



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

POSGRADO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA Y USO INTEGRAL DEL AGUA

“POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO DE TRES VARIEDADES DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica* Mill.) EN CO-DIGESTIÓN CON ESTIÉRCOL BOVINO”

TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA Y USO
INTEGRAL DEL AGUA**

PRESENTA:

CHRISTELL BARRALES FERNÁNDEZ

Director: Dr. Teodoro Espinosa Solares

Asesor: Dr. Guadalupe Hernández Eugenio

Asesor: Dr. Nagamani Balagurusamy



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
ORICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

CHAPINGO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, octubre de 2017.

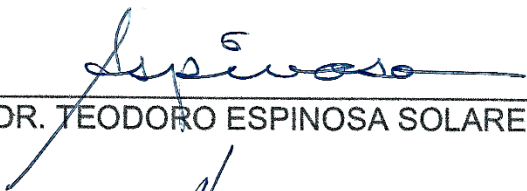


POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO DE TRES VARIEDADES DE NOPAL (*Opuntia ficus-indica* Mill.) EN CO-DIGESTIÓN CON ESTIÉRCOL BOVINO

Tesis realizada por Christell Barrales Fernández, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA Y USO INTEGRAL DEL AGUA

DIRECTOR:


DR. TEODORO ESPINOSA SOLARES

ASESOR:


DRA. GUADALUPE HERNÁNDEZ EUGENIO

ASESOR:


DR. NAGAMANI BALAGURUSAMY

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento para realizar los estudios de maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Posgrado de Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua, por su apoyo en la formación académica.

Al doctor Teodoro Espinosa Solares, por haberme brindado su confianza, conocimientos y paciencia para mi formación profesional y personalmente.

A mis asesores por compartir sus conocimientos, experiencias y apoyo incondicional.

A todas las personas que estuvieron a mi lado durante mi formación como maestra, en especial a mis compañeros y amigos del Laboratorio de Bioprocesos.

A mi familia, por su fe, amor, paciencia y su apoyo durante toda la vida.

A mi Dios por haberme permitido vivir este hermoso momento de esta vida.

DATOS BIOGRÁFICOS



Christell Barrales Fernández nació el día 25 de septiembre de 1988, en la ciudad de Perote, Veracruz, México. Hija biológica de Benjamín Barrales Caamaño y Guadalupe Fernández Vázquez.

Realizó su preparación secundaria en la Escuela Secundaria Técnica No.6, en el área de procesos alimentarios. Su educación preparatoria la realizó en el Centro de Bachillerato Tecnológico agropecuario No. 86, como técnico en informática agropecuaria.

Se preparó para docente en el Instituto Veracruzano de Educación Superior del Estado de Veracruz, en el año 2006 al 2009. Se especializó en ingeniero en industrias alimentarias en el Instituto Tecnológico Superior de Perote, del año 2009 al 2014.

Finalmente, en el año 2015, ingresó en el programa de posgrado de Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua de la Universidad Autónoma Chapingo

Contenido

Índice de Cuadros	VI
Índice de Ecuaciones	VII
Índice de Figuras	VIII
CAPÍTULO 1. Introducción General	1
1.1. Introducción	1
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivo General	3
1.2.2. Objetivos Específicos	3
CAPÍTULO 2. Revisión de literatura	4
2.1. Digestión anaeróbica	4
2.1.1. Fases de la digestión anaeróbica	5
2.1.2. Factores operacionales y químicos	13
2.2. Co-digestión anaeróbica	16
2.3. Propiedades del nopal	18
2.4. Propiedades del estiércol bovino	18
2.5. Potencial bioquímico de metano	19
2.6 Referencias bibliográficas	23
CAPÍTULO 3. Potencial bioquímico de metano de tres variedades de nopal (<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill.) en co-digestión con estiércol bovino	32
3.1. Resumen gráfico	32
3.2. Resumen	33
3.3. Abstract	34
3.4. Introducción	35

3.5. Materiales y Métodos.....	39
3.5.1. Análisis experimental	39
3.5.2. Métodos analíticos	40
3.5.3. Potencial bioquímico de metano teórico	41
3.5.4. Ensayo del potencial bioquímico de metano	42
3.5.5. Modelado de la cinética.....	42
3.5.6. Análisis estadístico.....	43
3.6. Resultados y Discusión	43
3.6.1. Caracterización química de los tratamientos	43
3.6.2. Producción de biogás.....	44
3.6.3. Potencial bioquímico de metano teórico	47
3.6.4. Potencial bioquímico de metano	48
3.7. Conclusiones	57
3.8. Referencias bibliográficas.....	58
CAPÍTULO 4. Conclusiones y Recomendaciones	64
4.1. Conclusiones	64
4.2. Recomendaciones	66

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Principales géneros microbianos relacionados al proceso de digestión anaeróbica	11
Cuadro 2. Ensayos de potencial bioquímico de metano, de co-digestión anaeróbica	21
Cuadro 3. Composición química de nopal (<i>Opuntia ficus</i>)	37
Cuadro 4. Composición química del estiércol bovino	38
Cuadro 5. Composición química de los sustratos.....	39
Cuadro 6. Composición química de los tratamientos	40
Cuadro 7. Características químicas al final del proceso de digestión	43
Cuadro 8. Determinaciones del modelo de Boyle.....	47
Cuadro 9. Parámetros calculados del modelo modificado de Gompertz	50

Índice de Ecuaciones

Ec 1	6
Ec 2	7
Ec 3	8
Ec 4	10
Ec 5	10
Ec 6	10
Ec 7	10
Ec 8	10
Ec 9	10
Ec 10.....	41
Ec 11.....	42
Ec 12.....	42
Ec 13.....	42
Ec 14.....	42

Índice de Figuras

Figura 1. Resumen gráfico.	32
Figura 2. Producción acumulada de biogás; (a) tratamiento de nopal-estiércol [75:25] y (b) tratamiento de nopal-estiércol [82:18].	45
Figura 3. Producción de metano (a, b) y acumulado (c, d).	46
Figura 4. Producción acumulada de metano y perfil de ácidos grasos volátiles por tratamiento durante el proceso de digestión anaeróbica.	49
Figura 5. Relación de C/N vs Producción de metano acumulada.	52
Figura 6. Análisis de Componentes principales de los parámetros iniciales (i) y finales (f) de los tratamientos.	53
Figura 7. Análisis de componentes principales del perfil de ácidos grasos volátiles.	54
Figura 8. Cambios en la concentración de acetato, propionato, iso-butirato y butirato en la digestión anaeróbica.	56

POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO DE TRES VARIEDADES DE NOPAL
(*Opuntia ficus-indica* Mill.) EN CO-DIGESTIÓN CON ESTIÉRCOL BOVINO
BIOCHEMICAL METHANE POTENTIAL OF THREE VARIETIES OF NOPAL
(*Opuntia ficus-indica* Mill.) IN CO-DIGESTION WITH COW MANURE

Barrales-Fernández, Christell; Espinosa-Solares, Teodoro; Hernández-Eugenio, Guadalupe;
Balagurusamy, Nagamani

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el potencial bioquímico de metano de la co-digestión anaeróbica de nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill.) en las variedades Atlixco, Copena V1 y Milpa Alta, con estiércol bovino. Para ello se emplearon dos proporciones de sustratos 75:25 y 82:18 (% v/v; nopal-estiércol bovino), en digestores por lotes, bajo condiciones mesofílicas. De acuerdo con la modificación al modelo de Gompertz, se obtuvieron potenciales bioquímicos de metano de entre 53.0 y 68.0 mL N-CH₄ g⁻¹_{SV alim}. La tasa máxima de producción de metano (μ_m) varió de 1.2 a 2.2 mL N-CH₄ g⁻¹_{SV alim} d⁻¹, con una fase de latencia (λ) entre 12.4 y 29.9 d. Los índices de biodegradabilidad oscilan de 19.1 y 23.3 %. La variedad la variedad Atlixco, en la proporción 82:18 tuvo el menor potencial bioquímico de metano (41.5 mL N-CH₄ g⁻¹_{SV alim}). Mientras que la variedad Copena V1 obtuvo un potencial bioquímico de metano de 66.5 mL N-CH₄ g⁻¹_{SV alim}, en la proporción 82:18, con mejores resultados que la proporción 75:25. La variedad Milpa Alta, en la proporción 75:25, obtuvo el mejor potencial bioquímico de metano (71.4 mL N-CH₄ g⁻¹_{SV alim}) del estudio, con una biodegradabilidad del 33.5%.

Palabras clave: PBM, modelo Gompertz, biodegradabilidad, Atlixco, Copena, Milpa Alta.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the biochemical methane potential of the anaerobic co-digestion of nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill), using the varieties Atlixco, Copena V1 and Milpa Alta, with cow manure. Two feedstock ratios 75:25 and 82:18 (% v/v; nopal-cow manure), were used in batch digesters, under mesophilic conditions. According to the modified Gompertz model, was obtained biochemical methane potentials of between 53.0 and 68.0 mL N-CH₄ g⁻¹_{SV fed} were used. The maximum methane production rate (μ_m) ranged from 1.2 to 2.2 mL N-CH₄ g⁻¹_{SV fed} d⁻¹, with a lag time (λ) of between 12.4 and 29.9 d. Biodegradability index ranged between 19.1 and 23.3 %. The Atlixco variety, at the 82:18 ratio, had the lowest biochemical methane potential (41.5 mL N-CH₄ g⁻¹_{SV fed}), while, Copena V1 variety obtained a biochemical methane potential of 66.5 mL N-CH₄ g⁻¹_{SV alim}, at the 82:18 ratio, with better results than the 75:25 ratio. The Milpa Alta variety obtained the best biochemical methane potential (71.4 mL N-CH₄ g⁻¹_{SV fed}) at the 75:25 ratio, on this study, with biodegradability index of 33.5%.

Keywords: BMP, Gompertz model, biodegradability, Atlixco, Copena, Milpa Alta.

CAPÍTULO 1. Introducción General

1.1. Introducción

El tratamiento de residuos orgánicos se ha vuelto una alternativa para la generación de energía renovable, una opción para el tratamiento de dichos residuos es la digestión anaeróbica, que se define como el proceso biológico de descomposición de la materia en ausencia de oxígeno, este proceso se desarrolla en cuatro fases denominadas hidrólisis, fermentación o acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, en cada una de las etapas intervienen microorganismos específicos que descomponen la materia para producir biogás y biomasa como productos finales; el biogás es producido por los metanógenos, ya que son los encargados de convertir los productos de las etapas previas, como el acetato e hidrógeno (El-Mashad and Zhang, 2010; Khalid *et al.*, 2011; Mata-Alvarez *et al.*, 2014; Adelard *et al.*, 2015; Osborne *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017).

Se denomina co-digestión anaeróbica al conjunto de dos sustratos o más para la generación de biogás, generalmente se utilizan sustratos de origen vegetal, como residuos de frutas y verduras, residuos de maíz, arroz, trigo, residuos de alimentos, en conjunto con residuos de origen animal, como estiércol de bovino, cerdo, pollo entre otros; esto con la finalidad de mejorar el rendimiento de los reactores, puesto que complementa las características de los sustratos y mejora la relación C/N, teniendo como resultado el incremento en la producción de metano y el aprovechamiento de la materia (Garcia-Peña *et al.*, 2011; Labatut *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2011; Mata-Alvarez *et al.*, 2014; Montañés *et al.*, 2014; Adelard *et al.*, 2015; Patil and Deshmukh, 2016; Provenzano *et al.*, 2016).

El nopal es una planta que se utiliza comercialmente para consumo humano y para alimentación animal en temporada de sequía, debido a su capacidad de adaptación a climas con altas temperaturas y con poca agua, es ampliamente cultivado en varios países como México, Chile, Brasil, entre otras, sus propiedades químicas permiten que se emplee como alternativa para la co-digestión anaeróbica, se han realizado estudios donde se realiza co-digestión con estiércol bovino, y se ve incrementado el rendimiento de metano que si se utilizara una mono-digestión

(Solís, 2015; Yang *et al.*, 2015; Belay, 2016; do Nascimento Santos *et al.*, 2016; Prieto-García *et al.*, 2016; Provenzano *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2016; Barazarte *et al.*, 2017; Udeh and Erkurt, 2017).

Para poder evaluar el rendimiento de las diferentes tipos de mezclas que se pueden utilizar empleando co-sustratos, se realizan pruebas Batch en volúmenes pequeños, donde se monitorea a los reactores para determinar los rendimientos de los mismos, este tipo de pruebas se denominan pruebas de potencial bioquímico de metano, y simulan el proceso de digestión para obtener una visión general del comportamiento de los sustratos y se pueda aplicar a diferentes tipos de escalas (El-Mashad and Zhang, 2010; Donoso-Bravo *et al.*, 2011; Labatut *et al.*, 2011; Raposo *et al.*, 2011; Cabbai *et al.*, 2013; De Vrieze *et al.*, 2015; Solís, 2015).

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Evaluar el potencial bioquímico de metano de la co-digestión anaeróbica de nopal-estiércol, de tres variedades de nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill.) bajo condiciones mesofílicas.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Determinar los valores teóricos de potencial bioquímico de metano de la co-digestión de nopal-estiércol de las variedades evaluadas.
- Evaluar el potencial bioquímico de metano experimental, a través de la producción acumulada de metano, explicada con el modelo modificado de Gompertz.

CAPÍTULO 2. Revisión de literatura

2.1. Digestión anaeróbica

La digestión anaeróbica es una tecnología bioquímica para el tratamiento de residuos orgánicos. En el proceso se descompone la materia orgánica en ausencia de oxígeno por la acción microbiana. De dicho proceso se obtiene biogás, compuesto principalmente por metano (60% - 70%) y dióxido de carbono (30 – 45%), con trazas de sulfuro de hidrógeno (0-1%), hidrógeno (0-1%), monóxido de carbono (0-2%), nitrógeno amoniacal (0-1%), oxígeno (0-2%) y agua (2-7%). La digestión anaeróbica se utiliza para la co-generación de energía eléctrica y calor (Olvera, 2007; Cassie *et al.*, 2010; El-Mashad and Zhang, 2010; Krakat *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2010; Garcia-Peña *et al.*, 2011; Labatut *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Patil *et al.*, 2011; Sasaki *et al.*, 2011; Torres Lozada and Pérez, 2012; Ho *et al.*, 2013; Ali Shah *et al.*, 2014; Mata-Alvarez *et al.*, 2014; Montañés *et al.*, 2014; Chen and He, 2015; De Vrieze *et al.*, 2015; Jain *et al.*, 2015; Sun, 2015; Sun *et al.*, 2015; Belay, 2016; do Nascimento Santos *et al.*, 2016; Moestedt *et al.*, 2016). Existen diversos procesos para llevar a cabo la digestión anaeróbica, los cuales se diferencian por: i) el sistema (lote o continuo), ii) temperatura de operación (psicrofílico, mesofílico y termofílico), iii) diseño del reactor (flujo de enchufe, completamente mezclado, lagunas cubiertas) y, iv) el estado materia orgánica (sólido o líquido) (Li *et al.*, 2011; Ho *et al.*, 2014).

Para la producción de biogás, la materia orgánica pasa por cuatro etapas de digestión. La primera etapa se denomina hidrólisis, en donde los complejos orgánicos, como proteínas, lípidos y carbohidratos, se reducen a moléculas simples solubles (aminoácidos, ácidos grasos de cadena corta y azúcares) por la acción de las enzimas extracelulares. En una segunda etapa, las bacterias fermentativas reducen estos compuestos a ácidos grasos de cadena corta, dióxido de carbono, hidrógeno y ácido acético. Durante la tercera etapa, denominada acetogénesis, las bacterias convierten los ácidos orgánicos en acetato, dióxido de carbono e hidrógeno, los cuales son directamente consumidos por los microorganismos metanogénicos, cuarta etapa, y convirtiéndolos en metano (Olvera, 2007; Amani *et al.*, 2010; Cassie *et al.*, 2010; Donoso-Bravo *et al.*, 2011; Feng *et al.*, 2011; Li *et al.*,

2011; Torres Lozada and Pérez, 2012; Li *et al.*, 2013; Yenigün and Demirel, 2013; Rani *et al.*, 2014; Jain *et al.*, 2015; Sun, 2015; Sun *et al.*, 2015; Belay, 2016; Wang *et al.*, 2016).

Los reactores donde se lleva a cabo la digestión anaeróbica pueden ser de dos tipos, lote y continuo. Los digestores en lotes son de una o dos etapas, se coloca el sustrato y se deja digerir, una vez terminado el proceso se saca el efluente, o parte de él y se repite el proceso; se emplean para pequeños volúmenes. Por otra parte, los digestores continuos, son continuamente alimentados con el sustrato, y también se extrae continuamente el efluente, usualmente utilizados para grandes volúmenes de trabajo (Olvera, 2007; Cassie *et al.*, 2010; Khalid *et al.*, 2011). Se distinguen tres tipos de digestores continuos, de tanque vertical, tanque horizontal y plug-flow (Cassie *et al.*, 2010).

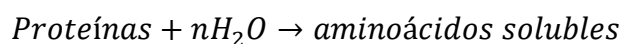
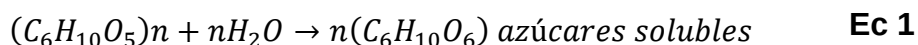
2.1.1. Fases de la digestión anaeróbica

El material orgánico en su mayoría es reducido en ácidos orgánicos, a través de la fermentación, que posteriormente es convertido en biogás por medio de la metanogénesis. Dependiendo de la función que tengan los microorganismos en la digestión anaeróbica, éstos pueden ser clasificados como hidrolíticos, fermentativos, acetogénicos y metanogénicos (Krakat *et al.*, 2010; Almeida *et al.*, 2011; Khalid *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Jain *et al.*, 2015). La evolución de la ecología microbiana de la digestión anaeróbica, permite determinar los microorganismos que intervienen en la misma, sus características y su abundancia (Zhang *et al.*, 2011; Chen and He, 2015).

La digestión anaeróbica es un proceso microbiológico, y es por ello que también es importante evaluar las características y abundancia de las poblaciones microbianas que intervienen en el proceso, y de ser posible su participación en las etapas. En un digestor anaeróbico se pueden encontrar bacterias sacarolíticas ($\sim 10^8$ células mL^{-1}), bacterias proteolíticas ($\sim 10^6$ células mL^{-1}), bacterias lipolíticas ($\sim 10^5$ células mL^{-1}) y metanógenos ($\sim 10^8$ células mL^{-1}) (Amani *et al.*, 2010; Abram *et al.*, 2011; Feng *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011).

a) Hidrólisis

La hidrólisis del material orgánico, es el primer paso de la digestión anaeróbica. Se define como la solubilización de los componentes orgánicos como la celulosa (**Ec. (1)**) y demás componentes coloides, como las proteínas (**Ec. (1)**). La descomposición biológica es llevada a cabo por hidrolasas, las cuales rompen los enlaces específicos para obtener polímeros más pequeños. Durante ésta fase, se genera la mayor cantidad de energía del proceso. La hidrólisis es crucial para el proceso de digestión, pues es la determinante de la eficiente conversión de la biomasa. A partir de la hidrólisis se obtienen los carbohidratos, proteínas y lípidos necesarios para el proceso de digestión anaeróbica. Los microorganismos son pH-dependientes, por lo que la actividad metanogénica se ve limitada, debido a la acumulación de los ácidos grasos volátiles, que decrecen el pH (Gerardi, 2003; Olvera, 2007; Cassie *et al.*, 2010; Almeida *et al.*, 2011; Garcia-Peña *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Torres Lozada and Pérez, 2012; Ali Shah *et al.*, 2014; Ho *et al.*, 2014; Belay, 2016). La digestión anaeróbica de desechos orgánicos municipales y de la agricultura, ricos en celulosa, son hidrolizados por la acción de las bacterias celulolíticas (**Ec. (1)**), dependiendo del tipo de sustrato. La hidrólisis puede ser la más activa de todo el consorcio de la digestión anaeróbica, y en algunas ocasiones la catálisis puede tardar en llevarse a cabo (**Cuadro 1**) (Amani *et al.*, 2010; Abbasi *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011).

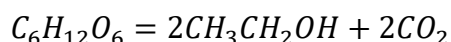
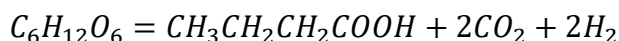
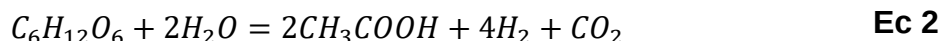


Garcia-Peña *et al.* (2011) mencionan que los microorganismos que se encargan de la actividad proteolítica de la carne, residuos de plantas, polisacáridos de plantas son *Bacteroidetes*, *Prevotella* y *Bacterioides*, respectivamente; éstos últimos atacan específicamente sobre los enlaces 1,4 α -glucosídicos de los polisacáridos. Estos microorganismos también son mencionados por Abbasi *et al.* (2012). Por otra parte, Almeida *et al.* (2011) mencionan que para que los componentes lignocelulósicos puedan ser degradados es necesario que actúen enzimas tipo celulasas, las cuales pueden actuar como endonucleasas y exonucleasas, las primeras se encargan de

romper los enlaces 1,4-β glucosídicos internos del polímero de celulosa, mientras que las segundas rompen los enlaces 1,4-β glucosídicos de los polímeros reducidos por las endocelulasas.

b) Fermentación o acidogénesis

Los productos de la hidrólisis son consumidos por las bacterias fermentativas, que son anaeróbicas obligadas y facultativas (**Cuadro 1**). Éstas generan compuestos intermedios como lo son los ácidos grasos volátiles (fórmico, acético, propiónico, butírico, pentanoico), dióxido de carbono, hidrógeno gaseoso y alcoholes (metanol, etanol). Este proceso se observa para glucosa en la **Ec. (2)** (Gerardi, 2003; Olvera, 2007; Cassie *et al.*, 2010; Abbasi *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Ali Shah *et al.*, 2014; Wagner *et al.*, 2014). Estas bacterias son más abundantes en comparación con los metanógenos, son capaces de sobrevivir a condiciones extremas, como pH bajo y altas temperaturas (Amani *et al.*, 2010; Sasaki *et al.*, 2011).



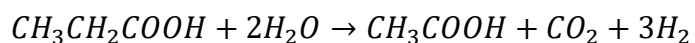
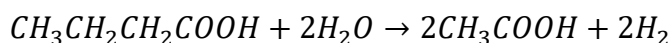
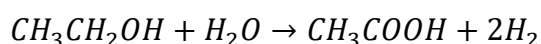
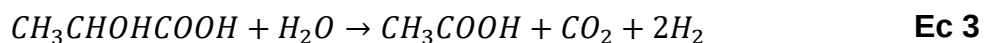
Las bacterias fermentativas utilizan las rutas catabólicas de polisacáridos, aminoácidos y glicerol para producir glucosa. La glucosa es transformada en piruvato mediante la glucólisis y sigue su camino hacia una de las rutas de la fermentación alcohólica, láctica y acética (Almeida *et al.*, 2011). Las bacterias *Firmicutes*, son las principales responsables de la fermentación por la vía sintrófica de los sustratos (García-Peña *et al.*, 2011; Cardinali-Rezende *et al.*, 2012; Abendroth *et al.*, 2015). En los digestores alimentados con estiércol bovino se puede encontrar abundancia de microorganismos fermentativos tales como *Eubacterium cellulosolvens*, *Clostridium cellulosolvens*, *Clostridium cellulovarns* y *Bacterioides cellulosolvens* (Almeida *et al.*, 2011; Abendroth *et al.*, 2015).

c) Acetogénesis

Las bacterias acetogénicas o acetógenos (**Cuadro 1**), son los principales productores del dióxido de carbono y el acetato, provenientes de la fermentación. Se denominan como hidrógeno-obligados porque consumen el hidrógeno generado. También son los responsables de convertir los ácidos grasos volátiles y alcoholes en acetato, H₂, formatos y CO₂ (**Ec. (3)**) por lo que están estrechamente ligados con los metanógenos (Gerardi, 2003; Olvera, 2007; Amani *et al.*, 2010; Cassie *et al.*, 2010; Abbasi *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Schiel-Bengelsdorf and Dürre, 2012; Torres Lozada and Pérez, 2012; Ali Shah *et al.*, 2014; Montañés *et al.*, 2014; Wagner *et al.*, 2014; Ács *et al.*, 2015; Belay, 2016).

La acetogénesis se puede llevar a cabo por dos principales mecanismos: acetogénesis por hidrogenación y acetogénesis por deshidrogenación. La acetogénesis por hidrogenación consiste en la producción de acetato por la reducción del CO₂ e hidrógeno. Mientras que en la acetogénesis por deshidrogenación, las bacterias forman acetato a partir del hidrógeno y dióxido de carbono por la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga y corta, la cual es la más común en el proceso de digestión anaeróbica (Almeida *et al.*, 2011; Ali Shah *et al.*, 2014; Belay, 2016)

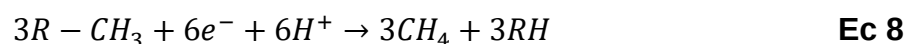
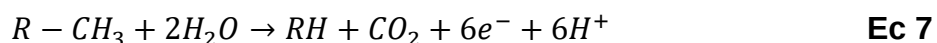
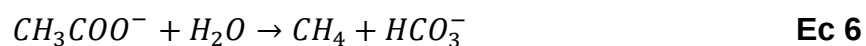
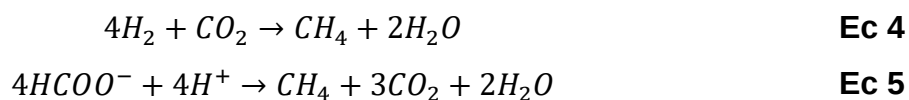
Abbasi *et al.* (2012), mencionan que los cambios químicos que ocurren en esta etapa y que se observan también en la **Ec. (3)**, donde los carbohidratos son transformados para obtener acetato, dióxido de carbono e H₂, donde participan microorganismos del tipo *Desulfovibrio*, *Syntrophobacter woltnii*, *Syntrophomonas*.



d) Metanogénesis

La metanogénesis es la etapa final del proceso, donde el biogás se forma a partir de los productos provenientes de la acetogénesis. El biogás está principalmente formado por metano y dióxido de carbono (Olvera, 2007; Amani *et al.*, 2010; Cassie *et al.*, 2010; Ali Shah *et al.*, 2014; Ho *et al.*, 2014; Belay, 2016). Se denomina metanogénesis a la producción biológica de metano, a partir de la digestión anaeróbica, mediante la acción de microorganismos del dominio de las *Archaea*. El acetato es la clave para la formación de metano, puesto que es el intermediario limitante para que el proceso se pueda llevar a cabo. Se describen tres rutas metanogénicas principales: reducción del dióxido de carbono (hidrogenotrófica), fermentación del acetato (acetoclástica) y dismutación del metanol y metilaminas (metilotrófica). Independientemente del tipo de ruta que tome, se convierte el grupo metil a metano. El origen del grupo metil es variable, algunas especies son capaces de reducir el dióxido de carbono con hidrógeno o formatos. Otro medio es la utilización del monóxido de carbono y unos pocos alcoholes de cadena corta como reductores (Gerardi, 2003; Lessner, 2009; Almeida *et al.*, 2011; Ho *et al.*, 2013; Montañés *et al.*, 2014).

La ruta metanogénica de la reducción del dióxido de carbono, consiste en la reducción del dióxido de carbono a un grupo metil con los electrones derivados de la oxidación del hidrógeno o formatos (**Ec. (4) y Ec. (5)**). Por su parte, en la ruta de la fermentación del acetato, el grupo metil proviene del acetato y el grupo carbonil por la oxidación del dióxido de carbono (**Ec. (6)**). La ruta de la dismutación del metanol y metilaminas, consiste en la conversión del metanol a metilaminas y posteriormente a metano y dióxido de carbono (**Ec. (9)**), la dismutación ocurre cuando una primer molécula del sustrato, que contiene el grupo metil es oxidada a dióxido de carbono (**Ec. (7)**). A partir de los electrones que quedan de esta reacción se pueden reducir los grupos metil de las otras tres moléculas de los sustratos (**Ec. (8) y Ec. (9)**) a metano (Gerardi, 2003; Lessner, 2009; Abbasi *et al.*, 2011; Khalid *et al.*, 2011; Abbasi *et al.*, 2012; Ho *et al.*, 2013; Montañés *et al.*, 2014; Chen and He, 2015; Belay, 2016; Ziganshin *et al.*, 2016).



Dónde $R = -SH, -OH, -NH_2, -NHCH_3, -N(CH_3)_2, -N(CH_3)_3^+$

Los metanógenos comprenden los órdenes de *Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobiales* y *Methanopyrales*; estas especies son reductores obligados del dióxido de carbono. Por su parte, los *Methanosarcinales*, donde se incluyen los géneros *Methanosarcina* y *Methanosaeta*, adquieren el grupo metil directamente de los sustratos metilotróficos, como el acetato, metanol o metilaminas, con la reducción del dióxido de carbono (Gerardi, 2003; Lessner, 2009; Krakat *et al.*, 2010; Khalid *et al.*, 2011; Cardinali-Rezende *et al.*, 2012; Ali Shah *et al.*, 2014; Chen and He, 2015; Ziganshin *et al.*, 2016).

En un estudio realizado por Garcia-Peña *et al.* (2011), donde emplearon residuos de frutas y vegetales en co-digestión con estiércol, encontraron que las especies metanogénicas (**Cuadro 1**) están constituidas en una mayor proporción por *Methanobacteriales* (93%); los cuales producen metano por la ruta hidrogenotrófica. Mientras que los géneros dominantes son *Methanosaeta*, *Methanosarcina* y *Methnobacter/Methanobacterium*, los cuales son encargados de producir la mayor parte de metano en el proceso.

Cuadro 1. Principales géneros microbianos relacionados al proceso de digestión anaeróbica

Sustrato	Género	Producto	Referencia
Hidrólisis:			
Celulosa	<i>Cellulomonas, Clostridium, Bacillus, Thermomonospora, Ruminococcus, Bacteriodes, Erwinia, Acetovibrio, Microbiopspora, Streptomyces, Eubacterium</i>	Carbohidratos simples	(Gerardi, 2003; Almeida <i>et al.</i> , 2011; Li <i>et al.</i> , 2011; Sun <i>et al.</i> , 2015)
Proteínas	<i>Clostridium sp, Proteus vulgaris, Peptococcus sp., Bacteroides sp., Bacillus s., Vibrio sp.</i>	Aminoácidos, azúcares	(Amani <i>et al.</i> , 2010)
Carbohidratos	<i>Clostridium sp., Acetivibrio cellulolyticus, Staphylococcus sp., Bacteroides sp.</i>	Azúcares	(Amani <i>et al.</i> , 2010; Ziganshin <i>et al.</i> , 2016)
Lípidos	<i>Clostridium sp., Micrococcus sp.</i>	Ácidos grasos de cadena larga, alcoholes, aminoácidos	(Amani <i>et al.</i> , 2010)
Fermentación			
	<i>Acetobacterium sp., Clostridium, Sporomusa</i>	Acetato, CO ₂	(Garcia-Peña <i>et al.</i> , 2011; Li <i>et al.</i> , 2011; Schiel-Bengelsdorf and Dürre, 2012)
	<i>Saccharomyces</i>	Etanol. CO ₂	(Li <i>et al.</i> , 2011)
	<i>Butyribacterium, Clostridium</i>	Butirato, butanol, isopropanol, etanol, CO ₂	(Li <i>et al.</i> , 2011)
	<i>Lactobacillus, Streptococcus</i>	Ácido láctico, CO ₂	(Garcia-Peña <i>et al.</i> , 2011; Li <i>et al.</i> , 2011)
Ácidos grasos	<i>Clostridium sp.</i>	Propionato, acetato, valerato, iso-valerato, butirato, H ₂ , CO ₂	(Li <i>et al.</i> , 2011; Schiel-Bengelsdorf and Dürre, 2012)
Fermentación			
Aminoácidos	<i>Lactobacillus sp., Eschericia coli</i>	Valerato, iso-valerato, propionato, butirato	(Amani <i>et al.</i> , 2010)
Aminoácidos	<i>Staphylococcus sp., Bacillus sp., Pseudomonas sp., Clostridium sp., Eubacterium limosum</i>	Acetato, H ₂ , ácidos grasos de cadena larga	(Amani <i>et al.</i> , 2010)
Acetogénesis			
Azúcares	<i>Clostridium sp., Zymomonas mobiliz, Eubacterium sp., Eschericia coli, Bifidobacterium sp., Acetobacterium sp.</i>	CO ₂ , H ₂ , formatos, acetato, butirato, etanol, lactato	(Amani <i>et al.</i> , 2010)
Alcoholes	<i>Syntrophomonas wolfei</i>	-	(Amani <i>et al.</i> , 2010)

Cuadro 1. Principales géneros microbianos relacionados al proceso de digestión anaeróbica (Cont.)

Sustrato	Género	Producto	Referencia
Exclusivamente acetogénicos	<i>Acetobacterium, Sporomusa</i>	H ₂	(Almeida <i>et al.</i> , 2011; Li <i>et al.</i> , 2011)
Acetogénico y no-acetogénico	<i>Clostridium, Ruminococcus, Eubacterium</i>	H ₂	(Almeida <i>et al.</i> , 2011; Li <i>et al.</i> , 2011)
Butirato	<i>Syntrophobacter wolinii, S. fumaroxidans</i>	Acetato, H ₂ , CO ₂ , formatos	(Amani <i>et al.</i> , 2010)
Propionato	<i>Syntrophomonas wolfei, Pelotomaculum thermopropionicum, P. schinkii</i>	H ₂ , CO ₂ , formatos	(Amani <i>et al.</i> , 2010)
H ₂ , CO ₂	<i>Smithella propionica, Clostridium acetivum</i>	Butirato, acetato	(Amani <i>et al.</i> , 2010)
Metanogénesis			
	<i>Methanosaeta, Methanosarcina, Methanobacter /Methanobacterium</i>	CH ₄	(Gerardi, 2003; Lessner, 2009; Garcia-Peña <i>et al.</i> , 2011; Ho <i>et al.</i> , 2013; Ziganshin <i>et al.</i> , 2016)
Metanogénesis			
Acetato	<i>Methanotrix soehgenii, Methanosaeta concilii, Methanosarcina acetivorans</i>	CH ₄ , CO ₂	(Amani <i>et al.</i> , 2010)
H ₂ , CO ₂	<i>Methanobacterium bryantii, M. thermoautotrophicum, M. alcaliphilum, Methanobacter arboriphilus, Methanococcus jannaschii, Methanolacinia paynteri, Methanospirillum hungatei, Methanoplanus endosymbiosus, M. olentangyi, Methanothermus fervidus</i>	CH ₄	(Amani <i>et al.</i> , 2010)
Formatos, H ₂ , CO ₂	<i>Methanobacterium formicicum, Methanobrevibacter smithii, M. ruminantium, Methanococcus voltae, M. deltae, M. maripaludis, M. thermolithoautotrophicus, Methanoplanus limicola, Methanogenium cariaci, M. marisnigri, M. olentangyi, M. tatii, M. thermophilicum, M. bourgense, Methanocorpusculum aggregans</i>	CH ₄ , CO ₂	(Amani <i>et al.</i> , 2010; Cardinali-Rezende <i>et al.</i> , 2012)

2.1.2. Factores operacionales y químicos

La digestión anaeróbica es susceptible de fallar si los parámetros como la temperatura, pH, nutrientes, entre otros, no se monitorean y controlan continuamente, a continuación se da una breve descripción de los principales parámetros que influyen en el proceso de digestión anaeróbica (Amani *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2014).

a) Sustratos

Los residuos de alimentos contienen grandes cantidades de compuestos orgánicos solubles, que son convertidos rápidamente en ácidos grasos volátiles. Si éstos se acumulan se puede inhibir la acción de los metanogénicos por la drástica caída del pH en el medio. Los sustratos deben estar correctamente balanceados para que el proceso sea efectivo (García-Peña *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Abbasi *et al.*, 2012; García-Gen *et al.*, 2014).

Otro tipo de residuos a utilizar como sustratos es la fracción orgánica de los residuos sólidos municipales y residuos vegetales. Los residuos vegetales están compuestos principalmente por residuos de alimentos (vegetales y frutas), y residuos de jardín (hierbas u hojas). Los residuos vegetales brindan una alternativa para la generación de biogás por su alto contenido polisacáridos, hemicelulosa (75%), celulosa (9%) y lignina (5%). Dependiendo de la estación del año o del tipo de residuos que contengan, cambian las características del biogás (Amani *et al.*, 2010; García-Peña *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Moestedt *et al.*, 2016).

b) Inóculo

El inóculo es una parte importante en el proceso de digestión anaeróbica, contiene los microorganismos requeridos para el proceso de digestión anaeróbica. Se debe de extraer al momento de utilizarlo de reactores que se encuentren estabilizados. Dependiendo de la fuente del inóculo es como se va a llevar a cabo las actividades metabólicas (Khalid *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Ali Shah *et al.*, 2014). Una concentración de hasta el 30% de inóculo permite una eficiente actividad de las bacterias fermentativas. Una concentración menor, puede afectar el proceso,

acumulando los ácidos grasos volátiles e inhibiendo la metanogénesis. La relación entre el sustrato y el inóculo tiene repercusión sobre la producción de metano y el consumo de los ácidos grasos volátiles. La concentración del inóculo en el medio afecta la duración de la fase de latencia y la susceptibilidad de los microorganismos a efectos inhibitorios (Li *et al.*, 2011; Ali Shah *et al.*, 2014).

c) Temperatura

La temperatura es un factor importante para la actividad de los microorganismos en la digestión anaeróbica. Se distinguen tres ambientes comunes en la digestión anaeróbica, los sistemas psicrófilos, mesófilos y los termófilos; y su diferencia radica en el rango de temperaturas en que se desenvuelven. Los sistemas psicrófilos, emplean temperaturas de 10°C a 30°C, éste sistema no es muy común. Los sistemas mesófilos el rango de temperatura es de 35-40°C. Es un sistema más lento en comparación con el termófilo, observando tiempos de digestión de 15 a 20 días. Requiere un menor costo de energía de operación y equipamiento. Se suele utilizar en la digestión de los sedimentos de las plantas de tratamiento de aguas (Angelidaki *et al.*, 2003; Agler *et al.*, 2010; Amani *et al.*, 2010; Cassie *et al.*, 2010; Khalid *et al.*, 2011; Sasaki *et al.*, 2011; Yenigün and Demirel, 2013; Ali Shah *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014; Mao *et al.*, 2015). Mientras que en los sistemas termófilos trabajan en un rango de temperaturas de 50-60°C, el aumento de la temperatura acelera el proceso y por ende se obtiene una alta producción de biogás. En éste sistema se obtienen resultados en promedio de 3 a 5 días, por lo que se requieren menores volúmenes de trabajo para convertir la misma cantidad de residuos. Tiene una alta eficiencia en la hidrólisis de la materia y elimina patógenos. Entre sus desventajas destacan la desestabilización del proceso, la formación de sustancias tóxicas, principalmente (Angelidaki *et al.*, 2003; Amani *et al.*, 2010; Cassie *et al.*, 2010; Khalid *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Ho *et al.*, 2013; Ali Shah *et al.*, 2014; Labatut *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014; Mao *et al.*, 2015; Belay, 2016).

d) Relación Carbono-Nitrógeno (C/N)

La relación C/N es importante para el proceso de digestión anaeróbica. La alta concentración de nitrógeno en el medio promueve que los ácidos grasos volátiles se acumulen, disminuyendo el pH. Si se tiene una eficiente relación se puede promover un incremento en la producción de metano y un proceso más estable (Khalid *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Abbasi *et al.*, 2012; Yenigün and Demirel, 2013; Labatut *et al.*, 2014; Belay, 2016). Li y col (2011), mencionan que una eficiente relación C/N es entre 20/1 y 30/1, obteniendo mejores resultados es la relación 25/1, para aquellas co-digestiones con residuos sólidos municipales. También se ha reportado que las relaciones de C/N en un rango de 27 a 32 se aumenta la eficiencia de la producción de metano, en relaciones superiores, la concentración de amonio inhibe la actividad metanogénica (Zhang *et al.*, 2014; Mao *et al.*, 2015)

e) pH

El pH es un parámetro de operación de gran importancia para la digestión anaeróbica. Su correcto control durante el proceso permite la proliferación de los microorganismos en las diferentes etapas de la digestión anaeróbica. Los metanógenos son altamente susceptibles a la variación del pH, es por ello que su actividad se ve inhibida en un inicio. La proliferación de los microorganismos fermentativos se ve reflejada en el descenso del pH, estos microorganismos trabajan en ambientes con un rango de pH desde 4.0 a 8.5. Mientras que un pH óptimo para los microorganismos metanogénicos es de entre 7.0–7.2. El decremento del pH en el medio se debe a que los microorganismos fermentativos trabajan más rápidamente, una vez que los metanógenos empiezan a consumir los compuestos disponibles, los ácidos grasos volátiles disminuyen y el pH se estabiliza (Angelidaki *et al.*, 2003; Amani *et al.*, 2010; Garcia-Peña *et al.*, 2011; Abbasi *et al.*, 2012; Yenigün and Demirel, 2013; Montañés *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014; Jain *et al.*, 2015; Mao *et al.*, 2015; Mitchell *et al.*, 2015; Sun, 2015; Belay, 2016).

f) Biogás y Metano

Técnicamente el biogás es el gas producido en la etapa final de la digestión anaeróbica, como producto de la degradación de la materia orgánica. Está compuesto por metano (40-80%), dióxido de carbono (20-40%) y trazas de gases de sulfuro de hidrógeno, amoníaco e hidrógeno. Se denomina biogás porque se puede emplear como combustible y porque se produce de la degradación (anaeróbica o aeróbica) de residuos orgánicos, lo que lo convierte en una fuente de energía renovable (Angelidaki *et al.*, 2003; Cassie *et al.*, 2010; Abbasi *et al.*, 2012; Wagner *et al.*, 2014; Mao *et al.*, 2015).

El metano por su parte, es un gas incoloro, no venenoso, inodoro y flamable. Tiene un peso molecular de 16.04 y está formado por carbón (74.87%) e hidrógeno (25.13%). Se emite como componente del biogás de fuentes antropogénicas, como lo es producción de combustibles fósiles, fermentación de estiércol de animales, agricultura, quema de biomasa y, sistemas de tratamiento de residuos sólidos y líquidos. De fuentes naturales, como lo son lagos, ríos, animales salvajes, fuentes geológicas (Cassie *et al.*, 2010; Abbasi *et al.*, 2012).

g) Nutrientes

Para un óptimo proceso de digestión anaeróbica, los nutrientes que son más utilizados son el Nitrógeno y el Fósforo. También se necesitan en pequeñas cantidades elementos como Cobalto, Hierro, Níquel, Sulfuro, Selenio, Tungsteno, Molibdeno, Bario, Magnesio y Sodio, necesarios para la actividad enzimática y los co-factores en el proceso de la digestión (Amani *et al.*, 2010).

2.2. Co-digestión anaeróbica

La co-digestión anaeróbica se refiere a la combinación de dos o más residuos cuyas características complementan el proceso de digestión anaeróbica aumentando la producción de metano. Pueden ser residuos orgánicos vegetales con otros residuos sólidos o líquidos como lodos activados municipales, residuos animales y biomasa agrícola. La co-digestión se ha convertido en una alternativa viable para el aprovechamiento de estos residuos, porque su combinación ofrece características

complementarias que reducen la presencia de componentes tóxicos. Sin embargo es necesario constituir una fuente natural de nitrógeno para una eficiente relación C/N. Presenta ventajas económicas con la eficiente utilización de los equipos (Agler *et al.*, 2010; El-Mashad and Zhang, 2010; Garcia-Peña *et al.*, 2011; Khalid *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2011; Cabbai *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2013; García-Gen *et al.*, 2014; Mata-Alvarez *et al.*, 2014; Montañés *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014; Shah *et al.*, 2015; Sun, 2015; Wang *et al.*, 2016). La co-digestión bajo condiciones mesofílicas en tanques agitados, promueve un sinergismo positivo entre el estiércol bovino y los nutrientes adicionados de residuos de frutas y vegetales; incrementando de un 20% a un 50% la producción de metano, respecto a los tanques alimentados únicamente con estiércol (El-Mashad and Zhang, 2010). Dependiendo del tipo de sustrato utilizado, se ha reportado que el incremento en la producción de metano puede ser de hasta el 400%. Una co-digestión soporta altas concentraciones de ácidos grasos volátiles, provocando que haya un mejor sinergismo entre los componentes (Shah *et al.*, 2015).

Debido a que la biomasa celulósica es de los compuestos más abundantes en el planeta, se utilizan como alternativa para enriquecer los sustratos para la degradación anaeróbica. Los residuos orgánicos vegetales y de alimentos, generalmente se depositan en vertederos o se incineran. Se ha encontrado que éstos residuos tienen un contenido de sólidos volátiles de alrededor del 80% 90%, y un contenido de agua de 75%-95%, siendo una alternativa viable para su aprovechamiento en la digestión anaeróbica (Garcia-Peña *et al.*, 2011; Khalid *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2011; Cardinali-Rezende *et al.*, 2012; Xia *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2014; Abendroth *et al.*, 2015). Por sí solos, los residuos de alimentos tienen poca estabilidad en el proceso de digestión, debido a la acumulación de ácidos grasos volátiles. Por otra parte, los residuos orgánicos vegetales, son poco estables y tienen poca eficiencia en el proceso de digestión, debido a una baja relación C/N. Al combinar los sustratos de origen animal que complementa el contenido de Nitrógeno faltante, se aumenta el sinergismo de los microorganismos aumentando con ello la producción de metano (Lin *et al.*, 2011; Cabbai *et al.*, 2013; Mata-Alvarez *et al.*, 2014; Montañés *et al.*, 2014).

2.3. Propiedades del nopal

La familia de los cactus comprende alrededor de 2000 especies. El nopal perteneciente a la especie *Opuntia*, se cultiva en México y comprende aproximadamente 100 especies endémicas. Los nopales se cultivan en las regiones semiáridas de México, en el sureste de Estados Unidos, Chile, Brasil, Argelia e Italia principalmente, donde se destina para consumo humano. Sin embargo, debido a sus propiedades de adaptación a diversas condiciones climáticas, se ha encontrado que tiene potencial para utilizarse como biomasa para la producción de biocombustibles. Por su contenido de lignina (9-30%), funciona como material recalcitrante durante la fase de hidrólisis (Gebrekidan *et al.*, 2014; Gasca *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2015; Belay, 2016; do Nascimento Santos *et al.*, 2016; Nharingo and Moyo, 2016; Prieto-García *et al.*, 2016; Barazarte *et al.*, 2017; Udeh and Erkurt, 2017).

Este tipo de plantas se cultivan comúnmente en diversos lugares con temperaturas elevadas y bajo contenido de agua. Se utilizan como alimento para consumo humano y como alimento para ganado durante la época de sequía. Se denominan plantas CAM (mecanismo del ácido crasuláceo, por sus siglas en inglés), porque su metabolismo les permite tener alta tolerancia a condiciones con altas temperaturas, radiación UV. Mientras que en condiciones favorables pueden almacenar agua en sus hojas suculentas como medio de defensa para las jornadas de sequía largas. Éste tipo de plantas realizan un uso óptimo del agua (16-28%) en sus funciones metabólicas. Su mecanismo de reproducción puede ser por semilla, y también por desprendimiento de los cladodios de la planta madre, el cual al ser colocado en el suelo se convertirá en una nueva planta (Gasca *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2015; Belay, 2016; Prieto-García *et al.*, 2016; Udeh and Erkurt, 2017)

2.4. Propiedades del estiércol bovino

El estiércol bovino ha sido extensamente estudiado, como sustrato en el proceso de digestión anaeróbica. Tiene una concentración de sólidos de entre el 3 y 5%, y una pequeña fracción de compuestos lignocelulósicos; por lo que su degradación es más lenta. El tratamiento que se le da a este material incluye molido, estrujado,

secado a la intemperie, entre otros, por lo que la inversión para su aprovechamiento es mínima. Su eficacia se ve aumentada cuando se le conjunta con residuos orgánicos como residuos de alimentos, obteniendo una mayor eficiencia en la producción de biogás a un bajo costo. Debido a que el estiércol bovino presenta concentraciones elevadas de amoníaco y fósforo, estos funcionan como inhibidores en el proceso de digestión, (Angelidaki *et al.*, 2003; El-Mashad and Zhang, 2010; Labatut *et al.*, 2011; Adelard *et al.*, 2015; Osborne *et al.*, 2016; Poulsen *et al.*, 2017; Riggio *et al.*, 2017).

2.5. Potencial bioquímico de metano

Existe una gran variedad de residuos orgánicos biodegradables que se pueden utilizar en la digestión y co-digestión anaeróbica. Para evaluar el potencial de biodegradación orgánica se realizan ensayos por lotes de pequeños volúmenes de trabajo, denominados ensayos de potencial bioquímico de metano (PBM). Los ensayos de PBM son de gran importancia en el proceso de digestión para realizar estimaciones aproximadas del comportamiento de los sustratos para sistemas a gran escala. Los ensayos de PBM se preparan utilizando sustratos orgánicos con un inóculo obtenido de un digestor en operación con condiciones de operación definidas, y se dejan funcionando hasta que la producción de biogás cesé (Labatut *et al.*, 2011; Raposo *et al.*, 2011; Browne *et al.*, 2013; De Vrieze *et al.*, 2015; Jain *et al.*, 2015).

Para llevar a cabo ensayos de PBM se debe tener en cuenta, que el inóculo presente una apropiada comunidad microbiana, la presencia de nutrientes, condiciones ambientales óptimas, eficiente relación de los sustratos y co-sustratos (Labatut *et al.*, 2011; Raposo *et al.*, 2011; De Vrieze *et al.*, 2015; Holliger *et al.*, 2016). En el **Cuadro 2**, se presenta un resumen de los principales estudios de potencial bioquímico de metano que se han realizado, en concreto de co-digestión anaeróbica de estiércol bovino y diversos sustratos.

Para realizar el ensayo, también se debe incluir un control positivo, el cual se define basados en el tipo de sustratos. Por ejemplo, para evaluar la actividad amilasa, se puede utilizar almidón soluble de papa. Para evaluar la actividad de la celulosa, se

utiliza celulosa. Para medir la actividad proteínica se puede utilizar gelatina de uso bacteriológico (Raposo *et al.*, 2011).

Las condiciones de operación de los ensayos de PBM, se mantienen de acuerdo a las del inóculo, por lo que se debe conservar la temperatura y duración del ensayo de PBM (Raposo *et al.*, 2011).

Cuadro 2. Ensayos de potencial bioquímico de metano, de co-digestión anaeróbica

Ref.	Volumen [mL]	Sustrato	Inóculo	Sólidos [g kg ⁻¹]	pH	Temp. [°C]	C/N	Metano [mL g _{vs} ⁻¹]	Duración [días]
(García-Peña <i>et al.</i> , 2011)	20000	Residuos de frutas y vegetales	Estiércol bovino	98.9	4.0	30	N/D	450	35
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino	Estiércol bovino y residuos de alimentos	124.0	N/D	35±1	N/D	242.5	30
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino y suero de leche	Estiércol bovino y residuos de alimentos	83.2 68.5	N/D	35±1	N/D	237.6 252.4	30
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino y pasta	Estiércol bovino y residuos de alimentos	132.0 222.5	N/D	35±1	N/D	224.0 353.5	30
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino y pasta de carne	Estiércol bovino y residuos de alimentos	101.9 148.5	N/D	35±1	N/D	232.1 285.6	30
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino y aceite vegetal usado	Estiércol bovino y residuos de alimentos	263.6	N/D	35±1	N/D	360.6	30
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino y comida de perro con helado	Estiércol bovino y residuos de alimentos	106.9	N/D	35±1	N/D	467.3	30
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino y bebida de cola	Estiércol bovino y residuos de alimentos	102.7	N/D	35±1	N/D	235.0	30
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino y papas	Estiércol bovino y residuos de alimentos	134.4	N/D	35±1	N/D	227.7	30
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino y grama	Estiércol bovino y residuos de alimentos	308.0	N/D	35±1	N/D	207.8	30

Cuadro 2. Ensayos de potencial bioquímico de metano, de co-digestión anaeróbica (Cont.)

Ref.	Volumen [mL]	Sustrato	Inóculo	Sólidos [g kg ⁻¹]	pH	Temp. [°C]	C/N	Metano [mL g _{VS} ⁻¹]	Duración [días]
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino y enjuague bucal	Estiércol bovino y residuos de alimentos	110.5	N/D	35±1	N/D	220.1	30
(Labatut <i>et al.</i> , 2011)	250	Estiércol bovino y grama con enjuague bucal	Estiércol bovino y residuos de alimentos	108.8	N/D	35±1	N/D	258.0	30
(Cabbai <i>et al.</i> , 2013)	400 1600	Residuos de frutas y vegetales, supermercados	Lodos activados	45.0 47.0	3.5 4.5	37	16 22	363.0 338.3	30
(Gebrekidan <i>et al.</i> , 2014)	0.5	Estiércol bovino	Rumen	30	7.2±0.1	38	N/D	N/D	30
(Gebrekidan <i>et al.</i> , 2014)	0.5	Estiércol bovino con <i>Opuntia ficus indica</i>	Rumen	30	6.9±0.0	38	N/D	N/D	30
(Montañés <i>et al.</i> , 2014)	130	Pulpa de caña de azúcar	Lodos activados	16.0 – 34.0	4.8-7.8	35	N/D	544.4	35
(Adelard <i>et al.</i> , 2015)	250	Estiércol bovino	Estiércol bovino	9.0	8.00	37	3.3	261±3.3	36
(De Vrieze <i>et al.</i> , 2015)	80	Estiércol de animal	Estiércol de animal	20.5±0.1	7.8±0.0	34±1	N/D	137±28	35
(Aboudi <i>et al.</i> , 2016)	2000	Estiércol bovino	Estiércol bovino	221.3±0.2	6.1±0.2	35±0.5	12.5±0.1	650.0±8.0	60
(Aboudi <i>et al.</i> , 2016)	2000	Extracto de caña y estiércol bovino	Estiércol bovino	874.5±0.1	5.8±0.1	35±0.5	33.5±0.2	122.0±11.0	60
(Li <i>et al.</i> , 2016)	250	Estiércol bovino	Estiércol bovino	25.3±1.0	6.9±0.1	37±0.5	N/D	127±18	45
(Wang <i>et al.</i> , 2016)	40	Estiércol bovino	Estiércol bovino	86.9±0.0	8.0	37±1	N/D	N/D	48

N/D=no determinada.

2.6 Referencias bibliográficas

Abbasi, T., S. Tauseef and S. Abbasi (2012). "Anaerobic digestion for global warming control and energy generation—an overview." Renewable and sustainable energy reviews **16**(5): 3228-3242.

Abbasi, T., S. Tauseef and S. A. Abbasi (2011). Biogas energy. Springer Science & Business Media,1461410401. pp.

Abendroth, C., C. Vilanova, T. Günther, O. Luschnig and M. Porcar (2015). "Eubacteria and archaea communities in seven mesophile anaerobic digester plants in Germany." Biotechnology for Biofuels **8**(1): 87.

Aboudi, K., C. J. Álvarez-Gallego and L. I. Romero-García (2016). "Evaluation of methane generation and process stability from anaerobic co-digestion of sugar beet by-product and cow manure." Journal of bioscience and bioengineering **121**(5): 566-572.

Abram, F., A. M. Enright, J. O'reilly, C. Botting, G. Collins and V. O'flaherty (2011). "A metaproteomic approach gives functional insights into anaerobic digestion." Journal of applied microbiology **110**(6): 1550-1560.

Ács, N., Z. Bagi, G. Rákhely, J. Minárovics, K. Nagy and K. L. Kovács (2015). "Bioaugmentation of biogas production by a hydrogen-producing bacterium." Bioresource Technology **186**: 286-293.

Adelard, L., T. G. Poulsen and V. Rakotoniaina (2015). "Biogas and methane yield in response to co-and separate digestion of biomass wastes." Waste Management & Research **33**(1): 55-62.

Agler, M. T., Z. Aydinkaya, T. A. Cummings, A. R. Beers and L. T. Angenent (2010). "Anaerobic digestion of brewery primary sludge to enhance bioenergy generation: A comparison between low-and high-rate solids treatment and different temperatures." Bioresource Technology **101**(15): 5842-5851.

Ali Shah, F., Q. Mahmood, M. Maroof Shah, A. Pervez and S. Ahmad Asad (2014). "Microbial ecology of anaerobic digesters: the key players of anaerobiosis." The Scientific World Journal **2014**.

Almeida, A., R. Nafarrate, A. Alvarado, O. Cervantes, O. R. Luevanos and N. Balagurusamy (2011). "Expresión genética en la digestión anaerobia: un paso

adelante en la comprensión de las interacciones tróficas de esta biotecnología." Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila [revista en internet] **3**(6).

Amani, T., M. Nosrati and T. Sreekrishnan (2010). "Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects—a review." Environmental Reviews **18**(NA): 255-278.

Angelidaki, I., L. Ellegaard and B. K. Ahring (2003). Applications of the anaerobic digestion process. Biomethanation II, Springer: 1-33.

Barazarte, H., Y. Teran, R. D'Aubeterre, L. Perez, C. Garmendia, I. Moreno, E. Rodriguez, D. Pacheco, C. Colmenares and A. Beatriz Sanchez-Urdaneta (2017). "Physical and chemical characteristics of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes." REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA **34**(2): 175-186.

Belay, J. B. (2016). "Study on biogas energy production from cactus *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill."

Browne, J. D., E. Allen and J. D. Murphy (2013). "Evaluation of the biomethane potential from multiple waste streams for a proposed community scale anaerobic digester." Environmental technology **34**(13-14): 2027-2038.

Cabbai, V., M. Ballico, E. Aneggi and D. Goi (2013). "BMP tests of source selected OFMSW to evaluate anaerobic codigestion with sewage sludge." Waste Management **33**(7): 1626-1632.

Cardinali-Rezende, J., L. F. Colturato, T. D. Colturato, E. Chartone-Souza, A. M. Nascimento and J. L. Sanz (2012). "Prokaryotic diversity and dynamics in a full-scale municipal solid waste anaerobic reactor from start-up to steady-state conditions." Bioresource Technology **119**: 373-383.

Cassie, B., M. DiLeo and J. Lee (2010). Methane creation from anaerobic digestion, Worcester Polytechnic Institute. **Bachelor of Science in Civil Engineering**: 49.

Chen, S. and Q. He (2015). "Persistence of *Methanosaeta* populations in anaerobic digestion during process instability." Journal of industrial microbiology & biotechnology **42**(8): 1129.

De Vrieze, J., L. Raport, B. Willems, S. Verbrugge, E. Volcke, E. Meers, L. T. Angenent and N. Boon (2015). "Inoculum selection influences the biochemical methane potential of agro-industrial substrates." Microbial biotechnology **8**(5): 776-786.

do Nascimento Santos, T., E. D. Dutra, A. G. do Prado, F. C. B. Leite, R. d. F. R. de Souza, D. C. dos Santos, C. A. M. de Abreu, D. A. Simões, M. A. de Moraes Jr and R. S. C. Menezes (2016). "Potential for biofuels from the biomass of prickly pear cladodes: Challenges for bioethanol and biogas production in dry areas." Biomass and Bioenergy **85**: 215-222.

Donoso-Bravo, A., J. Mailier, C. Martin, J. Rodríguez, C. A. Aceves-Lara and A. V. Wouwer (2011). "Model selection, identification and validation in anaerobic digestion: a review." Water Research **45**(17): 5347-5364.

El-Mashad, M. and R. Zhang (2010). "Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste." Bioresource Technology **101**: 4021-4028.

Feng, H., G.-f. Qu, P. Ning, X.-f. Xiong, L.-j. Jia, Y.-k. Shi and J. Zhang (2011). "The resource utilization of anaerobic fermentation residue." Procedia Environmental Sciences **11**: 1092-1099.

García-Gen, S., J. Rodríguez and J. M. Lema (2014). "Optimisation of substrate blends in anaerobic co-digestion using adaptive linear programming." Bioresource Technology **173**: 159-167.

Garcia-Peña, E. I., P. Parameswaran, D. Kang, M. Canul-Chan and R. Krajmalnik-Brown (2011). "Anaerobic digestion and co-digestion processes of vegetable and fruit residues: process and microbial ecology." Bioresource Technology **102**(20): 9447-9455.

Gasca, T. G., J. Kawas, R. G. Costa and H. Andrade-Montemayor (2015). "Nutritional Composition, in vitro Degradability and Gas Production of *Opuntia ficus indica* and Four Other Wild Cacti Species." Life Science Journal **12**(2s).

Gebrekidan, T., M. C. Egigu and M. Muthuswamy (2014). "Efficiency of biogas production from cactus fruit peel co-digestion with cow dung." International Journal **2**(7): 916-923.

Gerardi, M. H. (2003). The microbiology of anaerobic digesters. John Wiley & Sons, 0471468959. pp.

Ho, D., P. Jensen and D. Batstone (2014). "Effects of temperature and hydraulic retention time on acetotrophic pathways and performance in high-rate sludge digestion." Environmental science & technology **48**(11): 6468-6476.

Ho, D. P., P. D. Jensen and D. J. Batstone (2013). "Methanosarcinaceae and acetate-oxidizing pathways dominate in high-rate thermophilic anaerobic digestion of waste-activated sludge." Applied and Environmental Microbiology **79**(20): 6491-6500.

Holliger, C., M. Alves, D. Andrade, I. Angelidaki, S. Astals, U. Baier, C. Bougrier, P. Buffière, M. Carballa and V. de Wilde (2016). "Towards a standardization of biomethane potential tests." Water Science and Technology **74**(11): 2515-2522.

Jain, S., S. Jain, I. T. Wolf, J. Lee and Y. W. Tong (2015). "A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste." Renewable and sustainable energy reviews **52**: 142-154.

Khalid, A., M. Arshad, M. Anjum, T. Mahmood and L. Dawson (2011). "The anaerobic digestion of solid organic waste." Waste Management **31**(8): 1737-1744.

Krakat, N., A. Westphal, S. Schmidt and P. Scherer (2010). "Anaerobic digestion of renewable biomass: thermophilic temperature governs methanogen population dynamics." Applied and Environmental Microbiology **76**(6): 1842-1850.

Labatut, R. A., L. T. Angenent and R. S. Norman (2011). "Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates." Bioresource Technology **102**: 2255-2264.

Labatut, R. A., L. T. Angenent and N. R. Scott (2014). "Conventional mesophilic vs. thermophilic anaerobic digestion: a trade-off between performance and stability?" Water Research **53**: 249-258.

Lessner, D. J. (2009). "Methanogenesis biochemistry." Encyclopedia of Life Sciences: 1-11.

Li, H., F. Tan, L. Ke, D. Xia, Y. Wang, N. He, Y. Zheng and Q. Li (2016). "Mass balances and distributions of C, N, and P in the anaerobic digestion of different substrates and relationships between products and substrates." Chemical Engineering Journal **287**: 329-336.

Li, Y., S. Y. Park and J. Zhu (2011). "Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste." Renewable and sustainable energy reviews **15**(1): 821-826.

Li, Y., R. Zhang, C. Chen, G. Liu, Y. He and X. Liu (2013). "Biogas production from co-digestion of corn stover and chicken manure under anaerobic wet, hemi-solid, and solid state conditions." Bioresource Technology **149**: 406-412.

Lin, J., J. Zuo, L. Gan, P. Li, F. Liu, K. Wang, L. Chen and H. Gan (2011). "Effects of mixture ratio on anaerobic co-digestion with fruit and vegetable waste and food waste of China." Journal of Environmental Sciences **23**(8): 1403-1408.

Mao, C., Y. Feng, X. Wang and G. Ren (2015). "Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion." Renewable and sustainable energy reviews **45**: 540-555.

Mata-Alvarez, J., J. Dosta, M. Romero-Güiza, X. Fonoll, M. Peces and S. Astals (2014). "A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013." Renewable and sustainable energy reviews **36**: 412-427.

Mitchell, S. M., N. Kennedy, J. Ma, G. Yorgey, C. E. Kruger, J. L. Ullman and C. Frear (2015). Anaerobic Digestion Effluents and Processes: The Basics. Washington State University Extension. pp.

Moestedt, J., E. Nordell, S. S. Yekta, J. Lundgren, M. Marti, C. Sundberg, J. Ejlertsson, B. H. Svensson and A. Björn (2016). "Effects of trace element addition on process stability during anaerobic co-digestion of OFMSW and slaughterhouse waste." Waste Management **47**: 11-20.

Montañés, R., M. Pérez and R. Solera (2014). "Anaerobic mesophilic co-digestion of sewage sludge and sugar beet pulp lixiviation in batch reactors: Effect of pH control." Chemical Engineering Journal **255**: 492-499.

Nharingo, T. and M. Moyo (2016). "Application of *Opuntia ficus-indica* in bioremediation of wastewaters. A critical review." Journal of environmental management **166**: 55-72.

Olvera, J. d. R. (2007). Evaluación y modelado de la cinética de depuración anaerobia de vinazas de la industria alcoholera, Tesis Doctoal. Universidad Veracruzana zona Xalapa. Facultad de Ingeniería Química y Ambiental. 136 pag.

Osborne, H. B., N. Adouani, O. Potier and M. N. Pons (2016). "Anaerobic codigestion of cow slurry with grass silage: Effect of silage duration." Environmental Progress & Sustainable Energy **35**(5): 1374-1380.

Patil, J., M. L. A. Raj, S. Bhargav and S. Sowmya (2011). "Anaerobic co-digestion of water hyacinth with primary sludge." Res J Chem Sci **1**(3): 72-77.

Patil, V. and H. Deshmukh (2016). "Studies on Molds from Vegetable Waste, Cattle Dung Slurry and Biogas Digester Effluent." Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci **5**(9): 182-189.

Poulsen, T. G., L. Adelard and M. Wells (2017). "Improvement in CH₄/CO₂ ratio and CH₄ yield as related to biomass mix composition during anaerobic co-digestion." Waste Management **61**: 179-187.

Prieto-García, F., J. Prieto Méndez, O. A. Acevedo Sandoval, R. A. Canales Flores and Y. Marmolejo Santillán (2016). "Chemical and physical characterization of *Opuntia* spp. seeds grown in Hidalgo State, Mexico." Ciencia e investigación agraria **43**(1): 143-150.

Provenzano, M. R., O. Cavallo, A. D. Malerba, F. Di Maria, M. Cucina, L. Massaccesi and G. Gigliotti (2016). "Co-treatment of fruit and vegetable waste in sludge digesters: Chemical and spectroscopic investigation by fluorescence and Fourier transform infrared spectroscopy." Waste Management **50**: 283-289.

Rani, R. U., S. A. Kumar, S. Kaliappan, I.-T. Yeom and J. R. Banu (2014). "Enhancing the anaerobic digestion potential of dairy waste activated sludge by two step sono-alkalization pretreatment." Ultrasonics sonochemistry **21**(3): 1065-1074.

Raposo, F., V. Fernández-Cegrí, M. De la Rubia, R. Borja, F. Béline, C. Cavinato, G. Demirer, B. Fernández, M. Fernández-Polanco and J. Frigon (2011). "Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of

anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study." Journal of Chemical Technology and Biotechnology **86**(8): 1088-1098.

Riggio, S., M. Torrijos, R. Debord, G. Esposito, E. van Hullebusch, J. Steyer and R. Escudíe (2017). "Mesophilic anaerobic digestion of several types of spent livestock bedding in a batch leach-bed reactor: substrate characterization and process performance." Waste Management **59**: 129-139.

Sasaki, D., T. Hori, S. Haruta, Y. Ueno, M. Ishii and Y. Igarashi (2011). "Methanogenic pathway and community structure in a thermophilic anaerobic digestion process of organic solid waste." Journal of bioscience and bioengineering **111**(1): 41-46.

Schiel-Bengelsdorf, B. and P. Dürre (2012). "Pathway engineering and synthetic biology using acetogens." FEBS letters **586**(15): 2191-2198.

Shah, F. A., Q. Mahmood, N. Rashid, A. Pervez, I. A. Raja and M. M. Shah (2015). "Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis." Renewable and sustainable energy reviews **42**: 627-642.

Sharma, D., T. Espinosa-Solares and D. H. Huber (2013). "Thermophilic anaerobic co-digestion of poultry litter and thin stillage." Bioresource Technology **136**: 251-256.

Solís, C. D. E. (2015). Potencial Bioquímico de Metano de Nopal (*Opuntia ficus indica*) en co-digestión con estiércol vacuno en microcosmos. Posgrado en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua. Texcoco, México, Universidad Autónoma de Chapingo. **Maestría en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua**: 84.

Sun, L. (2015). Biogas production from lignocellulosic materials, 9157683646. pp.

Sun, L., P. B. Pope, V. G. Eijssink and A. Schnürer (2015). "Characterization of microbial community structure during continuous anaerobic digestion of straw and cow manure." Microbial biotechnology **8**(5): 815-827.

Torres Lozada, P. and A. Pérez (2012). "Actividad Metanogénica Específica: Una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales."

Udeh, B. A. and E. A. Erkurt (2017). "Compositional and structural changes in Phoenix canariensis and Opuntia ficus-indica with pretreatment: Effects on enzymatic hydrolysis and second generation ethanol production." Bioresource Technology **224**: 702-707.

Wagner, A. O., C. Reitschuler and P. Illmer (2014). "Effect of different acetate: propionate ratios on the methanogenic community during thermophilic anaerobic digestion in batch experiments." Biochemical Engineering Journal **90**: 154-161.

Wang, H., Y. Zhang and I. Angelidaki (2016). "Ammonia inhibition on hydrogen enriched anaerobic digestion of manure under mesophilic and thermophilic conditions." Water Research **105**: 314-319.

Wang, M., J. Zhou, Y.-X. Yuan, Y.-M. Dai, D. Li, Z.-D. Li, X.-F. Liu, X.-Y. Zhang and Z.-Y. Yan (2017). "Methane production characteristics and microbial community dynamics of mono-digestion and co-digestion using corn stalk and pig manure." International Journal of Hydrogen Energy **42**(8): 4893-4901.

Wu, Y., C. Wang, X. Liu, H. Ma, J. Wu, J. Zuo and K. Wang (2016). "A new method of two-phase anaerobic digestion for fruit and vegetable waste treatment." Bioresource Technology **211**: 16-23.

Xia, Y., T. Zhang and H. H. Fang (2012). "Thermophilic anaerobic degradation of microcrystalline cellulose using mixed culture enriched from anaerobic digestion sludge." Procedia Environmental Sciences **12**: 3-8.

Xu, K., H. Liu and J. Chen (2010). "Effect of classic methanogenic inhibitors on the quantity and diversity of archaeal community and the reductive homoacetogenic activity during the process of anaerobic sludge digestion." Bioresource Technology **101**(8): 2600-2607.

Yang, L., M. Lu, S. Carl, J. A. Mayer, J. C. Cushman, E. Tian and H. Lin (2015). "Biomass characterization of Agave and Opuntia as potential biofuel feedstocks." Biomass and Bioenergy **76**: 43-53.

Yenigün, O. and B. Demirel (2013). "Ammonia inhibition in anaerobic digestion: a review." Process biochemistry **48**(5): 901-911.

Zhang, C., H. Su, J. Baeyens and T. Tan (2014). "Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production." Renewable and sustainable energy reviews **38**: 383-392.

Zhang, H., P. Parameswaran, J. Badalamenti, B. E. Rittmann and R. Krajmalnik-Brown (2011). "Integrating high-throughput pyrosequencing and quantitative real-time PCR to analyze complex microbial communities." High-Throughput Next Generation Sequencing: Methods and Applications: 107-128.

Zhang, Q., J. Hu and D.-J. Lee (2016). "Biogas from anaerobic digestion processes: Research updates." Renewable energy **98**: 108-119.

Ziganshin, A. M., E. E. Ziganshina, S. Kleinstuber and M. Nikolausz (2016). "Comparative Analysis of Methanogenic Communities in Different Laboratory-Scale Anaerobic Digesters." Archaea **2016**.

CAPÍTULO 3. Potencial bioquímico de metano de tres variedades de nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill.) en co-digestión con estiércol bovino

Biochemical methane potential of three varieties of nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill.) in co-digestion with cow manure

3.1. Resumen gráfico

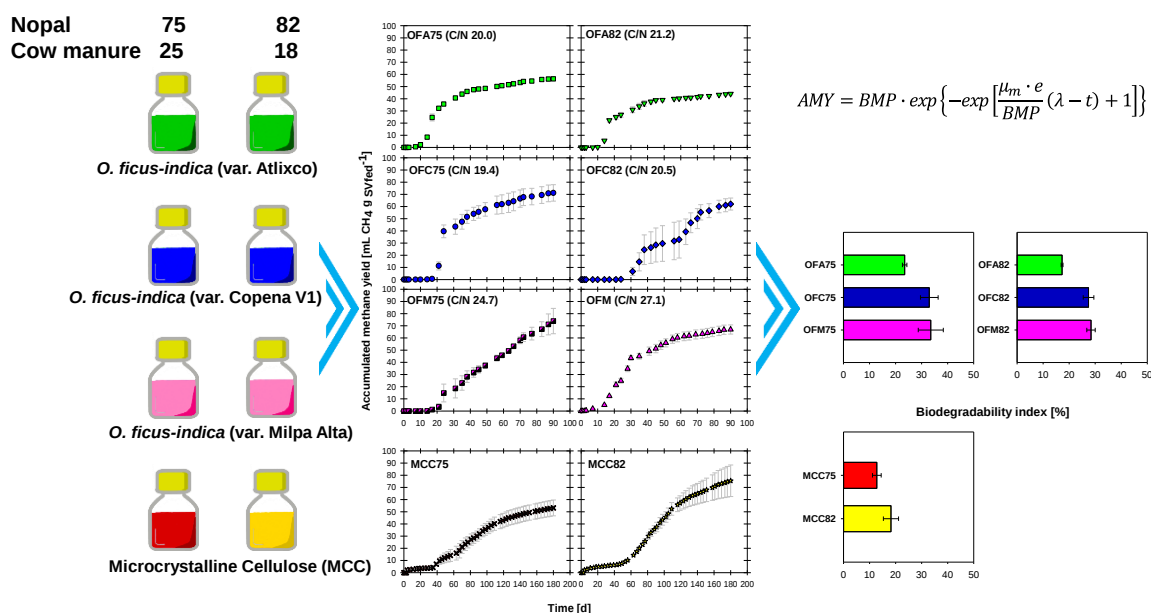


Figura 1. Resumen gráfico.

3.2. Resumen

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el potencial bioquímico de metano de la co-digestión anaeróbica de nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill.) en las variedades Atlixco, Copena V1 y Milpa Alta, con estiércol bovino. Para ello se emplearon dos proporciones de sustratos 75:25 y 82:18 (% v/v; nopal-estiércol bovino), en digestores por lotes, bajo condiciones mesofílicas. De acuerdo con la modificación al modelo de Gompertz, se obtuvieron potenciales bioquímicos de metano de entre 53.0 y 68.0 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹. La tasa máxima de producción de metano (μ_m) varió de 1.2 a 2.2 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹ d⁻¹, con una fase de latencia (λ) entre 12.4 y 29.9 d. Los índices de biodegradabilidad oscilan de 19.1 y 23.3 %. La variedad la variedad Atlixco, en la proporción 82:18 tuvo el menor potencial bioquímico de metano (41.5 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹). Mientras que la variedad Copena V1 obtuvo un potencial bioquímico de metano de 66.5 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹, en la proporción 82:18, con mejores resultados que la proporción 75:25. La variedad Milpa Alta, en la proporción 75:25, obtuvo el mejor potencial bioquímico de metano (71.4 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹) del estudio, con una biodegradabilidad del 33.5%.

Palabras clave: PBM, modelo Gompertz, biodegradabilidad, Atlixco, Copena, Milpa Alta.

3.3. Abstract

The objective of this work was to evaluate the biochemical methane potential of the anaerobic co-digestion of nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill), using the varieties Atlixco, Copena V1 and Milpa Alta, with cow manure. Two feedstock ratios 75:25 and 82:18 (% v/v; nopal-cow manure), were used in batch digesters, under mesophilic conditions. According to the modified Gompertz model, was obtained biochemical methane potentials of between 53.0 and 68.0 mL N-CH₄ g_{VS fed}⁻¹ were used. The maximum methane production rate (μ_m) ranged from 1.2 to 2.2 mL N-CH₄ g_{VS fed}⁻¹d⁻¹, with a lag time (λ) of between 12.4 and 29.9 d. Biodegradability index ranged between 19.1 and 23.3 %. The Atlixco variety, at the 82:18 ratio, had the lowest biochemical methane potential (41.5 mL N-CH₄ g_{VS fed}⁻¹), while, Copena V1 variety obtained a biochemical methane potential of 66.5 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹, at the 82:18 ratio, with better results than the 75:25 ratio. The Milpa Alta variety obtained the best biochemical methane potential (71.4 mL N-CH₄ g_{VS fed}⁻¹) at the 75:25 ratio, on this study, with biodegradability index of 33.5%.

Keywords: BMP, Gompertz model, biodegradability, Atlixco, Copena, Milpa Alta.

3.4. Introducción

La co-digestión anaeróbica se define como la utilización de dos o más sustratos para estabilizar el proceso y mejorar el rendimiento de biogás. Se suelen utilizar residuos vegetales, tales como frutas, verduras, residuos de agricultura; en conjunto con lodos activados, residuos de animales, como estiércol bovino, cerdo y aves (Jang *et al.*, 2016; Mosbæk *et al.*, 2016; Provenzano *et al.*, 2016). Bajo condiciones mesofílicas promueve un sinergismo positivo entre los co-sustratos, debido a que se complementan los nutrientes de los sustratos incrementando con ello la producción de metano de un 20% a 50%. El incremento varía de acuerdo al tipo de sustrato utilizado, así como también la disponibilidad de los nutrientes. En sustratos compuestos principalmente por compuestos lignocelulósicos, la producción de metano se ve afectada por la disponibilidad de los carbohidratos, dependiendo de su cristalización o grado de polimerización, la accesibilidad del área superficial (porosidad) y el contenido de lignina. Si los componentes lignocelulósicos son capaces de degradarse durante la hidrólisis, se puede biodegradar con mayor eficiencia la biomasa (Shah *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2016). Los compuestos vegetales durante la digestión anaeróbica, producen ácidos grasos volátiles de cadena corta principalmente, como acetato, propionato y butirato, durante los primeros 10 días de digestión (Weimer *et al.*, 2015).

El nopal (*Opuntia ficus*) es una planta que se cultiva en diversos países tales como México, Chile, Brasil, Argelia, Italia y en el sureste de Estados Unidos. Se utiliza generalmente como alimento para consumo humano, y como alimentación animal en época de sequía, debido a sus propiedades de fácil adaptación a climas extremos con altas temperaturas y con baja disponibilidad de agua. Las plantas de nopal tienen metabolismo CAM, similar a las plantas C₃ y C₄. Éste tipo de metabolismo le permite sobrevivir bajo condiciones climáticas desfavorables, haciendo un uso efectivo del agua disponible, por ello se le considera para la producción de biocombustibles (Borland *et al.*, 2014). Los compuestos lignocelulósicos proveen un equilibrio al proceso de degradación de la biomasa, porque forman materiales recalcitrantes durante la hidrólisis. Para la producción de biogás no requiere demasiada inversión, pues durante el pretratamiento sólo es

necesario estrujarlo y se mezclar directamente (Gusha *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2015; Belay, 2016; do Nascimento Santos *et al.*, 2016; Prieto-García *et al.*, 2016; Barazarte *et al.*, 2017; Udeh and Erkurt, 2017). En el **Cuadro 3** se puede observar la composición química de diferentes especies de nopal utilizadas en la producción de biocombustibles.

El uso de estiércol de animales para realizar la digestión anaeróbica es altamente rentable, debido a la poca inversión que se tiene en el pretratamiento del mismo (**Cuadro 4**). Se obtienen bajas producciones de metano de mono-digestión de residuos de animales; debido a que contiene niveles altos de nitrógeno que actúa como un inhibidor. El contenido bajo de lignina se puede complementar con los residuos vegetales. La co-digestión con residuos de origen vegetal, permite que se incremente la producción de metano en un menor periodo de tiempo, además que favorece la calidad del mismo (El-Mashad and Zhang, 2010; Labatut *et al.*, 2011; Adelard *et al.*, 2015; Osborne *et al.*, 2016; Poulsen *et al.*, 2017; Riggio *et al.*, 2017).

Cuadro 3. Composición química de nopal (*Opuntia ficus*)

Fuente	Materia seca [%]	pH	Lignina [%]	Celulosa [%]	Proteína [%]	Lípidos [%]	Ref.
<i>O. ficus indica</i>	3.8±0.3	4.1±0.0	12.3±1.1	13.1±0.7	7.4±0.3	-	(Yang <i>et al.</i> , 2015)
<i>O. ficus indica</i> (var. Copena)	7.8	-	2.5	-	6.9	-	(Gasca <i>et al.</i> , 2015)
<i>O. megacantha</i>	12.1	-	1.3	-	4.5	-	(Gasca <i>et al.</i> , 2015)
<i>O. hyptia-cantha</i>	13.8	-	2.0	-	5.9	-	(Gasca <i>et al.</i> , 2015)
<i>O. robusta</i>	12.6	-	2.1	-	7.2	-	(Gasca <i>et al.</i> , 2015)
<i>O. strepta-cantha</i>	10.9	-	1.4	-	4.8	-	(Gasca <i>et al.</i> , 2015)
<i>O. ficus indica</i> (var. Copena V1)	5.0	-	-	-	7.7	1.9	(Torrez, 2015)
<i>O. ficus indica</i> (var. Azul)	5.4	-	-	-	6.0	2.1	(Torrez, 2015)
<i>O. ficus</i> (var. Goliat)	5.6	-	-	-	9.0	2.5	(Torrez, 2015)
<i>O. ficus</i> (var. Atlixco)	6.1	-	-	-	6.8	2.0	(Torrez, 2015)
<i>O. ficus</i> (var. Energy)	6.4	-	-	-	6.1	2.5	(Torrez, 2015)
<i>O. ficus indica</i> (var. Milpa Alta)	6.9	-	-	-	4.7	5.4	(Torrez, 2015)
<i>O. ficus indica</i>	0.1	4.6±0.2	13.8±1.0	-	-	-	(do Nascimento Santos <i>et al.</i> , 2016)
<i>O. ficus indica</i>	0.1	4.4±0.1	13.7±1.1	-	-	-	(do Nascimento Santos <i>et al.</i> , 2016)
<i>Nopalea-cochenillifera</i>	0.1	4.6±0.0	6.8±1.2	-	-	-	(do Nascimento Santos <i>et al.</i> , 2016)
<i>O. heliabravoana</i>	-	-	-	-	21.0±0.9	16.9±0.5	(Prieto-García <i>et al.</i> , 2016)
<i>O. xoconostle</i>	-	-	-	-	0.6±0.0	2.5±0.2	(Prieto-García <i>et al.</i> , 2016)
<i>O. ficus indica</i>	-	-	-	-	0.9±0.0	2.6±0.1	(Prieto-García <i>et al.</i> , 2016)
<i>O. ficus</i>	-	-	16.7	48.5	-	-	(Udeh and Erkurt, 2017)
<i>O. ficus indica</i>	-	4.5±0.0	-	-	6.0±0.4	-	(Barazarte <i>et al.</i> , 2017)
<i>O. ficus indica</i>	-	4.0±0.0	-	-	5.0±0.1	-	(Barazarte <i>et al.</i> , 2017)
<i>O. ficus indica</i>	-	4.2±0.2	-	-	4.3±0.2	-	(Barazarte <i>et al.</i> , 2017)

Cuadro 4. Composición química del estiércol bovino

Fuente	Materia seca [%]	pH	Lignina [%]	Celulosa [%]	Proteína [%]	Lípidos [%]	Ref.
Estiércol bovino	16.7	-	-	-	10.8	2.0	(Torrez, 2015)
Estiércol bovino	22.3±0.2	-	14.5±0.9	23.7±0.1	-	-	(Zheng <i>et al.</i> , 2015)
Estiércol bovino	21.4±0.7	6.9±0.1	19.5±0.2	19.0±2.5	17.8	2.0±0.3	(Li <i>et al.</i> , 2016)
Estiércol bovino	28.8±0.3	6.6	12.0±1.5	38.5±2.0	-	-	(Riggio <i>et al.</i> , 2017)
Estiércol bovino	15.3±0.0	-	-	19.5±0.0	9.0±0.0	-	(Wang <i>et al.</i> , 2016)
Estiércol bovino	10.5	-	17.0	13.0	45.0	-	(Osborne <i>et al.</i> , 2016)
Estiércol bovino	10.0	-	13.0	17.0	46.0	-	(Osborne <i>et al.</i> , 2016)
Estiércol bovino	11.9	-	18.0	20.0	57.0	-	(Osborne <i>et al.</i> , 2016)
Estiércol bovino líquido	15.8	7.7	13.3	27.2	-	-	(Huang <i>et al.</i> , 2016)

Los ensayos de potencial bioquímico de metano (PBM) se emplean para evaluar el potencial de biodegradabilidad de los residuos orgánicos en la digestión y co-digestión anaeróbica. Para los ensayos de PBM emplean pequeños volúmenes de trabajo y se estima el comportamiento de los sustratos durante el proceso de degradación. Para estos ensayos se utilizan diversas relaciones de sustratos, inóculo, condiciones de operación, temperatura, pH, contenido de sólidos, adición de compuestos, entre otros. Esto permite conocer el comportamiento de cada tratamiento en la producción de metano y poder realizar las estimaciones para su escalamiento (Ortega-Martinez *et al.*, 2016; Patil and Deshmukh, 2016; Zhang *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016).

Tomando en cuenta los beneficios de la co-digestión anaeróbica y que la región central de México es uno de los principales productores comerciales de nopal, el objetivo del presente estudio es evaluar el potencial bioquímico de metano de la co-

digestión anaeróbica de nopal- estiércol, de tres variedades de nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill.) bajo condiciones mesofílicas.

3.5. Materiales y Métodos

3.5.1. Análisis experimental

Se emplearon dos diferentes sustratos: nopal *Opuntia ficus-indica* Mill., en las variedades Atlixco (OFA), Copena V1 (OFC) y Milpa Alta (OFM), con estiércol bovino (CM), su caracterización química se observa en el [Error! No se encuentra el origen de la referencia.](#) Se llevó a cabo en botellas serológicas de 305 mL de capacidad y un volumen de trabajo de 250 mL, se añadió inóculo en un radio de 10% (v/v). El inóculo se obtuvo de dos digestores mesofílicos, los cuales son alimentados con nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill.) y estiércol bovino, en un radio de 75:25 (% v/v) y 82:18 (% v/v), respectivamente, con un 4% de sólidos totales. Los tratamientos incluyen dos diferentes mezclas de nopal (75% y 82%) y estiércol bovino (25% y 18%), con una concentración de sólidos totales del 4%, se utilizó celulosa microcristalina (CAS 9004-34-6, Sigma Aldrich) como testigo (MCC). Las características de los tratamientos se resumen en el **Cuadro 6**. Las botellas fueron purgadas con nitrógeno e incubadas a $37\pm1^{\circ}\text{C}$. Los tratamientos se llevaron a cabo por triplicado.

Cuadro 5. Composición química de los sustratos

Parámetros	Unidades	Sustrato			
		OFA	OFC	OFM	CM
pH	-	4.52	4.05	4.15	8.61
ST	[%]	4.37	3.67	4.47	5.56
SV/ST	[%]	68.56	76.08	82.49	53.00
C	[%]	37.36	35.93	36.06	24.55
H	[%]	4.92	4.54	4.93	3.19
N	[%]	1.52	1.52	1.03	2.28
C/N	-	24.58	23.72	35.01	10.78

Cuadro 6. Composición química de los tratamientos

Tratamientos	Sustratos			Parámetros ^c				
	OF ^a	CM ^b	C/N	pH	ST [%]	SV/ST [%]	DQO [mg L ⁻¹]	N-NH ₃ [mg L ⁻¹]
MCC75	-	-	-	8.4±0.0	4.4±0.9	96.5±1.6	45,917±1,207	40±25
OFA75	75	25	20.0	6.1±0.1	3.5±0.3	63.3±0.6	30,526± 527	62±19
OFC75	75	25	19.4	5.4±0.0	3.5±0.6	66.5±1.1	31,243±4,872	69±75
OFM75	75	25	24.7	5.7±0.0	3.7±0.1	67.7±1.1	33,984±2,341	131±71
MCC82	-	-	-	8.6±0.2	4.7±0.7	90.5±1.0	50,261±1,353	39±22
OFA82	82	18	21.2	5.9±0.1	3.2±0.3	71.3±4.3	29,640±1,646	75±21
OFC82	82	18	20.5	5.0±0.1	3.5±0.1	70.8±0.6	32,719±2,655	52±18
OFM82	82	18	27.1	6.6±0.0	4.2±0.4	61.6±0.7	33,098±2,584	82± 8

^a*Opuntia ficus*; ^bEstiércol bovino; ^cMedia calculada±desviación estándar (n=3)

3.5.2. Métodos analíticos

Se cuantificaron los siguientes parámetros para cada tratamiento: Sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV/ST) y demanda química de oxígeno (DQO) se determinaron utilizando los métodos descritos por APHA (2005). El nitrógeno amoniacal (N-NH₃) se determinó por el método HACH 10031 (HACH, 2004). El pH fue obtenido mediante un potenciómetro (Thermo Scientific Orion 5 Star, Singapore). El perfil de ácidos grasos volátiles (AGV), donde incluye acetato, propionato, butirato, iso-butirato, valerato, iso-valerato, caproato, iso-carpoato y heptanoato, se obtuvo a partir del método descrito por Meneses-Reyes *et al.* (2017), mediante cromatografía de gases (Claurus 500, Perkin Elmer, USA). Equipado con un detector de ionización de flama (FID, por sus siglas en inglés), y una columna capilar Elite-FFAP con una longitud de 30 m y 0.32 mm de diámetro (Perkin Elmer, USA). Con un flujo de gas 5 mL min⁻¹ a 10.6 PSI, el puerto de inyección a 150°C, horno a 100°C durante 8 min con rampa de 160°C durante 8.5 min, el detector a 250°C y tiempo de retención de 16.5 min, utilizando helio como gas acarreador. Se comparó con una curva de calibración utilizando cisteína como estándar (reactivo analítico, Perkin Elmer).

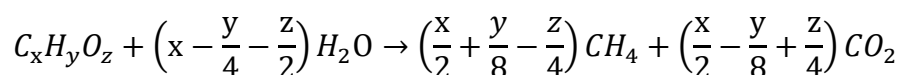
La cuantificación de metano generado en cada tratamiento se determinó de acuerdo a la metodología utilizada por Solís (2015), para la cual se inyectan 10 µL de biogás

en un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer (modelo Claurus 500). Con una columna Crossbond Carbowax marca Perkin-Elmer (modelo Elite-FFAP), con una temperatura en el inyector de 100°C y en el horno de 70°C. Se utilizó helio como gas de arrastre a una presión de 23.3 PSI y se mantuvo una presión de 14.0 PSI dentro del detector, con un tiempo de retención de 4 min. El porcentaje de metano se obtuvo con una curva de calibración con metano puro (HDSP No. P-4618-F, Praxair, México).

El biogás producido se cuantificó por arrastre de volumen con una solución salina (10% v/v), acidificada con H₂SO₄ (J.T. Baker), a un pH de 3.

3.5.3. Potencial bioquímico de metano teórico

La determinación del potencial bioquímico de metano teórico (PBMt), permite estimar la cantidad de metano que se producirá en proceso de digestión, tomando en cuenta la composición de los sustratos. En el supuesto de que se consuma todo el sustrato; esta determinación se realiza por estequiometría química. Según lo que mencionan Crespo *et al.* (2016), el modelo general fue propuesto por Buswell y Hatfield en 1936, el cual sólo considera carbono, hidrógeno y oxígeno, como elementos de entrada (**Ec. (10)**). Posteriormente, según lo que mencionan Santolaria (2014) y Achinas and Euverink (2016), se realizó una modificación en 1976 por Boyle, donde se incluyen nitrógeno y azufre, para obtener las fracciones de amoníaco y sulfuro de hidrógeno contenidas en el biogás (**Ec. (11)**). Cuando se conoce la composición química de los sustratos se puede emplear la **Ec. (12)**, la cual es la que se va a emplear en el presente estudio.



Ec 10

Dónde x, y y z corresponde a la masa molar de cada componente (C, H, O)

$$\begin{aligned}
C_a H_b O_c N_d S_e + \left(a - \frac{b}{4} - \frac{c}{2} + \frac{3d}{4} + \frac{e}{2}\right) H_2O \\
\rightarrow \left(\frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4} - \frac{3d}{8} - \frac{e}{4}\right) CH_4 \\
+ \left(\frac{a}{2} - \frac{b}{8} + \frac{c}{4} + \frac{3d}{8} + \frac{e}{4}\right) CO_2 + dNH_3 + eH_2S
\end{aligned}
\tag{Ec 11}$$

Dónde a, b, c, d y e corresponde a las relaciones de masa molar de los elementos de cada sustrato (C, H, O, N, S).

$$PBMt = \frac{22.4 \left(\frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4} - \frac{3d}{8} - \frac{e}{4}\right)}{12.017a + 1.0079b + 15.999c + 14.006d + 32.065e}
\tag{Ec 12}$$

Dónde 22.4 equivale al volumen de 1 mol de gas a condiciones estándar de temperatura y presión.

3.5.4. Ensayo del potencial bioquímico de metano

Los ensayos de potencial bioquímico de metano (PBM) de este estudio se llevaron a cabo según lo que menciona Solís (2015); el cual el metano obtenido es normalizado a condiciones estándar de temperatura y presión (273.15K, 1 atm). Se expresó en función de los mL acumulados por gramos de sólidos volátiles alimentados ($N\text{-mLCH}_4 \text{ g}_{SV\text{alim}}^{-1}$). Con las estimaciones del PBMt y el PBM experimental (PBMe), se determinó el porcentaje de biodegradabilidad, utilizando la ecuación es descrita por Ryan *et al.* (2017) (**Ec. 13**).

$$\text{Biodegradabilidad} = \frac{PBMe}{PBMt} (100)
\tag{Ec 13}$$

3.5.5. Modelado de la cinética

Los principales parámetros del proceso de la digestión anaeróbica se obtuvieron mediante el modelo modificado de Gompertz, descrita por Zwietering *et al.* (1990), en la **Ec. 14**:

$$P = PBM \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m \cdot e}{PBM} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}
\tag{Ec 14}$$

Dónde P, corresponde a la producción acumulada de metano ($\text{mL CH}_4 \text{ g}_{SV\text{alim}}^{-1}$) en el tiempo t (d), PBM es el potencial bioquímico de metano ($\text{mL CH}_4 \text{ g}_{SV\text{alim}}^{-1}$), μ_m es

la tasa de producción de metano por día ($\text{mL CH}_4 \text{ g}_{\text{SV alim}}^{-1} \text{ d}^{-1}$), e es la constante matemática (2.718282), λ duración de la fase de latencia (d), y t es el tiempo de digestión (d). La modelación se determinó en SigmaPlot (versión 13.1).

3.5.6. Análisis estadístico

Los datos experimentales se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). Se realizó también una prueba de Tukey para comparar las medias de la producción de metano de cada tratamiento con un $\alpha=0.05$. Para evaluar los parámetros que tuvieron una mayor correlación en el estudio se empleó un análisis de componentes principales (PCA), utilizando las características químicas de los sustratos al inicio y al final de la digestión, con los parámetros del modelo modificado de Gompertz. Se realizó un análisis PCA para evaluar los perfiles de los principales ácidos grasos producidos (acetato, propionato, iso-butirato, butirato). El análisis estadístico se llevó a cabo en el paquete SAS 9.1 (SAS Institute Inc., Cary. NC, USA).

3.6. Resultados y Discusión

3.6.1. Caracterización química de los tratamientos

El resumen de las características químicas de los tratamientos después de 90 días de digestión se observan en el **Cuadro 7**.

Cuadro 7. Características químicas al final del proceso de digestión

Tratamientos	Parámetros*				
	pH	ST [%]	SV/ST [%]	DQO [mg L ⁻¹]	N-NH ₃ [mg L ⁻¹]
MCC75	6.6±0.0	3.0±0.2	90.6±0.9	39,291± 7,744	547± 13
OFA75	7.8±0.0	2.6±0.5	40.5±6.0	12,098± 4,306	244± 61
OFC75	7.8±0.0	2.3±0.5	37.9±3.3	15,640± 8,759	268± 36
OFM75	7.6±0.1	3.1±0.7	40.9±2.7	22,261±10,615	202± 49
MCC82	6.6±0.2	3.7±0.9	82.2±3.8	45,786±14,465	323±199
OFA82	7.8±0.0	2.4±0.3	32.4±0.7	14,924± 3,647	277± 46
OFC82	7.8±0.0	2.9±0.5	43.0±5.1	14,586±10,328	323± 72
OFM82	6.7±0.0	2.7±0.9	29.9±2.0	6,532± 4,092	219± 66

*Media calculada±desviación estándar (n=3).

En comparación con los parámetros calculados al inicio de la digestión (**Cuadro 6**), se observa que el porcentaje de sólidos totales, sólidos volátiles y DQO tienen un descenso, tanto en los tratamientos de la relación 75:25 como en los de la 82:18, lo

que se le puede atribuir a la degradación y consumo de los sustratos, según lo mencionado por (Haider *et al.*, 2015). Siendo estos resultados comparables con los reportados por Solís (2015). Ramos-Suárez *et al.* (2014) realizaron estudios de PBM con *Opuntia máxima*, dónde los valores de pH y concentración de sólidos volátiles son similares a los obtenidos en el presente estudio.

El rango de pH óptimo para la acción de los metanógenos es de 7.0 a 7.4 (Mitchell *et al.*, 2015), sin embargo según lo mencionado por Franke-Whittle *et al.* (2014) la metanogénesis se puede llevar a cabo desde pH de 6.8 a 7.2, ya que a un pH más alcalinos, los gránulos microbiales se desintegran. En lo que respecta a lo reportado en el presente estudio se obtuvieron rangos de pH de 6.6 hasta 7.8, siendo el óptimo para que la metanogénesis se lleve a cabo.

Otro parámetro evaluado fue la concentración de N-NH_3 , la cual al final de la digestión mostró un incremento significativo en comparación con la concentración inicial, donde en los tratamientos de OFC82 y OFA82 se observaron las concentraciones más elevadas de 323 mg L^{-1} y 277 mg L^{-1} , respectivamente. Sin embargo, a pesar de que la concentración se incrementó 6 y 3 veces, respectivamente, en comparación con la concentración inicial de N-NH_3 , no es causa de inhibición en el proceso de digestión, ya que según lo reportado por Franke-Whittle *et al.* (2014) la digestión anaeróbica se ve inhibida a concentraciones de N-NH_3 superiores a 2000 mg L^{-1} , por lo que las concentraciones de N-NH_3 reportadas en el presente estudio no son causantes de inhibición en el proceso de digestión.

3.6.2. Producción de biogás

La producción de biogás acumulada en función de tiempo de digestión para cada uno de los tratamientos se observan en la **Figura 2**.

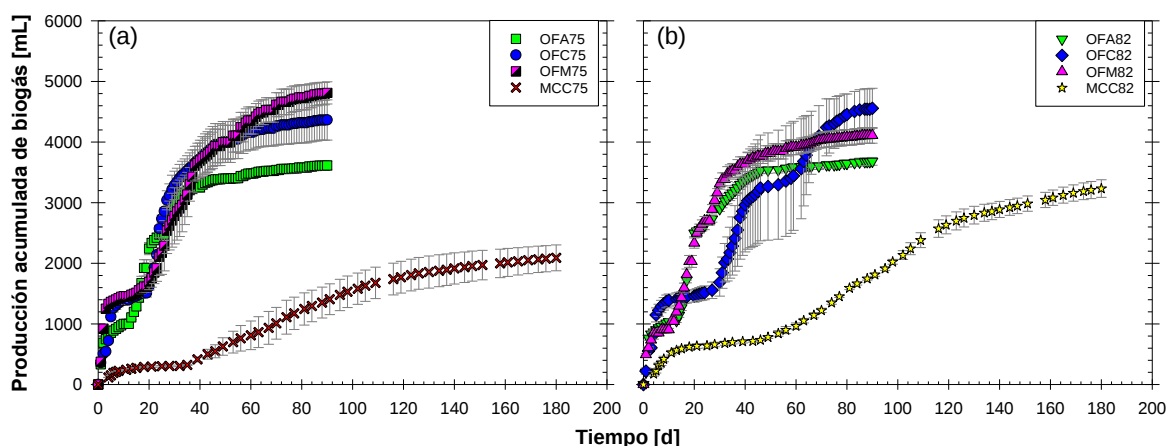


Figura 2. Producción acumulada de biogás; (a) tratamiento de nopal-estiércol [75:25] y (b) tratamiento de nopal-estiércol [82:18].

Se encontró que los mayores productores de biogás fueron los tratamientos de OFM75 y OFC82, produciendo un total de 4835.3 mL y 4558.0 mL, respectivamente, por el contrario los tratamientos de la variedad Atlixco fueron los que menor cantidad de biogás, los cuales produjeron 3614.0 mL y 3682.3 mL para OFA75 y OFA82, respectivamente. El testigo de celulosa produjo un total de 2151 mL y de 3234.3 mL para cada una de las relaciones de estudio, manteniéndose por debajo de los tratamientos con nopal. Estos resultados son comparables con los reportados por Solís (2015) con la variedad Milpa Alta (2617.0 mL, en la relación 82:18, 3180.0 mL, para 75:25). Por otra parte, Osborne *et al.* (2016) realizaron estudios de co-digestión estiércol y ensilado de hierbas donde obtuvieron valores de producción de biogás de hasta 3268 mL durante los primeros 64 días, y hacia el final del experimento la producción incrementó a 3324 mL (252 días), lo que concuerda con el presente estudio, ya que hacia el final del proceso de digestión anaeróbica la producción de biogás sólo incrementaron 5 mL por día. Belay (2016) por su parte, realizó co-digestión de *Opuntia ficus-indica* Mill., reportando hasta 900 mL de biogás producido bajo condiciones psicrófilas (27°C).

En cuanto a la producción diaria de metano (**Figura 3a** y **Figura 3b**), de manera general, todos los tratamientos presentaron una actividad metanogénica, reflejada en la producción de metano en los días 15 al 45, disminuyendo la producción hacia el final del proceso de digestión. Se destaca el tratamiento OFC82 con la producción

más elevada de metano en el día 25 (248.4 mL CH₄), seguido del tratamiento OFA75 produciendo 147.2 mL N-CH₄ el día 17.

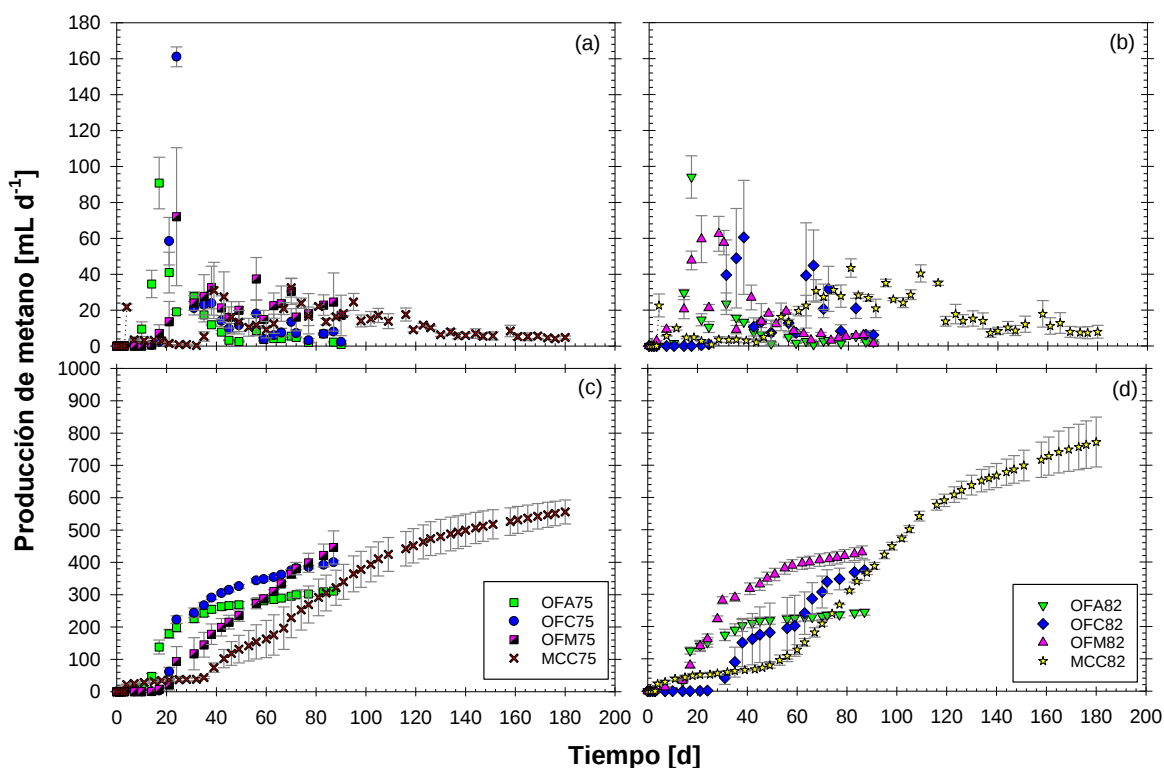


Figura 3. Producción de metano (a, b) y acumulado (c, d).

Por otra parte, la producción acumulada de metano (**Figura 3c** y **Figura 3d**), concuerda con lo anterior en cuanto al periodo alto de producción de metano, donde el testigo de celulosa presentó la producción de metano más elevada, en comparación con los demás tratamientos, en ambas relaciones de estudio 556.0 mL CH₄ y 771.9 mL CH₄. En cuanto a los tratamientos con nopal destacan OFC75 y OFA82 como los mejores productores de metano obteniendo valores de 402.3 mL CH₄ y 380.7 mL CH₄, respectivamente, por el contrario los tratamientos con la variedad Atlixco fueron los que menor cantidad de metano produjeron durante el proceso de digestión, obteniendo valores de 312.1 mL CH₄ para OFA75 y 246.8 mL CH₄ para OFA82. A pesar de ello, estadísticamente no se encontró diferencia significativa ($\alpha=0.05$) en la producción de metano entre los tratamientos de nopal

para ambas relaciones de estudio. Finalmente, estos resultados son comparables con los reportados por otros tratamientos en co-digestión con nopal, como los reportados por Solís (2015), Belay (2016), Osborne *et al.* (2016) y Wang *et al.* (2016).

3.6.3. Potencial bioquímico de metano teórico

En el **Cuadro 8** se presentan las determinaciones de Potencial Bioquímico de Metano teórico (PBMt), obtenidas del modelo de Boyle para cada uno de las relaciones de estudio y variedades de nopal.

Cuadro 8. Determinaciones del modelo de Boyle

Sustrato	Productos				
	H ₂ O [mL g _{sv} ⁻¹]	CH ₄ [mL g _{sv} ⁻¹]	CO ₂ [mL g _{sv} ⁻¹]	NH ₃ [mL g _{sv} ⁻¹]	H ₂ S [mL g _{sv} ⁻¹]
MCC	138.1	414.4	414.4	0.0	0.0
OFA75	0.0	224.6	412.2	27.3	2.7
OFC75	0.0	201.8	21.4	27.2	2.0
OFM75	0.0	213.1	405.7	21.4	0.9
OFA82	11.1	240.0	413.5	26.4	2.8
OFC82	0.0	215.1	416.7	26.4	2.0
OFM82	0.0	227.4	406.4	20.0	0.8

La aplicación del modelo de Boyle, supone que se consume el 100 % de la materia (Achinas and Euverink, 2016). La celulosa microcristalina, al ser un compuesto estándar conocido, determinó que todo el sustrato se convierte en CH₄ y CO₂. No siendo el mismo caso de los tratamientos con nopal, ya que dentro de su composición química si contiene pequeñas cantidades de nitrógeno y azufre. De manera teórica, el tratamiento con la variedad Copena V1 (OFC75 y OFC82) obtuvo el PBMt más bajo (201.8 mL CH₄ g_{sv}⁻¹ y 215.1 mL CH₄ g_{sv}⁻¹, respectivamente). Mientras que los tratamientos con la variedad Atlixco (OFA75 y OFA82), obtuvieron el PBMt más elevado (224.6 mL CH₄ g_{sv}⁻¹ y 240.0 mL CH₄ g_{sv}⁻¹, respectivamente). También se observa que debido a que tiene un contenido de oxígeno elevado, se produce de manera teórica cantidades elevadas de CO₂, en algunos casos más elevadas que las de CH₄. Haciendo una comparación con la producción de biogás, presentado en el apartado anterior, se mantiene la relación, ya que durante los

primeros días se produce una elevada cantidad de biogás (**Figura 2**), pero no siendo así de metano (**Figura 3c** y **Figura 3d**).

3.6.4. Potencial bioquímico de metano

En la **Figura 4** se presenta la producción acumulada de metano para cada uno de los tratamientos estudiados. Los tratamientos con nopal tuvieron una duración de 90 días, mientras que los de celulosa se extendieron hasta 180 días, terminando el proceso de digestión cuando la producción de biogás cesó. A partir de las gráficas se observa que los tratamientos presentaron una fase de latencia, una fase exponencial y una fase estable o estacionaria. En la primera fase se presentó la mayor concentración de ácidos grasos volátiles, lo que es un indicativo de que la materia orgánica se degradó para dar paso a la producción de acetato, propionato y butirato principalmente que posteriormente se convirtieron en biogás (Agler *et al.*, 2011); dado que se observó una disminución en la concentración de los ácidos grasos en las fases subsecuentes.

Tomando en cuenta el comportamiento del perfil de ácidos grasos volátiles, el sistema siguió posiblemente una ruta acetoclástica. Además de que por la alta concentración de butirato (superior a la de acetato) y el tipo de sustrato, también se le puede atribuir que el sistema siguió posiblemente la ruta de la β -oxidación reversa, según lo explicando por (Ali Shah *et al.*, 2014), (Spirito *et al.*, 2014) y (Xing *et al.*, 2017).

Hacia la fase final del proceso de digestión (40-50 días), en los tratamientos de nopal la producción de metano disminuye. Este comportamiento también se presentó en los tratamientos testigo de celulosa a partir del día 140 hacia el final de la experimentación.

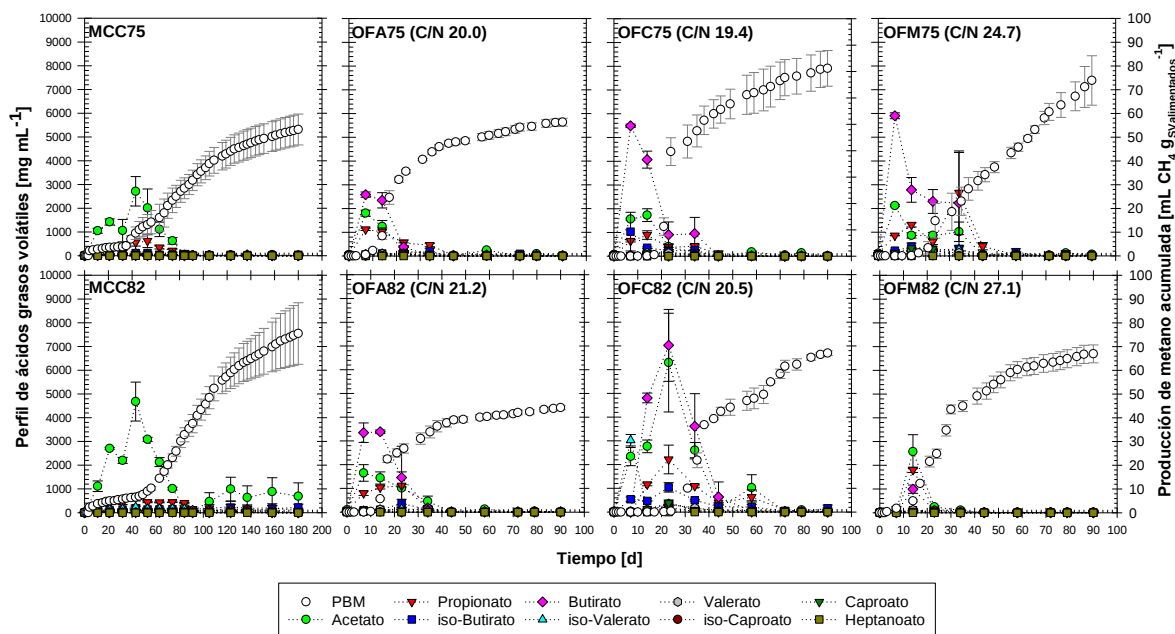


Figura 4. Producción acumulada de metano y perfil de ácidos grasos volátiles por tratamiento durante el proceso de digestión anaeróbica.

El resumen de las determinaciones del modelo modificado de Gompertz se presentan en el **Cuadro 9**.

De manera general el comportamiento del PBMe varió en un rango desde 53.0 a 68.0 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹; a una tasa de producción de metano (μm) de 1.2 – 2.2 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹ d⁻¹, con una duración de la fase de latencia (λ) de entre 12.3 a 29.9 d.

Para los tratamientos con nopal, se observó que el mayor PBMe para la variedad Milpa Alta produjo un 71.4 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹ y 64.6 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹ para OFM75 y OFM82, respectivamente. Al igual que en los demás parámetros evaluados, la variedad Atlixco alcanzó un PBMe de 52.8 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹ y 41.5 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹ para OFA75 y OFA82. Mientras que los tratamientos testigo alcanzaron un PBMe de 53.0 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹ para MCC75 y 75.5 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹ para MCC82, siendo este último el que destacó en el PBMe en el estudio.

Estos resultados son similares a lo reportado por Solís (2015), con la variedad Milpa Alta, quien reportó 120.6 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹, en la relación 82:18 (nopal-estiércol), y de 112.3 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹, en la relación 75:25. Mientras que Riggio *et al.*, (2016),

reportó un PBM de 226 mL N-CH₄ g_{SV}⁻¹alim, para la digestión de estiércol bovino únicamente. También son comparables con un estudio realizado por Elghandour *et al.* (2016) con *Opuntia ficus*, donde la producción de metano fue de 89.0 mL CH₄ g_{MS}⁻¹ y 98.9 mL CH₄ g_{MS}⁻¹.

Cuadro 9. Parámetros calculados del modelo modificado de Gompertz

Tratamiento	PBMt ^a [mL CH ₄ g _{VS} ⁻¹]	PBMe [mL CH ₄ g _{VSfed} ⁻¹]	Biodegradabilidad [%]	μm [mL CH ₄ g _{VSfed} ⁻¹ d ⁻¹]	λ [d]	R ²
MCC75	414.4	53.0 ^{BA}	12.8 ^C	0.6 ^B	31.9 ^{BAC}	0.9967 0.9977 0.9889
OFA75	224.6	52.8 ^{BA}	23.5 ^{BAC}	2.3 ^A	8.4 ^C	0.9805 0.9870 0.9896
OFC75	201.8	66.5 ^{BA}	32.9 ^A	2.6 ^A	14.5 ^{BC}	0.9777 0.9782 0.9750
OFM75	213.1	71.4 ^{BA}	33.5 ^A	1.4 ^{BA}	19.8 ^{BAC}	0.9861 0.9920 0.9803
MCC82	414.4	75.5 ^A	18.2 ^{BC}	0.8 ^B	41.4 ^A	0.9943 0.9943 0.9956
OFA82	240.0	41.5 ^B	17.3 ^{BC}	1.9 ^{BA}	8.5 ^C	0.9832 0.9844 0.9782
OFC82	215.1	59.0 ^{BA}	27.4 ^{BA}	2.4 ^A	34.6 ^{BA}	0.9884 0.9705 0.9958
OFM82	227.4	64.6 ^{BA}	28.4 ^{BA}	1.9 ^{BA}	10.0 ^{BC}	0.9946 0.9901 0.9943

^aEcuación de Boyle. Diferentes letras en la misma columna son significativamente diferentes (α=0.05).

En cuanto al porcentaje de biodegradabilidad, aquellos tratamientos con una mayor eficiencia fueron los de la relación 75:25, en específico los tratamientos OFM75 y OFC75 con un porcentaje de 33.5% y 32.9%, respectivamente. Sin embargo, de manera estadística, no se encontró diferencia significativa (α=0.05) de eficiencia en comparación con los tratamientos estudiados. En la literatura Browne *et al.* (2013) realizaron pruebas de PBM a partir de lodos de plantas de tratamiento de agua inoculados con estiércol bovino, reportando un porcentaje de biodegradabilidad del 61%. Los porcentajes de biodegradabilidad del presente estudio también son

comparables con los estudios realizados por Ebner *et al.* (2016), quien reportó un 37.2% de eficiencia en procesos de digestión anaerobia con estiércol bovino y residuos de frutas y vegetales, y un testigo de celulosa.

Ramos-Suárez *et al.* (2014) estudiaron la relación de la biodegradabilidad con la relación C/N, encontrando que al aumentar la relación C/N el porcentaje de biodegradabilidad también se incrementa, teniendo una relación directa con la producción de metano. Teniendo relación con lo reportado en el presente estudio, donde se encontró que cuando la relación C/N aumenta también lo hace el PBMe (**Figura 5**). Sin embargo, Li *et al.* (2011), mencionan que una relación C/N por encima de 27, perjudica la digestión anaeróbica, por la concentración de nitrógeno, mientras que por el contrario una relación C/N por debajo de 20 también disminuye la producción de metano. Estableciendo una relación de C/N 25 como óptima para el proceso de digestión anaeróbica. Li *et al.* (2017) también reportaron la misma tendencia en la relación C/N utilizando residuos de alimentos en digestión anaeróbica.

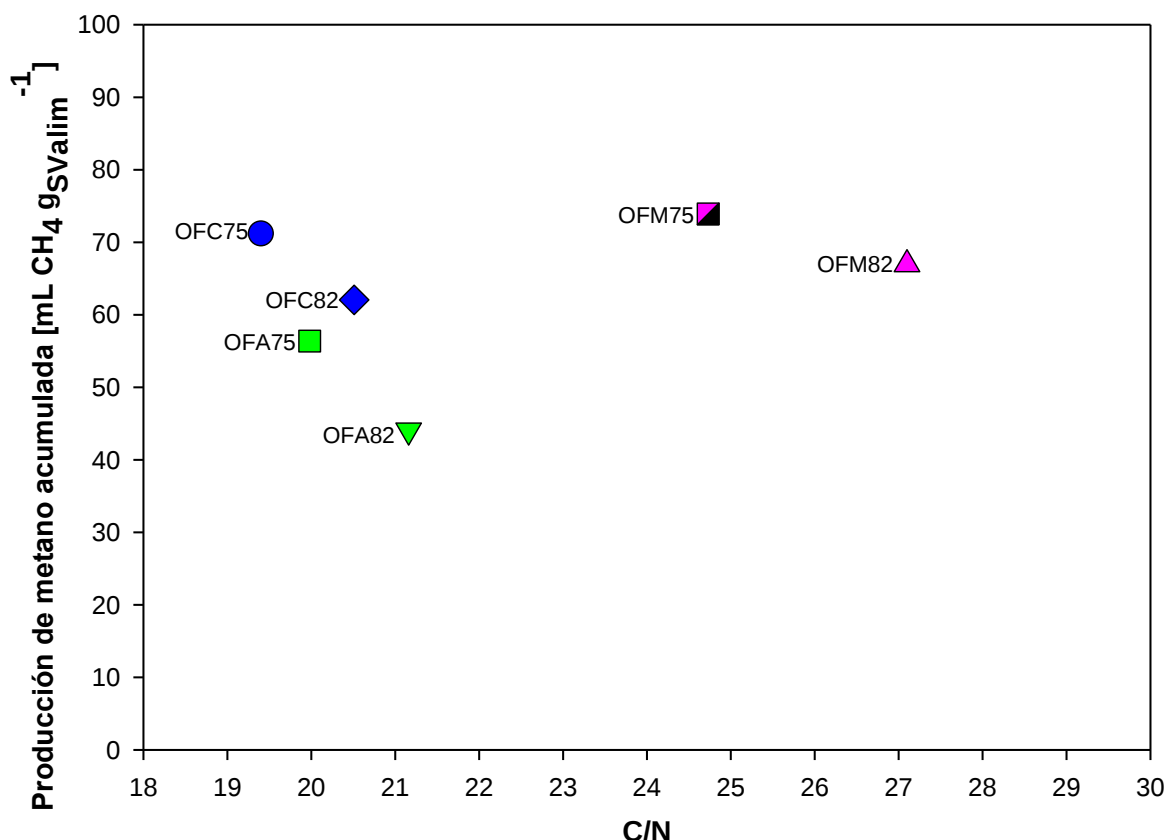
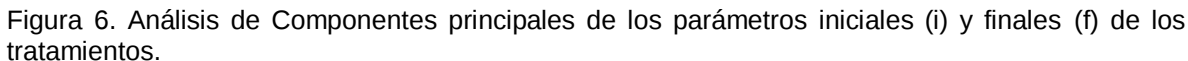


Figura 5. Relación de C/N vs Producción de metano acumulada.

A partir de los parámetros finales (C/N, pH, ST, SV/ST, DQO N-NH₃) determinados, y los obtenidos a partir del modelo modificado de Gompertz (PBMe, μ_m , λ) para el presente estudio, se realizó un análisis de componentes principales (**Figura 6**). El Componente 1 (PRIN 1) está positivamente relacionado en un 57.0% en los parámetros DQO, SV/ST_f, y pH_f, y negativamente relacionado con el μ_m y N-NH₃. Por su parte, el Componente 2 (PRIN 2) tiene una correlación del 15.9%, positivamente influenciado por PBMe, N-NH₃ y λ . Se aprecia una clara separación de los tratamientos de testigo de celulosa microcristalina de los de nopal, ubicados hacia el lado izquierdo del gráfico.



Los dos principales ejes explican el 70.1% de la variación. El Componente 1 está representado por el 40.2% de la varianza, influenciado positivamente por ACE65, PRO72, BUT72, ACE34 y ACE44. Para el Componente 2, la representación de la varianza es del 29.9%, siendo influenciado positivamente por butirato (BUT23 y BUT34) e iso-butirato (IBU23 e IBU34). Destaca el tratamiento OFC82, ya que se separa claramente de los demás tratamientos, debido a que es el tratamiento que presenta la mayor concentración de AGV en comparación con los demás tratamientos. De manera general, los tratamientos de nopal se mantienen cercanos

entre sí, ubicándose hacia el lado izquierdo el gráfico, siento esta cercanía debida a que la concentración de AGV son similares entre sí.

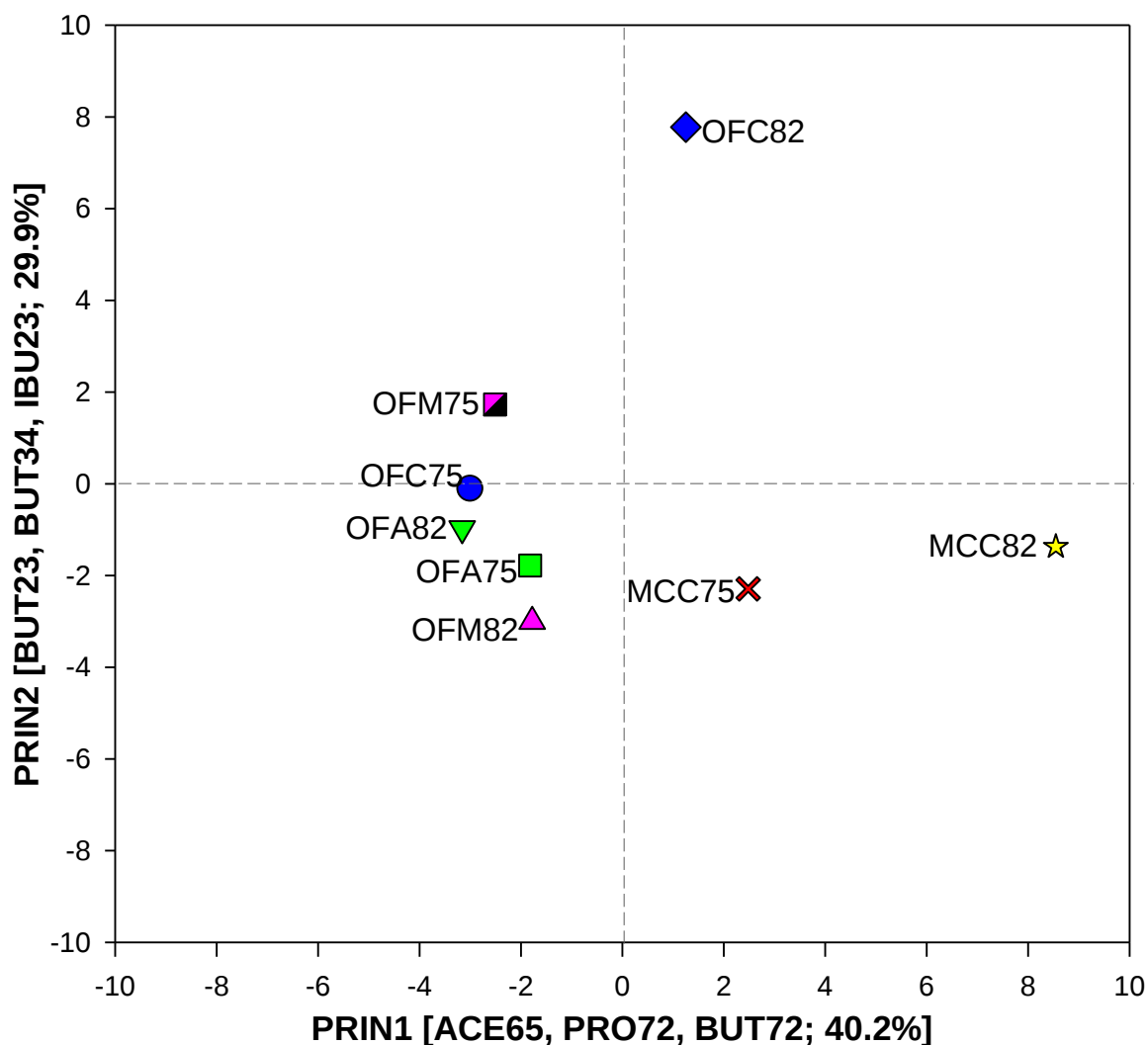


Figura 7. Análisis de componentes principales del perfil de ácidos grasos volátiles.

El perfil de ácidos grasos volátiles se graficó de manera independiente para acetato, propionato, iso-butirátito y butirato, quienes tuvieron una mayor presencia durante todo el proceso de digestión (**Figura 8**). Dentro de su comportamiento se puede apreciar que durante los primeros 30 días de digestión se consumieron, teniendo relación con la fase exponencial del PBMe. Se observa que la concentración de

butirato es superior, en una relación 3:1 con el acetato. Sobresale el tratamiento OFC82 con la concentración más elevada de butirato (7024.0 mg L⁻¹) y acetato (6296.3 mg L⁻¹) en el día 23. En relación con lo reportado en otros trabajos similares, Haider *et al.* (2015) mencionan que concentraciones de butirato superiores a 5000 mg L⁻¹ pueden ser causa de inhibición en el proceso de digestión, mientras que Franke-Whittle *et al.* (2014) reportan que las formas iso del butirato y valorato pueden ser causantes del desbalance en el proceso de digestión; sin embargo, no se aprecia una alteración en el proceso de digestión en el presente estudio, pues el butirato fue consumido progresivamente hacia el final del experimento, lo que puede deberse a que los microorganismos están adaptados a concentraciones altas de butirato. También Merklein *et al.* (2014) mencionan que en compuestos lignocelulósicos se produce una alta concentración de butirato por la suficiente aportación de carbono durante la fermentación, superando incluso la concentración de acetato, que es la que comúnmente se produce en mayor cantidad.

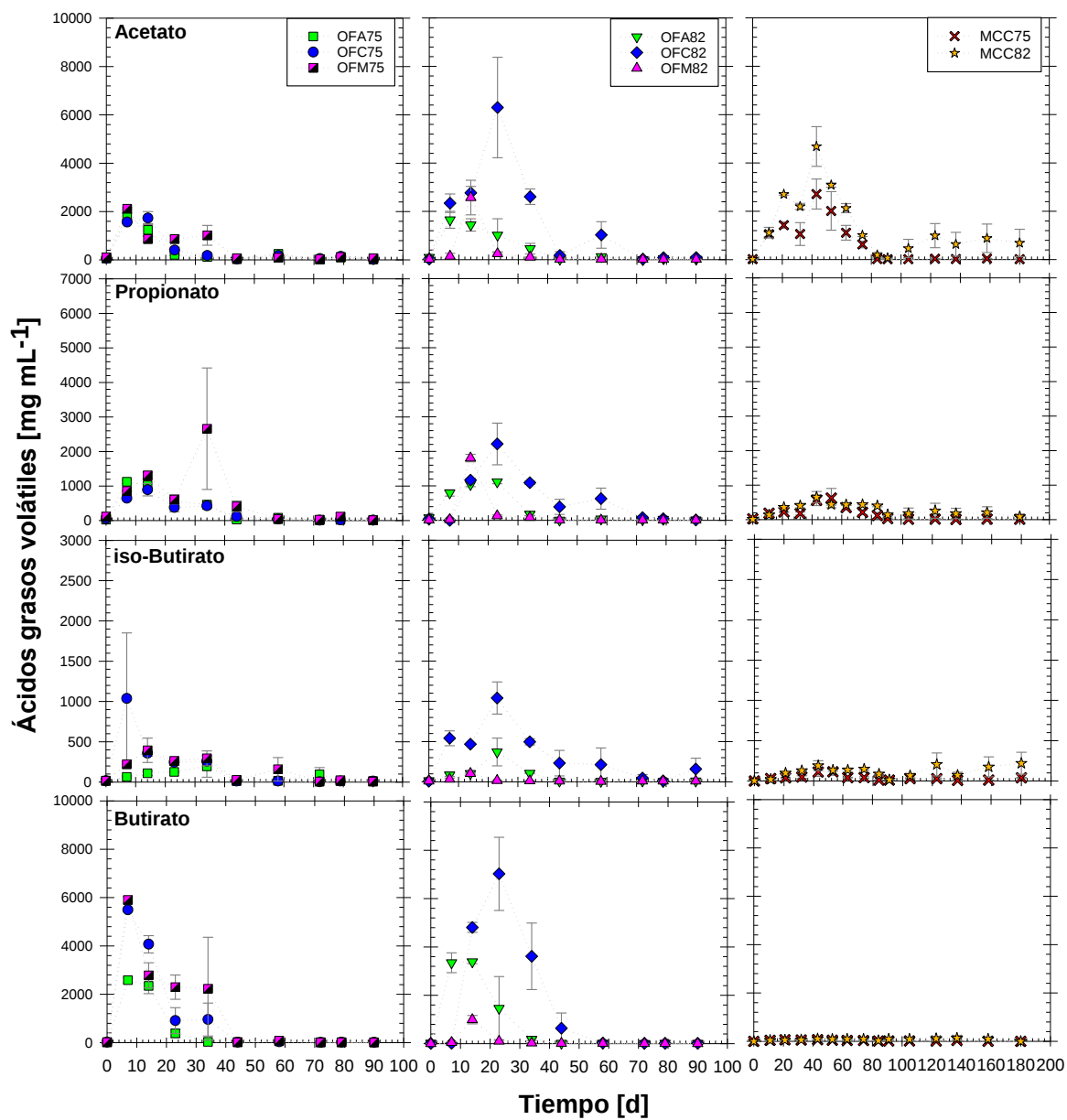


Figura 8. Cambios en la concentración de acetato, propionato, iso-butyrate y butyrate en la digestión anaeróbica.

A partir de la Figura 8, también se pueden observar tres comportamientos diferentes, coincidiendo con el tipo de tratamiento, las cuales se explican a continuación.

- **Relación 75:25 (OFA, OFC, OFM).** Las variedades de nopal tuvieron un comportamiento similar en la concentración de los AGV, de tipo unimodal, con el pico más elevado el día 7 y una fluctuación para el día 34, exclusivamente en propionato. La producción de los AGV comienza en el día 7 y finaliza en el día 44, coincidiendo con el final de la fase exponencial.
- **Relación 82:18 (OFA, OFC, OFM).** Las variedades presentan un comportamiento similar entre sí. Con una curva tipo unimodal, con el pico más elevado en el día 23, con una fluctuación el día 65 en acetato y propionato. En este caso, su producción inicia el día 14 y finaliza el día 72, cuando finaliza la fase exponencial.
- **Celulosa microcristalina (MCC75 y MCC82).** Presentó una distribución unimodal, con el pico más elevado el día 44, concordando con el final de fase de latencia, para ambas relaciones. Su concentración disminuye hasta el final del proceso. Con una fluctuación en acetato en el día 105 en el tratamiento MCC82.

De manera general, ambas relaciones de nopal presentan un comportamiento similar, en la curva, variando los días de producción de AGV y los puntos más elevados de producción. Después de del punto de mayor producción su concentración decae hasta el final de la digestión.

3.7. Conclusiones

El potencial bioquímico de metano de la co-digestión nopal – estiércol bovino de la mayoría de los tratamientos fue mayor que el testigo de celulosa. La variedad Atlixco tuvo el menor PBMe en ambas relaciones ($52.8 \text{ mL N-CH}_4 \text{ g}_{\text{SV alim}}^{-1}$ y $41.5 \text{ mL N-CH}_4 \text{ g}_{\text{SV alim}}^{-1}$). Las variedades Copena V1 y Milpa Alta aumentaron en un 18.4% y 28.3% el PBMe, en relación con el testigo de celulosa microcristalina. Siendo la variedad Milpa Alta la que tuvo los rendimientos más altos del estudio ($71.4 \text{ mL N-CH}_4 \text{ g}_{\text{SV alim}}^{-1}$ y $64.6 \text{ mL N-CH}_4 \text{ g}_{\text{SV alim}}^{-1}$, para 75:25 y 82:18, respectivamente). En cuanto al perfil de AGV, los tratamientos con nopal tuvieron un comportamiento similar entre sí, con una mayor concentración de butirato y acetato, donde la relación 82:18 destacó en la concentración de AGV; mientras que la celulosa microcristalina tuvo una mayor

concentración de acetato, sugiriendo que la composición de los sustratos afecta la ruta metabólica en el proceso de digestión anaeróbica.

3.8. Referencias bibliográficas

Achinas, S. and G. J. W. Euverink (2016). "Theoretical analysis of biogas potential prediction from agricultural waste." Resource-Efficient Technologies **2**(3): 143-147.

Adelard, L., T. G. Poulsen and V. Rakotoniaina (2015). "Biogas and methane yield in response to co-and separate digestion of biomass wastes." Waste Management & Research **33**(1): 55-62.

Agler, M. T., B. A. Wrenn, S. H. Zinder and L. T. Angenent (2011). "Waste to bioproduct conversion with undefined mixed cultures: the carboxylate platform." Trends in biotechnology **29**(2): 70-78.

Ali Shah, F., Q. Mahmood, M. Maroof Shah, A. Pervez and S. Ahmad Asad (2014). "Microbial ecology of anaerobic digesters: the key players of anaerobiosis." The Scientific World Journal **2014**.

APHA (2005). "Standard methods for the examination of water and wastewater." American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA.

Barazarte, H., Y. Teran, R. D'Aubeterre, L. Perez, C. Garmendia, I. Moreno, E. Rodriguez, D. Pacheco, C. Colmenares and A. Beatriz Sanchez-Urdaneta (2017). "Physical and chemical characteristics of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes." REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA **34**(2): 175-186.

Belay, J. B. (2016). "Study on biogas energy production from cactus *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill."

Borland, A. M., J. Hartwell, D. J. Weston, K. A. Schlauch, T. J. Tschaplinski, G. A. Tuskan, X. Yang and J. C. Cushman (2014). "Engineering crassulacean acid metabolism to improve water-use efficiency." Trends in Plant Science **19**(5): 327-338.

Browne, J. D., E. Allen and J. D. Murphy (2013). "Evaluation of the biomethane potential from multiple waste streams for a proposed community scale anaerobic digester." Environmental technology **34**(13-14): 2027-2038.

Crespo, R. J. B., J. P. Díaz and I. P. Reyes (2016). "El modelo de Buswell. Aplicación y comparación. Principales factores que influyen en su aplicación." Gestión ambiental **168**: 23.

do Nascimento Santos, T., E. D. Dutra, A. G. do Prado, F. C. B. Leite, R. d. F. R. de Souza, D. C. dos Santos, C. A. M. de Abreu, D. A. Simões, M. A. de Moraes Jr and R. S. C. Menezes (2016). "Potential for biofuels from the biomass of prickly pear cladodes: Challenges for bioethanol and biogas production in dry areas." Biomass and Bioenergy **85**: 215-222.

Ebner, J. H., R. A. Labatut, J. S. Lodge, A. A. Williamson and T. A. Trabold (2016). "Anaerobic co-digestion of commercial food waste and dairy manure: characterizing biochemical parameters and synergistic effects." Waste Management **52**: 286-294.

El-Mashad, M. and R. Zhang (2010). "Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste." Bioresource Technology **101**: 4021-4028.

Elghandour, M., A. Kholif, A. Salem, O. Olafadehan and A. Kholif (2016). "Sustainable anaerobic rumen methane and carbon dioxide productions from prickly pear cactus flour by organic acid salts addition." Journal of Cleaner Production **139**: 1362-1369.

Franke-Whittle, I. H., A. Walter, C. Ebner and H. Insam (2014). "Investigation into the effect of high concentrations of volatile fatty acids in anaerobic digestion on methanogenic communities." Waste Management **34**(11): 2080-2089.

Gasca, T. G., J. Kawas, R. G. Costa and H. Andrade-Montemayor (2015). "Nutritional Composition, in vitro Degradability and Gas Production of *Opuntia ficus indica* and Four Other Wild Cacti Species." Life Science Journal **12**(2s).

Gusha, J., T. Halimani, N. Ngongoni and S. Ncube (2015). "Effect of feeding cactus-legume silages on nitrogen retention, digestibility and microbial protein synthesis in goats." Animal Feed Science and Technology **206**: 1-7.

HACH (2004). Hach Water Analysis Handbook. Method 10031. Colorado, U.S.A.

Haider, M. R., S. Yousaf, R. N. Malik and C. Visvanathan (2015). "Effect of mixing ratio of food waste and rice husk co-digestion and substrate to inoculum ratio on biogas production." Bioresource Technology **190**: 451-457.

Huang, X., S. Yun, J. Zhu, T. Du, C. Zhang and X. Li (2016). "Mesophilic anaerobic co-digestion of aloe peel waste with dairy manure in the batch digester: Focusing on mixing ratios and digestate stability." Bioresource Technology **218**: 62-68.

Jang, H. M., J. H. Ha, M.-S. Kim, J.-O. Kim, Y. M. Kim and J. M. Park (2016). "Effect of increased load of high-strength food wastewater in thermophilic and mesophilic anaerobic co-digestion of waste activated sludge on bacterial community structure." Water Research **99**: 140-148.

Labatut, R. A., L. T. Angenent and R. S. Norman (2011). "Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates." Bioresource Technology **102**: 2255-2264.

Li, H., F. Tan, L. Ke, D. Xia, Y. Wang, N. He, Y. Zheng and Q. Li (2016). "Mass balances and distributions of C, N, and P in the anaerobic digestion of different substrates and relationships between products and substrates." Chemical Engineering Journal **287**: 329-336.

Li, Y., Y. Jin, A. Borrión, H. Li and J. Li (2017). "Effects of organic composition on the anaerobic biodegradability of food waste." Bioresource Technology **243**: 836-845.

Li, Y., S. Y. Park and J. Zhu (2011). "Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste." Renewable and sustainable energy reviews **15**(1): 821-826.

Meneses-Reyes, J. C., G. Hernández-Eugenio, D. H. Huber, N. Balagurusamy and T. Espinosa-Solares (2017). "Biochemical methane potential of oil-extracted microalgae and glycerol in co-digestion with chicken litter." Bioresource Technology **224**: 373-379.

Merklein, K., S. S. Fong and Y. Deng (2014). "Production of butyric acid by a cellulolytic actinobacterium *Thermobifida fusca* on cellulose." Biochemical Engineering Journal **90**: 239-244.

Mitchell, S. M., N. Kennedy, J. Ma, G. Yorgey, C. E. Kruger, J. L. Ullman and C. Frear (2015). Anaerobic Digestion Effluents and Processes: The Basics. Washington State University Extension. pp.

Mosbæk, F., H. Kjeldal, D. G. Mulat, M. Albertsen, A. J. Ward, A. Feilberg and J. L. Nielsen (2016). "Identification of syntrophic acetate-oxidizing bacteria in anaerobic digesters by combined protein-based stable isotope probing and metagenomics." The ISME journal.

Ortega-Martinez, E., I. Sapkaite, F. Fdz-Polanco and A. Donoso-Bravo (2016). "From pre-treatment toward inter-treatment. Getting some clues from sewage sludge biomethanation." Bioresource Technology **212**: 227-235.

Osborne, H. B., N. Adouani, O. Potier and M. N. Pons (2016). "Anaerobic codigestion of cow slurry with grass silage: Effect of silage duration." Environmental Progress & Sustainable Energy **35**(5): 1374-1380.

Patil, V. and H. Deshmukh (2016). "Studies on Molds from Vegetable Waste, Cattle Dung Slurry and Biogas Digester Effluent." Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci **5**(9): 182-189.

Poulsen, T. G., L. Adelard and M. Wells (2017). "Improvement in CH₄/CO₂ ratio and CH₄ yield as related to biomass mix composition during anaerobic co-digestion." Waste Management **61**: 179-187.

Prieto-García, F., J. Prieto Méndez, O. A. Acevedo Sandoval, R. A. Canales Flores and Y. Marmolejo Santillán (2016). "Chemical and physical characterization of *Opuntia* spp. seeds grown in Hidalgo State, Mexico." Ciencia e investigación agraria **43**(1): 143-150.

Provenzano, M. R., O. Cavallo, A. D. Malerba, F. Di Maria, M. Cucina, L. Massaccesi and G. Gigliotti (2016). "Co-treatment of fruit and vegetable waste in sludge digesters: Chemical and spectroscopic investigation by fluorescence and Fourier transform infrared spectroscopy." Waste Management **50**: 283-289.

Ramos-Suárez, J. L., A. Martínez and N. Carreras (2014). "Optimization of the digestion process of *Scenedesmus* sp. and *Opuntia maxima* for biogas production." Energy Conversion and Management **88**: 1263-1270.

Riggio, S., M. Torrijos, R. Debord, G. Esposito, E. van Hullebusch, J. Steyer and R. Escudí (2017). "Mesophilic anaerobic digestion of several types of spent livestock bedding in a batch leach-bed reactor: substrate characterization and process performance." Waste Management **59**: 129-139.

Ryan, C. A., S. L. Billington and C. S. Criddle (2017). "Methodology to assess end-of-life anaerobic biodegradation kinetics and methane production potential for composite materials." Composites Part A: Applied Science and Manufacturing **95**: 388-399.

Santolaria, C. C. (2014). Diseño de un modelo semiempírico de co-digestión anaerobia. Universidad de Zaragoza, Escuela de Ingeniería y Agricultura: 1-41.

Shah, F. A., Q. Mahmood, N. Rashid, A. Pervez, I. A. Raja and M. M. Shah (2015). "Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis." Renewable and sustainable energy reviews **42**: 627-642.

Solís, C. D. E. (2015). Potencial Bioquímico de Metano de Nopal (*Opuntia ficus indica*) en co-digestión con estiércol vacuno en microcosmos. Posgrado en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua. Texcoco, México, Universidad Autónoma de Chapingo. **Maestría en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua**: 84.

Spirito, C. M., H. Richter, K. Rabaey, A. J. Stams and L. T. Angenent (2014). "Chain elongation in anaerobic reactor microbiomes to recover resources from waste." Current opinion in biotechnology **27**: 115-122.

Torrez, L. O. (2015). Caracterización fisicoquímica de nopal, microalga y purines para determinar potencial de metano usando digestión anaeróbica.

Udeh, B. A. and E. A. Erkurt (2017). "Compositional and structural changes in Phoenix canariensis and Opuntia ficus-indica with pretreatment: Effects on enzymatic hydrolysis and second generation ethanol production." Bioresource Technology **224**: 702-707.

Wang, X., Z. Li, X. Zhou, Q. Wang, Y. Wu, M. Saino and X. Bai (2016). "Study on the bio-methane yield and microbial community structure in enzyme enhanced anaerobic co-digestion of cow manure and corn straw." Bioresource Technology **219**: 150-157.

Weimer, P. J., M. Nerdahl and D. J. Brandl (2015). "Production of medium-chain volatile fatty acids by mixed ruminal microorganisms is enhanced by ethanol in co-culture with Clostridium kluyveri." Bioresource Technology **175**: 97-101.

Wu, Y., C. Wang, X. Liu, H. Ma, J. Wu, J. Zuo and K. Wang (2016). "A new method of two-phase anaerobic digestion for fruit and vegetable waste treatment." Bioresource Technology **211**: 16-23.

Xing, L., S. Yang, Q. Yin, S. Xie, P. J. Strong and G. Wu (2017). "Effects of carbon source on methanogenic activities and pathways incorporating metagenomic analysis of microbial community." Bioresource Technology.

Yang, L., M. Lu, S. Carl, J. A. Mayer, J. C. Cushman, E. Tian and H. Lin (2015). "Biomass characterization of Agave and Opuntia as potential biofuel feedstocks." Biomass and Bioenergy **76**: 43-53.

Zhang, J., C. Lv, J. Tong, J. Liu, J. Liu, D. Yu, Y. Wang, M. Chen and Y. Wei (2016). "Optimization and microbial community analysis of anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge based on microwave pretreatment." Bioresource Technology **200**: 253-261.

Zhang, Q., J. Hu and D.-J. Lee (2016). "Biogas from anaerobic digestion processes: Research updates." Renewable energy **98**: 108-119.

Zheng, Z., J. Liu, X. Yuan, X. Wang, W. Zhu, F. Yang and Z. Cui (2015). "Effect of dairy manure to switchgrass co-digestion ratio on methane production and the bacterial community in batch anaerobic digestion." Applied Energy **151**: 249-257.

Zwietering, M., I. Jongenburger, F. Rombouts and K. Van't Riet (1990). "Modeling of the bacterial growth curve." Applied and Environmental Microbiology **56**(6): 1875-1881.

CAPÍTULO 4. Conclusiones y Recomendaciones

4.1. Conclusiones

El nopal que se produce en la región central de México se utiliza generalmente para consumo humano. Sin embargo, durante su transformación puede generar grandes cantidades de biomasa, por ello se sugiere como una alternativa para la producción de biocombustibles, tales como bioetanol y biogás.

Por sus propiedades químicas se le utiliza como co-sustrato, equilibrando la relación C/N, permitiendo que aumente la producción de metano. Diversas investigaciones han demostrado que cambios en la composición química de los sustratos afectan la producción y calidad del metano. Tomando en cuenta lo anterior se evaluó la capacidad de producción de metano de la co-digestión de nopal (*Opuntia ficus-indica* Mill.), en tres variedades, con estiércol bovino.

El potencial bioquímico de metano teórica cambia de acuerdo al tipo de mezcla utilizada. Para la variedad Copena V1 fue de 201.8 y 215.0 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹ (para la relación 75:25 y 82:18, respectivamente), que obtuvo los valores más bajos. La variedad Milpa Alta tuvo un PBMt de 213.1 y 227.4 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹ para la relación 75:25 y 82:18, respectivamente, siendo mayor que en la variedad Copena V1. Mientras que la variedad Atlixco fue la que obtuvo los PBMt más elevados, 224.6 mL CH₄ g_{SV alim}⁻¹ (para la relación 75:25), y de 240.0 (para la relación 82:18).

De manera experimental los valores de PBMe fueron menores que los determinados de manera teórica, esto ocurre porque de manera teórica se asume que la materia se transforma en biogás y metano completamente. De allí que los rangos de PBM oscilen de 53.0 a 68.0 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹, según lo obtenido del modelo modificado de Gompertz. Los demás parámetros determinados con dicho modelo incluyen la tasa máxima de producción de metano (μ_m), la cual oscila de entre 1.2 a 2.2 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹d⁻¹; mientras que la duración de la fase de latencia (λ) fue de 12.4 a 29.9 d. De manera particular, la variedad Atlixco tuvo el menor PBMe, en ambas relaciones de trabajo estudio (52.8 y 41.5 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹, para OFA75 y OFA82, respectivamente). Por lo que también su índice de biodegradabilidad fue bajo, de

23.5 % y 17.3 %, respectivamente. La variedad Copena V1 tuvo un un PBMe de 66.5 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹ para OFC75 y 59.0 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹ para OFC82, obteniendo un PBMe más elevado que la variedad Atlixco. Los tratamientos con la variedad Milpa Alta tuvieron los mejores PBMe del estudio (71.4 y 64.6 mL N-CH₄ g_{SV alim}⁻¹, para OFM75 y OFM82 respectivamente). Por ende, su índice de biodegradabilidad fue de 33.5 y 28.4 %, aprovechando más eficientemente la materia orgánica.

La co-digestión de *Opuntia ficus-indica* Mill., y estiércol bovino, resulta viable para la producción de metano. En cuanto a los parámetros obtenidos en la variedad Milpa Alta se le puede atribuir a que posiblemente a que los microorganismos reconocen el sustrato y están adaptados a las condiciones del mismo. Sin embargo, al observar que la variedad Copena V1 también tuvo un óptimo PBMe, se le puede atribuir que los microorganismos se adaptaron a las características del sustrato, no siendo el caso de la variedad Atlixco, que tuvo un PBMe bajo.

Por otra parte, el perfil de ácidos grasos fue los parámetros de mayor importancia para evaluar la estabilidad del proceso de digestión, ya que las diferencias entre las concentraciones de los tratamientos testigo y los estudiados, sugieren que la disposición de los AGV de los sustratos, facilita su transformación en metano dependiendo de la composición química de los mismos.

4.2. Recomendaciones

Las recomendaciones para futuros trabajos de investigación sobre la co-digestión anaeróbica de residuos vegetales son:

- a) Analizar las poblaciones microbianas de los tratamientos estudiados, para evaluar el efecto de los microorganismos sobre el PBMe de cada variedad.
- b) Realizar una perturbación mezclando las variedades similares (Copena V1 y Milpa Alta), para evaluar el PBM.
- c) Analizar las poblaciones microbianas de la perturbación para evaluar los cambios en la misma después de la perturbación.

