



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

POSGRADO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA

Y USO INTEGRAL DEL AGUA

**“INFLUENCIA DE LA SOBRECARGA EN LA CO-DIGESTIÓN
ANAERÓBICA DE NOPAL (*Opuntia ficus indica*) Y
ESTIÉRCOL DE BOVINO”**

TESIS

**Que como requisito parcial
para obtener el grado de:**

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



**DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES**

Presenta:

YESENIA CABALLERO NOLASCO

Bajo la supervisión de: GUADALUPE HERNANDEZ EUGENIO, DOCTORA

Chapingo, Texcoco, Estado de México; enero de 2017



**INFLUENCIA DE LA SOBRECARGA EN LA CO-DIGESTIÓN
ANAERÓBICA DE NOPAL (*Opuntia ficus indica*) Y
ESTIÉRCOL DE BOVINO**

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

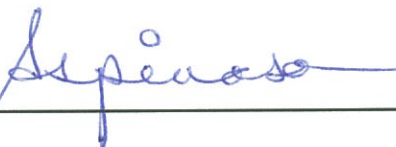
MAESTRO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA Y USO INTEGRAL DEL AGUA

DIRECTOR:



DRA. GUADALUPE HERNÁNDEZ EUGENIO

CO-DIRECTOR:



DR. TEODORO ESPINOSA SOLARES

ASESOR:



DR. NAGAMANI BALAGURUSAMY

CONTENIDO

CONTENIDO	i
INDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	v
DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTOS	viii
DATOS BIOGRÁFICOS	ix
CAPITULO 1	1
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. OBJETIVO GENERAL	3
2.1. Objetivos específicos	3
CAPITULO 2	4
3. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3.1. Digestión anaeróbica	4
3.2. Etapas de la Digestión Anaeróbica	5
3.2.1. Hidrolisis	5
3.2.2. Acidogénesis	6

3.2.3.	Acetogénesis.....	6
3.2.4.	Metanogénesis.....	7
3.3.	Tipos de digestión anaeróbica	7
3.3.1.	Mono-digestión.....	7
3.3.2.	Co-digestión	8
3.4.	El estiércol de bovino como materia prima en la digestión anaeróbica..	9
3.5.	El nopal (<i>opuntia ficus indica</i>) como materia prima para la producción de biogás.	9
3.6.	Factores que regulan el proceso de digestión	10
3.6.1.	pH.....	10
3.6.2.	Temperatura.....	11
3.6.3.	Agitación	11
3.6.4.	Tiempo de retención hidráulica	11
3.6.5.	Velocidad de carga orgánica.....	11
3.7.	Tóxicos e inhibidores	12
3.7.1.	Amoniaco	12
3.7.2.	Sulfuros	12
3.8.	Tipos de digestores.....	12

3.8.1. Digestores continuos.....	12
3.8.2. Digestores discontinuos	13
3.8.3. Digestores semicontinuos	13
CAPITULO 3.....	14
EVALUACIÓN DE LA CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA <i>Opuntia ficus indica</i> - ESTIÉRCOL DE BOVINO PARA PRODUCCIÓN DE METANO.	14
RESUMEN	14
ABSTRACT	15
4. INTRODUCCIÓN	16
5. MATERIALES Y MÉTODOS	18
5.1. Historia de los digestores.....	18
5.2. Sustratos.....	19
5.3. Procedimiento experimental	19
5.4. Métodos analíticos.....	21
5.5. Análisis estadístico	22
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES	23
6.1. Comportamiento de los digestores en la fase de estabilización	23
6.2. Actividad Metanogénica Específica en la fase de estabilización	27

CAPITULO 4	31
INFLUENCIA DE LA SOBRECARGA ORGANICA EN LA CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA NOPAL-ESTIÉRCOL DE BOVINO.	31
RESUMEN	31
ABSTRACT	32
7. INTRODUCCIÓN	33
8. MATERIALES Y MÉTODOS	34
8.1. Sustratos.....	34
8.2. Procedimiento experimental	34
8.3. Métodos analíticos.....	34
8.4. Análisis estadístico	36
9. RESULTADOS Y DISCUSIONES	37
9.1. Comportamiento de los digestores en las fases de perturbación y recuperación.....	37
9.2. Actividad Metanogénica Específica en las etapas de perturbación y recuperación.....	40
10. CONCLUSIONES	46
11. REFERENCIAS.....	47

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Relación C:N de acuerdo a las proporciones de nopal-estiércol de bovino.	21
Tabla 2: Características físico- químicas de los sustratos utilizados en el experimento.	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Cambios de composición, proporción y porcentaje de solidos totales en la alimentación a lo largo del proceso de adaptación.	20
Figura 2: Comportamiento de la concentración de CH ₄ , pH y N-NH ₃ en los cuatro tratamientos a lo largo de la fase de estabilización.....	25
Figura 3: Contenido de sulfatos y sulfuros en los cuatro tratamientos durante la etapa de estabilización.	26
Figura 4: Concentraciones de los AGV's en los cuatro tratamientos durante la etapa de estabilización.	28
Figura 5: Actividad metanogénica específica para cada tratamiento a lo largo del periodo de estabilización.....	29
Figura 6: Actividad metanogénica específica con respecto a la relación C:N y comparación de medias mediante la prueba de Tukey con ANOVA, en SAS. .	30
Figura 7: Comportamiento del pH, concentración de CH ₄ y N-NH ₃ en relación con la carga orgánica introducida en los cuatro tratamientos, a lo largo de la experimentación durante las etapas de estabilización, perturbación y recuperación.	39

Figura 8: Contenido de sulfatos y sulfuros en los cuatro tratamientos durante las etapas de estabilización, perturbación y recuperación.	42
Figura 9: Concentraciones de los AGV's en los cuatro tratamientos durante el periodo de experimentación de las etapas de estabilización, perturbación y recuperación.	43
Figura 10: Actividad Metanogénica Especifica en los 4 tratamientos durante las etapas de estabilización, perturbación y recuperación.	44
Figura 11: Comparación de medias de los 4 tratamientos en las tres etapas de la experimentación con la prueba de Tukey en SAS.	45

DEDICATORIA

A mis padres: Silvina Nolasco Pérez y Jerónimo Caballero Rueda, por su amor y apoyo incondicional en todo momento, porque ustedes son mi motivación para seguir adelante.

A mis queridos hermanos: Freddy, Gerónimo y María Guadalupe Caballero Nolasco, por su cariño y apoyo en cada etapa que emprendo.

A Abraham Jesús Arzeta Ríos, por todo su apoyo brindado.

A todos mis amigos con quienes compartí gratos y valiosos momentos llenos de alegría y a todos aquellos que fueron parte esencial para la realización de este trabajo, infinitas gracias.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, por permitir mi ingreso desde la carrera hasta la maestría y ser parte fundamental de mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por brindarme el apoyo económico durante la realización de mi maestría.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT), por brindarme apoyo económico para la realización de mi proyecto de tesis.

A la Doctora Guadalupe Hernández Eugenio, por su tiempo y dedicación para que este proyecto se lleve a cabo de forma exitosa.

Al Doctor Teodoro Espinosa Solares, por su empeño y dedicación cada vez que se necesitó para los avances y realización de este trabajo.

Al Doctor Nagamany Balagurusamy, por aceptar ser parte de mi comité asesor y participar de manera conjunta para poder realizar este trabajo.

A la M.I. María del Carmen González Rangel, por su apoyo y asesoría en el laboratorio.

A Mayra y Vicky, por su paciencia y ayuda en cada uno de los trámites realizados durante mi estancia en la maestría.



DATOS BIOGRÁFICOS

Yesenia Caballero Nolasco nació el 21 de marzo de 1990 en Tierra colorada perteneciente al municipio de Acayucan Veracruz. Hija de Silvina Nolasco Pérez y Jerónimo Caballero Rueda. Culminó su educación media superior en el 2008 en el Telebachillerato “Dehesa” en Teodoro A. Dehesa, municipio de Acayucan.

Ingresó a la Universidad Autónoma Chapingo para cursar el Propedéutico en 2008-2009 en el Centro Regional Universitario del Sur Sureste (CRUSSE) hoy Unidad Regional Universitaria del Sur Sureste (URUSSE) ubicado en Puyacatengo, Teapa, Tabasco. Egresó de la carrera de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables en el año 2013 en esta misma Universidad. En el 2014 fue aceptada en el posgrado de Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua, egresando en el 2016.

INFLUENCIA DE LA SOBRECARGA EN LA CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA DE NOPAL (*Opuntia ficus indica*) Y ESTIÉRCOL DE BOVINO

RESUMEN GENERAL

Este trabajo evaluó el rendimiento de metano a partir de la co-digestión de nopal (*Opuntia ficus indica*) y estiércol de bovino. Se investigaron cuatro diferentes mezclas por duplicado para determinar la mejor proporción. Las mezclas fueron, N:0 E:100, N:50 E:50, N:75 E:25 y N:82 E:18. Los 4 tratamientos se realizaron en digestores semicontinuos con volumen de trabajo de 10 L en condiciones mesofílicas (37°C), al 4% de ST y agitación semicontinua cada tres horas por 15 minutos. Se utilizaron dos tiempos de retención hidráulica de 30 y 15 días, este último con la finalidad de observar el comportamiento de los digestores al someterse a una perturbación por incremento de la carga orgánica. La concentración de metano en el biogás fue superior a 60% en todos los casos. El tratamiento N: 82 E: 18 presentó el mayor rendimiento de metano en la etapa de perturbación con 274.53 mL de CH₄ g_{SValimentado} d⁻¹. La actividad metanogénica específica se incrementó un 535% al compararse con el rendimiento del tratamiento testigo obtenido en la etapa de perturbación (43.4 mL de CH₄ g_{SValimentado} d⁻¹). Según una comparación de medias con la prueba de Tukey la co-digestión y el tratamiento testigo mostraron diferencias significativas en sus rendimientos. Los datos obtenidos indicaron que el nopal es una materia prima con gran potencial para la producción de metano debido a sus altos rendimientos de biogás.

Palabras clave: co-digestión, nopal, estiércol de bovino, prueba Tukey, condiciones mesofílicas.¹

Tesis de Maestría en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Yesenia Caballero Nolasco

Director de Tesis: Dra. Guadalupe Hernández Eugenio

GENERAL ABSTRACT

Methane production from nopal (*Opuntia ficus indica*) and cow manure was evaluated in this work. Four mixtures of nopal (N) and cow manure (E) were realized in duplicate, N: 0 E: 100; N: 50 E: 50; N: 75 E: 25 and N: 82 E: 18. The four treatments were evaluated in semi-continuous digesters with a working volume of 10 L in mesophilic conditions (37° C), at 4% TS and semi-continuous agitation. The reactor was operated at two hydraulic retention times at 30 and 15 days, the latter to evaluate the disturbance by increasing the organic loading rate (OLR). The methane concentration in the biogas was around 60% in all cases. The treatment N: 82 E: 18 showed the highest methane yield in the perturbation stage with 274.53 mL of CH₄ g_{VSadded} d⁻¹. The methane yield increased 535% when compared to the yield of the control treatment obtained in the perturbation step (43.4 mL of fed CH₄ g_{VSadded} d⁻¹). According to a comparison of means with the test Tukey the co-digestion and the control treatment showed significant differences in their yields. The data obtained indicated that nopal is a feedstock with great potential for methane production for its high biogas yields and its capacity to process large organic load volumes.

Keywords: co-digestion, nopal, cow manure, Tukey test, mesophilic conditions.

2

² Tesis de Maestría en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Yesenia Caballero Nolasco

Director de Tesis: Dra. Guadalupe Hernández Eugenio

CAPITULO 1

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La digestión anaeróbica (DA) es una tecnología eficiente para el tratamiento de residuos. En este proceso de descomposición natural se genera biogás y a la vez se reducen grandes volúmenes de residuos. Se ha aplicado ampliamente para el tratamiento de los residuos agrícolas y cultivos energéticos (Abu Qdais, Bani Hani, & Shatnawi, 2010). El biogás se compone de metano y dióxido de carbono principalmente y con un contenido de metano superior a 45% es inflamable (Deublein & Steinhauser, 2010).

La digestión anaeróbica para la producción de metano es de interés para los investigadores por ser una fuente de energía más limpia, razón por la que la gran mayoría de estudios se realizan con la finalidad de mejorar la eficiencia de digestión anaeróbica para incrementar la velocidad de producción de biogás (Chen, Cheng, & Creamer, 2008) (Low, Parthasarathy, Slatter, & Eshtiaghi, 2012).

La DA es un método atractivo para el tratamiento de residuos tales como el estiércol de bovino, sin embargo la digestión de un solo sustrato no es económicamente rentable (Neves, Oliveira, & Alves, 2009). Se ha sugerido la co-digestión con la finalidad de mejorar significativamente la eficiencia de tratamiento de residuos (Chen et al., 2008). La co-digestión es un método de tratamiento en el que diferentes residuos con características complementarias se mezclan y se tratan juntos (Ağdağ & Sponza, 2007). Contrae múltiples beneficios entre ellos: equilibrio de nutrientes, incremento de la carga orgánica biodegradable, dilución de compuestos tóxicos potenciales, aumento en la tasa de degradación y a la vez una mayor producción de biogás (Sosnowski, Wieczorek, & Ledakowicz, 2003). La co-digestión aprovecha la complementariedad de los sustratos permitiendo que el proceso sea más eficiente debido a que mejora la relación C / N (Cuetos, Gómez, Otero, & Morán, 2008). Según Mshandete, Kivaisi, Rubindamayugi,

and Mattiasson (2004) y Nurliyana et al. (2015) con relaciones C/N de 16-45 se incrementan los rendimientos de metano. Un exceso de nitrógeno o el contenido de carbono podría conducir a la inhibición del proceso (Forster-Carneiro, Pérez, & Romero, 2007).

En éste estudio se realizó una co-digestión a partir de nopal y estiércol de bovino, se realizaron 4 tratamientos por duplicado con diferentes proporciones de nopal y estiércol. Los digestores se operaron bajo condiciones mesofílicas (37° C) y dos tiempos de retención hidráulica, de 30 días, y 15 días. El objetivo de este trabajo fue encontrar la mejor proporción que incrementara el rendimiento de metano (capítulo 3) y a la vez determinar la capacidad de los digestores para procesar altos contenidos de materia orgánica al realizarse una perturbación por incremento de la carga orgánica (capítulo 4).

2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el rendimiento de metano a partir de la co-digestión anaeróbica de nopal y estiércol de bovino en diferentes proporciones en digestores mesofílicos.

2.1. Objetivos específicos

Encontrar la proporción nopal - estiércol que incremente el rendimiento específico de metano.

Determinar la capacidad de los digestores para procesar altos contenidos de materia orgánica al disminuir el tiempo de retención hidráulica.

Determinar la resiliencia de los digestores al someterse a una perturbación por incremento de la carga orgánica.

CAPITULO 2

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Digestión anaeróbica

La digestión anaeróbica (DA) es un proceso mediante el cual los microorganismos degradan la materia orgánica en ausencia de oxígeno, produciendo como producto final biogás, el cual se compone de metano y dióxido de carbono principalmente (Appels, Baeyens, Degreève, & Dewil, 2008). La DA se considera un tratamiento efectivo para el manejo de residuos (Shin et al., 2011), debido a que se reducen altos volúmenes de residuos y se genera biogás al mismo tiempo (Espinosa-Solares et al., 2006), (Chen et al., 2008), por otro lado se obtienen residuos finales ricos en nutrientes que pueden ser utilizados como fertilizantes en cultivos agrícolas (Ciborowski, 2007); (Foresti, Zaiat, & Vallero, 2006); (Foresti et al., 2006). El biogás como producto final de este proceso tiene un alto valor calorífico y es considerado una fuente de energía renovable (Appels et al., 2008), puede ser utilizado para la generación de electricidad, y debido a la escasez del gas natural se puede utilizar el biogás como un sustituto o complemento (Murphy et al . 2004). El metano como una fuente de energía más limpia es de interés para los investigadores razón por la cual la mayoría de los estudios son realizados con el fin de mejorar la eficiencia de la digestión anaerobia y aumentar la velocidad de producción de biogás. (Low et al., 2012).

La composición del biogás según (Graaf y Fendler , 2010) es la siguiente:

- ☐ 50-75 % de metano (CH_4)
- ☐ 25-45 % dióxido de carbono (CO_2)
- ☐ < 1% sulfuro de hidrógeno (H_2S)
- ☐ < 2 % nitrógeno (N_2)
- ☐ < 1 % amoníaco (NH_3)
- ☐ < 2 % de oxígeno (O_2)
- ☐ 2-7 % agua (H_2O)

Todo material orgánico ya sea agrícola o industrial puede ser digerido a excepción de materiales leñosos, ya que los microorganismos son incapaces de degradar la lignina (Appels et al., 2008); dependiendo del origen de estos residuos orgánicos pueden contener inhibidores o sustancias tóxicas como el amoníaco, sulfuros, así como metales pesados, los cuales pueden ocasionar un mal funcionamiento e incluso provocar un colapso de los digestores, debido a la disminución en la producción de biogás, es por ello la importancia de hacer co-digestión con otros residuos debido a que puede mejorarse la eficiencia de tratamiento, (Ramos-Suárez et al., 2014) por otro lado es importante que los microorganismos estén adaptados a estas sustancias inhibidoras (Mata-Alvarez, Macé, & Llabrés, 2000). Los residuos agrícolas, el estiércol animal, residuos sólidos municipales y residuos industriales pueden ser utilizados al máximo de esta manera (Esposito et al., 2012)

3.2. Etapas de la Digestión Anaeróbica

La digestión anaeróbica para la producción de metano consta de 4 fases para la degradación del sustrato: la hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y la metanogénesis, cada fase es realizada por diferentes grupos de microorganismo, los cuales actúan de forma sintrófica, para llevar a cabo de forma conjunta todo el proceso. (Deublein & Steinhauser, 2010).

3.2.1. Hidrólisis

La hidrólisis es la primera etapa de la digestión anaerobia y es considerado como el paso limitante de la velocidad de digestión especialmente a bajas temperaturas (L. Zhang et al., 2016). Durante la hidrólisis hay una conversión de los compuestos orgánicos complejos (carbohidratos, lípidos y proteínas) en formas más simples (Goswami et al., 2016). Hay algunos polímeros como la celulosa que son difíciles de degradar limitando el proceso de digestión. Se considera que durante la digestión de los residuos sólidos, sólo el 50% de los compuestos orgánicos se degradan ya que el otro 50% de los

compuestos permanece en su estado primario debido a la falta de enzimas participando en su degradación (Parawira et al., 2008).

3.2.2. Acidogénesis

En este etapa la diversidad del consorcio microbiano involucrados en la DA alcanza su máximo punto. La mayoría de los microorganismos de la hidrolisis también participan en la fermentación. Los productos de la hidrolisis a través de diversas reacciones de fermentación se convierten en principalmente en varios ácidos orgánicos (acético, propionico, butírico, succínico, láctico entre otros), alcoholes, amoníaco, hidrogeno y dióxido de carbono. Los compuestos a formar dependen de los microorganismos presentes, de las condiciones del proceso y del sustrato (Goswami et al., 2016).

3.2.3. Acetogénesis

La tercera etapa en la DA es la acetogénesis. Algunos productos de la fermentación como el ácido acético y el hidrogeno pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos, mientras que otros (etanol, ácidos grasos volátiles y algunos compuestos aromáticos) deben ser transformados en productos más sencillos, como el acetato (CH_3COO^-) e hidrógeno (H_2), a través de las bacterias acetogénicas. Un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados homoacetogénicos. Este tipo de bacterias son capaces de crecer heterotróficamente en presencia de azúcares o compuestos monocarbonados (como mezcla H_2/CO_2) produciendo como único producto acetato. Al contrario que las bacterias acetogénicas, éstas no producen hidrógeno como resultado de su metabolismo, sino que lo consumen como sustrato. Se han realizado estudios y el resultado neto del metabolismo homoacetogénico permite mantener bajas presiones parciales del hidrógeno y, por tanto, permite la actividad de las bacterias acidogénicas y acetogénicas (Varnero, 2011)

3.2.4. Metanogénesis

La metanogénesis es una reacción que se realiza por microorganismos metanogénicos para producir metano a partir de la materia soluble. Dos tercios del metano total producido se derivan por conversión del ácido acético o por la fermentación del alcohol formado en la segunda etapa, como el metanol. El otro tercio del metano producido es el resultado de la reducción del dióxido de carbono en hidrógeno (Arsova, 2010). La metanogénesis es llevada a cabo por dos grupos de bacterias, el primer grupo denominado acetogénicas, las cuales utilizan acetato y dióxido de carbono y el segundo grupo llamado hidrogenotrófico que utilizan el hidrogeno como donador de electrones y el dióxido de carbono como aceptor de electrones para producir metano (Appels et al., 2008).

3.3. Tipos de digestión anaeróbica

3.3.1. Mono-digestión

La mono-digestión es la digestión de un solo sustrato, no obstante, la DA de sustratos simples (mono- digestión) presenta algunos inconvenientes relacionados con las propiedades del sustrato según (Mata-Alvarez et al., 2014). Por ejemplo:

- ☐ Los lodos de las aguas residuales se caracterizan por bajas cargas orgánicas
- ☐ El estiércol de los animales son caracterizados por bajas cargas orgánicas y altas concentraciones de nitrógeno (N) que pueden llegar a inhibir la actividad metanogénica
- ☐ Los residuos sólidos municipales tienen materiales inadecuados y alta concentraciones de metales pesados
- ☐ Los cultivos agroindustriales podrían contener desechos que no pueden contener nitrógeno

- Los desechos de matadero pueden incluir riesgos asociados con altas concentraciones de nitrógeno y ácidos grasos de cadena larga ambos inhibidores potenciales de la actividad metanogénica.

La mayoría de estos problemas se pueden resolver mediante la adición de un co- sustrato en lo que se ha llamado recientemente co-digestión anaeróbica (Mata-Alvarez et al., 2014).

3.3.2. Co-digestión

Debido a que las plantas generadoras de biogás son difíciles de mantener con resultados favorables y económicamente rentables si el proceso se basa en un sólo sustrato como el estiércol de ganado , las estrategias de co - digestión son aplicables con la finalidad de incrementar la producción de metano a partir de residuos agrícolas (Neves et al., 2009). La co-digestión es un método de tratamiento en el que diferentes residuos con características complementarias se mezclan y se tratan juntos (Ağdağ & Sponza, 2007). Contrae múltiples beneficios entre ellos: equilibrio de nutrientes, incremento de la carga orgánica biodegradable, dilución de compuestos tóxicos potenciales, aumento en la tasa de degradación y a la vez una mayor producción de biogás (Sosnowski et al., 2003). La co-digestión aprovecha la complementariedad de los sustratos permitiendo que el proceso sea más eficiente debido a que mejora la relación C / N (Cuetos et al., 2008)

Además la co-digestión tiene ventajas económicas por el hecho de compartir el equipo donde se digieren ambos sustratos (Mata-Alvarez et al., 2000). Por otro lado al usar otro sustrato permite muchas veces complementar el contenido de humedad que se requiere para la alimentación del digestor. Sin embargo, también existen desventajas, debido a los costos de transporte de los residuos si es que estos no se encuentran cerca de las instalaciones donde serán digeridos los residuos y otra es los problemas derivados con la

armonización de las diferentes políticas de los generadores de residuos (Appels et al., 2008) .

Uno de los enfoques para mejorar la economía de digestores lácteos es aumentar su tasa de producción de biogás mediante la co - digestión del estiércol con más residuos degradables , siempre y cuando dichos residuos estén disponibles en las proximidades de las granjas lecheras y de las tierras de cultivos donde se puedan utilizar los nutrientes que salen de los desechos (El-Mashad & Zhang, 2010).

3.4. El estiércol de bovino como materia prima en la digestión anaeróbica.

La digestión anaeróbica se ha llevado a cabo durante mucho tiempo con diferentes residuos ya sea de forma aislada o conjunta, con el objetivo de controlar la contaminación ambiental y al mismo tiempo obtener el biogás como fuente de energía (Hagos, Zong, Li, Liu, & Lu, 2016). El estiércol de bovino es uno de los residuos más usados en este proceso de descomposición de la materia orgánica debido a que los desechos ganaderos son los residuos orgánicos que se producen en mayor cantidad, en México se generan 61 millones de toneladas de estiércol al año (Trinidad, 2013). Por otro lado el estiércol también emite dos potentes gases de efecto invernadero, metano y óxido nitroso (Tasnim, Iqbal, & Chowdhury, 2017).

3.5. El nopal (*opuntia ficus indica*) como materia prima para la producción de biogás.

El nopal (*opuntia sp*) es una cactácea que presenta una alta adaptabilidad ecológica que le permite encontrarse en diferentes condiciones edáficas y climáticas, comúnmente crece en zonas áridas y semiáridas, con precipitaciones menores a 250 mm, (Stintzing & Carle, 2005).

El nopal a diferencia de otros cultivos utilizados para producir biocombustibles no compite por tierras con los cultivos alimenticios debido a

su metabolismo ácido crasuláceo (CAM) que le permite hacer un uso eficiente del agua (Mason et al., 2015).

A pesar de que el nopal es un cultivo que se caracteriza por presentar características que le permiten ser una materia prima con alto potencial para producir biogás (Cushman, Davis, Yang, & Borland, 2015), existen pocos estudios donde se haga uso de esta materia prima, entre ellos un estudio realizado por (Ramos-Suárez et al., 2014) en el que realizaron una co-digestión a partir de nopal con microalga, encontrando el mayor rendimiento al introducir nopal en un 75%, por otro lado otro estudio realizado por (Jigar et al., 2010), en el que realizaron una co-digestión de nopal con estiércol de bovino y encontraron que al introducir un 25% de nopal se obtuvo el mayor rendimiento en una prueba batch.

3.6. Factores que regulan el proceso de digestión

Debe considerarse que todos los procesos biológicos como la digestión anaeróbica (DA) está sujeta a fluctuaciones causadas por múltiples factores como el pH, alcalinidad, temperatura, carga orgánica, tiempo retención hidráulica y la concentración de compuestos tóxicos o inhibidores, etc. (Fujishima, Miyahara, & Noike, 2000)

3.6.1. pH

El pH es un factor fundamental que afecta a la eficiencia de la producción de metano (Jiang et al, 2010; Liu et al, 2008). Cada grupo de microorganismos tiene un pH óptimo diferente. (Appels et al., 2008). Un estudio ha demostrado que el intervalo óptimo de pH para la producción de metano fue 6.5- 7.5 (Liu, Yuan, Zeng, Li, & Li, 2008). En otro estudio sobre co- digestión de residuos de cocina y estiércol de vaca los valores de pH alcanzaron 7.7 a 7.9 con un aumento significativamente en la producción de metano, sin embargo se obtuvo el potencial máximo en la producción de metano cuando el pH inicial fue de 7,5, que es recomendado para co-digestión de residuos de cocina y estiércol de bovino (Zhai et al., 2015).

3.6.2. Temperatura

Uno de los problemas recurrentes comunes asociados con los digestores anaeróbicos es la pérdida de capacidad de calentamiento y el mantenimiento de la temperatura óptima del digestor. Se debe mantener una temperatura uniforme y aceptable en todo el digestor para prevenir depresiones de temperatura en puntos localizados y actividad bacteriana indeseada. Las variaciones en la temperatura incluso de algunos grados afectan casi toda la actividad biológica Incluyendo la inhibición de algunas bacterias anaeróbicas, especialmente bacterias formadoras de metano. Una mezcla adecuada del contenido de digestor evita el desarrollo de variaciones de temperatura en puntos localizados (Gerardi, 2003)

3.6.3. Agitación

La mezcla en digestores se consigue normalmente mediante agitación mecánica, recirculación del líquido y recirculación del gas. Un buen mezclado proporciona un buen contacto entre la biomasa activa y el lodo de alimentación (Low et al., 2012).

3.6.4. Tiempo de retención hidráulica

El tiempo TRH es una medida del tiempo de retención medio de un componente líquido o disuelto dentro de un reactor y se calcula como el volumen del tanque dividido por la velocidad de flujo influente. En el proceso de DA el TRH se utiliza para aproximar el tiempo durante el cual el sustrato se trata anaeróbicamente. El TRH puede variar mucho entre los diferentes procesos y el tipo de sustrato utilizado, desde un par de días a un par de meses. (Lindmark, Thorin, Bel Fdhila, & Dahlquist, 2014)

3.6.5. Velocidad de carga orgánica

La velocidad de carga orgánica es la cantidad de sustrato o alimentación que se añade a un digestor, por unidad de volumen y día. La velocidad de carga orgánica se presenta como gramos de solidos volátiles (SV), solidos totales (ST) o demanda química de oxigeno por litro del digestor en un día. Si la

carga orgánica es muy alta o si se añade una carga repentina de alimentación a un sistema se desestabilizará aumentando los ácidos grasos volátiles (AGV's) y disminuyendo la producción de biogás. (Lindmark et al., 2014). La velocidad de carga depende de los tipos de residuos alimentados en el digestor (Dhar, Kumar, Kumar, Mukherjee, & Vaidya, 2015).

3.7. Tóxicos e inhibidores

3.7.1. Amoníaco

El amoníaco se produce durante la degradación de materia nitrogenada, principalmente proteínas y urea. El Amonio (NH_4^+) y amoníaco libre (NH_3) son las dos formas más predominantes de nitrógeno inorgánico presentes. Se ha indicado que el amoniaco libre es el más tóxico de ambos, debido al hecho de que puede pasar a través de la membrana celular, causando el desequilibrio de protones y la deficiencia de potasio (Appels et al., 2008)

3.7.2. Sulfuros

Las bacterias reductoras de sulfatos también se encuentran en los digestores anaeróbicos junto con las bacterias formadoras de acetato y las bacterias formadoras de metano. El sulfuro de hidrógeno producido tiene un mayor efecto inhibitorio a concentraciones bajas en las bacterias acetogénicas y metanogénicas que en las bacterias acidogénicas (Gerardi, 2003).

3.8. Tipos de digestores

Dependiendo de cómo se alimentan los sustratos en los digestores, así es como se nombran según (Graaf and Fendler, 2010).

- ☐ Continuos o
- ☐ Discontinuos

3.8.1. Digestores continuos

Los procesos continuos son la forma más común de llevar a cabo la digestión anaeróbica para la producción de biogás. Se caracterizan por una

alimentación casi continua (regular) de los digestores. El inconveniente de estos tipos de digestores es la alta demanda de energía para ser agitados constantemente y mezclar el sustrato con la finalidad de que haya una mayor disponibilidad para ser degradado, es por ello que los costos de funcionamiento de estos tipos de digestores son mayores a los no continuos, sin embargo la ventaja es la mayor producción de biogás (Graaf and Fendler, 2010).

3.8.2. Digestores discontinuos

Los digestores discontinuos (por lotes) procesan sustratos frescos y se cierran de manera hermética y si son operados con sustratos secos, a este tipo de digestión también se le llama fermentación sólida. La producción de biogás se inicia lentamente justamente después del llenado del digestor y este disminuye lentamente después de alcanzar su máxima producción. En éste tipo de digestores no se añade ni se quita sustrato hasta que se termina el proceso de digestión, una vez que se haya completado dicho proceso el sustrato ya digerido es completamente remplazado por sustrato fresco para comenzar el proceso de digestión nuevamente y así sucesivamente se repite el proceso después de que el nuevo sustrato de haya digerido por completo (Graaf and Fendler, 2010).

3.8.3. Digestores semicontinuos

Los digestores semicontinuos se caracterizan por ser alimentados diariamente con una carga relativamente pequeña en comparación al volumen total; otra de las características de estos digestores es que la misma cantidad de alimentación que se ingresa diariamente en el digestor se extrae la misma cantidad de efluente, con la finalidad de mantener el volumen del digestor contante. En muchos estudios se manejan este tipo de digestores considerándose como altamente eficientes (Aboudi, Álvarez-Gallego, & Romero-García, 2016).

CAPITULO 3

EVALUACIÓN DE LA CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA *Opuntia ficus indica*-ESTIÉRCOL DE BOVINO PARA PRODUCCIÓN DE METANO.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación consistió en evaluar la actividad metanogénica específica (AME) de metano a partir de la co-digestión de nopal y estiércol de bovino. El objetivo principal fue encontrar la proporción de nopal y estiércol de bovino que incrementara la producción de metano; se realizaron cuatro diferentes mezclas de nopal y estiércol de bovino por duplicado, las mezclas fueron, N:0 E:100, N:50 E:50, N:75 E:25 y N:82 E:18. Las cuatro mezclas se realizaron en 8 digestores semicontinuos con capacidad de 10 L y enchaquetado, operados bajo condiciones mesofilicas al 4% de ST, tiempo de retención hidráulica (TRH) de 30 días y agitación semicontinua cada 3 horas por 15 minutos. Se tomaron muestras (cladodios) de 6 meses de edad, aproximadamente, de la Universidad Autónoma Chapingo y estiércol de bovino de las granjas experimentales de esta misma universidad. Todos los tratamientos tuvieron una concentración de metano de alrededor de 60%. Los mayores rendimientos de metano se obtuvieron con los tratamientos N:75 E:25 y N:82 E:18, con 245 y 235 mL de CH₄ g_{SValimentados} d⁻¹ respectivamente y el menor rendimiento el tratamiento testigo con 73 mL de CH₄ g_{SValimentado} d⁻¹. Al comparar el mayor rendimiento que obtuvo el tratamiento N:82 E:18 con el rendimiento del tratamiento testigo hubo un incremento del 235%.

Palabras clave: co-digestión, nopal, estiércol de bovino, condiciones mesofílicas.

3

³Tesis de Maestría en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Yesenia Caballero Nolasco

Director de Tesis: Dra. Guadalupe Hernández Eugenio

EVALUATION OF ANAEROBIC CO-DIGESTION *Opuntia ficus indica* -COW MANURE FOR METHANE PRODUCTION.

ABSTRACT

The present research work was to evaluate the specific metagenic activity from the co-digestion of cactus and cattle manure. The main objective was to find the proportion of cactus and cattle manure that increased the production of methane; four different mixtures of nopal and cow manure were performed in duplicate, the mixtures were: N:0 E: 100, N:50 E:50, N:75 E:25 and N:82 E:18. Were carried out in 8 semi-continuous digesters with 10 L capacity, with a jacket, operated under mesophilic conditions at 4% TS, 30 days hydraulic retention time (TRH) and semi-continuous agitation every 3 hours for 15 minutes. Samples (cladodes) of approximately 6 months of age were taken from the Chapingo Autonomous University and cattle manure from the experimental farms of this university. All treatments had a methane concentration of about 60%. The highest yields were obtained with treatments N: 75 E: 25 and N: 82 E: 18, with 245 and 235 ml of CH₄ g_{VSadded} d⁻¹ respectively and the lowest yield the control treatment with 73 ml of CH₄ g_{VSadded} d⁻¹. When comparing the higher yields obtained by the treatment N: 82 E: 18 with the yield of the control treatment there was an increase of 235%.

Keywords: co-digestion, nopal, cow manure, mesophilic conditions.

4

⁴ Tesis de Maestría en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Yesenia Caballero Nolasco
Director de Tesis: Dra. Guadalupe Hernández Eugenio

4. INTRODUCCIÓN

En México, la ganadería es la tercera fuente de emisiones de GEIS (gases de efecto invernadero) destacando el N_2O y el CH_4 (INE-SEMARNAT, 2009). Las emisiones de los GEIS provenientes de la ganadería, están ligados principalmente a la fermentación y descomposición del estiércol. La producción anual de estiércol en México se estima en 61 millones de toneladas por año, considerando únicamente los del ganado estabulado y semiestabulado (Trinidad, 2013). Recientemente el manejo de estos residuos ha recibido atención con el fin de reducir las emisiones de los GEI (Ma et al., 2013), principalmente aquellas prácticas que aporten utilidad, como la producción de biogás y biofertilizante mediante el proceso de digestión anaeróbica (DA) (Pöschl, Ward, & Owende, 2010). Debido a que las plantas de biogás son difíciles de ejecutar con resultados económicamente rentables si el proceso se basa sólo en estiércol de ganado, se han implementado estrategias de co-digestión que son ampliamente aplicadas con el fin de mejorar la producción de metano utilizando residuos agrícolas o de comida (Neves et al., 2009), remolacha azucarera (Aboudi, Álvarez-Gallego, & Romero-García, 2016), residuos de cocina (Zhai et al., 2015), paja de maíz (Wang et al., 2016), sorgo (Zhang, Zhang, Li, Li, & Xu, 2016) entre otros. Últimamente el nopal (*opuntia ficus indica*) ha tomado interés como materia prima para la producción de biocombustibles debido a su alta eficiencia en el uso de agua y fertilizante, no competir con los cultivos alimentarios o materias primas convencionales y por ser más fácilmente desintegrado en azúcares fermentables que otras materias primas usadas como sustratos (Yang et al., 2015). Los cladodios de nopal se caracterizan por presentar altos contenidos de agua y carbohidratos solubles, y bajos contenidos de lignina, fibra y nitrógeno (Ayed, Hamdi, Ben Salem, & Chekir, 2010) (Kuloyo et al., 2014). El mucilago del nopal está compuesto de arabinosa, galactosa, ramosa y ácido galacturónico principalmente (Saenz, 1995). En la digestión anaeróbica, los carbohidratos son rápidamente hidrolizados a azúcares, para ser convertidos en ácidos grasos

volátiles (AGV's) y por último, en metano mediante los microorganismos metanogénicos acetoclasticos (Elbeshbishy & Nakhla, 2012).

El nopal (*Opuntia ficus indica*) es de los pocos cultivos que pueden cultivarse y crecer en sitios con bajos requerimientos de agua y nutrientes es por ello que se puede encontrar en las zonas semiáridas del mundo (Han & Felker, 1997). Se caracteriza por su rápida y fácil propagación, (Zoghalmi, Bouamama, Khammassi, & Ghorbel, 2012). El nopal, se asocia a la historia de México y Mesoamérica su centro de origen genético, crece de forma silvestre o cultivada en todo el continente americano y se encuentran en una gran variedad de condiciones agroclimáticas (Sáenz & Berger, 2006). Comúnmente el nopal es usado como forraje para el ganado, farmacéutico y como alimento para los humanos (nopalitos, mermeladas y dulces), (Galati, Tripodo, Trovato, Miceli, & Monforte, 2002), sin embargo se han reportado pocos estudios sobre digestión anaeróbica (DA) para la producción de biogás a partir de esta materia prima, entre ellos un estudio sobre co-digestión de *Scenedesmus microalga* y cladodios de *Opuntia máxima*, este último añadido con la finalidad de mejorar el proceso de digestión. Los resultados mostraron que la co-digestión de *O. máxima* y *Scenedesmus* mejoró el proceso de digestión anaeróbica y evitó la inhibición causada por la baja relación C / N de microalgas. (Ramos-Suárez, Martínez, & Carreras, 2014). Otro estudio sobre co-digestión anaeróbica de *opuntia ficus indica* y estiércol de bovino en pruebas batch demostraron que al añadirse 25% de nopal se obtuvo el mayor rendimiento específico de metano (Elias, 2010).

En el presente estudio se realizó una co-digestión a partir de nopal variedad Milpa alta (*opuntia ficus indica*) y estiércol de bovino en diferentes proporciones. El objetivo fue determinar el mejor tratamiento y realizar una perturbación que consistió en disminuir el tiempo de retención hidráulica (TRH) con la finalidad de determinar la capacidad de los digestores para procesar altos volúmenes de cargas orgánicas al reducir el TRH de 30 a 15 días.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Historia de los digestores

3 digestores de acero inoxidable con enchaquetado fueron puestos en marcha en diciembre del 2014. El volumen de trabajo fue de 10 L y espacio de cabeza de 3 L; cada digestor se inoculó con 2 L de inóculo, que se tomó de un digestor de tipo laguna cubierta alimentado con estiércol de ganado lechero (Rancho La Hondonada en Querétaro, México). Todos los digestores se llenaron hasta el volumen de trabajo utilizando estiércol de vaca en polvo (abertura de malla de 1 mm de tamaño de partícula) en solución acuosa al 3% de sólidos totales (ST). La recirculación se realizó cada 3 horas con un flujo de 620 mL min^{-1} durante 15 min utilizando una bomba dosificadora de diafragma (modelo BL20 Black Stone, Hanna Instruments, Rumania). La temperatura se mantuvo a $37^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$; El tiempo de retención hidráulica (TRH) fue de 30 d. Los digestores se mantuvieron en esta condición durante 1 HRT. El siguiente paso fue cambiar la concentración de la alimentación a 4% sólidos totales (ST), manteniéndolo por 2 HRT. Después, dos digestores se dividieron en 3 digestores cada uno, utilizando una alimentación al 4% de ST con volumen de trabajo de 10 L y se mantuvieron durante 1 HRT. Posteriormente se realizó un cambio en la composición de la alimentación de los 6 digestores anteriormente divididos, la alimentación incorporó una proporción del 50% de nopal y 50% de estiércol durante 3 TRH, mientras que el séptimo digestor continuaba alimentándose con estiércol al 4% de ST. El 31 de julio del 2015 se incrementó la proporción de nopal a 4 de los digestores ya alimentados en co-digestión de nopal y estiércol de bovino, 2 digestores se incrementaron a 75% de nopal y los otros dos se incrementaron a 82% de nopal, mientras que los otros 2 digestores se continuaron alimentando con el 50% de nopal, todos los digestores alimentados al 4% de ST. Al mismo tiempo el digestor alimentado con estiércol de bovino solo fue dividido en tres digestores alimentados al 3% de ST durante 2 TRH, para posteriormente alimentarse al 4% de ST. De los tres digestores alimentados con estiércol de bovino se tomaron dos para realizar las

comparaciones con los tratamientos en co-digestión y se conservó el tercero en caso de que alguno de los digestores en experimentación fallara. A partir del último cambio de alimentación en los tratamientos en co-digestión y del incremento al 4% de ST del tratamiento testigo fue considerado como el tiempo cero en este trabajo; la actividad metanogénica específica y parámetros de monitoreo fueron evaluados a partir de los últimos tres días de la fase estable del experimento. En la Figura 1 se muestra cada uno de los cambios realizados descritos anteriormente.

5.2. Sustratos

Se utilizaron cladodios de nopal (N) variedad Milpa alta (*opuntia ficus indica*) de seis meses de edad, que fueron cosechados cada semana del campo experimental de la Universidad Autónoma Chapingo. Los cladodios se almacenaron en recipientes de plástico para ser consumidos frescos. El estiércol de vaca (E) se obtuvo en los ranchos experimentales de la Universidad, que fue recolectado y almacenado en costales de plástico. El estiércol se mantuvo en refrigeración hasta su procesamiento. Ambos sustratos se trituraron hasta un tamaño de partícula de 1 mm de abertura de malla en solución acuosa al 4% de sólidos totales (ST).

5.3. Procedimiento experimental

Se realizaron tres tratamientos a partir de nopal y estiércol de bovino por duplicado y un tratamiento testigo. Los tratamientos fueron combinaciones de N: E como sigue: 0: 100, 50:50, 75:25 y 82:18, que se definieron basándose en la relación C:N y los resultados de la prueba de Potencial Bioquímico de Metano (BMP), realizados por (Solís-Cruz et al. 2015, impreso). En la Figura 1 se muestran las proporciones utilizadas y su respectiva relación C:N. La concentración de alimentación varió a lo largo de la experimentación (3 y 4% ST), a lo largo del experimento.

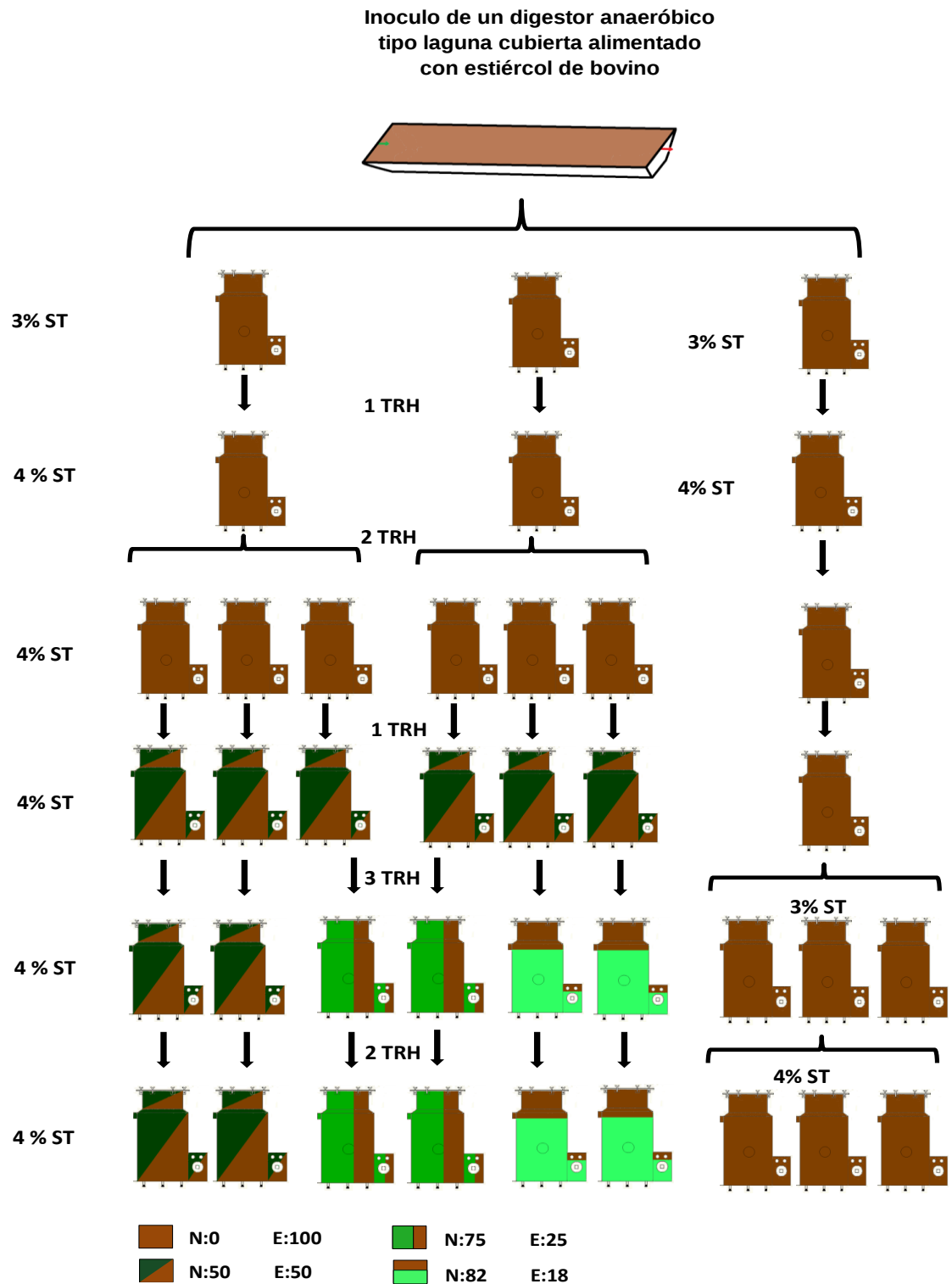


Figura 1: Cambios de composición, proporción y porcentaje de solidos totales en la alimentación a lo largo del proceso de adaptación.

Tabla 1: Relación C:N de acuerdo a las proporciones de nopal-estiércol de bovino.

Nopal (%)	Estiércol de bovino (%)	C/N ratio
0	100	10.7
50	50	16.3
75	25	19.9
82	18	21.2

5.4. Métodos analíticos

Para los sustratos y efluentes, se determinaron sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), sólidos fijos (SF), sulfato y DQO usando The standard methods (Apha, 1998), mientras que el nitrógeno amoniacal se determinó con el Método 10031 (HACH, 2004). El ión sulfuro se midió de acuerdo con (Cord-Ruwisch, 1985). El pH se midió con un potenciómetro (Thermo Scientific Orion 5 Star, Singapore). En la tabla 2 se muestran los parámetros anteriormente mencionados medidos en los sustratos. Se obtuvieron perfiles de ácidos grasos volátiles (AGV's) para los ácidos de acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, iso-valerato, caproato, iso-caproato y heptanoato utilizando cromatografía de gases (CG) (Claurus 500, Perkin Elmer, EE.UU.) equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar Elite-FFAP con una longitud de 30 m 0.32 mm de diámetro (Perkin Elmer, EE.UU.). Los AGV's se determinaron usando una muestra de efluente que se acidificó a pH 3 con HCl y se centrifugó a 14,500 rpm durante 10 minutos (microcentrífuga modelo MiniSpin Plus Eppendorf, Alemania). El sobrenadante se inyectó con un auto-muestreador utilizando 5 μ L de volumen. Las condiciones de operación fueron las siguientes: flujo de gas 5 mL min⁻¹ a 10.6 psi, puerto de inyección a 150 °C, horno a 100 °C durante 8 minutos con rampa de 160 °C durante 8.5 min, detector de 250 °C y tiempo de retención de 16.5 min. Se utilizó helio como gas portador. Se utilizó como estándar un grado analítico de mezcla de ácido volátil libre (46975-U, marca Sigma-Aldrich, EE.UU.).

La producción de biogás se cuantificó con un caudalímetro que utiliza el desplazamiento de volumen y un contador digital (LA8N-BN, Autonics, Corea). El contenido de metano se evaluó utilizando un CG (Claurus 500, Perkin Elmer, EE.UU.). Se introdujo una muestra de 10 μL de biogás en el CG; Las condiciones de operación fueron las siguientes: flujo 14 mL min^{-1} a 14 psi, 100 °C para el orificio de inyección, 70 °C en el horno y 100 °C en el detector. El tiempo de retención fue de 4 min y se utilizó helio como gas portador. El porcentaje de metano se obtuvo usando una curva de calibración con metano puro (HDSP No. P-4618-F, Praxair, México). El contenido de metano es reportado en condiciones de temperatura y presión normales.

Tabla 2: Características físico- químicas de los sustratos utilizados en el experimento.

Parámetros	Tratamientos				
	Unidades	N:0 E:100	N:50 E:50	N:75 E:25	N:82 E:18
Solidos Totales	%	4.1 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.3	3.6 $\pm$ 0.3	3.7 $\pm$ 0.2
Solidos volátiles	%	53.3 $\pm$ 3	60.5 $\pm$ 1.8	64.9 $\pm$ 0.7	64.3 $\pm$ 1.3
DQO	mg L^{-1}	18400.0 $\pm$ 264.6	17000.0 $\pm$ 692.8	17200.0 $\pm$ 888.8	17166.7 $\pm$ 1026.3
Sulfatos	mg L^{-1}	7296.4 $\pm$ 821.8	4242.6 $\pm$ 408.9	2847.7 $\pm$ 48.0	2386.1 $\pm$ 244.3
Sulfuros	mg L^{-1}	20.1 $\pm$ 2.5	10.7 $\pm$ 1.4	7.8 $\pm$ 1.1	6.4 $\pm$ 0.4
N-NH ₃	mg L^{-1}	63.7 $\pm$ 14.5	75 $\pm$ 18.1	62.3 $\pm$ 12.1	62.0 $\pm$ 15.4
pH		8.4 $\pm$ 0.04	6.6 $\pm$ 0.1	5.3 $\pm$ 0.1	5.0 $\pm$ 0.1

5.5. Análisis estadístico

Se realizó un ANOVA con un paquete de SAS versión 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.), para encontrar las diferencias entre tratamientos aplicando una comparación de medias a través de la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Comportamiento de los digestores en la fase de estabilización

El comportamiento del tratamiento testigo y la co-digestión de nopal con estiércol de bovino se investigaron basándose en los resultados obtenidos de ST, SV, SV / ST, reducción de DQO, concentración de N-NH₃, concentración de AGV's, concentración de sulfuro, comportamiento del pH, producción de biogás y el contenido de metano. La Figura 2 muestra los cambios que se produjeron en el porcentaje de metano, pH y N-NH₃ a lo largo del proceso de estabilización descrita en la Figura 1, como puede observarse el tiempo cero corresponde al momento en que las proporciones finales de nopal y estiércol de bovino inician con una concentración de sólidos totales del 4%. A medida que la concentración de nopal disminuye, el tiempo cero inicia antes, mientras que en el tratamiento testigo el tiempo cero inicia más tarde. La concentración de metano fue del 60% en todos los tratamientos. El tratamiento testigo presentó fluctuaciones en la concentración de metano en el período de adaptación disminuyendo la fluctuación en la etapa de estabilidad, mientras que los tratamientos con co-digestión presentaron mayor estabilidad a lo largo de todo el proceso. Los niveles de pH fueron similares a los reportados por (Li, Chen, & Yu, 2014) quienes encontraron valores de pH alrededor de 8 al realizar la digestión con estiércol de bovino.

Se observó que los valores de concentración de metano y pH encontrados durante el desarrollo del experimento no se modifican cuando se compara el tratamiento testigo y la co-digestión con nopal. Al final del experimento se observa que todos los digestores se encuentran en condiciones estables.

El nitrógeno amoniacal se produce por la degradación biológica de las proteínas y la materia nitrogenada presentes en los residuos de ganado y en las fracciones de desperdicios de alimentos de los Residuos Sólidos Urbanos (RSU) (Kayhanian, 1999). La Figura 2 también muestra el comportamiento de N-NH₃ durante todo el proceso experimental. Se observa que las

concentraciones de N-NH_3 del tratamiento control aumentaron al realizar el cambio de concentración de ST de 3% a 4%. Los tratamientos de co-digestión mostraron una tendencia estable en su comportamiento a lo largo de la experimentación. Las concentraciones fueron 327, 277, 358 y 374 mg L^{-1} , en los tratamientos N:0 E:100, N:50 E:50, N:75 E:25 y N:82 E:18 respectivamente, en los últimos tres días de la etapa estable del experimento. Sin embargo, se observa que las concentraciones fueron bajas en comparación con estudios previos. Jiang et al. (2013) en un estudio de digestión de residuos de alimentos encontraron niveles de nitrógeno amoniacal de 2208 mg / L . Por otra parte Rajagopal, Massé, and Singh (2013) encontraron que los microorganismos de la especie *Methasorsarcinaceae* del orden acetoclástico se encontraron en altas concentraciones de N-NH_3 (4100 $\text{mg de N-NH}_3 / \text{L}$). Por lo tanto en este estudio el contenido de metano no se vio afectado por el incremento de N-NH_3 debido a sus bajos contenidos en todos los tratamientos.

Otros de los factores inhibitorios que podría tener un efecto en la digestión anaeróbica es la actividad sulfato reductora que se presenta en efluentes con contenido altos de sulfato (Yuan & Zhu, 2016), por lo que se determinó la concentración de sulfato y sulfuro presentes en el efluente de los digestores a lo largo del proceso de experimentación. La Figura 3 muestra las concentraciones de sulfatos y sulfuros presentes en el efluente de cada uno de los tratamientos. Se observa que las concentraciones de sulfato y sulfuros en el tratamiento testigo fueron superiores que en los tratamientos en co-digestión, debido a que el estiércol presenta mayor contenido de sulfatos en la alimentación. Lo anterior podría indicar que el estiércol de bovino tiene mayor potencial a presentar actividad sulfato-reducción que al co-digerirse con nopal. La concentración de H_2S en el tratamiento testigo (N:0 E:100), fue de 11.15 mg L^{-1} y de 5.3 mg L^{-1} en el tratamiento con mayor contenido de nopal (N:82 E:18). Al incrementar la proporción de nopal a 82%, el contenido de H_2S se reduce un 49% al compararse con el tratamiento testigo. Sin embargo los valores de H_2S

encontrados en todos los tratamientos son inferiores a los reportados como inhibitorios por (Parkin, Lynch, Kuo, Van Keuren, & Bhattacharya, 1990) quienes encontraron que se inhibe el proceso en concentraciones de 60-200mg/L. Por lo tanto el nopal tiene mayor potencial por sus bajos niveles de sulfatos presentes en la alimentación y se reduce la probabilidad a inhibirse por incremento de sulfuros.

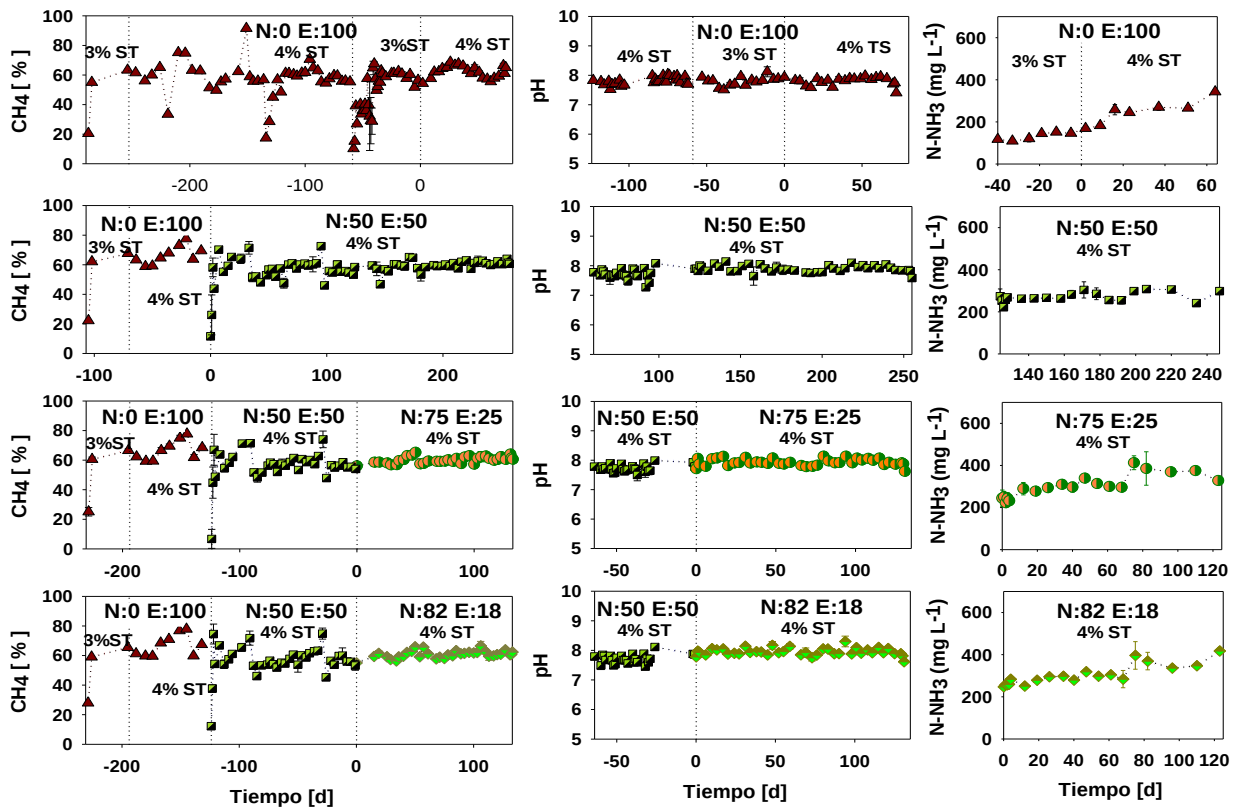


Figura 2: Comportamiento de la concentración de CH_4 , pH y N-NH_3 en los cuatro tratamientos a lo largo de la fase de estabilización.

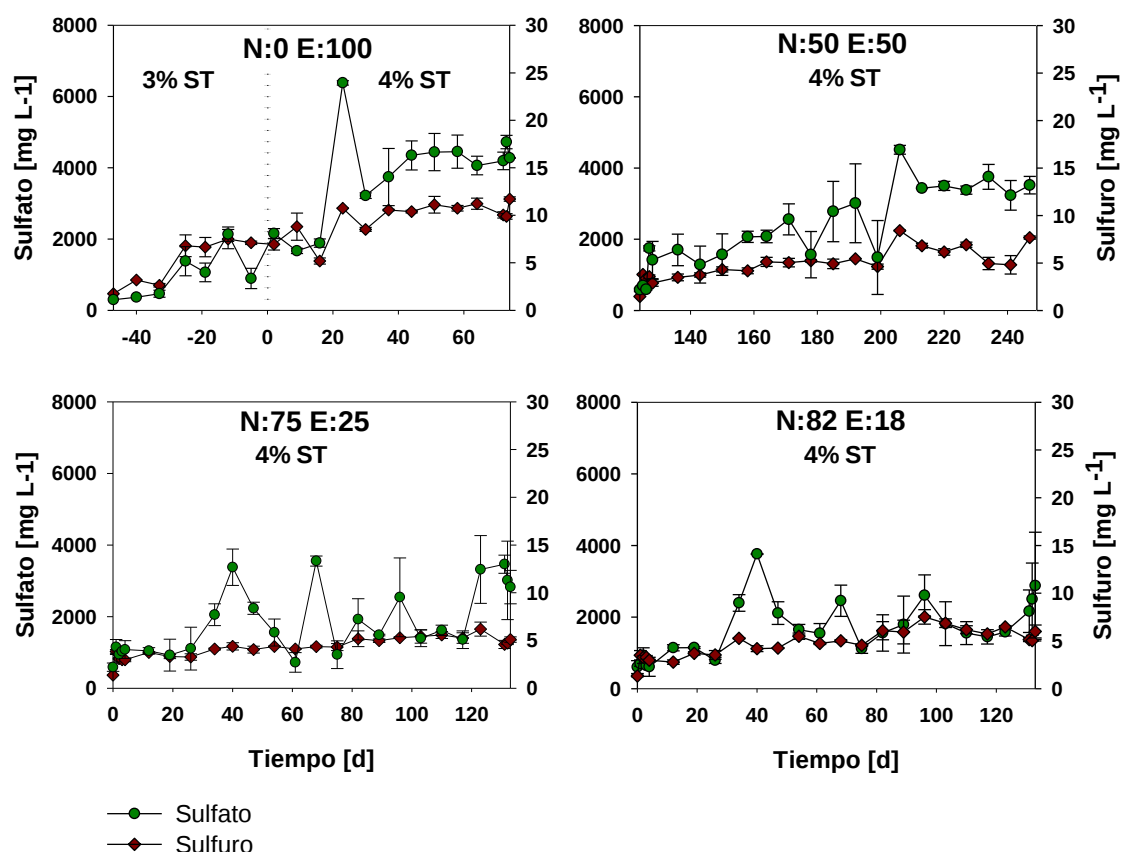


Figura 3: Contenido de sulfatos y sulfuros en los cuatro tratamientos durante la etapa de estabilización.

Los AGV's pueden ser tratados como un indicador de eficiencia en la digestión anaeróbica. El acetato es el mayor precursor en la producción de metano. El propionato y butirato son los ácidos intermediarios más importantes, un incremento de estos ácidos es asociado a una inestabilidad o estrés del digester (Gerardi, 2003). El comportamiento de los ácidos grasos volátiles se muestra en la Figura 4a-b. En la Figura 4a es posible observar que las concentraciones de acetato y propionato tuvieron oscilaciones a lo largo de la estabilización, sin embargo al final de la misma los valores fueron relativamente bajos, lo cual indica que la cadena trófica estaba funcionando adecuadamente y al mismo tiempo con concentraciones muy bajas, por lo tanto no presentó

problemas de inhibición. Al mismo tiempo en la Figura 4b se muestran los otros AGV's correspondientes a cada tratamiento y puede apreciarse que en todos los tratamientos las concentraciones son menores o iguales a las concentraciones encontradas de acetato y propionato, sin embargo la frecuencia con la que se encontraron son menores. Las concentraciones de acetato y propionato promedio en todos los tratamientos fueron menores que 25 y 13 mg L⁻¹ respectivamente.

6.2. Actividad Metanogénica Específica en la fase de estabilización

La Figura 5 muestra la actividad metanogénica específica para cada tratamiento. La actividad metanogénica específica fue mayor cuando la cantidad de nopal mezclado con estiércol de bovino aumentó. Las mejores proporciones fueron N:75 E:25 y N:82 E:18 con rendimientos de 245.58 y 235.07 mL de CH₄ g_{SV_alimentado} d⁻¹ respectivamente. El tratamiento testigo obtuvo el rendimiento de metano más bajo (73.37 mL de CH₄ g_{SV_alimentado} d⁻¹). Se observó que al aumentar la proporción de nopal a 75% el rendimiento de metano se incrementó un 334.7% al compararse con el tratamiento testigo. Los resultados obtenidos mostraron relación con la DQO removida en cada una de las mezclas a partir de nopal y estiércol de bovino; los porcentajes de remoción fueron 24, 37, 46 y 68% para los tratamientos N:0 E:100, N:50 E:50, N:75 E:25 y N:82 E:18 respectivamente.

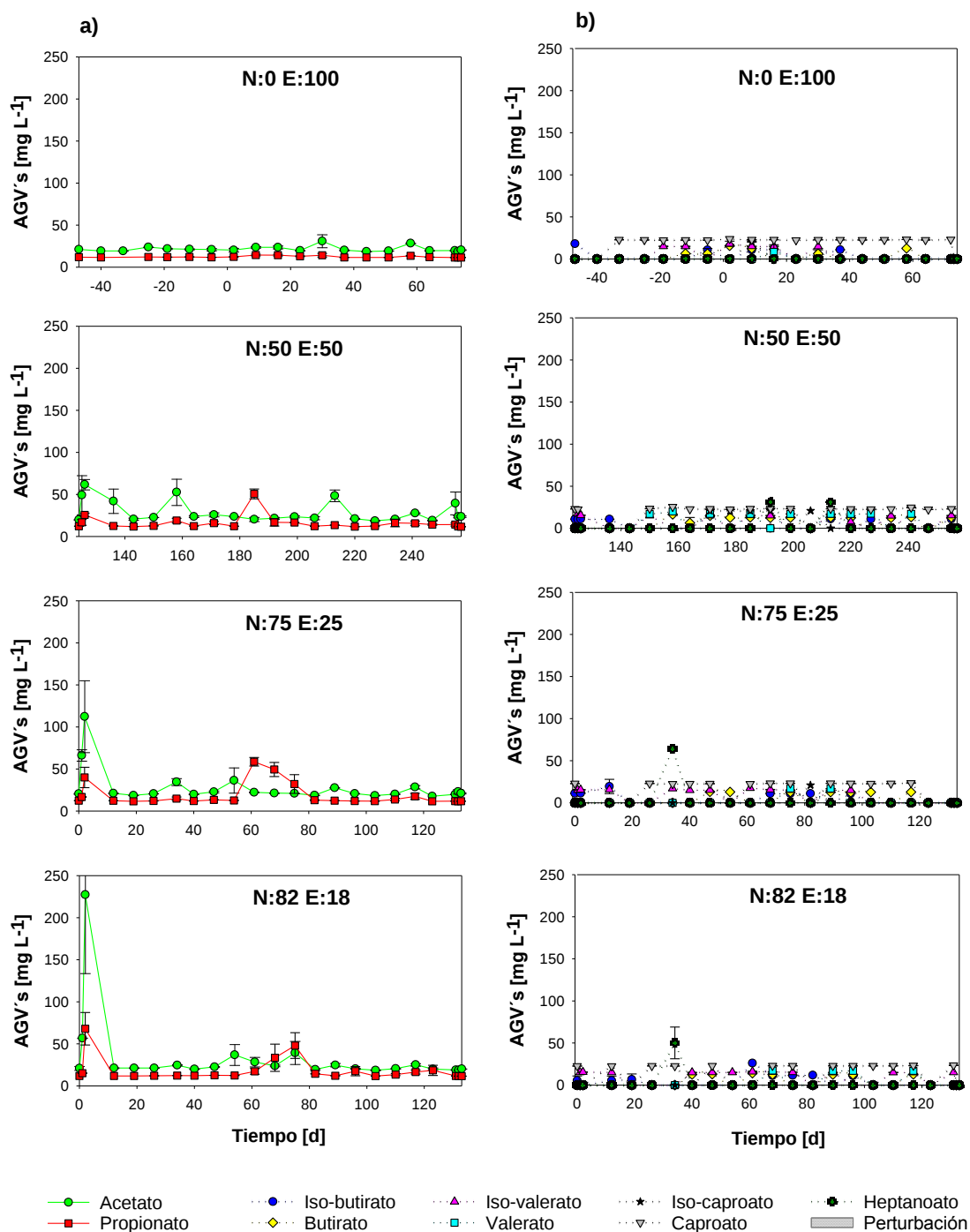


Figura 4: Concentraciones de los AGV's en los cuatro tratamientos durante la etapa de estabilización.

Al realizarse una comparación de medias con la prueba de Tukey en ANOVA mediante SAS en la Figura 6 se encontró que los tratamientos N:75 E:25 y N:82 E:18 no tuvieron diferencia significativa en sus rendimientos. Los tratamientos anteriormente mencionados mostraron una mayor degradabilidad, debido a los altos contenidos de SV (64%) en ambos tratamientos y apropiada relación C:N (19.9 y 21.2) respectivamente. Según Mshandete et al. (2004) y (Nurliyana et al., 2015) encontraron que la relación C:N apropiada es de 15-45. Por lo tanto el desempeño de los digestores que incluyeron mayores contenidos de nopal en co-digestión con estiércol de bovino fueron los mejores debido a los altos rendimientos de metano en comparación con el tratamiento testigo. Los resultados obtenidos coinciden con (Ramos-Suárez et al., 2014) quienes encontraron que la proporción 75% nopal 25% micro alga fue la mejor con un rendimiento específico de metano de 308 ± 22 ml de CH_4 g^{-1} SV alimentado en un ensayo Batch.

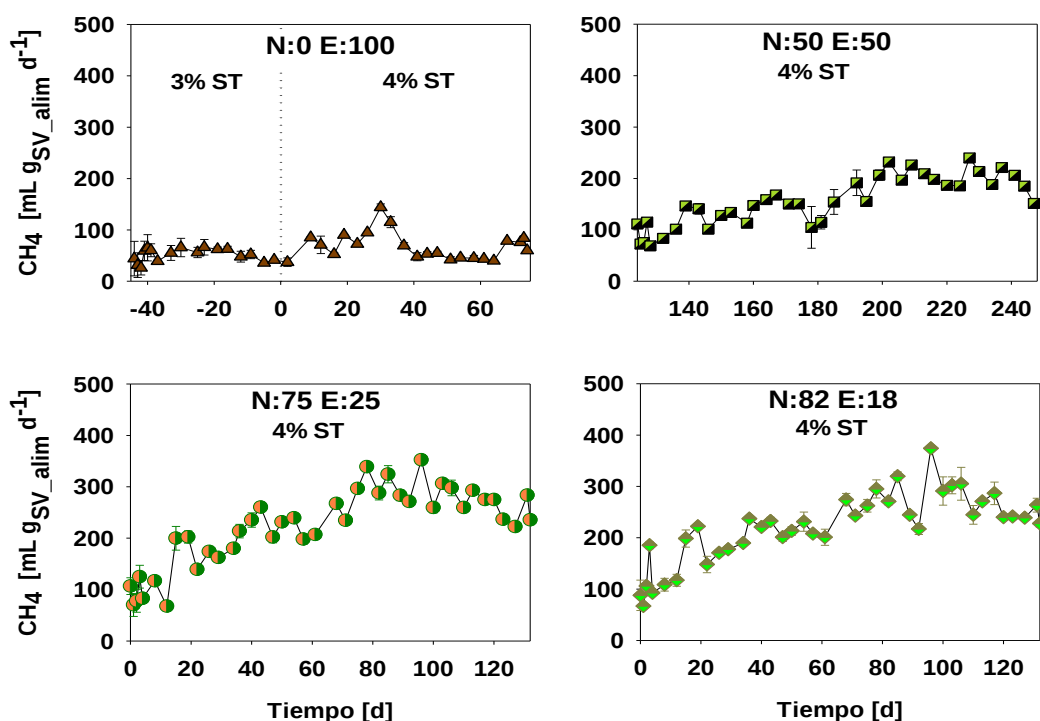


Figura 5: Actividad metanogénica específica para cada tratamiento a lo largo del periodo de estabilización.

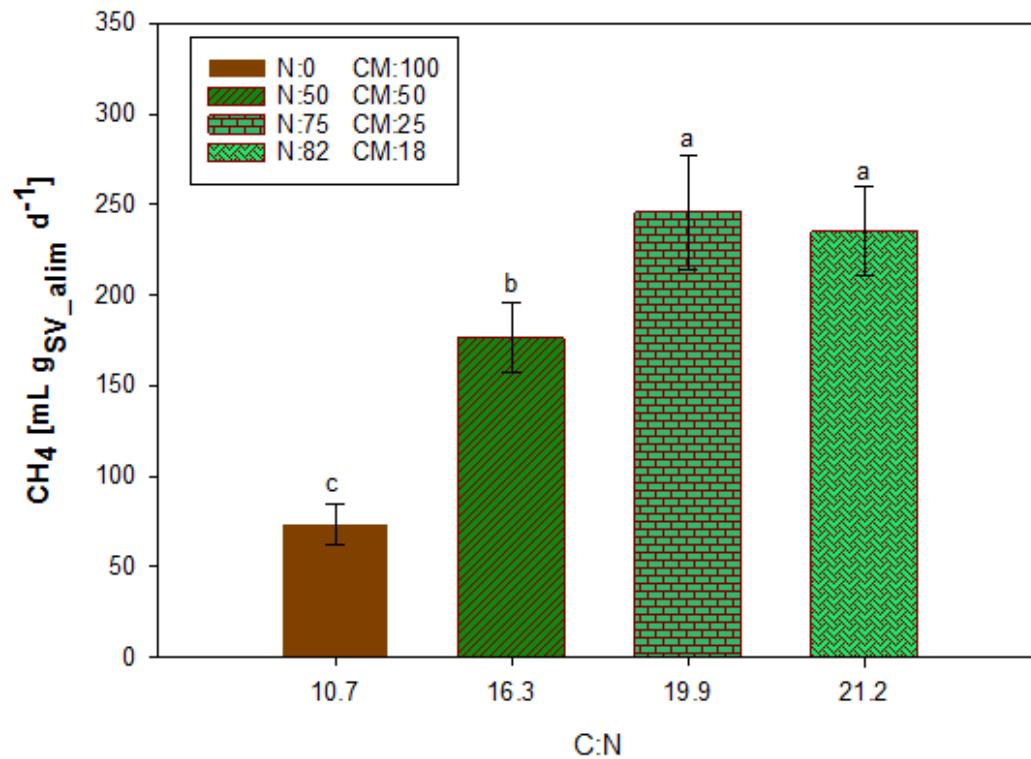


Figura 6: Actividad metanogénica específica con respecto a la relación C:N y comparación de medias mediante la prueba de Tukey con ANOVA, en SAS.

*Las mismas letras indican que no existe diferencia significativa.

CAPITULO 4

INFLUENCIA DE LA SOBRECARGA ORGANICA EN LA CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA NOPAL-ESTIÉRCOL DE BOVINO.

RESUMEN

El propósito de este estudio fue evaluar la capacidad de los digestores alimentados con nopal (N) variedad Milpa alta (*Opuntia ficus indica*) y estiércol de bovino (E) para procesar altos volúmenes de cargas orgánicas ante una disminución del tiempo de retención hidráulica (TRH). Se realizaron cuatro diferentes mezclas por duplicado a partir de nopal y estiércol de bovino en las siguientes proporciones; N:0 E:100, N:50 E:50, N:75 E:25 y N:82 E:18. Los ocho digestores semicontinuos con enchaquetado, volumen de trabajo de 10 L, fueron operados bajo condiciones mesofílicas, agitación semicontinua cada tres horas por 15 minutos y alimentados al 4% de sólidos totales (ST), se manejaron dos TRH de 30 y 15 días, este último con la finalidad de provocar una perturbación. Los datos obtenidos mostraron que el tratamiento testigo se vio afectado negativamente en la producción de metano disminuyendo un 41% durante la etapa de perturbación mientras que los tratamientos que incluyeron co-digestión no mostraron cambio alguno en su comportamiento según una prueba de Tukey. El más alto rendimiento de metano se obtuvo durante la etapa de perturbación con 274.53 mL de CH₄ g_{SV_alimentado} d⁻¹ obtenido con el tratamiento N:82 E:18 seguido del tratamiento N:75 E:25 con un rendimiento de 267.05 mL de CH₄ g_{SV_alimentado} d⁻¹.

Palabras clave: Nopal, perturbación, semicontinuos, co-digestión, prueba de Tukey.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the capacity of the digesters fed with nopal (N) variety Milpa alta (*Opuntia ficus indica*) and bovine manure (E) to process high volumes of organic loads before a reduction of the hydraulic retention time). Four different blends were made in duplicate from nopal and bovine manure in the following proportions; N: 0 E: 100, N: 50 E: 50, N: 75 E: 25 and N: 82 E: 18. The eight semicontinuous digesters with cladding, working volume of 10 L, were operated under mesophilic conditions, semi-continuous agitation every three hours for 15 minutes and fed at 4% total solids (TS), two HRT of 30 and 15 days were handled, the latter in order to cause a disturbance. The data obtained showed that the control treatment was negatively affected in the production of methane, decreasing by 41% during the disturbance stage, whereas treatments that included co-digestion showed no change in behavior according to a Tukey test. The highest methane yield was obtained during the perturbation step with $274.53 \text{ mL CH}_4 \text{ g}_{\text{VS fed}}^{-1} \text{ d}^{-1}$ obtained with the N: 82E: 18 treatment followed by the N: 75 E: 25 treatment in a yield of $267.05 \text{ mL CH}_4 \text{ g}_{\text{VS fed}}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Key words: Nopal, disturbance, semi-continuous, co-digestion, Tukey test.

7. INTRODUCCIÓN

El nopal (*opuntia spp*) es una planta suculenta con alto potencial para la obtención de biocombustibles en tierras marginadas ya que son de fácil propagación y fáciles de digerir anaeróbicamente (Borland, Griffiths, Hartwell, & Smith, 2009), debido a sus altos contenidos de azúcares fermentables. Comúnmente es asociado a lugares con precipitaciones muy bajas y tierras erosionadas (Kuloyo et al., 2014). Debido a que poseen un metabolismo ácido crasuláceo (CAM) usado como medio de adaptación, pueden tolerar una amplia gama de condiciones climáticas y edáficas (Russell & Felker, 1987). Otra de las ventajas de este cultivo es que no compite con otros cultivos agrícolas por tierras. Los conflictos entre las materias primas para la producción de biocombustibles es uno de los problemas a los que se enfrenta en la actualidad como resultado del incremento de la producción de bioenergía (Duber et al. 2012). Por otro lado los residuos ganaderos son de los residuos que se producen en mayor cantidad, (Trinidad, 2013) y estos a la vez liberan grandes emisiones de gases de efecto invernadero (SEMARNAT). En este trabajo se realizó una co-digestión a partir de nopal y estiércol de bovino para la producción de biogás, el objetivo fue determinar la capacidad de los digestores para digerir altos contenidos de materia orgánica al disminuir el tiempo de retención hidráulica (TRH) de 30 a 15 días y la capacidad de recuperación después de haberse sometido a una perturbación por incremento de la carga orgánica, aumentando TRH nuevamente a 30 días.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. Sustratos

Los cladodios de nopal (N) variedad Milpa alta (*opuntia ficus indica*) de seis meses de edad, fueron obtenidos cada semana del campo experimental de la Universidad Autónoma Chapingo. Los cladodios se almacenaron en recipientes de plástico para ser consumidos frescos. El estiércol de vaca (E) se obtuvo en los ranchos experimentales de la Universidad, fue obtenido y almacenado en costales de plástico. El estiércol se mantuvo en refrigeración hasta su procesamiento. Ambos sustratos se trituraron hasta un tamaño de partícula de 1 mm de abertura de malla en solución acuosa al 4% de sólidos totales (ST).

8.2. Procedimiento experimental

Se realizaron 4 combinaciones de nopal y estiércol de bovino en diferentes proporciones como se ilustró en la tabla 1 del capítulo 3 de éste trabajo, los cuales fueron definidos de acuerdo a los resultados obtenidos mediante una prueba de potencial bioquímico de metano (PBM) y la relación C:N realizada por (Solís-Cruz et al. 2015, impreso). La concentración de alimentación (4% ST) se mantuvo constante a lo largo de la experimentación variando únicamente el HRT (30 y 15 días), con la finalidad de realizar una perturbación y observar la capacidad de los digestores para procesar mayores contenidos de carga orgánica.

8.3. Métodos analíticos

Para los sustratos y efluentes, se determinaron sólidos totales (ST), sólidos volátiles (VS), sólidos fijos (SF), sulfato y DQO usando The standard methods of (Apha, 1998), mientras que el nitrógeno amoniacal se determinó con el Método 10031 (HACH, 2004). El ión sulfuro se midió de acuerdo con (Cord-Ruwisch, 1985). El pH se midió con un potenciómetro (Thermo Scientific Orion 5 Star, Singapore). En la tabla 2 del capítulo 3 de este trabajo se muestran los parámetros anteriormente mencionados medidos en los sustratos. Se

obtuvieron perfiles de ácidos grasos volátiles (AGV's) para los ácidos de acetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, iso-valerato, caproato, isocaproato y heptanoato utilizando cromatografía de gases (CG) (Claurus 500, Perkin Elmer, EE.UU.), equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar Elite-FFAP con una longitud de 30 m 0.32 mm de diámetro (Perkin Elmer, EE.UU.). Los AGV's se determinaron usando una muestra de efluente que se acidificó a pH 3 con HCl y se centrifugó a 14500 rpm durante 10 minutos (microcentrífuga modelo MiniSpin Plus Eppendorf, Alemania). El sobrenadante se inyectó con un auto-muestreador utilizando 5 μ L de volumen. Las condiciones de operación fueron las siguientes: flujo de gas 5 mL min⁻¹ a 10.6 psi, puerto de inyección a 150 °C, horno a 100 °C durante 8 minutos con rampa de 160 °C durante 8.5 min, detector de 250 °C y tiempo de retención de 16.5 min. Se utilizó helio como gas portador. Se utilizó como estándar un grado analítico de mezcla de ácido volátil libre (46975-U, marca Sigma-Aldrich, EE.UU.).

La producción de biogás se cuantificó con un caudalímetro que utiliza el desplazamiento de volumen y un contador digital (LA8N-BN, Autonics, Corea). El contenido de metano se evaluó utilizando un CG (Claurus 500, Perkin Elmer, EE.UU.). Se introdujo una muestra de 10 μ L de biogás en el CG; Las condiciones de operación fueron las siguientes: flujo 14 mL min⁻¹ a 14 psi, 100 °C para el orificio de inyección, 70 °C en el horno y 100 °C en el detector. El tiempo de retención fue de 4 min y se utilizó helio como gas portador. El porcentaje de metano se obtuvo usando una curva de calibración con metano puro (HDSP No. P-4618-F, Praxair, México). El contenido de metano fue reportado en condiciones de temperatura y presión normales.

8.4. Análisis estadístico

Se realizó un ANOVA con un paquete de SAS versión 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EE.UU.), para encontrar las diferencias entre tratamientos aplicando una comparación de medias a través de la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$).

9. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El análisis de este experimento fue dividido en tres etapas. La primera etapa (datos utilizados para el capítulo 3 de este documento) que consistió en realizar diferentes cambios de alimentación, iniciando con estiércol de bovino solo, sustrato que fue usado como control, para posteriormente culminar con las proporciones finales de nopal y estiércol de bovino y estabilizar el proceso de digestión, en esta etapa se manejó un TRH de 30 días alimentados al 4% de ST. Los datos utilizados de la etapa de estabilización para éste capítulo corresponden a los últimos 30 días de ésta etapa con la finalidad de compararse con las etapas posteriores. La segunda etapa consistió en realizar una perturbación a través de un incremento de la carga orgánica, disminuyendo del tiempo de retención hidráulica de 30 a 15 días, conservando la concentración de ST (4%), con la finalidad de determinar la capacidad de los digestores para procesar altos contenidos de sustrato. Y por último la etapa de recuperación que consistió en aumentar nuevamente el tiempo de retención hidráulica a 30 días como en la etapa inicial, con la finalidad de observar el funcionamiento de los digestores después de haber sido sometidos a una perturbación.

9.1. Comportamiento de los digestores en las fases de perturbación y recuperación.

Se realizó un incremento de la carga orgánica después de haberse realizado cada uno de los cambios de alimentación y estabilizar el proceso de digestión en todos los tratamientos. En la Figura 7 se muestra el comportamiento del pH, la concentración de metano y N-NH_3 en relación con la carga orgánica introducida. Durante el periodo de perturbación la concentración de metano del tratamiento testigo se vio ligeramente disminuida (41%) pero se recuperó al final de esta misma etapa. El pH y el N-NH_3 no fueron afectados por el aumento de la carga orgánica. Los valores de pH encontrados en todos los tratamientos fueron de 7.4-7.6 encontrándose dentro del rango óptimo para el desarrollo de

los microorganismos metanogénicos según (Zhai et al., 2015) quienes recomendaron un pH de 7.5 al realizar una co-digestión de residuos de cocina y estiércol de bovino. La concentración promedio de metano fue de 60% en todos los tratamientos. Por otro lado se observó que las concentraciones de N-NH_3 fueron de alrededor de 300mg L^{-1} en todos los tratamientos, encontrándose por debajo de los niveles inhibitorios según un estudio previo en el que se encontró que se produjo una ligera inhibición por nitrógeno amoniacal en un experimento con residuos de cerdo a una concentración de 3000mg L^{-1} (Hobson & Shaw, 1976).

Los datos obtenidos indican que el comportamiento estable a lo largo del proceso de perturbación de los tratamientos en co-digestión se atribuyen a la fácil degradación del nopal, debido a los altos contenidos de carbohidratos, los cuales son fácilmente degradables (Mata-Alvarez, Macé, & Llabrés, 2000), mientras que el tratamiento testigo tuvo un ligero desequilibrio al aumentarse la carga orgánica. Por lo tanto la presencia de nopal acelera el proceso de digestión.

En la Figura 8 se muestran los contenidos de sulfatos y sulfuros en relación con la carga orgánica introducida. Se encontró que las concentraciones de sulfatos y sulfuros del tratamiento testigo dependieron de la carga orgánica introducida a lo largo del periodo de perturbación, a medida que la carga orgánica aumentó, los sulfatos y sulfuros también incrementaron. Los tratamientos que incluyeron co-digestión no mostraron cambio alguno en la etapa de perturbación. Sin embargo los niveles de sulfuros encontrados en todos los tratamientos fueron menores de 15 mg L^{-1} , resultando bajos según (Parkin et al., 1990), quienes reportaron niveles inhibitorios aproximadamente entre 50 a $400\text{ mg de H}_2\text{S L}^{-1}$.

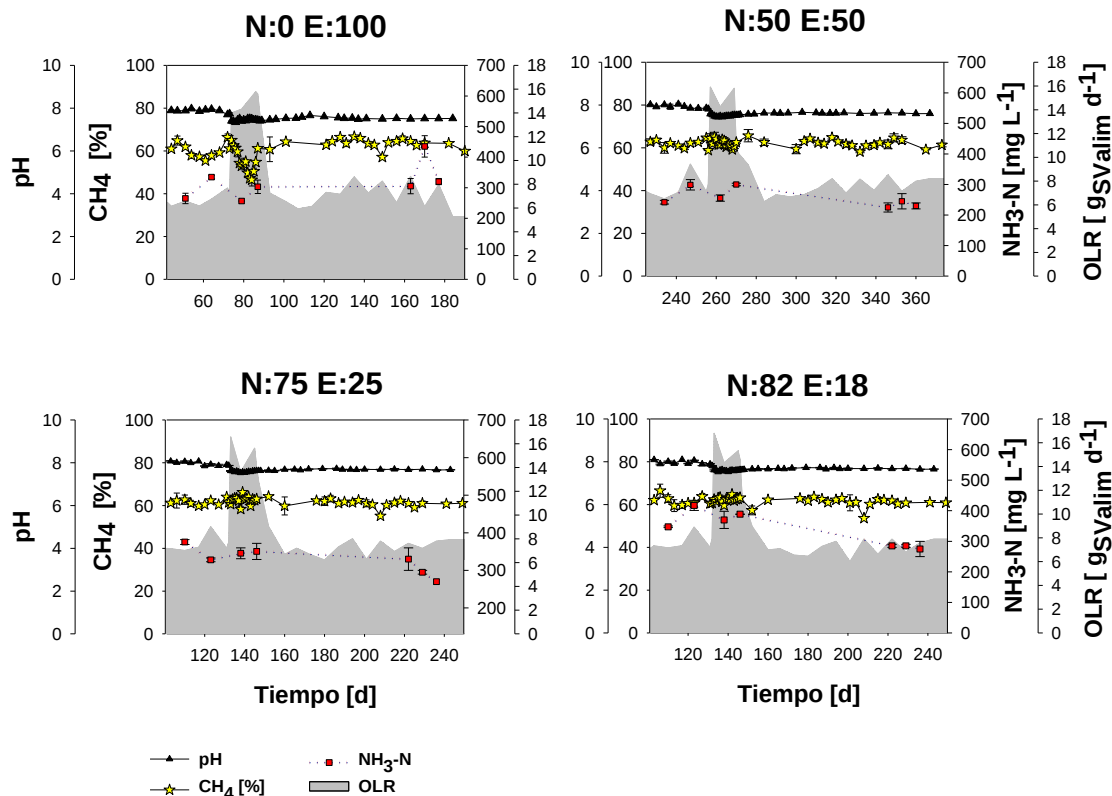


Figura 7: Comportamiento del pH, concentración de CH₄ y N-NH₃ en relación con la carga orgánica introducida en los cuatro tratamientos, a lo largo de la experimentación durante las etapas de estabilización, perturbación y recuperación.

En la Figura 9 se muestran las concentraciones de AGV's durante los periodos de estabilización, perturbación y recuperación. El periodo de estabilización corresponde a los últimos 30 días de ésta etapa. Las concentraciones de AGV's no resultaron afectadas por el incremento de la carga orgánica como se muestra en las Figuras 9a y b. En la Figura 9a se observa que las concentraciones de acetato y propionato no presentaron un incremento significativo en la etapa de perturbación. Los valores de acetato y propionato fueron menores que 40 y 30 mg L⁻¹ respectivamente en todos los tratamientos. Las concentraciones de acetato y propionato se encontraron muy por debajo de los niveles reportados como inhibitorios según (Ahrling, Sandberg, & Angelidaki,

1995), al realizar una co-digestión de estiércol de bovino y estiércol de cerdo, encontraron que los rendimientos de metano disminuyeron con concentraciones de acetato y propionato de 200 y 100 Mm respectivamente. En este trabajo las concentraciones equivalentes en Mm fueron menores de 0.7 Mm para acetato y menores que 0.5 para el propionato en la etapa de perturbación. Las concentraciones de los demás AGV's como se ilustra en la Figura 9b en todos los casos son similares a los encontrados en acetato y propionato. A pesar de que el nopal presenta altos contenidos de carbohidratos fácilmente degradables, que pueden ser convertidos rápidamente en AGV's, provocando una acumulación (Mata-Alvarez, Macé, & Llabrés, 2000), los contenidos fueron muy bajos debido a que podría haber un equilibrio de los microorganismos productores de AGV's y los microorganismos degradadores de AGV's, dando como resultado una rápida y alta producción de biogás (Bombardiere, Espinosa-Solares, Domaschko, & Chatfield, 2007). Por otro lado los bajos contenidos de AGV's en el tratamiento testigo se atribuyen a que el proceso de degradación es más lento debido a los contenidos de celulosa presentes en el estiércol el cual limita el proceso de hidrólisis – acidogénesis de acuerdo con un estudio previo realizado por (Myint, Nirmalakhandan, & Speece, 2007) por lo tanto no hay acumulación.

9.2. Actividad Metanogénica Específica en las etapas de perturbación y recuperación

La Figura 10 muestra la producción de metano de todos los tratamientos. Como puede verse los tratamientos N:75 E:25 y N:82 E:18 alcanzaron los mayores rendimientos de metano a lo largo de la experimentación sin observarse cambio alguno durante la etapa de perturbación al incrementarse la carga orgánica, mientras que el tratamiento testigo (N:0 E:100), se vio ligeramente afectado durante la etapa de perturbación, sin embargo se recupera al final de la misma etapa. En la Figura 11 se muestran las comparaciones entre tratamientos en las tres etapas a lo largo del proceso de experimentación. Se observa que los

tratamientos con las mayores proporciones de nopal (N:75 E:25 y N:82 E:18) no mostraron diferencia significativa en ninguna de las etapas, obteniéndose el mayor rendimiento de metano durante la etapa de perturbación con 274.53 mL de CH_4 $\text{g}_{\text{SV_alimentado}}^{-1} \text{d}^{-1}$ del tratamiento N:82 E:18 , mientras que el tratamiento testigo mostró el más bajo rendimiento durante la etapa de perturbación con 43.41 mL de CH_4 $\text{g}_{\text{SV_alimentado}}^{-1} \text{d}^{-1}$. Los resultados obtenidos coinciden con los encontrados por (Ramos-Suárez et al., 2014), quienes realizaron una co-digestión de nopal con microalga y encontraron que la proporción 75% nopal 25% micro alga fue la mejor con un rendimiento específico de metano de 308 ± 22 ml de CH_4 g^{-1} SV alimentado en un ensayo Batch. Los resultados encontrados en este experimento mostraron que la co-digestión Nopal- Estiercol fue mucho más efectiva que la digestión sola con estiércol de bovino, por lo tanto el nopal se considera una materia prima con alto potencial para realizar co-digestión.

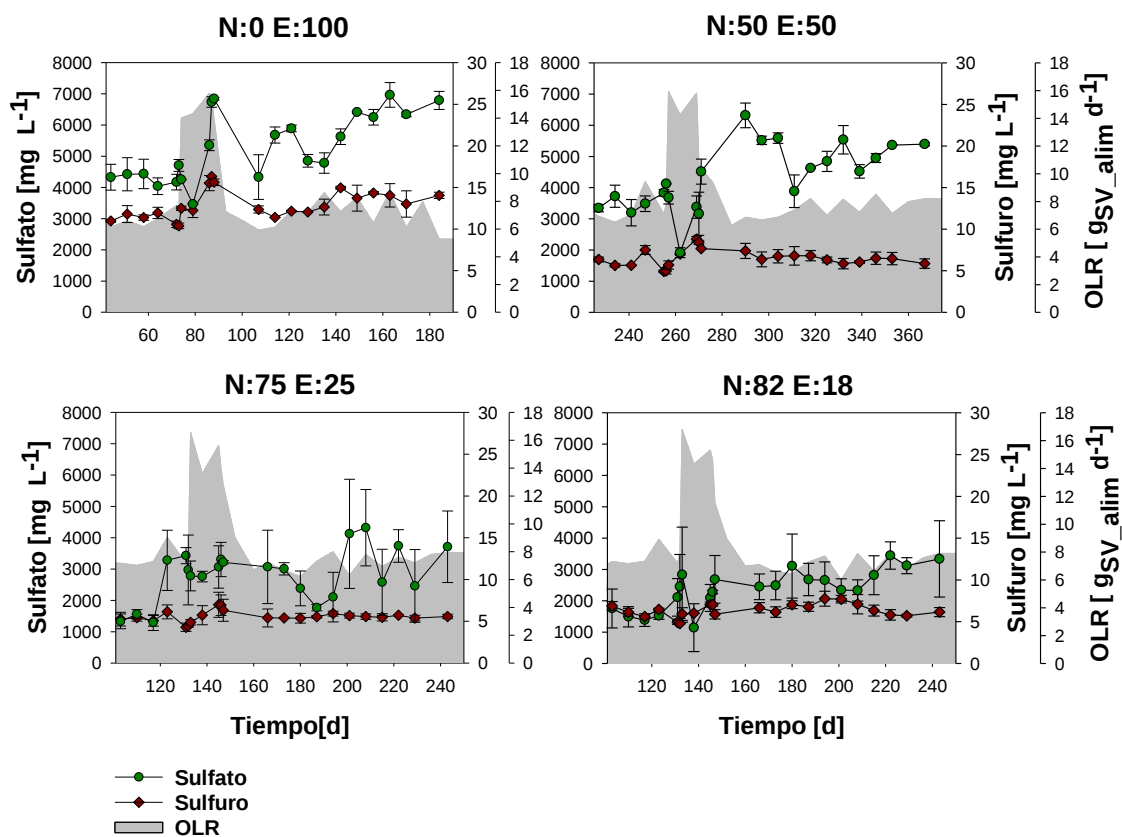


Figura 8: Contenido de sulfatos y sulfuros en los cuatro tratamientos durante las etapas de estabilización, perturbación y recuperación.

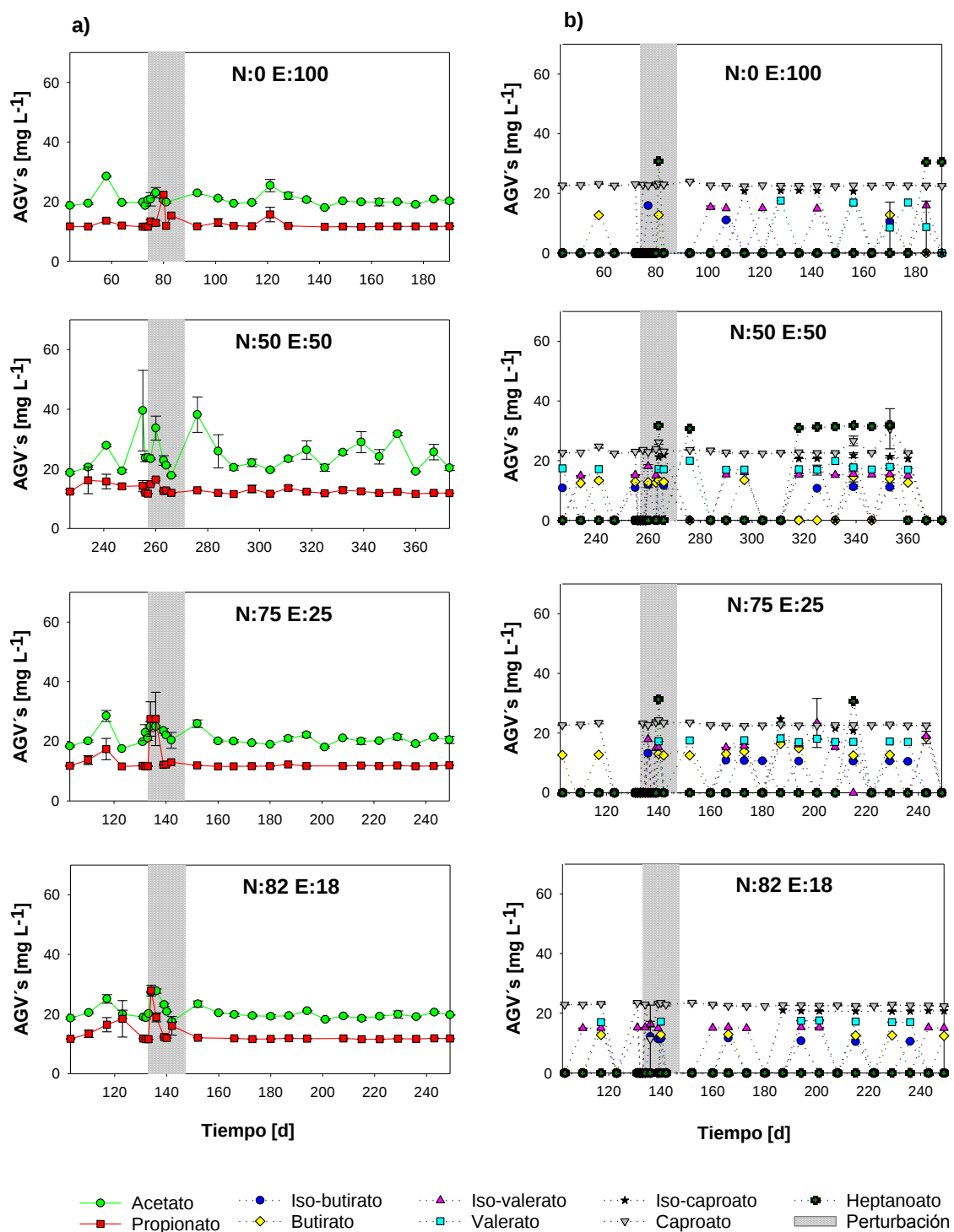


Figura 9: Concentraciones de los AGV's en los cuatro tratamientos durante el periodo de experimentación de las etapas de estabilización, perturbación y recuperación.

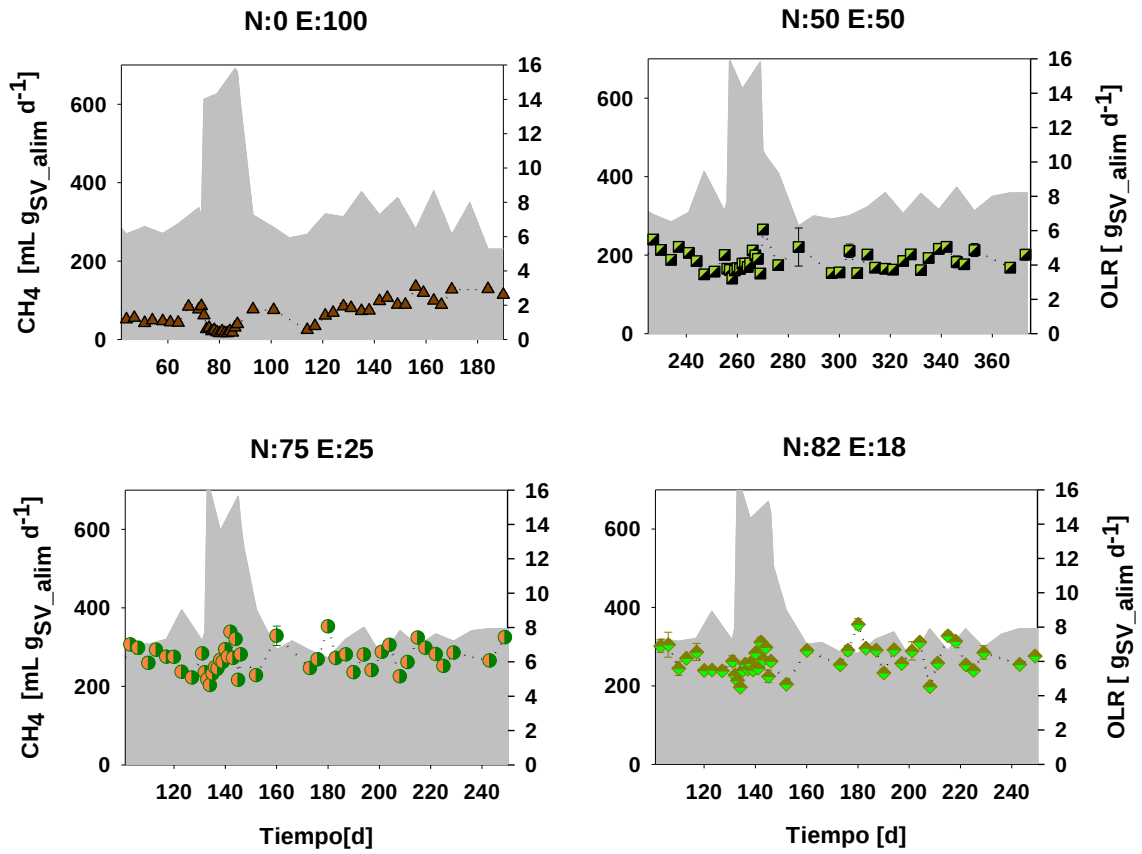


Figura 10: Actividad Metanogénica Especifica en los 4 tratamientos durante las etapas de estabilización, perturbación y recuperación.

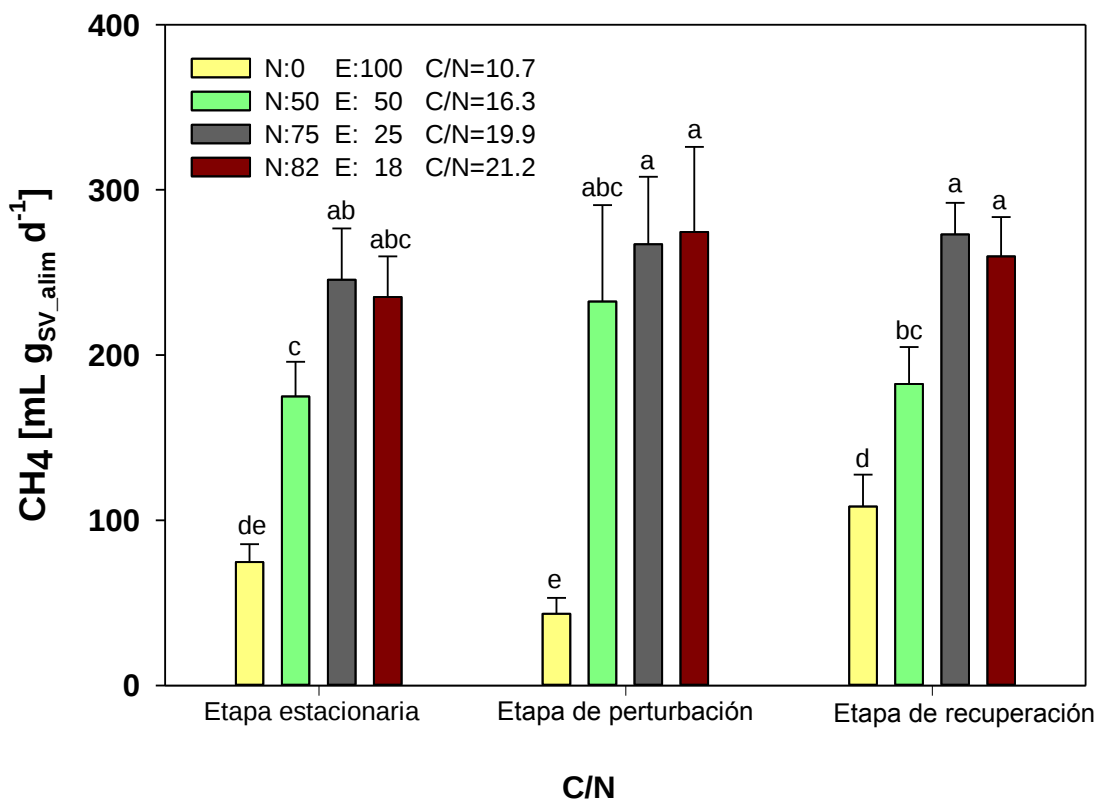


Figura 11: Comparación de medias de los 4 tratamientos en las tres etapas de la experimentación con la prueba de Tukey en SAS.

*Mismas letras indicas que no existe diferencia significativa entre las medias.

10. CONCLUSIONES

El mejor tratamiento que se obtuvo fue el tratamiento N:75 E:25 con un rendimiento de $245.58 \text{ CH}_4 \text{ g}_{\text{SV_alimentado}} \text{ d}^{-1}$ sin encontrar diferencia significativa con el tratamiento N:82 E:18 con $235.07 \text{ CH}_4 \text{ g}_{\text{SV_alimentado}} \text{ d}^{-1}$ durante la etapa estable.

El incremento de la carga orgánica (disminución del tiempo de retención hidráulica de 30 a 15 días) no fue suficiente para perturbar a los digestores que presentaron co-digestión con nopal, por lo tanto no puede haber resiliencia. El tratamiento testigo mostró una disminución en su rendimiento específico de metano del 41%, durante la etapa de perturbación, sin embargo se observó que al final de esta etapa se recuperó nuevamente.

El mayor rendimiento de metano se obtuvo durante la etapa de perturbación con el tratamiento que incluía la más alta proporción de nopal (N:82 E:18), con un rendimiento de $274.53 \text{ mL de CH}_4 \text{ g}_{\text{SV_alimentado}} \text{ d}^{-1}$, por lo tanto se concluye que los tratamientos que incluyeron nopal podrían operarse con tiempo de retención hidráulicas menores sin afectar sus rendimientos.

11. REFERENCIAS

- Aboudi, K., Álvarez-Gallego, C.J., & Romero-García, L.I. (2016). Evaluation of methane generation and process stability from anaerobic co-digestion of sugar beet by-product and cow manure. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 121(5), 566-572. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.10.005>
- Abu Qdais, H., Bani Hani, K., & Shatnawi, N. (2010). Modeling and optimization of biogas production from a waste digester using artificial neural network and genetic algorithm. *Resources, Conservation and Recycling*, 54(6), 359-363. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.resconrec.2009.08.012>
- Ağdağ, O.N., & Sponza, D.T. (2007). Co-digestion of mixed industrial sludge with municipal solid wastes in anaerobic simulated landfilling bioreactors. *Journal of Hazardous Materials*, 140(1-2), 75-85. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.06.059>
- Ahring, B.K., Sandberg, M., & Angelidaki, I. (1995). Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Applied microbiology and biotechnology*, 43(3), 559-565.
- Apha, W.A. (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. *Washington, DC*.
- Appels, L., Baeyens, J., Degreè, J., & Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(6), 755-781. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2008.06.002>
- Arsova, L. (2010). *Anaerobic digestion of food waste: Current status, problems and an alternative product*. Columbia University.
- Ayed, L., Hamdi, M., Ben Salem, H., & Chekir, I. (2010). *Lactic fermentation to improve the nutritive value of opuntia ficus-indica f. Inermis cladodes mixed with some agro-industrial by-products*. Paper presented at the VII International Congress on Cactus Pear and Cochineal 995.
- Bombardiere, J., Espinosa-Solares, T., Domaschko, M., & Chatfield, M. (2007). Thermophilic anaerobic digester performance under different feed-loading frequency. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 765-775.
- Borland, A.M., Griffiths, H., Hartwell, J., & Smith, J.A.C. (2009). Exploiting the potential of plants with crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. *Journal of Experimental Botany*, 60(10), 2879-2896.
- Ciborowski, P. (2007). Anaerobic digestion in the dairy industry, minnesota pollution control agency, air innovations conference.

- Cord-Ruwisch, R. (1985). A quick method for the determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 4(1), 33-36. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0167-7012\(85\)90005-3](http://dx.doi.org/10.1016/0167-7012(85)90005-3)
- Cuetos, M.J., Gómez, X., Otero, M., & Morán, A. (2008). Anaerobic digestion of solid slaughterhouse waste (shw) at laboratory scale: Influence of co-digestion with the organic fraction of municipal solid waste (ofmsw). *Biochemical Engineering Journal*, 40(1), 99-106. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2007.11.019>
- Cushman, J.C., Davis, S.C., Yang, X., & Borland, A.M. (2015). Development and use of bioenergy feedstocks for semi-arid and arid lands. *Journal of Experimental Botany*, erv087.
- Chen, Y., Cheng, J.J., & Creamer, K.S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99(10), 4044-4064. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>
- Deublein, D., & Steinhauser, A. (2010). Biogas *Biogas from waste and renewable resources* (pp. 85-95): Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Dhar, H., Kumar, P., Kumar, S., Mukherjee, S., & Vaidya, A.N. (2015). Effect of organic loading rate during anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresource Technology*.
- El-Mashad, H.M., & Zhang, R. (2010). Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. *Bioresource Technology*, 101(11), 4021-4028. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.027>
- Elbeshbishy, E., & Nakhla, G. (2012). Batch anaerobic co-digestion of proteins and carbohydrates. *Bioresource Technology*, 116, 170-178.
- Elias, J. (2010). *Study on renewable biogas energy production from cladodes of opuntia ficus-indica*. aau.
- Espinosa-Solares, T., Bombardiere, J., Chatfield, M., Domaschko, M., Easter, M., Stafford, D.A., . . . Castellanos-Hernandez, N. (2006). *Macroscopic mass and energy balance of a pilot plant anaerobic bioreactor operated under thermophilic conditions*. Paper presented at the Twenty-Seventh Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals.
- Esposito, G., Frunzo, L., Giordano, A., Liotta, F., Panico, A., & Pirozzi, F. (2012). Anaerobic co-digestion of organic wastes. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11(4), 325-341.
- Foresti, E., Zaiat, M., & Vallero, M. (2006). Anaerobic processes as the core technology for sustainable domestic wastewater treatment: Consolidated applications, new trends, perspectives, and challenges. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 5(1), 3-19. doi: 10.1007/s11157-005-4630-9
- Forster-Carneiro, T., Pérez, M., & Romero, L.I. (2007). Composting potential of different inoculum sources in the modified sebac system treatment of municipal solid wastes.

- Fujishima, S., Miyahara, T., & Noike, T. (2000). Effect of moisture content on anaerobic digestion of dewatered sludge: Ammonia inhibition to carbohydrate removal and methane production. *Water Science and Technology*, 41(3), 119-127.
- Galati, E., Tripodo, M., Trovato, A., Miceli, N., & Monforte, M. (2002). Biological effect of opuntia ficus indica (L.) mill.(cactaceae) waste matter: Note i: Diuretic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(1), 17-21.
- Gerardi, M.H. (2003). *The microbiology of anaerobic digesters*: John Wiley & Sons.
- Goswami, R., Chattopadhyay, P., Shome, A., Banerjee, S.N., Chakraborty, A.K., Mathew, A.K., & Chaudhury, S. (2016). An overview of physico-chemical mechanisms of biogas production by microbial communities: A step towards sustainable waste management. *3 Biotech*, 6(1), 1-12.
- Hagos, K., Zong, J., Li, D., Liu, C., & Lu, X. (2016). Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.
- Hobson, P., & Shaw, B. (1976). Inhibition of methane production by methanobacterium formicum. *Water Research*, 10(10), 849-852.
- Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., Wang, Q., Gong, C., & Li, M. (2013). Volatile fatty acids production from food waste: Effects of ph, temperature, and organic loading rate. *Bioresource Technology*, 143, 525-530.
- Kayhanian, M. (1999). Ammonia inhibition in high-solids biogasification: An overview and practical solutions. *Environmental Technology*, 20(4), 355-365.
- Kuloyo, O.O., Du Preez, J.C., del Prado García-Aparicio, M., Kilian, S.G., Steyn, L., & Görgens, J. (2014). Opuntia ficus-indica cladodes as feedstock for ethanol production by kluyveromyces marxianus and saccharomyces cerevisiae. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(12), 3173-3183.
- Li, Y.F., Chen, P.H., & Yu, Z. (2014). Spatial and temporal variations of microbial community in a mixed plug-flow loop reactor fed with dairy manure. *Microbial biotechnology*, 7(4), 332-346.
- Lindmark, J., Thorin, E., Bel Fdhila, R., & Dahlquist, E. (2014). Effects of mixing on the result of anaerobic digestion: Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40, 1030-1047. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.182>
- Liu, C.-f., Yuan, X.-z., Zeng, G.-m., Li, W.-w., & Li, J. (2008). Prediction of methane yield at optimum ph for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste.

- Low, S.C., Parthasarathy, R., Slatter, P., & Eshtiaghi, N. (2012). Hydrodynamics study of sludge in anaerobic digesters. *Chemical Engineering Transactions*, 29, 1321-1326. doi: 10.3303/CET1229221
- Ma, J., Yu, L., Frear, C., Zhao, Q., Li, X., & Chen, S. (2013). Kinetics of psychrophilic anaerobic sequencing batch reactor treating flushed dairy manure. *Bioresource Technology*, 131, 6-12.
- Mason, P.M., Glover, K., Smith, J.A.C., Willis, K.J., Woods, J., & Thompson, I.P. (2015). The potential of cam crops as a globally significant bioenergy resource: Moving from 'fuel or food' to 'fuel and more food'. *Energy & Environmental Science*, 8(8), 2320-2329.
- Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Güiza, M.S., Fonoll, X., Peces, M., & Astals, S. (2014). A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 36, 412-427. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.039>
- Mata-Alvarez, J., Macé, S., & Llabrés, P. (2000). Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology*, 74(1), 3-16. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00023-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00023-7)
- Mshandete, A., Kivaisi, A., Rubindamayugi, M., & Mattiasson, B. (2004). Anaerobic batch co-digestion of sisal pulp and fish wastes. *Bioresource Technology*, 95(1), 19-24. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2004.01.011>
- Neves, L., Oliveira, R., & Alves, M.M. (2009). Co-digestion of cow manure, food waste and intermittent input of fat. *Bioresource Technology*, 100(6), 1957-1962. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.030>
- Nurliyana, M., H'ng, P., Rasmina, H., Kalsom, M.U., Chin, K., Lee, S., . . . Khoo, G. (2015). Effect of c/n ratio in methane productivity and biodegradability during facultative co-digestion of palm oil mill effluent and empty fruit bunch. *Industrial Crops and Products*, 76, 409-415.
- Parkin, G.F., Lynch, N.A., Kuo, W.C., Van Keuren, E.L., & Bhattacharya, S.K. (1990). Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*, 62(6), 780-788.
- Pöschl, M., Ward, S., & Owende, P. (2010). Evaluation of energy efficiency of various biogas production and utilization pathways. *Applied Energy*, 87(11), 3305-3321.
- Rajagopal, R., Massé, D.I., & Singh, G. (2013). A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology*, 143, 632-641.

- Ramos-Suárez, J.L., Martínez, A., & Carreras, N. (2014). Optimization of the digestion process of *scenedesmus* sp. And *opuntia maxima* for biogas production. *Energy Conversion and Management*, 88, 1263-1270. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2014.02.064>
- Russell, C.E., & Felker, P. (1987). The prickly-pears (*opuntia* spp., cactaceae): A source of human and animal food in semiarid regions. *Economic Botany*, 41(3), 433-445.
- Sáenz, C., & Berger, H. (2006). *Utilización agroindustrial del nopal* (Vol. 162): Food & Agriculture Org.
- Shin, S.G., Yoo, S., Hwang, K., Song, M., Kim, W., Han, G., & Hwang, S. (2011). Dynamics of transitional acidogenic community along with methanogenic population during anaerobic digestion of swine wastewater. *Process Biochemistry*, 46(8), 1607-1613.
- Sosnowski, P., Wieczorek, A., & Ledakowicz, S. (2003). Anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes. *Advances in Environmental Research*, 7(3), 609-616. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1093-0191\(02\)00049-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1093-0191(02)00049-7)
- Stintzing, F.C., & Carle, R. (2005). Cactus stems (*opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Molecular nutrition & food research*, 49(2), 175-194.
- Tasnim, F., Iqbal, S.A., & Chowdhury, A.R. (2017). Biogas production from anaerobic co-digestion of cow manure with kitchen waste and water hyacinth. *Renewable Energy*, 109, 434-439.
- Trinidad, A. (2013). Utilización de estiércoles (ficha técnica no 7). Consultado el 18 de noviembre de 2013 de la página web de la secretaría de agricultura, ganadería. Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación SAGARPA en <http://www.sagarpa.gob.mx/DesarrolloRural/Documents/fichasaapt/Utilizaci%20F3n%20de%20esti%20E9rcoles.pdf>.
- Varnero, M. (2011). Manual de biogás. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. [disponible en línea]. <http://www.rlc.fao.org/es/publicaciones/manual-biogas> [Consultado 3 marzo 2012].
- Wang, X., Li, Z., Zhou, X., Wang, Q., Wu, Y., Saino, M., & Bai, X. (2016). Study on the biomethane yield and microbial community structure in enzyme enhanced anaerobic co-digestion of cow manure and corn straw. *Bioresource Technology*, 219, 150-157. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.116>
- Yang, L., Lu, M., Carl, S., Mayer, J.A., Cushman, J.C., Tian, E., & Lin, H. (2015). Biomass characterization of agave and *opuntia* as potential biofuel feedstocks. *Biomass and Bioenergy*, 76, 43-53.
- Yuan, H., & Zhu, N. (2016). Progress in inhibition mechanisms and process control of intermediates and by-products in sewage sludge anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 429-438.

- Zhai, N., Zhang, T., Yin, D., Yang, G., Wang, X., Ren, G., & Feng, Y. (2015). Effect of initial pH on anaerobic co-digestion of kitchen waste and cow manure. *Waste Management*, 38, 126-131. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2014.12.027>
- Zhang, L., Gao, R., Naka, A., Hendrickx, T.L.G., Rijnaarts, H.H.M., & Zeeman, G. (2016). Hydrolysis rate constants at 10–25 °C can be more than doubled by a short anaerobic pre-hydrolysis at 35 °C. *Water Research*, 104, 283-291. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.07.038>
- Zhang, Z., Zhang, G., Li, W., Li, C., & Xu, G. (2016). Enhanced biogas production from sorghum stem by co-digestion with cow manure. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(21), 9153-9158. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.02.042>
- Zoghalmi, N., Bouamama, B., Khammassi, M., & Ghorbel, A. (2012). Genetic stability of long-term micropropagated *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. plantlets as assessed by molecular tools: Perspectives for in vitro conservation. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 59-64.