$  en promedio, en el efluente fue de  $16.80 \pm 3.89 \text{ mScm}^{-1}$  y en la alimentación fue de  $8.83 \pm 4.0 \text{ mScm}^{-1}$ , este aumento significativo, probablemente se debe a que en el sistema aumento la cantidad de ácidos orgánicos disociados, productos de la degradación de la materia orgánica a condiciones anóxicas (Alanís.,2017; Ogata y cols., 2016).

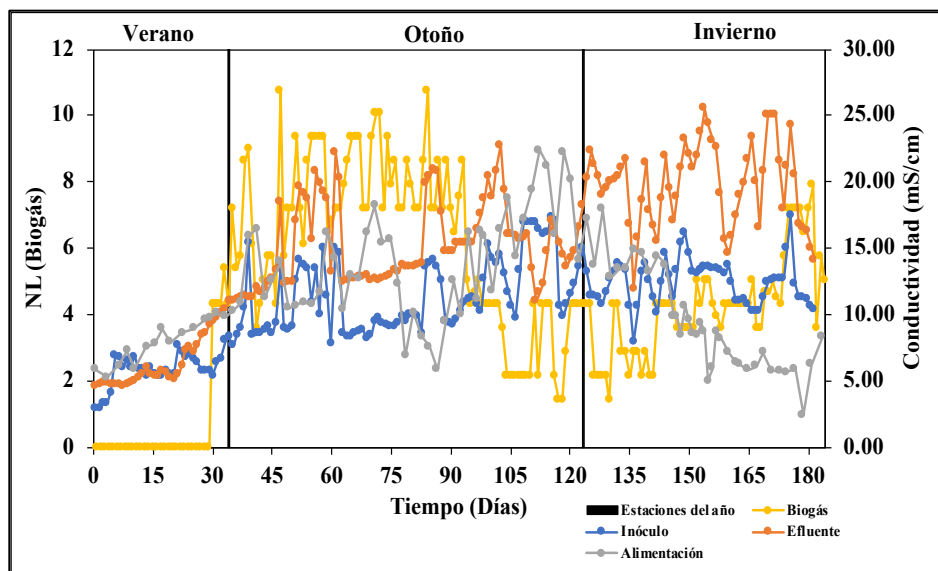
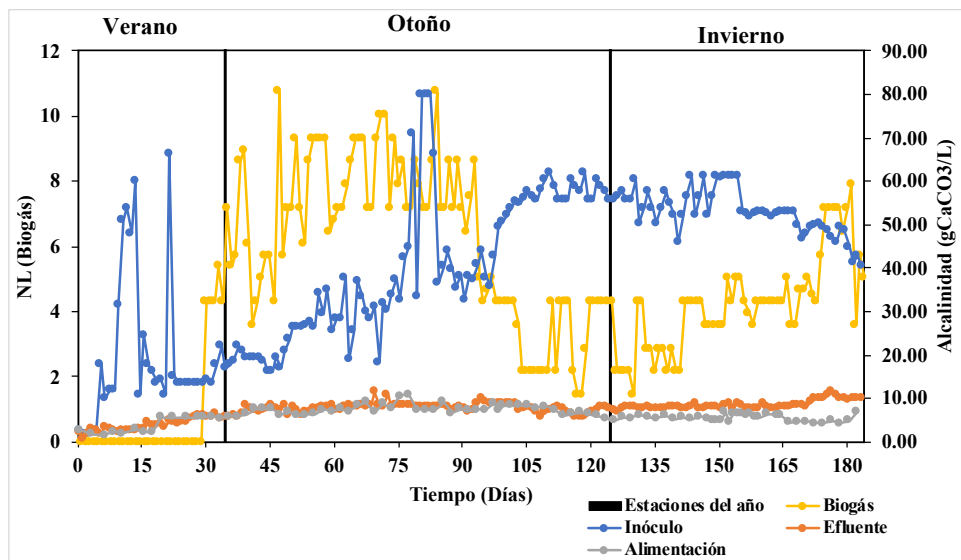


Figura 12.- Comportamiento la conductividad

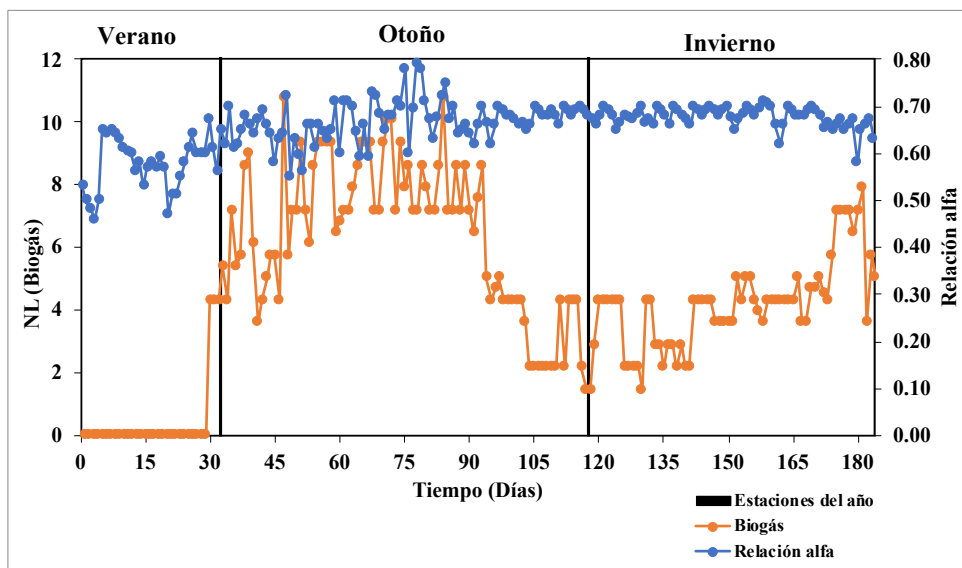
#### 4.1.5. Comportamiento de la alcalinidad y la relación alfa

La alcalinidad (Figura 13) en la DA, representa la capacidad de neutralizar la acidez [3,6], la literatura recomienda trabajar dentro de los siguientes intervalos  $1.2 \text{ gCaCO}_3\text{L}^{-1}$  a  $5.0 \text{ gCaCO}_3\text{L}^{-1}$  (Jacuinde., 2017; Rojas y cols., 2023), en el proceso de adaptación (30 días) la alcalinidad del inóculo fue de  $19.7 \pm 17.4 \text{ gCaCO}_3\text{L}^{-1}$ , valor por superior de lo recomendado [3], en el efluente y la alimentación los valores en promedio fueron de  $3.59 \pm 1.31$  y  $3.54 \pm 1.67 \text{ gCaCO}_3\text{L}^{-1}$ , respectivamente, los cuales están dentro de lo recomendado, posteriormente en el día 31 al 184 la alcalinidad promedio del inóculo fue de  $44.30 \pm 4.3 \text{ gCaCO}_3\text{L}^{-1}$  valores que no están dentro de lo recomendado (García.,2012; Alanis.,2017) lo cual se le atribuye a la adición de CaO, en el efluente fue de  $8.12 \pm 1.15 \text{ gCaCO}_3\text{L}^{-1}$  y en la alimentación de  $5.86 \pm 1.25 \text{ gCaCO}_3\text{L}^{-1}$ , valores dentro de lo recomendado (García.,2012; Alanis.,2017).



**Figura 13.-** Comportamiento de la alcalinidad

La relación alfa es una relación de alcalinidades relacionada con el amortiguamiento de los cambios de pH en el sistema (Jenkins., 1983), en el proceso de adaptación en promedio la relación alfa fue de  $0.57 \pm 0.05$ , valor dentro de lo recomendado, y después del día 31 a los 184 la relación se mantuvo en  $0.66 \pm 0.03$  lo que indica que el sistema tenía la capacidad de amortiguar cambios de pH (Figura 14).



**Figura 14.** Comportamiento de la relación alfa

#### 4.1.6. Producción de biogás y rendimiento

La producción del biogás comenzó después de 30 días de adaptación (Figura 15), en los primeros 90 días se obtuvo una producción en promedio de  $8.65 \pm 3.4$  NL, con una concentración de  $64.83 \pm 0.02\%$  de  $\text{CH}_4$  y un rendimiento de  $242.6 \pm 88.64$   $\text{NmL}_{\text{Biogás}}\text{gSV}^{-1}$ , y en los 64 días restantes la producción en promedio fue de  $6.13 \pm 2.2$  NL, con una concentración de  $64.38 \pm 0.02\%$  de  $\text{CH}_4$  y un rendimiento de  $130.93 \pm 47.33$   $\text{NmL}_{\text{Biogás}}\text{gSV}^{-1}$ . Se encontró que la producción de biogás fue favorecida por los pretratamientos y el uso del digestato.

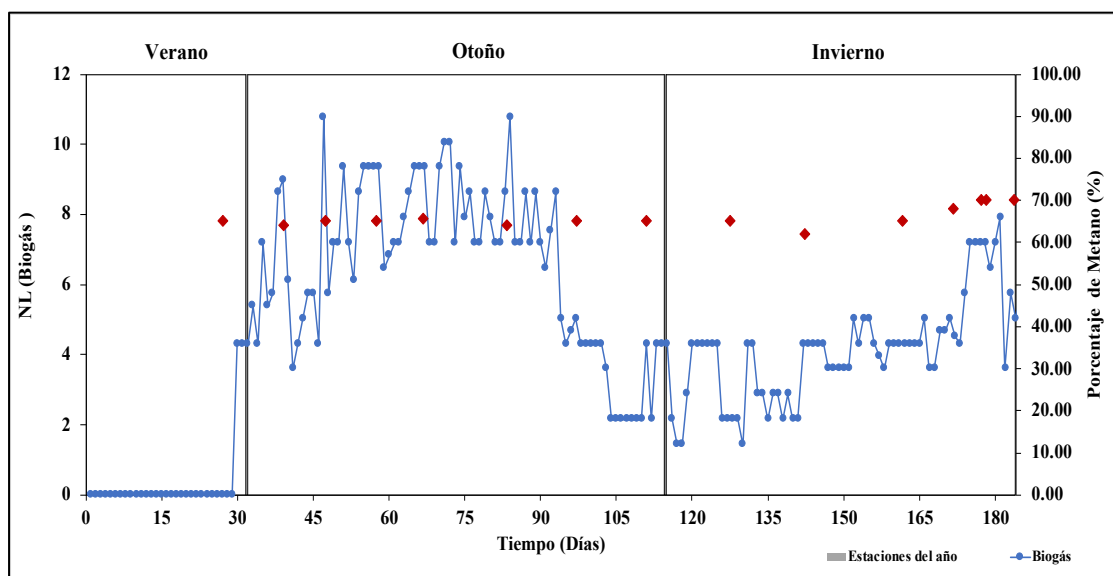


Figura 15. Porcentaje de  $\text{CH}_4$  en el biogás

**4.2. Etapa 2** Evaluación de la producción de  $\text{CH}_4$  a partir de la combinación de pretratamientos y la co-digestión con el residuo del proceso de nixtamalización y la aplicación de la combinación de los pretratamientos (Sandoval y *co*s., 2022).

##### 4.2.1. Caracterización del residuo OFI (sustrato), residuo del proceso de nixtamalización (cosustrato) e inóculo

Como se muestra en la Tabla 7, el pH en el residuo del nopal fue de  $4.34 \pm 0.01$  el cual afecta a la etapa de metanogénesis por ser ácido provoca que los microorganismos pasen a la fase latente o muerte (Jacuinde., 2017), el pH del nejayo por otra parte fue alcalino de  $10.5 \pm 0.01$ , este pH podría afectar a la etapa de acetogénica al provocar que

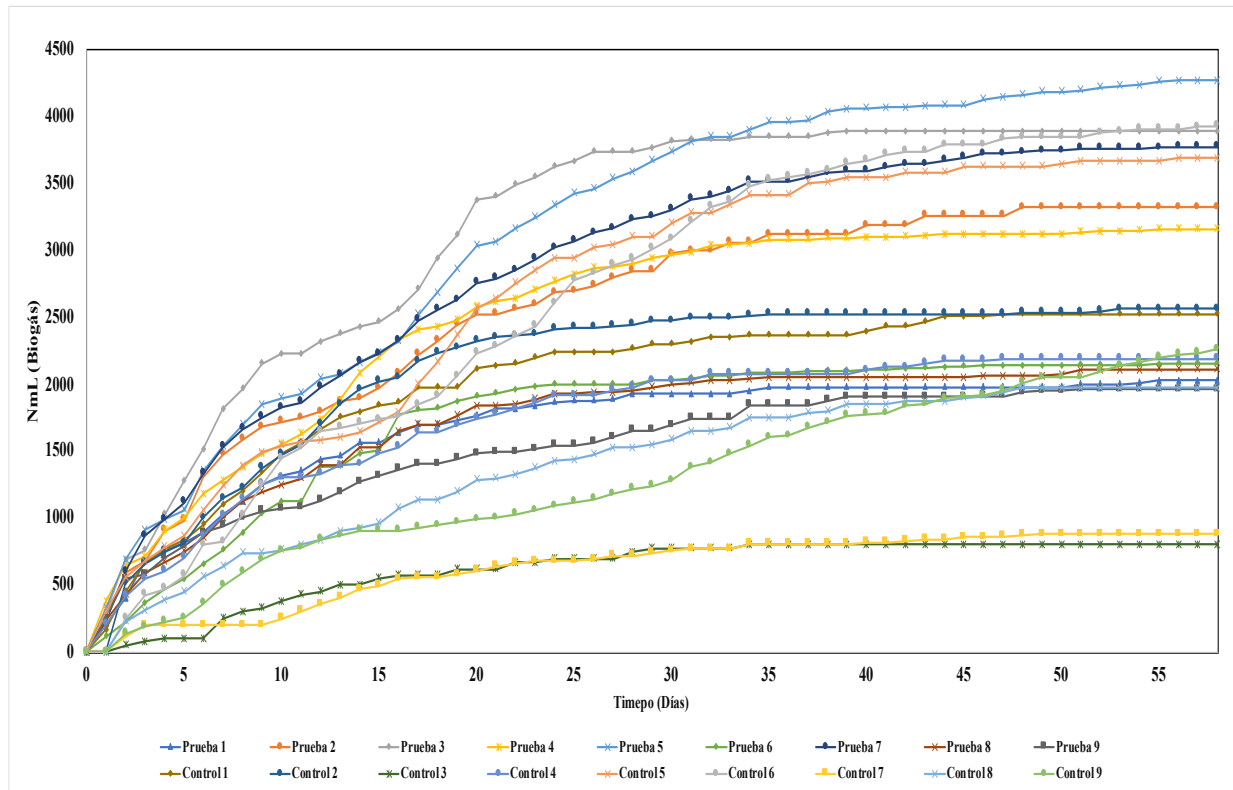
los microorganismos pasen a la fase latente o muerte (Alanis., 2017). La concentración de la materia orgánica medida como SVT en el residuo fue de  $80.83 \pm 0.00$  que representa el 79.51 % de los ST de  $101.66 \pm 0.03$ , parámetro que se considera adecuado para el proceso de la DA (Holliger y cols., 2016), y con respecto a la concentración del nejayote La concentración de la materia orgánica medida como SV en el residuo fue de  $27.19 \pm 0.00 \text{ g L}^{-1}$  que representa el 76.11 % de los ST de  $35.71 \pm 0.02 \text{ g L}^{-1}$ , parámetro que se considera adecuado para el proceso de la DA (Deepanraj B y cols., 2017).

**Tabla 7.** Caracterización del residuo OFI, de nixtamalización e inóculo

Parámetro	Residuo OFI	Residuo de nixtamalización	Inóculo
ST ( $\text{g L}^{-1}$ )	$101.66 \pm 0.03$	$35.71 \pm 0.02$	$52.65 \pm 0.01$
STV ( $\text{g L}^{-1}$ )	$80.83 \pm 0.00$	$27.19 \pm 0.00$	$19.15 \pm 0.00$
pH	$4.34 \pm 0.01$	$12.09 \pm 0.02$	$7.1 \pm 0.005$

#### 4.2.2. Producción de Biogás y evaluación del incremento de $\text{CH}_4$

En la Figura 16 se muestra el volumen acumulado de la producción de biogás en NmL durante los 58 días que duraron los ensayos BMP, de acuerdo con lo establecido por Holliger *et al.*, 2020 (detener la prueba al disminuir la tasa de producción de biogás por tres días consecutivos menor al 1%); de forma general se observa que la producción de biogás en todas las pruebas fue prácticamente inmediata, debido a que las 24 horas se tuvo biogás acumulado en el recipiente de almacenamiento. El comportamiento del volumen acumulado de biogás es atribuible a las condiciones que se generaron por la combinación de los pretratamientos y la co-digestión con el residuo de nixtamalización. De forma particular la prueba con la relación residuo OFI/Nixtamalización a 100 mL/100 mL, y pretratamiento térmico a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  y la relación de 300 mL de la mezcla de los residuos y 100mL de inóculo (prueba 5 con 4,273 NmL de biogás) obtuvo la mayor producción de biogás.



**Figura 16.** Producción de biogás a partir de la codigestión y pretratamientos

De los resultados obtenidos se observó que la prueba 5 (1:1 v/v, R/M (300 mL/100 mL, 50 °C ) generó la mayor producción de biogás con un volumen final de 4,273 NmL (Figura 1), y con un porcentaje de CH<sub>4</sub> del 61.5%, con rendimiento de 308.15 NmL<sub>biogás</sub>/gSV y 189.5 NmL<sub>CH<sub>4</sub></sub>/gSV. El incremento de los NmL de metano de la prueba 5 con respecto a al testigo 6 (nopal) fue de 201.68%, y con el testigo 9 (nejayo) fue de 256.4%.

**Etap 3** Evaluación de la mejor combinación de factores y co-digestión del ensayo *BMP* en un reactor anaerobio a escala piloto (donde se evaluará la remoción del residuo, concentración de CH<sub>4</sub> en el biogás).

#### 4.3.1. Enriquecimiento de un inóculo anaerobio con excretas de ganado vacuno

El enriquecimiento de un inóculo anaerobio con excretas de ganado vacuno es un proceso utilizado en la digestión anaerobia, que consiste en mejorar la actividad microbiana del inóculo mediante la adición de estiércol u excrementos de ganado vacuno. Estos materiales orgánicos son ricos en microorganismos anaerobios, como bacterias y arqueas metanogénicas, que son fundamentales para la degradación de la materia orgánica y la producción de biogás, principalmente metano.

#### 4.3.1.1. Caracterización de las excretas de ganado vacuno e inóculo

En la Tabla 17, se presentan los valores de la caracterización del inóculo y de las excretas de ganado vacuno antes del proceso de enriquecimiento. En lo que respecta al inóculo se observa que el pH, la alcalinidad y la relación  $\alpha$ , son inferiores a los valores recomendados para anaerobiosis, de 6.5 a 8.5, 12,000 mgCaCO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup> y 0.5 respectivamente (Alanís, 2017) por lo que se infiere que los consorcios microbianos no tendrían las condiciones favorables para su desarrollo fisiológico (Jacuinde, 2018). Por otra parte, las excretas de ganado vacuno, se observa que presentan valores recomendados para el proceso anaerobio, al tener un pH de 7.7, la alcalinidad de 7,000 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> (Palomares Rodríguez, 2013; Alanís, 2017).

**Tabla 8.** Caracterización de las excretas y del inóculo.

Parámetro	Excretas de ganado Vacuno	Inóculo
ST (mgL <sup>-1</sup> )	186,350±00.5	39,050±00.5
SV (mgL <sup>-1</sup> )	142,300±00.8	24,450±00.3
SS (mgL <sup>-1</sup> )	97,600±00.8	34300±00.61
SSV (mgL <sup>-1</sup> )	75,550±00.5	20050±00.2
SDT (mgL <sup>-1</sup> )	88,750±00.1	4,750±00.2
Conductividad (mS cm <sup>-1</sup> )	0.112±00.4	1.699±00.1
Alcalinidad (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	7000	1000
pH	7.7±00.1	5.79±00.2
Relación $\alpha$	--	0.44
Relación de SV/ST		0.62

#### 4.3.1.2. Comportamiento de pH

Durante la etapa de enriquecimiento, el pH (Figura 17) de la alimentación se mantuvo en el intervalo de 8 a 9, se observa una respuesta favorable del alimento con el inóculo debido al incremento del pH en el inóculo de 5.79 a 7.11, parte de la adaptación del inóculo a las condiciones anaerobias (Jacuinde., 2018), en el día 7 el pH descendió hasta 6.37, esto debido a la posible producción de ácidos grasos volátiles Agv's (Alanís, 2017); a partir del día 9 al 21 el pH, tuvo un comportamiento con tendencia a la neutralidad con un valor de  $6.93 \pm 0.02$  (García, 2012), valores que muestran la posible adaptación de los microorganismos anaerobios; desde el día 22 hasta el 32 el pH se mantuvo en un valor del orden de 7, condición que indica que se encuentra estabilizado (Quintanar-Orozco y cols., 2018 ).

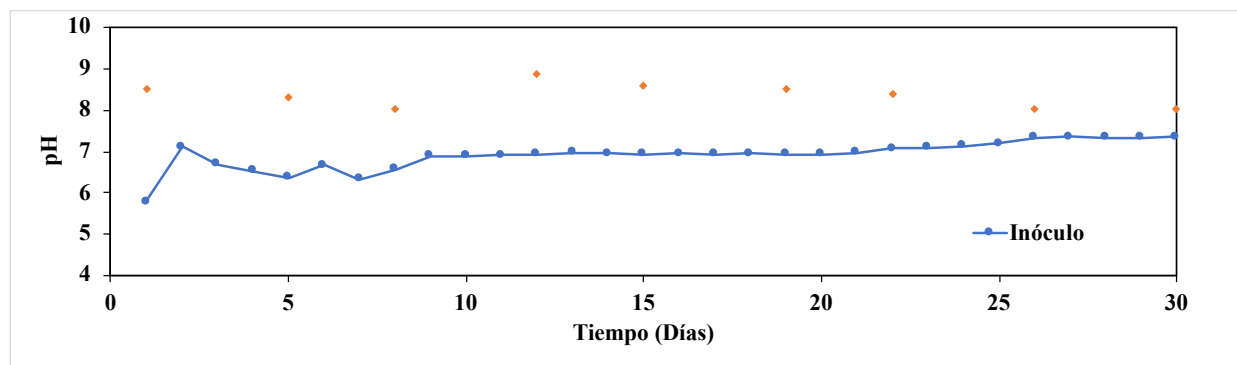
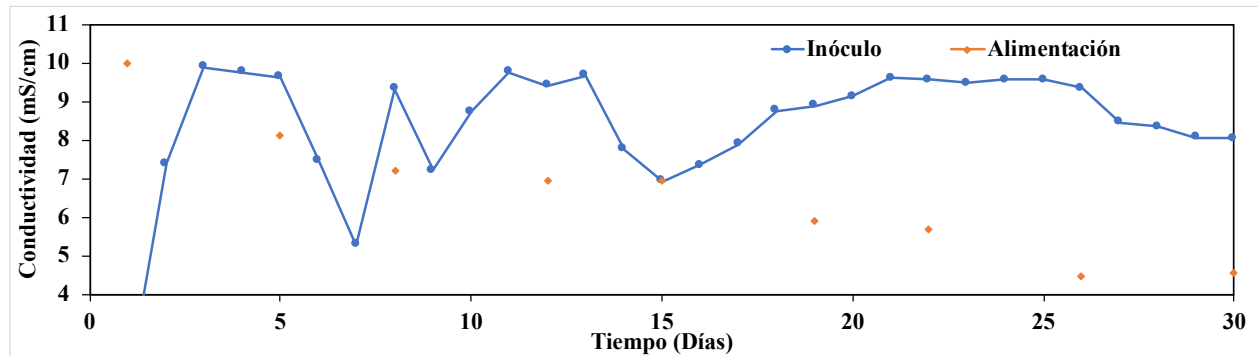


Figura 17. Comportamiento del pH

#### 4.3.1.3 Comportamiento de la conductividad eléctrica

La conductividad (Figura 18) de la alimentación presentó una que disminución en la etapa de enriquecimiento, en un inicio se mantuvo en valores en promedio de  $8.43 \pm 1.0$  mS/cm, y posteriormente de  $5.74 \pm 0.9$  mS/cm, atribuible al consumo de los sólidos disueltos (Sandoval, 2020). La conductividad inicial del inóculo aerobio fue de 1.699 mS/cm, con un incremento en el día 2 hasta  $7.38 \pm 0.01$  mS/cm atribuido a la adición de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , mostrando un comportamiento de incremento y disminución con valores máximo de  $9.72 \pm 0.01$  mS/cm y mínimo de  $5.29 \pm 0.01$  mS/cm en el periodo del día dos al día 21, ocasionado por la variación en la alimentación y disociación y consumo de

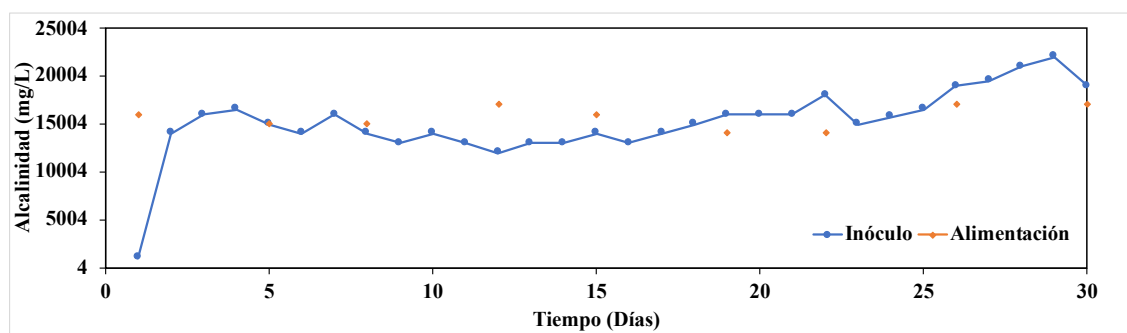
Agv's (Ogata y cols., 2016) , a partir del día 22 se observó un periodo de parcial estabilización por el desarrollo de la etapa metanogénica (Sandoval, 2020).



**Figura 18.** Comportamiento de la conductividad

#### 4.3.1.4 Comportamiento de la Alcalinidad

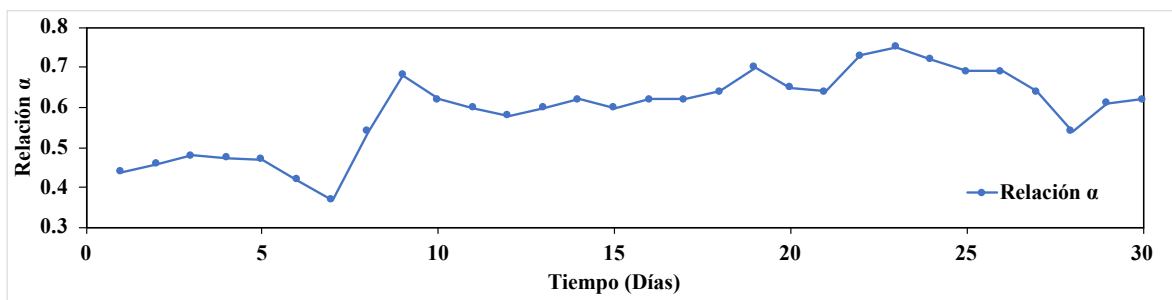
La alcalinidad (Figura 19 ), en el proceso de enriquecimiento de las excretas de ganado vacuno pretratado (Alimentación) se mantuvo en  $14,100 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  en promedio, valor recomendado por la literatura para un proceso anaerobio (Alanís y cols., 2017), en el inóculo inicialmente contaba con una alcalinidad de  $1000 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ , valor por debajo de lo recomendado (Sayavedra, 2021); sin embargo, posteriormente la alcalinidad incrementó hasta obtener en promedio una alcalinidad de  $15,476 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  valores dentro de lo recomendado (García, 2012).



**Figura 19.** Comportamiento de la alcalinidad.

#### 4.2.6 Comportamiento de la Relación $\alpha$

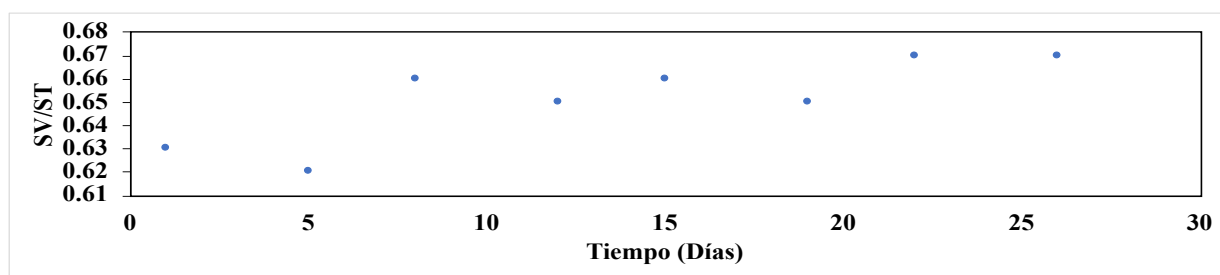
La relación  $\alpha$  en el proceso de enriquecimiento (Figura 20), en los primeros siete días presentó una relación  $\alpha$  en promedio de  $0.44 \pm 0.03$ ; valor por debajo de lo recomendado, sin embargo; en el día ocho mantuvo valores superiores a 0.5, valores que indican que el inóculo podría tener un equilibrio entre la capacidad amortiguadora de los carbonatos y bicarbonatos e hidróxidos con los ácidos grasos generados en el proceso (Jenkins, 1983).



**Figura 20.** Comportamiento de la relación  $\alpha$

#### 4.3.1.5. Relación de sólidos

La relación de los sólidos (SV/ST) muestra de manera indirecta el contenido de biomasa activa en el inóculo; en la figura 30 se muestra los resultados, la relación se mantuvo dentro de los valores recomendados por García en el 2012, lo que muestra que se tiene un inóculo enriquecido para el inicio de un proceso anaerobio.



**Figura 21.** Comportamiento de la relación de SV/ST

En el proceso de enriquecimiento del inóculo, las variables control, se mantuvieron dentro de los valores recomendados en un periodo de 30 días, el pH de 7, la alcalinidad superior  $1200 \text{ mgL}^{-1}$ , una relación  $\alpha$  superior a 0.5, y la relación de SV/ST en 0.65

(Camacho y cols., 2017; Sayavedra, 2021), condiciones que favorecen la DA (Jacuinde, 2018).

## 5. Conclusiones y Aportaciones

### 5.1. Conclusiones

En la presente investigación se estudio la combinación de pretratamientos sobre el residuo OFI y la codigestión del residuo OFI con el residuo de nixtamalización, para lograr un control de un sistema anaerobio semicontinuo, así como la producción de metano, también se evaluo la codigestión del residuo OFI con el residuo de nixtamalización

- Los pretratamientos combinados tuvieron un impacto positivo en la producción y calidad del biogás, manteniendo el porcentaje de metano dentro del 55-75 %, por lo que estos permitieron una mayor disponibilidad del sustrato en el sistema semicontinuo.
- La producción inicial de biogás se registró en un promedio de 4.9 NmL, con un contenido de metano (CH<sub>4</sub>) del 55 al 65 %. Sin embargo, observamos un aumento significativo posteriormente, alcanzando un valor de 14.08 NmL. Estos resultados confirman la viabilidad del sustrato en estas condiciones para la producción tanto de biogás como de metano.
- Con respecto a la codigestión y la combinación de pretratamientos evaluados en la prueba *BMP* fue un referente importante para establecer la disponibilidad del sustrato y cosustrato que permitió obtener un rendimiento de metano de 189 NmL/g del sustrato consumido respecto al sustrato y cosustrato.
- De la caracterización fisicoquímica y los parámetros de viabilidad del inóculo (sin adaptación al sustrato), los cuales se mantuvo dentro de los intervalos favorables comparados con literatura, por lo cual se generaron las condiciones favorables para llevar acabo la digestión anaerobia.
- De los parámetros fisicoquímicos obtenidos en la caracterización del sustrato (tales como pH, alcalinidad y DQO), se encontró que no fue viable para llevar a cabo la digestión anaerobia directa en el caso del residuo OFI; atribuido probablemente a que estos parámetros se encontraron fuera de los intervalos recomendados en el literatura. El residuo de nixtamalización fue un cosustrato que mejoró los parametros como pH, alcalinidad.

- De acuerdo a los resultados del monitoreo de pH, alcalinidad, conductividad, relación  $\alpha$  y la relación de SV/ST, se observó que es posible adaptar un inóculo aerobio a un inóculo anaerobio y enriquecerlo en un tiempo de 30 días, cuando se alimenta con excretas de ganado vacuno, pretratado con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , control de la concentración de sólidos, tamizado y control de temperatura, debido a que los valores de la caracterización final del inóculo, se encontraron dentro de los parámetros recomendados para la digestión anaerobia.

## **5.2. Aportaciones**

- La línea de investigación es ingeniería química aplicada en la obtención de la energía alternativa que sea amigable con el ambiente.
- Aprovechamiento de residuos sólidos agrícolas como el nopal y líquidos nejayote para la generación de biogás por su valor agregado.
- El diseño, construcción, así como el control y operación favorable de un prototipo de reactor anaerobio.
- Desarrollo de conocimiento en el área de energía alternativa y tecnológico.

## **5.3 Perspectivas**

- Generación de un análisis de ciclo de vida para evaluar los impactos ambientales asociados con el proceso y el equilibrio energético de la producción.

## Referencias

1. Alanís Silva, Edgar Daniel, Evaluación técnico económica de generación de biogás por digestión anaerobia a partir de residuos sólidos orgánicos generados en una industria restaurantera (Tesis de maestría) Recuperada de <http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx> (2017-09).2017
2. Amasuomo, E., & Baird, J. (2016). The concept of waste and waste management. *J. Mgmt. & Sustainability*, 6, 88. <https://doi.org/10.5539/jms.v6n4p88>
3. Bella, K., & Rao, P. V. (2021). Anaerobic digestion of dairy wastewater: Effect of different parameters and co-digestion options—A review. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-26.
4. Casas-Godoy, L., & Barrera-Martínez, I. (2021) Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de cuatro residuos agroindustriales sometidos a diferentes tratamientos.
5. Cremonez, P. A., Teleken, J. G., Meier, T. R. W., & Alves, H. J. (2021). Two-Stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: A review. *Journal of Environmental Management*, 281, 111854. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111854>
6. Cruz I. R. (2015). Producción de biogás en sustrato sólido mediante la digestión anaerobia de pulpa de café. Xalapa, Veracruz, México.
7. Deepanraj B, Sivasubramanian V, Jayaraj S Multi-response optimization of process parameters in biogas production from food waste using Taguchi – Grey relational analysis. *Energy Conversion and Management*, 141 429– 438.(2017). <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2016.12.013>
8. Demirbas, A. (2009). Progress and recent trends in biodiesel fuels. *Energy Conversion and Management*, 50(1), 14-34. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2008.09.001>
9. Di Bella, G., Vecchio, G. L., Albergamo, A., Nava, V., Bartolomeo, G., Macrì, A., ... & Potortì, A. G. (2022). Chemical characterization of Sicilian dried nopal [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 106, 104307. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104307>
10. Díaz-Montes, E., Rodríguez-Romero, V.M. & Arzola-Rodríguez, S.I. Effect of Primary By-Product (Nejayote) of the Nixtamalization on Fungal Growth. *Waste Biomass Valor* 14, 1157–1168 (2023). <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01932-5>
11. Fernández Suárez, R., Morales Chávez, L. A., y Gálvez Mariscal, A. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional: Una revisión indispensable. *Revista fitotecnía mexicana*, 36, 275-283.
12. García Castillo Carmen Cecilia, Evaluación de la capacidad de remoción de materia orgánica de las aguas residuales de los rastros en un reactor UASB. (Tesis de maestría) Recuperada de <http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx> (2012-02), 2012.

13. Ghosh, S., Chowdhury, R., & Bhattacharya, P. (2017). Sustainability of cereal straws for the fermentative production of second generation biofuels: A review of the efficiency and economics of biochemical pretreatment processes. *Applied Energy*, 198, 284-298.
14. Gnansounou, E., & Dauriat, A. (2010). Life cycle assessment of biofuels: Energy and greenhouse gas balances. *Bioresource Technology*, 101(13), 4754-4761.
15. Holliger C, Alves M, Andrade D, Angelidaki I, Astals S, Baier U, Bougrier C, Buffière P, Carballa M, et al. Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science & Technology*, 74 (11), 2515–2522, (2016). <https://doi.org/10.2166/wst.2016.336>.
16. Jacuinde Ruiz, Julio Cesar, Determinación del tamaño de gránulo en función del tiempo de envejecimiento del lodo anaerobio en un reactor UASB (Tesis de maestría) Recuperada de <http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx> (2018-02), 2018.
17. Jenkins SR, Morgan JM, Sawyer CL, Measuring anaerobic sludge digestion and growth by simple alkalimetric titration. *J Water Pollution Control Fed* 55(5):448–453. 6703998. 1983.
18. Karthikeyan, O. P., & Visvanathan, C. (2013). Bio-energy recovery from high-solid organic substrates by dry anaerobic bio-conversion processes: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 12, 257-284.
19. Kasinath, A., Fudala-Ksiazek, S., Szopinska, M., Bylinski, H., Artichowicz, W., Remiszewska-Skwarek, A., & Luczkiewicz, A. (2021). Biomass in biogas production: Pretreatment and co-digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 150, 111509. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111509>
20. Knothe, G. (2008). "Designer" biodiesel: Optimizing fatty ester composition to improve fuel properties. *Energy & Fuels*, 22(2), 1358-1364.
21. Kovalev, A. A., Kovalev, D. A., Nozhevnikova, A. N., Zhuravleva, E. A., Katraeva, I. V., Grigoriev, V. S., & Litt, Y. V, Effect of low digestate recirculation ratio on biofuel and bioenergy recovery in a two-stage anaerobic digestion process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(80), 39688-39699.2021.
22. Laiq Ur Rehman, M., Iqbal, A., Chang, C. C., Li, W., & Ju, M. (2019). Anaerobic digestion. *Water Environment Research*, 91(10), 1253-1271. <https://doi.org/10.1002/wer.1219>
23. Lyu, Z., Shao, N., Akinyemi, T., & Whitman, W. B. (2018). Methanogenesis. *Current Biology*, 28(13), R727–R732.
24. Medina N; Millán C; Lizardi J; Rascon C; Marquez E; López M, (2009) Maize Processing Wastewater Arabinoxylans: Gelling Capability and Cross-Linking Content. *Food Chemistry*. 115, 1286-1290.
25. Mirmohamadsadeghi, S., Karimi, K., Tabatabaei, M., & Aghbashlo, M. (2019). Biogas production from food wastes: A review on recent developments and future perspectives. *Bioresource Technology Reports*, 7, 100202.

26. Mosquera, J., Varela, L., Santis, A., Villamizar, S., Acevedo, P., Cabeza, I., 2020. Improving anaerobic co-digestion of different residual biomass sources readily available in Colombia by process parameters optimization. *Biomass Bioenergy* 142, 105790.
27. Ogata, Y; Ishigaki, T; Nakagawa, M & Yamada, M, Effect of increasing salinity on biogas production in waste landfills with leachate recirculation: A lab-scale model study. *Biotechnology Reports*, 10, 111–116. 2016
28. Rojas-González, A. F., Flórez-Montes, C., & López-Rodríguez, D. F. (2019). Prospectivas de aprovechamiento de algunos residuos agroindustriales. *Revista Cubana de Química*, 31(1), 31-52.
29. Rojas, I. S., Cortés, J. A., & del Carmen Chávez Parga, M. Influence of Combined Mechanical, Chemical, and Thermal Pretreatment Methods and Concentration Control on Biomethane Production from *Opuntia ficus-indica* Waste. *BioEnergy Research*, 1-13. 2022.
30. Rosentrater K A, A Review of Corn Masa Processing Residues: Generation, Properties, And Potential Utilization. *Waste Management*. 26, 284-292, 2006.
31. Sadh, P. K., Duhan, S., & Duhan, J. S. (2018). Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. *Bioresources and Bioprocessing*, 5(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0187-z>.
32. Saha, S., Basak, B., Hwang, J. H., Salama, E. S., Chatterjee, P. K., & Jeon, B. H. (2020). Microbial symbiosis: a network towards biomethanation. *Trends in microbiology*, 28(12), 968-984. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.03.012>
33. Sanabria, H.A.M., Gaviria, L. M. A (2017) Digestión anaerobia en dos fases de los residuos de cebolla blanca (*Allium cepa*) y desarrollo de un modelo lineal adaptativo predictivo (Recuperado del CICY. [Repositorio insirtucional.mx](http://repositorioinsirtucional.mx))
34. Sandoval Rojas, I. (2020). Evaluación de la combinación de pretratamientos mecánico, químico, térmico y carga orgánica, a partir del sustrato *Opuntia ficus indica* en la producción de biogás.
35. SEMARNAT. 2016 (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales)
36. Velazco M; Angulo O; Vazquez C D L; Arroyo L A; Monroy R J A, Effect of Dried Solids Of Nejayote Of Broiler Growth. *Poultry Science*. 76, 1531-1534, 1997. Sáenz C. (2006). Utilización agroindustrial del nopal. Roma: FAO.
37. Wagner, T., Watanabe, T., & Shima, S. (2018). Hydrogenotrophic Methanogenesis. In A. Stams & D. Sousa (Eds.), *Biogenesis of hydrocarbons*. Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology (pp. 1–29). Cham, Switzerland: Springer.
38. Wang, B., Dong, F., Chen, M., Zhu, J., Tan, J., Fu, X., & Chen, S, Advances in recycling and utilization of agricultural wastes in China: Based on environmental risk, crucial pathways, influencing factors, policy mechanism. *Procedia environmental sciences*, 31, 12-17. 2016.
39. White, P. R., Franke, M., & Hindle, P. (1995). *Integrated Solid Waste Management: A Lifecycle Inventory*. Berlin: Springer

- 
40. Yang L, Lu M, Carl S, Mayer J.A, Cushman J.C, Tian E, Lin H, Biomass characterization of Agave and Opuntia as potential biofuel feedstocks. *Biomass and Bioenergy*. 76 43–53. 2015
  41. Yap, S. D., Astals, S., Lu, Y., Peces, M., Jensen, P. D., Batstone, D. J., & Tait, S. (2018). Humic acid inhibition of hydrolysis and methanogenesis with different anaerobic inocula. *Waste Management*, 80, 130-136.
  42. Yildiz I. (2018). Fossil Fuels. Elsevier Inc. All rights reserved, 521-567.
  43. Collins, B. A., Birzer, C. H., Harris, P. W., Kidd, S. P., McCabe, B. K., & Medwell, P. R. (2023). Two-phase anaerobic digestion in leach bed reactors coupled to anaerobic filters: A review and the potential of biochar filters. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 175, 113187.
  44. Jimenez, J., Latrille, E., Harmand, J., Robles, A., Ferrer, J., Gaida, D., ... & Steyer, J. P. (2015). Instrumentation and control of anaerobic digestion processes: a review and some research challenges. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 14, 615-648.
  45. Van, D. P., Fujiwara, T., Tho, B. L., Toan, P. P. S., & Minh, G. H. (2020). A review of anaerobic digestion systems for biodegradable waste: Configurations, operating parameters, and current trends. *Environmental Engineering Research*, 25(1), 1-17.
  46. Dias, M. O., Junqueira, T. L., Cavalett, O., Pavanello, L. G., & Cunha, M. P. (2010). Biorefineries for the production of first and second generation ethanol and electricity from sugarcane. *Applied Energy*, 87(3), 349-352.
  47. Taherzadeh, M. J., & Karimi, K. (2008). Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(9), 1621-1651.
  48. Kainthola J, Kalamdhad A, Goud V. (2019) A review on enhanced biogas production from anaerobic digestion of lignocellulosic biomass by different enhancement techniques. *Process Biochemistry*, 94:81-90.
  49. Yua Q, Liua R, Lia K, Maa. (2019). A review of crop straw pretreatment methods for biogas production by anaerobic digestion in China, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 107: 51- 58.
  50. Demirel, B., & Scherer, P. (2008). The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: A review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 7(2), 173-190.
  51. Zhang, Y., Banks, C. J., & Heaven, S. (2014). Co-digestion of food waste and sewage sludge: Effects of food waste particle size and organic loading rate. *Bioresource Technology*, 151, 159-164.
  52. Mata-Alvarez, J., Macé, S., & Lladrés, P. (2014). Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology*, 99(23), 9393-9403. doi:10.1016/j.biortech.2008.01.061.
  53. Gutiérrez U J A; Rojas G C; García L S; Serna S O (2010), Phytochemical Analysis of Wastewater (Nejayote) Obtained After Lime-Cooking of Different Types of Maize Kernels Processed into Masa for Tortillas. *Journal Of Cereal Science*. 52, 410-416.