

**EVALUACIÓN DEL PROCESO DE AUTOHIDRÓLISIS DEL BAGAZO DE
FIQUE SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO**

**NORIDA ELIANA GÓMEZ QUINTERO
LUIS GUILLERMO RUEDA SERRANO**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2012

**EVALUACIÓN DEL PROCESO DE AUTOHIDRÓLISIS DEL BAGAZO DE
FIQUE SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO**

**NORIDA ELIANA GÓMEZ QUINTERO
LUIS GUILLERMO RUEDA SERRANO**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero Químico**

Director

**Humberto Escalante Hernández
Ing. Químico Ph. D.**

Co-director

**Liliana del Pilar Castro Molano
Ing. Química Ph. D**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2012

DEDICATORIAS

Doy gracias a Dios por bendecirme día a día y darme las fuerzas para seguir adelante. Gracias a Él por permitirme mi estudio y bendecir a mis padres para costearlo. A Él le debo mi vida, mi familia y mi proyecto.

A mi padre Jorge Luis (que en paz descanse) quien me enseñó que la honestidad y la perseverancia debe ser el principio de cualquier persona y quien buscó antes que su propia felicidad, la felicidad de su propia familia.

A mi madre quien con su amor incondicional siempre incentivó mi desarrollo en la carrera y quien me enseñó que antes de cualquier cosa en el mundo está la familia.

A mis hermanos a quienes quiero y en los que siempre encontraré, así como ellos en mí, los brazos abiertos en todo momento.

A Tania Sarith mi novia, quien con su amor y compañía estuvo siempre a mi lado con su consejo (siempre oportuno) y su apoyo, enseñándome el lado optimista de las cosas y alegrando cada día.

Y a mis amigos y compañeros de universidad y proyecto, en quienes encontré compañía y apoyo.

“Mira que te mando a te esfuerces y seas valiente, no temas ni desmayes, porque Jehová tu Dios estará contigo dondequiera que vayas.”(Josué 1:9)

Luis Guillermo Rueda Serrano

DEDICATORIA

A Dios por darme la salud, la fortaleza, la sabiduría y la fe durante todo el proceso de formación en mis estudios y en la ejecución de este trabajo.

A mi mamá por apoyarme y animarme siempre en los momentos de dificultad; por su amor, cuidado y paciencia incondicional. Gracias por la fe que siempre pones en mi, por tu ejemplo, formación, enseñanzas y consejos a diario que me ayudan a ser cada día una mejor persona.

A mi papá Jorge, porque sé que desde el cielo siempre me está acompañando y gracias a su amor y exigencia me he mantenido con firmeza para seguir adelante. Agradezco su esfuerzo por garantizarme el estudio de mi carrera profesional.

A mis hermanas por su confianza, apoyo y ánimo en todo momento, por su cariño, preocupación y por creer en mí.

A mi familia por su apoyo incondicional y por instarme siempre a ser cada día mejor y a luchar por mis sueños.

A mis amigos por animarme siempre en los momentos difíciles, por su compañía y por los momentos de alegría compartidos dentro y fuera de la universidad.

Norida Eliana Gómez Quintero

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Ciencia y Tecnología Colciencias y al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural por el apoyo económico recibido a través de este proyecto.

Al Dr. Humberto Escalante, director de este proyecto, por su confianza, apoyo y orientación.

A la Dra. Liliana del Pilar Castro por su apoyo, dedicación y acompañamiento incondicional durante el proyecto. Agradecemos su confianza, entusiasmo y conocimientos que nos alentaban a pesar de los inconvenientes.

A la Dra. Carolina por su apoyo y sus consejos que siempre expresaban su experiencia y nos brindaban una guía para ser cada día mejor.

Al bacteriólogo Alex Velásquez por sus conocimientos y enseñanzas brindadas durante el proceso de aprendizaje en el laboratorio.

A los pasantes de bacteriología y microbiología (Fredy y stephanie) que con su colaboración y alegría animaban las largas jornadas de análisis.

A los compañeros del grupo de investigación del Laboratorio de Biotecnología por su apoyo, compañía, colaboración y por hacer siempre amena las jornadas de trabajo en el laboratorio.

Al Laboratorio de Rayos X de la Escuela de Química y el Laboratorio de Biomateriales de la Escuela de Ingeniería Metalúrgica por los análisis realizados.

TABLA DE CONTENIDOS

1.	INTRODUCCIÓN	17
2.	METODOLOGÍA	24
2.1	PRETRATAMIENTO DE AUTOHIDRÓLISIS	24
2.2	ANÁLISIS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DEL BF	26
2.3	ANÁLISIS MICROGRÁFICO DEL BF	26
2.4	DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METANO	27
2.5	EVALUACIÓN DE COSTOS	29
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	29
3.1	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL BF	29
3.2	PRETRATAMIENTO	30
3.2.1	Actividad Hidrolítica	30
3.3	EFFECTO DEL PRETRATAMIENTO DE AUTOHIDRÓLISIS SOBRE LA ESTRUCTURA LIGNOCELULÓSICA DEL BF	32
3.4	EFFECTO DE LA AUTOHIDROLISIS SOBRE LA CRISTALINIDAD DEL BF	33
3.5	MICROGRAFÍAS DEL BF	34
3.6	EFFECTO DE LA AUTOHIDRÓLISIS DEL BF SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO	34
3.6.1	Efecto de la autohidrólisis sobre la etapa de hidrólisis	34
3.6.2	Comportamiento del pH durante la DA	35
3.6.3	Efecto de la autohidrólisis sobre el comportamiento de los AGVT en el proceso de DA	36
3.6.4	Efecto de la autohidrólisis sobre la etapa metanogénica	36
3.7	COSTOS DE PRODUCCIÓN DE METANO PARA LAS MUESTRAS DE BF TRATADO Y SIN TRATAR	38
	CONCLUSIONES	41
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	42
	ANEXOS	47

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Diseño experimental para la autohidrólisis de BF.....	25
Tabla 2. Condiciones de operación para determinación de AH en BF pre- tratado.....	2 5
Tabla 3. Condiciones de operación para el proceso de DA.....	27

CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL BF

Tabla 4. Caracterización Fisicoquímica del BF.....	30
Tabla 5. Actividad Hidrolítica de BF pretratados, BF sin tratar y blanco.....	31
Tabla 6. Índice de cristalinidad del BF tratado y sin tratar.....	34
Tabla 7. Tarifas y precios de traslado de las materias primas.....	38
Tabla 8. Costos del proceso de producción de metano a partir de BF sin tratar.....	39
Tabla 9. Costos del proceso de producción de metano a partir de BF con pretratamiento.....	39
Tabla 10. Producción de energía a partir del volumen de metano obtenido a partir del BF sin Pretratamiento.....	40
Tabla 11. Producción de energía a partir del volumen de metano obtenido a partir del BF con Pretratamiento.....	40

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Efecto de los pretratamiento sobre la estructura lignocelulósica.	22
Figura 2. Grafica de efectos principales para la AH.....	32
Figura 3. Composición porcentual del ML.....	32
Figura 4. Perfiles de difracción de rayos x de las muestras.....	33
Figura 5. Micrografía de BF. A) BF sin tratar, B) BF pretratado.....	34
Figura 6. Consumo de ART durante la DA	35
Figura 7. Variación de pH durante la DA	35
Figura 8. Concentración de AGVT durante la DA	36
Figura 9. Producción de metano	37

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Determinación de lignina, hemicelulosa y celulosa.....	47
ANEXO B. Determinación de la concentración de azúcares reductores totales.....	48
ANEXO C. Determinación de ácidos grasos volátiles y alcalinidad.....	50
ANEXO D. Método de desplazamiento alcalino.....	52
ANEXO E. Tabla de tarifas de energía – empresa ESSA.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

ML	Material lignocelulósico
AH	Actividad hidrolítica
AGVT	Ácidos grasos volátiles totales
ART	Azúcares reductores totales
BF	Bagazo de fique
DA	Digestión anaerobia
DNS	Dinitrosalisílico
DQO	Demanda química de oxígeno
LEC	Lodo estiércol de cerdo
LR	Líquido ruminal
PBM	Potencial de biometanización
RIS	Relación inóculo sustrato
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
SV	Sólidos volátiles
T	Temperatura
t	Tiempo

RESUMEN

TITULO: EVALUACIÓN DEL PROCESO DE AUTOHIDRÓLISIS DEL BAGAZO DE FIQUE SOBRE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS.

AUTORES: Norida Eliana Gómez Quintero

Luis Guillermo Rueda Serrano

PALABRA CLAVE: pretratamiento, autohidrólisis, material lignocelulósico, digestión anaerobia, bagazo de fique, potencial de biometanización, actividad hidrolítica, evaluación de costos.

DESCRIPCIÓN:

En el siguiente trabajo se realizó la evaluación del pretratamiento de autohidrólisis sobre el bagazo de fique con el fin de mejorar la producción de biogás en el proceso de digestión anaerobia. Para este estudio se tuvo en cuenta las variables de operación: relación agua/bagazo de fique y tiempo de reacción, sobre una temperatura de operación de 121°C.

Con el fin de seleccionar las mejores condiciones de operación del pretratamiento, se evaluó la actividad hidrolítica sobre un proceso de hidrólisis. Se obtuvo que para cada ensayo realizado del pretratamiento (variando la relación agua/bagazo y el tiempo) los valores de actividad hidrolítica mejoraron con respecto al bagazo sin pretratar. Sin embargo el bagazo pretratado a las condiciones de relación agua/bagazo de 10 [g/g] y tiempo de 30 minutos, el resultado de actividad hidrolítica fue el mayor. Igualmente se obtuvo que el bagazo de fique pretratado a las condiciones seleccionadas, aumentó un 9,3% el potencial de biometanización.

Se realizó una evaluación en los costos de producción a escala laboratorio para el proceso de producción con la aplicación del pretratamiento y sin la aplicación, observándose que el pretratamiento aumenta la producción de metano del proceso de digestión anaerobia implicando un aumento proporcional en los costos.

¹ Trabajo de Grado. Modo investigación

^{**} Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Humberto Escalante Hernández. Codirector: Lilibiana del Pilar Castro Molano.

ABSTRACT

TITLE: assessment of the auto-hydrolysis project of the bagazo from fique plant about the biogas production.

AUTHORS: Norida Eliana Gómez Quintero
Luis Guillermo Rueda Serrano

KEYWORDS: pretreatment, autohydrolysis, lignocellulosic, anaerobic digestion, fique's bagasse, biomethane potential, hydrolytic activity, cost evaluation.

DESCRIPTION:

In the following work was carried out the evaluation of the auto-hydrolysis pretreatment on fique's bagasse aiming to improve the production of biogas in the process of anaerobic digestion. In this study it was taken into account the operation variables: water/ fique's bagasse relation and time of reaction in a operation temperature of 121°C.

In order to select the best conditions of pretreatment operation the hydrolytic activity was tested on a hydrolysis process. It gave that for each pretreatment trial executed (changing the relation of water/bagasse and the time) the values of hydrolytic activity improved with regard to the bagasse without pretreatment. However the pretreated bagazo to the conditions of the relation water/bagasse of 10 [g/g] and time of 30 minutes, the result of hydrolytic activity was the highest. It gave too that the pretreated fique's bagasse in the selected conditions rise 9,3% the biomethane potential.

An evaluation in the cost of production was carried out at laboratory scale for the production process with the application of pretreatment and without it observing that pretreatment increases the methane production of the anaerobic digestion process involving a proportional rise in the cost.

Working grade. Research mode

** Faculty of Physicochemical Engineering. School of Chemical Engineering. Director: Humberto Escalante Hernández. Codirector: Liliana del Pilar Castro Molano.

1. INTRODUCCIÓN

El fique es una planta del género *Furcraea*, de la familia Agavácea, producida en Colombia, generalmente en los departamentos de Cauca, Nariño, Santander, Antioquia y Boyacá, los cuales representan el 99% de la producción nacional (Mojica & Paredes, 2004). La producción para el año 2009 (lo cual consiste en la fibra) fue de 19.813 Ton/año de una producción de 495.325 Ton/año de pencas de fique (Pereira *et al.*, 2009).

El proceso de beneficio del fique genera residuos líquidos y sólidos (bagazo). Estos residuos conforman el 96% de hoja, que aproximadamente representan 66.144 ton/año (solo para el año 2010) en el departamento de Santander, el 4% restante corresponde a fibra (Castro *et al.*, 2009). Si el Bagazo de Fique (BF) es vertido directamente al medio, ocasiona un problema de contaminación ambiental. Actualmente existen algunas alternativas poco desarrolladas para tratar el BF, por ejemplo la producción de abonos orgánicos para el cultivo de hongos comestibles, producción de papel (Mojica & Paredes, 2004) y biogás (Quintero *et al.*, 2012).

La caracterización fisicoquímica del BF indica que este residuo tiene elevadas concentraciones de carbono, nutrientes y poder calórico, que lo hacen apto para su aprovechamiento energético. Este sustrato contiene celulosa, hemicelulosa y lignina, en una relación de 41.81%, 22.17% y 15,56% respectivamente (Castro *et al.*, 2009), esto lo clasifica como un material lignocelulósico.

El Material Lignocelulósico (ML) es la estructura principal que compone el tejido celular de las plantas, el cual, confiere el carácter de rigidez y de resistencia al tallo. El ML consiste de tres cadenas poliméricas, en donde el componente de mayor abundancia es la celulosa, seguido de la hemicelulosa y la lignina con composiciones promedio de 40-45%, 20-30% y 15-25% respectivamente (Lisbeth *et al.*, 2004).

La composición del ML BF es similar a otras biomásas, tal como la paja de trigo, aserrín de abedul (Targonsky, 1985); rastrojo de mazorca (Myoung *et al.*, 2009), paja de centeno (Rogalinski *et al.*, 2008) y el pasto de costa de bermuda (Myoung *et al.*, 2009). Dada la cantidad de carbonos disponibles dentro de los ML, estos residuos llegan a ser fuentes potenciales para la producción de biocombustibles (Hendriks & Zeeman, 2009; Alvira *et al.*, 2010; Merchan & Parra, 2010).

Estudios previos del BF, revelan una relación Carbono/Nitrógeno del 63%, que lo convierten como un sustrato atractivo en el procesos Digestión Anaerobia (DA) para la producción de biogás (Castro *et al.*, 2009), sin embargo este proceso se ve afectado por las características lignocelulósicas del sustrato.

La naturaleza lignocelulósica del BF reduce la accesibilidad para que los microorganismos metabolicen el sustrato. Por consiguiente, para mejorar el rendimiento de la DA del BF, es necesario modificar su estructura mediante un pretratamiento físico y/o químico.

Actualmente existen tres tipos de pretratamiento utilizados sobre los residuos lignocelulósicos: a) pretratamiento biológico, donde se utilizan microorganismos que realizan la degradación del ML, como por ejemplo, el uso de celobiosa deshidrogenasa deficiente de la cepa *trametes versicolor* sobre la paja de canola (Canam *et al.*, 2011), b) pretratamiento químico, en el cual la biomasa es mezclada con un compuesto químico diluido en agua, lo que genera la hidrólisis del ML, como es el caso de la hidrólisis de paja de maíz utilizando una solución de NaOH (Zhong *et al.*, 2011) y c) tratamiento físico, en donde el sustrato es sometido a una operación física, la cual genera la deformación del ML, como por ejemplo la utilización de la auto-hidrólisis en el pasto de Costa de bermuda para el mejoramiento de la hidrólisis enzimática (Myoung *et al.*, 2009).

Estos pretratamientos generalmente se consideran un paso necesario para alterar la estructura característica del ML y mejorar su digestibilidad (Hendriks & Zeeman, 2009; Alvira *et al.*, 2010; Forero *et al.*, 2003) permitiendo una mayor accesibilidad a la acción bacteriana.

El proceso de autohidrólisis es un pretratamiento físico hidrotérmico el cual genera el fraccionamiento de la hemicelulosa y celulosa amorfa, generando adicionalmente, la deformación de la lignina y celulosa cristalina (Targonsky, 1985). Es un proceso ampliamente aplicado en diferentes tipos de sustrato, en los cuales el mejoramiento en la accesibilidad muestra resultados positivos (Targonsky, 1985; Myoung *et al.*, 2009; Hendriks & Zeeman, 2009; Xu & Liu, 2009; Caparrós *et al.*, 2006). Por esto, se podría incrementar los rendimientos de la producción de biogás aplicando al BF un pretratamiento de autohidrólisis.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue modificar la estructura del BF por medio de un proceso de autohidrólisis, con el fin de incrementar la producción de metano durante el proceso de DA.

Digestión anaerobia

La DA es un proceso biológico en el cual un sustrato o material orgánico (en nuestro caso el BF) es reducido en un medio libre de oxígeno a combustible gaseoso (Biogás) constituido de metano (95%) y dióxido de carbón. Su uso es ampliamente visto alrededor del mundo, encontrando más de 1000 plantas de producción con sistemas de DA que operan realizando el reciclaje de residuos sólidos municipales (Forero *et al.*, 2003).

La DA se realiza por la acción combinada de diferentes poblaciones bacterianas (Forero *et al.*, 2003), las cuales se clasifican en función de la etapa en la cual se desempeña. La DA se realiza en cuatro etapas: a) hidrólisis, b) acidogénesis, c) acetogénesis y d) metanogénesis (Angelidaki *et al.*, 2009).

La etapa de hidrólisis, consiste en la fragmentación de las cadenas de celulosa y hemicelulosa a monómeros y azúcares simples por la acción de enzimas excretadas por bacterias fermentativas (Quintero *et al.*, 2012; Forero *et al.*, 2003).

La etapa de acidogénesis implica la conversión del hidrolizado a ácidos carboxílicos por la acción de bacterias acidogénicas. Estas bacterias fermentan

los azúcares disueltos en el medio en propionatos, butiratos, dióxido de carbono e hidrógeno (Ortega, 2006).

La etapa de acetogénesis consiste en la producción de acetatos junto con el CO₂ y H₂, por la acción de bacterias acetogénicas (Quintero *et al.*, 2012).

La etapa de metanogénesis es la etapa final del proceso de DA, en la cual se lleva a cabo la conversión a metano de los acetatos, carbonos e hidrógenos obtenidos en la etapa previa por la acción de bacterias metanogénicas (Appels *et al.*, 2008). La actividad de las bacterias metanogénicas en la producción de metano, es denominada Actividad Metanogénica (AM).

La hidrólisis es la etapa principal de la DA en donde los microorganismos realizan el acceso a la biomasa. La acción degradativa de los microorganismos es denominada Actividad Hidrolítica (AH), la cual es cuantificada por la cinética de producción de azúcares disueltos en el medio. La cuantificación de la AH es utilizada como análisis de la accesibilidad de los microorganismos a un complejo de carbonos (Hu *et al.*, 2004; Quintero *et al.*, 2012).

Estructura de los Residuos Lignocelulósicos

El ML es la estructura principal que compone el tejido celular de las plantas y es aquella que confiere el carácter de rigidez al tallo. El nombre “lignocelulosa” es un término genérico que resalta las tres cadenas poliméricas (celulosa hemicelulosa y lignina), las cuales forman una matriz que componen esta estructura (Hendriks & Zeeman, 2009).

La celulosa, es el componente mayoritario de los ML, pudiendo distinguirse de la hemicelulosa y la lignina por su insolubilidad en agua y disolventes orgánicos; químicamente es un polímero lineal constituido por unidades de β-D-glucosa unidas por enlaces entre los carbonos 1-4 (Agbor *et al.*, 2011; Hendriks & Zeeman, 2009).

La hemicelulosa es una estructura compleja de carbohidratos que consiste de diferentes polímeros como, pentosas y hexosas; tiene una mayor velocidad de

hidrólisis con respecto a la celulosa y resistencia a la oxidación, además tiene la función de realizar el ensamble entre las cadenas de lignina y las fibras de celulosa (Hendriks & Zeeman, 2009).

La lignina se caracteriza por su complejo aromático, dado que es un polímero ramificado, amorfo y heterogéneo constituido por unidades de fenilpropano (p-cumarílico, coniferílico y alcohol sinapílico) unidos por diferentes clases de enlaces (Lisbeth *et al.*, 2004). Es un compuesto insoluble en ácidos y soluble en álcalis fuertes como el hidróxido de sodio (Caparros, 2009; Hendriks & Zeeman, 2009).

La composición promedio de los ML está dado por: 40-45% de celulosa, 20-30% hemicelulosa y 15-25% lignina; esta composición de ML difiere una de otra, dependiendo del tipo de planta y de la sección de la planta de donde se tome, también del ambiente y el clima en el que se desarrollan (Lisbeth *et al.*, 2004).

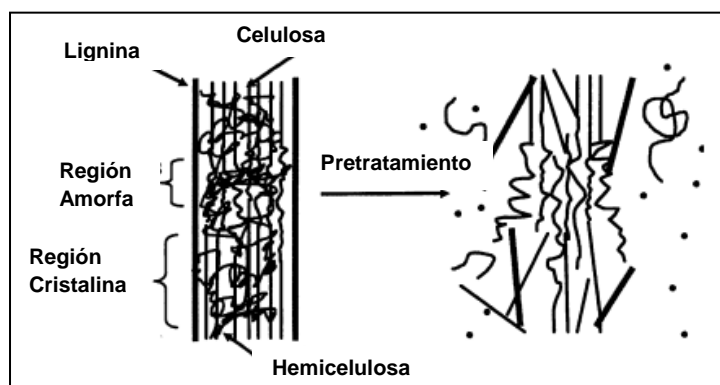
Dada la cantidad de carbonos disponibles dentro de los ML, estos son considerados como una fuente potencial para la producción de biocombustibles. Actualmente se realizan estudios en los cuales los ML son la base en la producción de biocombustibles como bioetanol y biometano (Hendriks & Zeeman, 2009; Castro *et al.*, 2009; Alvira *et al.*, 2010; Merchan & Parra, 2010).

La autohidrólisis como pretratamiento para ML

El uso de pretratamientos es una alternativa viable para transformar la estructura de la celulosa cristalina. Actualmente existen tres tipos de pretratamiento (Biológico, Químico y Físico), entre los cuales sobresale el proceso de autohidrólisis (Myoung *et al.*, 2009). El proceso de autohidrólisis es un pretratamiento físico hidrotérmico que consiste en el calentamiento de una solución acuosa del ML. Dentro de la autohidrólisis, los iones hidronios (obtenidos en primera instancia de la ionización del agua) catalizan el fraccionamiento de la celulosa amorfa y hemicelulosa (Caparrós *et al.*, 2006) y

genera además, la deformación de las cadenas cristalinas de celulosa y lignina, tal como se observa en la Figura 1. (Mosier *et al.*, 2005).

Figura 1. Efecto de los pretratamiento sobre la estructura lignocelulósica (Mosier *et al.*, 2005).



La autohidrólisis se convierte en una gran alternativa industrial gracias a su tecnología amigable con el ambiente. Comparado con otros tratamientos (hidrólisis ácida, hidrólisis alcalina), no da lugar a problemas de corrosión ni aumento de costos por uso de productos químicos para la neutralización de ácidos y bases, entre otros (Garrote *et al.*, 1999; Caparrós *et al.*, 2006; Carvalheiro *et al.*, 2004).

Para la autohidrólisis se ha encontrado que la solubilización de los componentes de la hemicelulosa, al igual que la lignina, empiezan alrededor de los 180°C, sin embargo otros autores mencionan que esto ocurre alrededor de los 150°C, en donde la hemicelulosa resulta ser más sensible a los procesos termoquímicos (Hendriks & Zeeman, 2009).

En estudios previos, se observó que la temperatura óptima fue de 200°C utilizando como sustrato la paja de trigo y el aserrín de haya, alimentando una relación líquido/sólido de 5 g/g (agua destilada/ML), para un tiempo de calentamiento de 20 min. Sin embargo para una temperatura superior a 200°C, presentan cambios desfavorables en la composición del hidrolizado (Targonsky, 1985).

Otros autores (Xu & Liu, 2009) trabajaron la autohidrólisis en astillas de arce de azúcar a una temperatura de 160°C, alimentando una relación sólido/líquido de 0.25 g/ml, para un tiempo de residencia de 2 horas, obteniendo concentraciones de xilosa y glucosa de 28,84 g/L y 4.40 g/L respectivamente (Xu & Liu, 2009).

En otras investigaciones se encuentran diferentes relaciones líquido/sólido como en la autohidrólisis de *Arundo donax* L. o cañabrava. En este estudio se utilizó 8:1 g/g hasta un volumen de trabajo de 600 cm³, a las temperaturas 150, 165, 180 y 195°C, para un tiempo de tratamiento de 15 h. Se observó una dependencia importante de la cinética de reacción con la temperatura, en donde, a mayor temperatura de tratamiento menor será el tiempo de hidrólisis del ML, sin embargo no se observa una diferencia de gran magnitud en la cantidad de ML hidrolizado a diferentes temperaturas. Adicionalmente señalan que la variación de la relación líquido/sólido no influye en el hidrolizado (Caparrós *et al.*, 2006).

Se han encontrado autores que trabajaron la relación 8:1 g/g de líquido/sólido, como en la autohidrólisis de la tusa de mazorca y la cascarilla de arroz, donde utilizó un volumen de trabajo de 3,75 L; operando a 205 y 202°C para la cascarilla y la tusa respectivamente (Garrote *et al.*, 2007). Así mismo, un estudio de la autohidrólisis del grano gastado de cervecería, obtenido como residuo industrial de la sacarificación y licuefacción de la fracción de almidón de la cebada, se utilizó a la relación de 8 g/g a tres temperaturas: 150, 170 y 190 °C, trabajando entre 7 y 10 tiempos de reacción en un rango de 0-420 min en discontinuo. Los resultados del licor de la autohidrólisis mostraron una mezcla de oligómeros de azúcares (xilooligosacáridos), monosacáridos (xilosa, arabinosa), ácido acético y productos de descomposición de azúcares; la relación de estos componentes dependía de las condiciones de la autohidrólisis (Carvalho *et al.*, 2004).

2. METODOLOGÍA Este estudio se realizó en dos etapas: a) autohidrólisis del BF y b) digestión anaerobia de BF pretratado. La primera etapa permitió determinar las mejores condiciones de operación, para mediante la autohidrólisis, mejorar la accesibilidad del consorcio hacia la fuente de carbono. En la segunda etapa, se comprobó el grado de mejoramiento de la DA del BF pretratado.

El BF empleado como sustrato se recolectó en una planta de beneficio de fique (Mogotes - Santander). El BF debidamente empacado se trasladó al laboratorio de biotecnología de la UIS y se conservó refrigerado. El BF se sometió a caracterización físico-química en el laboratorio *Dr. Calderón Labs. Ltda.* en la ciudad de Bogotá.

2.1 PRETRATAMIENTO DE AUTOHIDRÓLISIS

La autohidrólisis del BF se realizó de acuerdo a la metodología empleada por varios autores (Caparrós *et al.*, 2006; Garrote *et al.*, 2007; Myoung *et al.*, 2009; Romaní *et al.*, 2011; Garrote *et al.*, 2001). Muestras de 50 g de BF y agua fueron mezcladas en proporciones deseadas (tabla 1.) en reactores de 500 ml sellados herméticamente.

La autohidrólisis se llevó a cabo dentro de un autoclave con capacidad de 50 L, en donde se realizó el calentamiento de los reactores hasta una temperatura de $121 \pm 5^\circ\text{C}$. Esta temperatura se escogió con base en estudios previos en donde se menciona la hidrólisis del ML a bajos valores de temperatura para altos tiempos de operación (Caparrós *et al.*, 2006). El calentamiento de los reactores al interior del equipo tardó alrededor de 30 min hasta llegar a la temperatura deseada, momento en el cual inicia el tiempo de reacción del pretratamiento.

El estudio del pretratamiento de autohidrólisis se realizó mediante un diseño factorial de experimentos 3^2 ; utilizando tres relaciones agua/ BF de 5, 10 y 15 g agua/g BF y tres tiempos de operación (Tabla 2). Estos rangos de operación se seleccionaron de acuerdo a la literatura (Carvalho *et al.*, 2004; Caparros *et al.*, 2006; Myoung *et al.*, 2009; Garrote *et al.*, 2007; Xu & Liu, 2009).

Tabla 1. Diseño experimental para la autohidrólisis de BF

Variables	Niveles			Unidades
	0	1	2	
Relación másica: Agua/BF	5	10	15	g/g
Tiempo	5	30	60	minutos

La AH fue la variable respuesta seleccionada para determinar las mejores condiciones del proceso de autohidrólisis.

Los ensayos de AH se llevaron a cabo introduciendo el BF pretratado junto con el líquido ruminal (LR) en un reactor con sellado hermético. La carga del reactor se realizó utilizando una Relación Inoculo/Sustrato (RIS) de 2 g sv Inoculo/g sv BF pretratado. El LR adicionado se recolectó en el frigorífico Vijagual S.A. en Bucaramanga-Santander. El LR se seleccionó para la prueba del AH debido a su alta actividad hidrolítica (Quintero *et al.*, 2011).

Se incluyó en la experimentación una muestra control (BF sin tratar). La Tabla 2 indica las condiciones de operación del proceso.

Tabla 2. Condiciones de operación para determinación de AH en BF pretratado.

Variables	Valor	Unidades
Volumen reactor	0,05	L
Volumen operación	0,035	L
Sustrato	BF Pretratado	
Inóculo	LR	
Tiempo de operación	24	h
Agitación	0	rpm
Temperatura	39	°C

La AH fue determinada usando el máximo consumo de azúcares reductores totales (ART) y definida como g DQO glucosa/ g SSV*día. El consumo de ART durante la hidrólisis del BF fue determinado utilizando un espectrofotómetro GENESYS 20 *Thermo Spectronic* a 540 nm de acuerdo con el método de

análisis de absorbancia por la técnica de MILLER del Ácido Dinitrosalicílico (DNS) (Anexo A) (Cortínez, 2010).

Los resultados son introducidos al software estadístico Statgraphics, en donde se realiza el análisis de incidencia de cada variable sobre los resultados.

La cuantificación de celulosa, hemicelulosa y lignina se realizó para la muestra control y de BF pretratado con la pareja de tiempo – relación másica que presentó mayor degradabilidad en la prueba de AH. El análisis se realizó según el protocolo desarrollado por Goering & Van Soest. Esta metodología utiliza la fibra detergente ácida, la fibra detergente neutra y la fibra de Kurschner (Zhang & Cai, 2008; Goering & Van Soest, 1970).

2.2 ANÁLISIS DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X DEL BF

Como medida de la accesibilidad de los microorganismos sobre el BF tratado y sin tratar, se determinó el índice de cristalinidad empleando un difractor SIEMENS modelo D500. Las muestras de BF sin tratar y BF tratado se maceraron en un mortero de ágata y el espécimen seleccionado de la muestra fue montado en un porta muestra de aluminio mediante la técnica de llenado frontal. El análisis se realizó a 40 kW, con una corriente de 30 mA, rendija de divergencia de longitud 0,15 mm, provisto de una fuente de Cu ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$). Las muestras se corrieron en un rango de 2– 70° (2 θ) a 2°/min. La ecuación 1 se utiliza para el cálculo del índice de cristalinidad (Yang *et al.*, 2009) y se compararán los resultados obtenidos.

$$CrI = 100 * \left(\frac{I_{002} - I_{amorfa}}{I_{002}} \right) \quad \text{[Ecuación 1]}$$

En donde:

CrI = Índice de Cristalinidad.

I_{002} = Intensidad del pico en el máximo de 2θ entre 22° y 23°.

I_{amorfa} = Intensidad del pico en el mínimo de 2θ entre 18° y 19°.

2.3 ANÁLISIS MICROGRÁFICO DEL BF

Las micrografías del BF pretratado y sin tratar fueron realizadas utilizando un video microscopio *HIROX KH 7700* con un aumento de 50 x.

2.4 DETERMINACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METANO

El proceso de DA se lleva a cabo en reactores de 500 mL empleando como sustrato 3,54 gSV de BF pretratado y de muestra control (BF sin pretratar) respectivamente para cada ensayo, junto con 300 mL de una mezcla inóculo. Con el fin de reducir la varianza en los resultados y garantizar la reproducibilidad de la práctica, las pruebas en cada caso se realizaron por triplicado. En la tabla 3. Se muestra las condiciones de operación trabajadas para la DA.

Tabla 3. Condiciones de operación para el proceso de DA

Variables	Valor	Unidades
Vol. Reactor	500	mL
Vol. Operación	350	mL
Temperatura	39	°C
RIS	2	gsv inóculo/gsv sustrato
Agitación	0	Rpm
Tiempo de digestión	15	Días

El inóculo utilizado en el proceso de DA del BF pretratado para la producción de metano, es una mezcla de Lodo Estiércol de Cerdo (LEC) y LR en una proporción 1:1. El LEC utilizado proviene de la porcícola “Puerto Ferrayo” ubicada en el municipio de la Mesa de los Santos-Santander.

Las variables de respuesta en este proceso fueron i) la concentración de ART, ii) la concentración de Ácidos Grasos Volátiles Totales AGVT y iii) el volumen acumulado de metano. El pH y la relación AGV/AT se cuantificaron para garantizar la estabilidad durante el proceso de fermentación, donde AT es la

Alcalinidad Total. Las muestras para los ART y AGVT se recolectan cada cinco días realizando los análisis por duplicado

El montaje experimental consistió de once digestores para BF pretratado y once para BF sin tratar, de los cuales para cada experimento se tenía una botella para tomar muestras de ART; siete botellas para AGV, AT y pH; tres para mediciones de volumen de metano.

La cuantificación de los ART se hace mediante el método colorimétrico DNS utilizando un espectrofotómetro GENESYS 20 *Thermo Spectronics* a una longitud de onda de 540 nm (Anexo B). Los AGVs fueron cuantificados mediante el método de titulación del *standard methods* (Anexo C).

La medición del volumen de biogás se realizó utilizando el protocolo de desplazamiento alcalino (Forero *et al.*, 2003), este procedimiento de medición se explica en el anexo D. El volumen de metano se normalizó de acuerdo a la ecuación 2. El pH se midió durante todo el proceso de digestión con un pH-metro marca *SCHOTT* portátil.

$$V_0 = V \frac{(P_L - P_v) * T_0}{P_0 * T} \quad \text{[Ecuación 2]}$$

Donde:

V_0 : Volumen de gas en condiciones normales.

V : Volumen de gas generado.

P_L : Presión atmosférica en la medición.

P_v : Presión de vapor a la presión y temperatura de medida.

P_0 : Presión de metano en condiciones normales.

T_0 : Temperatura del metano en condiciones normales.

T : Temperatura ambiental en el momento de la medida.

El potencial de biometanización (PBM) es una medida de volumen producido de metano a partir de g SV adicionado, el cual suministra información acerca de la cantidad de biometano obtenida del sustrato bajo sus condiciones

operacionales, así como la biodegradabilidad del sustrato. El PBM es utilizado en estudios concernientes a la DA, por lo tanto éste se calculó para los experimentos realizados. (Angelidaki *et al.*, 2009; Esposito *et al.*, 2012)

$$PBM = \frac{\text{volumen acumulado de metano}}{\text{gramos de sólidos volátiles adicionados del sustrato}}$$

2.5 EVALUACIÓN DE COSTOS

Se realiza una evaluación de costos con el objetivo de comparar y determinar el incremento con respecto a la producción de biogás obtenidas a partir del BF pretratado y sin pretratar. Este estudio se realiza de acuerdo al estudio realizado por Sassner *et al.*, (2008) y el protocolo planteado por Peters & Timmerhaus, (1991).

Para la evaluación de costos se toman los gastos significativos dentro del proceso (a escala laboratorio) de producción de biogás simultáneamente para los dos tipos de bagazo.

Los costos incluidos para el análisis están determinados por: i) los gastos energéticos implicados dentro la etapa de pretratamiento, el cual constituye el funcionamiento del equipo autoclave (donde se llevó a cabo el proceso de autohidrólisis), ii) Los gastos de materia prima adicionados al proceso, estos costos implican: los gastos de compra de la materia prima y los gastos de traslado desde el lugar de origen (para el caso del BF, LEC y LR, no aplica el precio de compra debido a que son residuos inutilizados) y iii) Los materiales e insumos necesarios, estos costos son gastos indirectos necesarios para la producción (corchos de hule, agrafes y guantes).

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL BF

Tabla 4. Caracterización Físicoquímica del BF

Parámetro	Unidades	Valor
Ph		4

ST	gST kg ⁻¹	195
SV	gSV kg ⁻¹	163
DQO	g O ₂ kg ⁻¹ ST	1230
Alcalinidad Total	mgCaCO ₃ /l	3300
AGVT	g AGV kg ⁻¹ ST	48,1
Proteínas	g kg ⁻¹ ST	43,8
Lípidos	g kg ⁻¹ ST	41,3
Holocelulosa	g kg ⁻¹ ST	639,8
Carbohidratos	g kg ⁻¹ ST	69,4
Lignina	g kg ⁻¹ ST	157,6
C	% p/p	35,58
H	% p/p	6,02
O	% p/p	47,44
N	% p/p	1,32
C/N	% p/p	26,9
Sulfuros	% p/p	0,006
Poder calorífico	kJ kg ⁻¹	13799,16
Fórmula empírica	C ₃₃ H ₆₇ O ₃₃ N ₁	

En la tabla 4 se muestra los altos contenidos de Holocelulosa (hemicelulosa y celulosa) y lignina. La composición de este sustrato se encuentra en el rango de los ML comúnmente investigados, como son los residuos agrícolas y de maderas blandas (Garrote *et al.*, 1999; Garrote *et al.*, 2002;; Mosier *et al.*, 2005; Myoung *et al.*, 2009; Quintero *et al.*, 2011). Esto confirma su aplicabilidad en procesos biológicos de producción de biocombustibles.

3.2 PRETRATAMIENTO

3.2.1 Actividad Hidrolítica. En la tabla 5 se presentan los resultados obtenidos en el análisis de AH que alcanzó cada uno de los experimentos (BF

pretratado, BF sin tratar (control) y Blanco). El blanco se refiere al ensayo realizado, sin la utilización de sustrato substituyéndose por la misma cantidad en agua.

Tabla 5. Actividad Hidrolítica de BF pretratados, BF sin tratar y blanco LR

Relación (g agua/g sv BF)	Tiempo (min)	AH (g D.Q.O/g SSV*día)
R ₁ : 5	t ₁ : 5	0,715
	t ₂ : 30	0,991
	t ₃ : 60	1,022
R ₂ : 10	t ₁ : 5	0,806
	t ₂ : 30	1,195
	t ₃ : 60	0,835
R ₃ : 15	t ₁ : 5	0,572
	t ₂ : 30	1,022
	t ₃ : 60	0,873
Control (BF sin tratar)		0,524
Blanco (LR)		0,358

Se puede observar que para cada ensayo de pretratamiento, el valor de la AH es mayor comparado con las muestras control y blanco. Sin embargo, se obtuvo que para un tiempo de 30 min y relación másica de 10 g agua/g SV BF, el valor de AH fue el mejor. Por lo tanto, el sustrato pretratado a estas condiciones se escogió para la etapa de DA.

Del análisis estadístico se obtuvo una gráfica de efectos principales de las variables (Figura 2), donde se muestra la influencia del tiempo y la relación másica sobre los valores de AH.

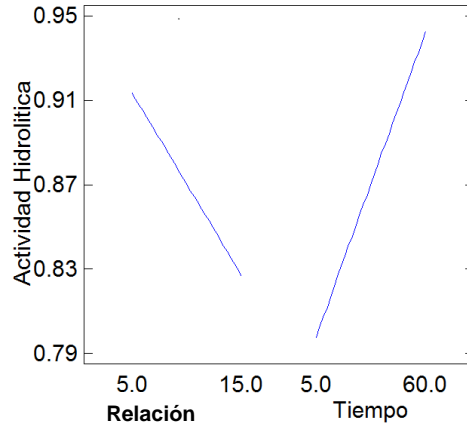


Figura 2. Grafica de efectos principales para la AH

La figura 2 muestra que la relación agua/BF ejerce sobre el sustrato un influencia negativa, ya que a mayores valores de relación la AH disminuye. Por otro lado se observa que a tiempos mayores los efectos en el pretratamiento son positivos.]

3.3 EFECTO DEL PRETRATAMIENTO DE AUTOHIDRÓLISIS SOBRE LA ESTRUCTURA LIGNOCELULÓSICA DEL BF

Los cambios que se obtuvieron a través del pretratamiento de autohidrólisis se pueden observar en cambio de la composición porcentual del ML. Este resultado se observa en la figura 3.

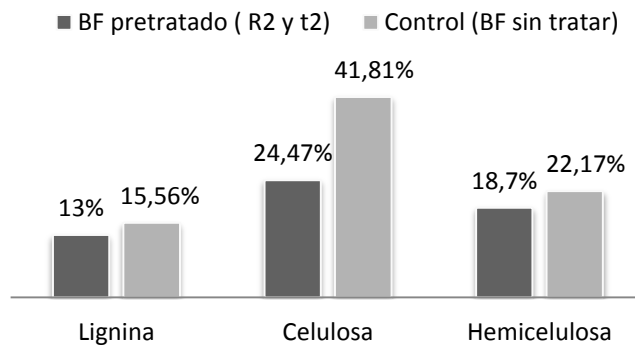


Figura 3. Composición porcentual del ML

Se observa que con el pretratamiento se logra una hidrólisis del 16% de lignina, 15% de hemicelulosa y 41% de celulosa, con respecto al BF sin tratar. Esto indica que con las condiciones aplicadas de la autohidrólisis, el impacto obtenido en la degradación de la lignina y hemicelulosa es bajo. La baja

hidrólisis de los cadenas de lignina y hemicelulosa se debe a que las condiciones empleadas para este pretratamiento son leves en comparación con otros trabajos reportados, como es el caso de la autohidrólisis del pasto de costa de bermuda donde se obtiene una reducción de hemicelulosa de 21,5% a una temperatura de 150°C y un tiempo de operación de 30 min (Myoung *et al.*, 2009).

Sin embargo se observa que el 41% de la celulosa contenida en el BF se hidrolizó a azúcares los cuales quedarán disueltos en el medio, esta hidrólisis es atribuido a la degradación de celulosa amorfa contenida en la matriz lignocelulósica del BF.

3.4 EFECTO DE LA AUTOHIDROLISIS SOBRE LA CRISTALINIDAD DEL BF

En la figura 4 se presentan los perfiles de difracción en donde se puede observar una disminución en las intensidades de difracción para la muestra BF pretratado, obteniéndose por lo tanto un menor índice de cristalinidad.

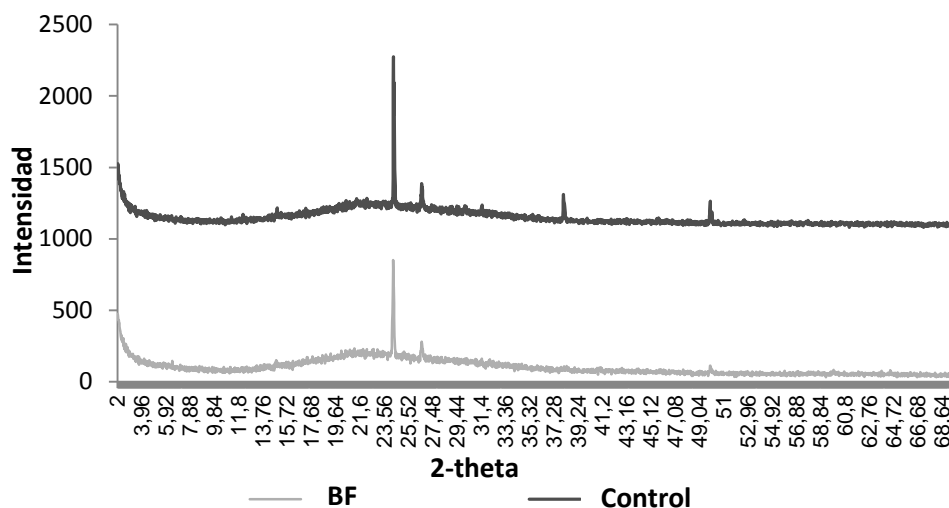


Figura 4. Perfiles de difracción de rayos x de las muestras

Realizando el cálculo del índice de cristalinidad para las muestras analizadas (Tabla 6) se obtiene una disminución del 10,2% después del pretratamiento, indicando una modificación de la estructura cristalina de la celulosa. Esto se atribuye a la generación de regiones amorfas de las cadenas de celulosa

dentro de la red lignocelulósica, lo cual favorecerá el acceso de los microorganismos en la hidrólisis.

Tabla 6. Índice de cristalinidad del BF tratado y sin tratar

Muestra	Cr I
Control	0,49
BF pretratado	0,44

3.5 MICROGRAFÍAS DEL BF

En este análisis cualitativo se revela a nivel microscópico cómo la estructura del BF es transformada como consecuencia de la autohidrólisis sobre el BF. Se observa en la Figura 5B, un BF más degradado y anuente de color marrón, en comparación al BF sin tratamiento (Figura 5A).

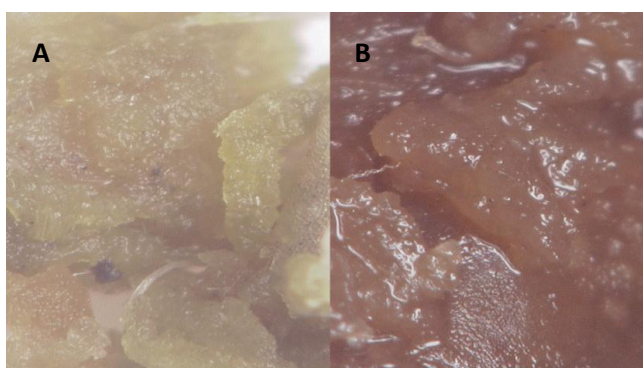


Figura 5. Micrografía de BF. A) BF sin tratar, B) BF pretratado

3.6 EFECTO DE LA AUTOHIDRÓLISIS DEL BF SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO

3.6.1 Efecto de la autohidrólisis sobre la etapa de hidrólisis. El rendimiento de la etapa de hidrólisis en la DA se puede representar en función de los ART. La evolución en la reducción de los azúcares obtenida para el BF pretratado y el control se muestran en la figura 6.

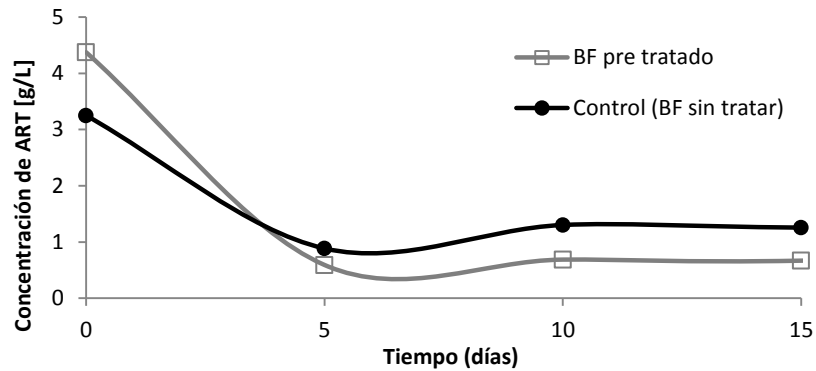


Figura 6. Consumo de ART durante la DA

Se observa que con el pretratamiento, la etapa hidrolítica inicia con un incremento del 34% en la concentración de azúcares en comparación con el control, esto se debe a la fragmentación de las cadenas de celulosa y hemicelulosa por la aplicación de la autohidrólisis.

La drástica caída de azúcares durante los primeros cinco días se debe a que ambos experimentos presentan una alta cantidad de azúcares disponible al inicio de la DA, sin embargo los experimentos se estabilizaron a partir del décimo día de la digestión.

3.6.2 Comportamiento del pH durante la DA. En la figura 7 se presenta la variación de pH durante la DA. Los valores de pH (6,8 a 7,8) que se obtuvieron en el proceso de DA indican que el proceso fue estable y su desarrollo fue adecuado para la producción de metano. El comportamiento del pH durante la DA del BF (pretratado y sin tratar) es coherente al esperado para la DA de biomasas (Raposo *et al.*, 2009).

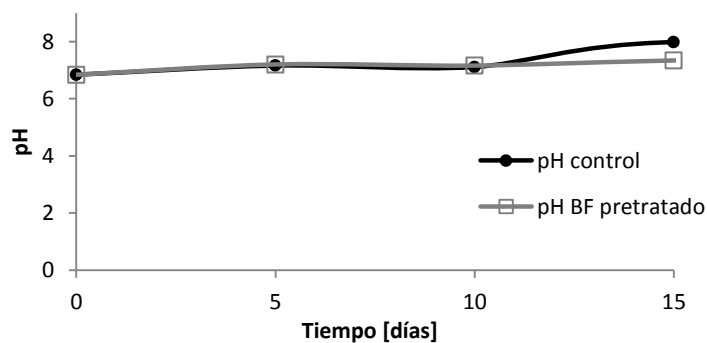


Figura 7. Variación de pH durante la DA

3.6.3 Efecto de la autohidrólisis sobre el comportamiento de los AGVT en el proceso de DA. La figura 8 describe el comportamiento que presentan los AGVT durante la digestión para BF pretratado y control.

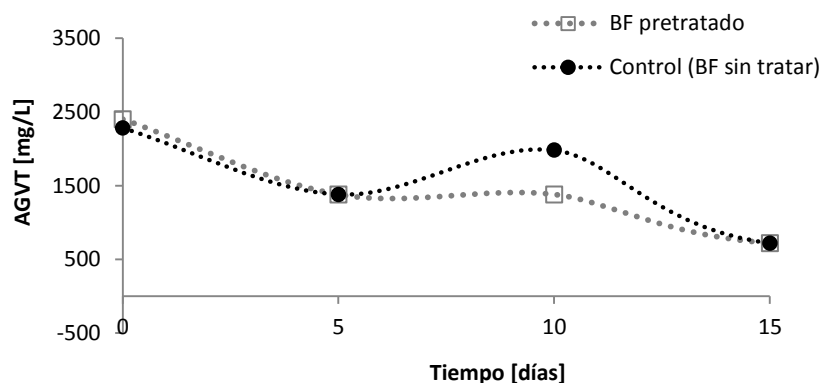


Figura 8. Concentración de AGVT durante la DA

En la gráfica se observa que el comportamiento de los AGVT para el BF pretratado es similar al BF sin tratar, mostrando un consumo y una generación de AGVT que disminuye con el paso del tiempo. Esto indica que la velocidad de hidrólisis-acidogénesis es alta en ambos experimentos. Sin embargo, no todos los AGVT producidos dentro del proceso de DA podrían ser precursores para la producción de metano, por lo tanto esto se verá reflejado en el volumen producido.

Por otra parte, la relación AGV//AT varió entre 0,7 y 0,1 durante el periodo de digestión, indicando que el proceso de DA estuvo en condiciones adecuadas para permitir el buen desarrollo de los microorganismos sin riesgos de acidificación en los reactores.

3.6.4 Efecto de la autohidrólisis sobre la etapa metanogénica. La figura 9 representa la producción de metano, en donde se puede evidenciar una estabilidad del proceso cerca del día 14.

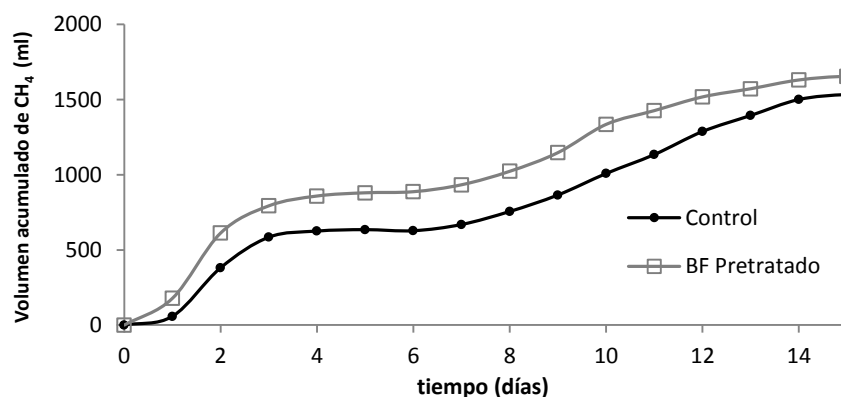


Figura 9. Producción de metano

En la figura 9 de la producción de metano se observa que el comportamiento durante el proceso de DA es similar en ambos (BF pretratado y BF sin tratar), lo cual significa que el pretratamiento no altera el desarrollo del BF en la DA. La máxima producción de volumen acumulado a los 15 días fue de 1654,2 y 1533,8 mL para BF pretratado y BF sin tratar, respectivamente, lo cual infiere en un aumento de 7,2% del volumen acumulado de metano con respecto al ensayo control (a partir de BF natural).

Los datos de la producción de metano se corroboran con los ART obtenidos anteriormente, debido a la disponibilidad de azúcares mayor para el BF pretratado. Por lo tanto, esta disponibilidad facilita la degradación del consorcio microbiano, generando una mayor producción de metano. El volumen de biogás producido con el BF pretratado indica que la concentración de AGVT presentes, aun cuando es similar a la del BF natural, el proceso es eficiente en la conversión a metano.

A partir de la figura 9, tomando el volumen acumulado de metano y teniendo en cuenta los gramos de SV alimentados a la digestión (3,54 g SV para los dos experimentos), se calculó el PBM, obteniéndose 0,47 y 0,43 L CH₄/g SV para el BF pretratado y BF sin tratar respectivamente. La autohidrólisis obtiene un incremento del PBM de 9,3% sobre el control, por lo tanto se comprueba que a las condiciones dadas al pretratamiento se obtiene un mayor rendimiento en la producción de metano. El efecto de autohidrólisis sobre el PBM de residuos lignocelulósicos no ha sido suficientemente investigado, por lo tanto estos

resultados no pueden ser comparados. Sin embargo, para estudios de otros pretratamientos como la reducción de tamaño de partícula de fibra de sisal (ML de la familia Agavacea), lograron un incremento mayor del PBM (Mshandete *et al.*, 2006); en comparación al BF pretratado por autohidrólisis a las condiciones utilizadas.

3.7 COSTOS DE PRODUCCIÓN DE METANO PARA LAS MUESTRAS DE BF TRATADO Y SIN TRATAR

Los datos de la tabla 7, representan los valores unitarios de las materias primas implicadas en la producción de metano. Estos valores son utilizados para hallar los costos totales implicados por cada proceso (con pretratamiento y sin pretratamiento).

Tabla 7. Tarifas y precios de traslado de las materias primas

Termino	Valor	Unidades
Traslado BF	100,0	[\$/ kg BF]
Traslado LEC	1,0	[\$/mL]
Traslado LR	3,3	[\$/mL]
Agua destilada	5,0	[\$/mL]
Servicio energía eléctrica	231,6	[\$/kwh]
Materiales e insumos	690,0	[\$/unidad]

El precio de compra del agua destilada es proporcionado por el laboratorio Mercaquímicos Ltda. – Bucaramanga. La tarifa del servicio de energía se tomó con respecto al valor manejado por la empresa Electrificadora de Santander S.A. (ESSA), en el nivel IV de tensión eléctrica y zonas industriales no residenciales, para el mes de julio del año 2011 (Anexo E). El valor por unidad de materiales e insumos, representa los materiales manejados en el proceso de producción tales como las tapas de hule y agrafes para el cierre hermético y los guantes de látex para el manejo de materia prima, etc.

Las tablas 8 y 9 presentan los costos de cada materia prima y de servicio utilizado para la producción de metano a 15 días.

Tabla 8. Costos del proceso de producción de metano a partir de BF sin tratar

Costos Unitarios		
Costos de materia prima		
Término	Valor	Unidades
LR	25816	\$
LEC	7745	\$
BF	100,0	\$
Costos de energía		
Término	Valor	Unidades
Almacenaje	926	\$
Otros costos unitarios		
Término	Valor	Unidades
Materiales e insumos	13800,0	\$

Tabla 9. Costos del proceso de producción de metano a partir de BF con pretratamiento

Costos unitarios		
Costos de materia prima		
Término	Valor	Unidades
Agua destilada	3300,0	\$
LR	25816,2	\$
LEC	7745	\$
BF	100,0	\$
Costo de servicio		
Término	Valor	Unidades
Almacenaje	926	\$
Pretratamiento	71	\$
Otros costos unitarios		
Término	Valor	Unidades
Materiales e insumos	13800,0	\$

Las tablas 10 y 11 muestran los costos totales, el volumen de metano producido y su equivalencia energética. La equivalencia energética se calculó

usando los factores de conversión de energía eléctrica y calórica, dadas por: 3,8 kwh/m³ CH₄ y 1,9 kwh/m³ CH₄, respectivamente (Tricase & Lombardi, 2009). Los valores de energía se presentan en unidades de kJ.

Tabla 10. Producción de energía a partir del volumen de metano obtenido a partir del BF sin Pretratamiento

BF sin pretratamiento		
Término	Valor	Unidades
Total de costos	48386,9	[\$]
Producción biogás	78,6	[ml de Biogás]
Producción energética eléctrica	0,54	[kJ]
Producción energética calórica	1,08	[kJ]

Tabla 11. Producción de energía a partir del volumen de metano obtenido a partir del BF con Pretratamiento

BF con pretratamiento		
Termino	Valor	Unidades
Total de costos	51758,3	[\$]
Producción biogás	85,9	[ml de Biogás]
Producción energética eléctrica	0,59	[kJ]
Producción energética calórica	1,18	[kJ]

A partir de los resultados obtenidos en las tablas anteriores, se puede observar que el aumento en los costos de producción de metano a partir del BF pretratado es del 7% en comparación del proceso sin el pretratamiento. Estos resultados muestran que el aumento en la producción de metano a partir BF pretratado es bajo con respecto al aumento en los costos. Esto se atribuye a las condiciones leves del pretratamiento a las cuales se llevó a cabo. Por lo tanto la aplicación de un pretratamiento de autohidrólisis a las condiciones utilizadas es poco viable a escala laboratorio.

CONCLUSIONES

Con la aplicación del proceso de autohidrólisis se logró la modificación de la estructura lignocelulósica del bagazo de fique, reduciendo un 15%, 41% y 16% los contenidos de hemicelulosa, celulosa y lignina, respectivamente

La aplicación del proceso de autohidrólisis a las condiciones de temperatura, relación másica y tiempo de 121°C, 10 g agua/g bagazo de fique y 30 min, respectivamente sobre el bagazo de fique mejoró la accesibilidad del inóculo a la estructura del material lignocelulósico, aumentando la actividad hidrolítica la cual es la etapa limitante del proceso de digestión anaerobia.

Con el pretratamiento de autohidrólisis se aumentó un 7,2% la producción de metano y un 9,3% del PBM en comparación con la realización del proceso con bagazo natural. Sin embargo, el pretratamiento de autohidrólisis al bagazo de fique involucra un incremento del 7% en los costos del proceso de digestión anaerobia a escala laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AGBOR, V.B., CICEK, N., SPARLING, R., BERLIN, A., LEVIN, D.B. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology advance*, 2011. 29: p. 675-685.

ANGELIDAKI, I., ALVES, M., BOLZONELLA, D., BORZACCONI, L., CAMPOS, J., GUWY, A., KALYUZHNYI, S., JENICEK, P., VAN LIER, J. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Waster Science & Technology – WST.*, 59, 2009, 927-934.

ALVIRA, P., PEJÓ, T., BALLESTEROS, M., NEGRO, M. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology.*, 2010, 101(13): p. 4851-4861.

APPELS, L., BAEYENS, J., DEGRÈVE, J., DEWI, L R. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 2008. 34(6): p. 755-781.

CANAM, T., J.R.T., TSANG A., MCALLISTER T., DUMONCEAUX T. Biological pretreatment with a cellobiose dehydrogenase-deficient strain of *Trametes versicolor* enhances the biofuel potential of canola straw. *Bioresource Technology*, 2011. 102: p. 10020-10027.

CAPARRÓS, S., GARROTE, G., ARIZA, J., LÓPEZ, F. Autohydrolysis of *Arundodonax L.*, a Kinetic Assessment. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2006.45(26): p. 8909–8920.

CARVALHEIRO, F., ESTEVES, M., PARAJÓ, J., PEREIRA, H., GÍRIO, F. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. *Bioresource Technology*, 2004. 91(1): p. 93-100.

CASTRO, L., ESCALANTE, H. Producción de biogás a partir del bagazo generado durante el beneficio de fique. Memorias del IV Simposio de Química Aplicada – SIQUIA, 2009.

CORTÍNEZ, V.A. Comparación de Pretratamientos en Residuos Forestales para la Producción de Bioetanol de Segunda Generación: Hidrólisis y Líquidos Iónicos., in Departamento de Ingeniería Química y Biotecnología. 2010, Universidad de Chile: Santiago de Chile.

ESPOSITO, G., FRUNZO, L., LIOTTA, F., PANICO, A., PIROZZI, F. Bio-methane potential tests to measure the biogas production from the digestion and co-digestion of complex organic substrates. The Open Environmental Engineering Journal, 2012. 5. p. 1-8.

FORERO M. W.L., ZUÑIGA P., J.M. Evaluación de la Actividad Metanogénica de Lodos, Departamento de Ingeniería Civil y Agrícola. 2003, Universidad Nacional de Colombia: Bogota D.C. p. 149.

GARROTE G., FALQUÉ E., DOMÍNGUEZ H., PARAJÓ J.C. Autohydrolysis of agricultural residues: Study of reaction byproducts. Bioresource Technology, 2007. 98(10): p. 1951-1957.

GARROTE, G., DOMÍNGUEZ, H., PARAJÓ, J. C. Hydrothermal processing of lignocellulosic materials. European Journal of Wood and Wood Products, 1999.57(3): p. 191-202.

GARROTE, G., DOMÍNGUEZ, H., PARAJÓ, J. C. Kinetic modelling of corncob autohydrolysis. Process Biochemistry, 2001. 36: p. 571-578.

GOERING, H.K., VAN, S., P.J. Forage Fibre Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures and some Applications). Agricultural Handbook, No. 379, ARS-USDA. Estados Unidos 1970.

HENDRIKS, A.T.W.M., ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 2009. 100(1): p. 10-18.

HU, Z., WANG, G., YU, H. Anaerobic degradation of cellulose by rumen microorganisms at various pH values. *Biochemical Engineering Journal*, 2004. 21: p. 59-62.

JIMÉNEZ, S.C., Fraccionamiento integral de vegetales no alimentarios para la obtención de pasta celulósica y subproductos, in Departamento de Ingeniería Química, Química Física y Química Orgánica. 2009, Universidad de Huelva: Huelva. p. 120.

LISBETH, O., HENNING, J., KROGH, K.B.R., ROCA, C. Bioethanol Production from Lignocellulosic Material, Polysaccharides, C.f.M.B. BioCentrum-DTU, Editor. 2004: Lyngby - Denmark.

MERCHAN, S., PARRA, L. Producción de metano a partir de bagazo de fique pretratado con NaOH, Escuela de Ingeniería Química. 2010, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga. p. 51.

MSHANDETE, A., BJORNSSON, L. KIVAISI, A. K., RUBINDAMAYUGI, M.S.T., MATTIASSON, B. Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste. *Renewable Energy*. 2006. 31. p. 2385–2392.

MOJICA, A., PAREDES, J. El cultivo de fique en el departamento de Santander. 2004, Centro Regional de Estudios Economicos en Bucaramanga.

MOSIER, N., WYMAN, C., DALE, B., ELANDER, R., LEE, Y.Y., HOLTZAPPLE, M., LADISCH, M. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 2005. 96: p. 673-686.

MYOUNG LEE, J., S.J., VENDITTI, R., JAMEEL, H. Autohydrolysis pretreatment of Coastal Bermuda grass for increased enzyme hydrolysis. *Bioresource Technology*, 2009. 100(24): p. 6434-6441.

ORTEGA, N.M. Estudio del proceso de digestión anaerobia para optimizar la recuperación de fósforo en EDAR's, in <http://www.DISSERTATION.com>, 1-58112-332-9, Editor. 2006: Boca Raton, Florida-USA. p. 25.

PEREIRA, D., E.J.V., ARIAS C. Anuario estadístico del sector agropecuario y pesquero 2009, D.d.p.s.-G.d.s.d. información, Editor. 2009, Ministerio de agricultura y desarrollo: Bogotá D.C. p. 296.

PETERS, M.S., TIMMERHAUS, K.D. Plant design and economics for chemical engineers. Chemical and Petroleum Engineering, cuarta ed. m.-h.i. editions. 1991.

QUINTERO, M., CASTRO, L., ORTIZ, C., GUZMÁN, C., ESCALANTE, H., Enhancement of starting up anaerobic digestion for lignocellulosic substrate: fique's bagasse as an example. Bioresource Technology, 2012. 108: p. 8-13.

RAPOSO, F., BORJA, R., MARTÍN, M.A., MARTÍN, A., DE LA RUBIA, M.A., RINCÓN, B. Influence of inoculum-substrate ratio on the anaerobic digestion of sunflower oil cake in batch mode: Process stability and kinetic evaluation. Chemical Engineering, 2009. 149: p. 70-77.

ROMANÍ, A., GARROTE, G., LÓPEZ, F., PARAJÓ, J.C. Eucalyptus globulus wood fractionation by autohydrolysis and organosolv delignification, Bioresource Technology (2011), doi: 10.1016/j.biortech. 2011.02.070.

ROGALINSKI, T., INGRAM, T., BRUNNER, G. Hydrolysis of lignocellulosic biomass in water under elevated temperatures and pressures. The Journal of Supercritical Fluids, 2008. 47(1): p. 54-63.

SASSNER, P., GALBE, M., ZACCHI, G., Techno-economic evaluation of bioethanol production from three different lignocellulosic materials. En: Biomass & Bioenergy, 2008. 32: p. 422-430.

TARGONSKY, Z., Autohydrolysis Extraction Process as a Pretreatment of Lignocelluloses for their Enzymatic Hydrolysis. *Acta Biotechnol*, 1985.5(4): p. 353-361.

TRICASE, C., LOMBARDI, M., State of the art and prospects of Italian biogas production from animal sewage: Technical - economic considerations. *Renewable Energy*, 2009. 34: p. 477-485.

XU, J., LIU, S., Optimization of ethanol production from hot-water extracts of sugar maple chips. *Renewable Energy*, 2009. 34(11): p. 2353-2356.

YANG, S.L., J; ZHENG, Z; MENG Z, Lignocellulosic structural changes of *Spartina alterniflora* after anaerobic mono and co-digestion. *Biodeter Biodegradation*, 2009. 63: p. 569-575.

ZHANG, Q., CAI, W., Enzymatic hydrolysis of alkali-pretreated rice straw by *Trichoderma reesei* ZM4-F3. *Biomass & Bioenergy*, 2008. 32: p. 1130-1135.

ZHONG, W., ZHANG, Z., QIAO, W., FU, P., LIU, M. Comparison of chemical and biological pretreatment of corn straw for biogas production by anaerobic digestion. *Renewable Energy*, 2011.36: p. 1875-1879.

ANEXOS

ANEXO A

DETERMINACIÓN DE LIGNINA, HEMICELULOSA Y CELULOSA

Para calcular el porcentaje de lignina, hemicelulosa y celulosa se emplearon las siguientes ecuaciones:

Lignina = ([Fibra Detergente Ácida] - 0.8*[Proteína Cruda] - 0.4*[Extracto Etéreo]) - [FDK]

Hemicelulosa= [Fibra Detergente Neutra]-[Fibra Detergente Ácida]-0.4*([Cenizas]-[Sílice])-0.4*([Extracto Etéreo])-0.1*[Proteína Cruda]

Celulosa = [FDK]-[Sílice]-0.2*([Cenizas]-[Sílice])

ANEXO B

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES TOTALES

El método colorimétrico DNS o del ácido dinitrosalicílico se desarrollado para la cuantificación de azúcares reductores producidos por la degradación de la celulosa, durante el proceso de fermentación. Este método es un método rápido y reproducible. Según la ley de Lambert y Beer, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración del material que absorbe la luz.

Reactivo DNS

- Mezclar y disolver en 250 ml de agua destilada 8 g de NaOH y 150 g de tartrato de sodio y potasio.
- Posteriormente agregar 5 g de ácido dinitrosalicílico (marca Merck únicamente).
- Aforar a 500 ml con agua destilada.
- Almacenar a temperatura ambiente y proteger de la luz.

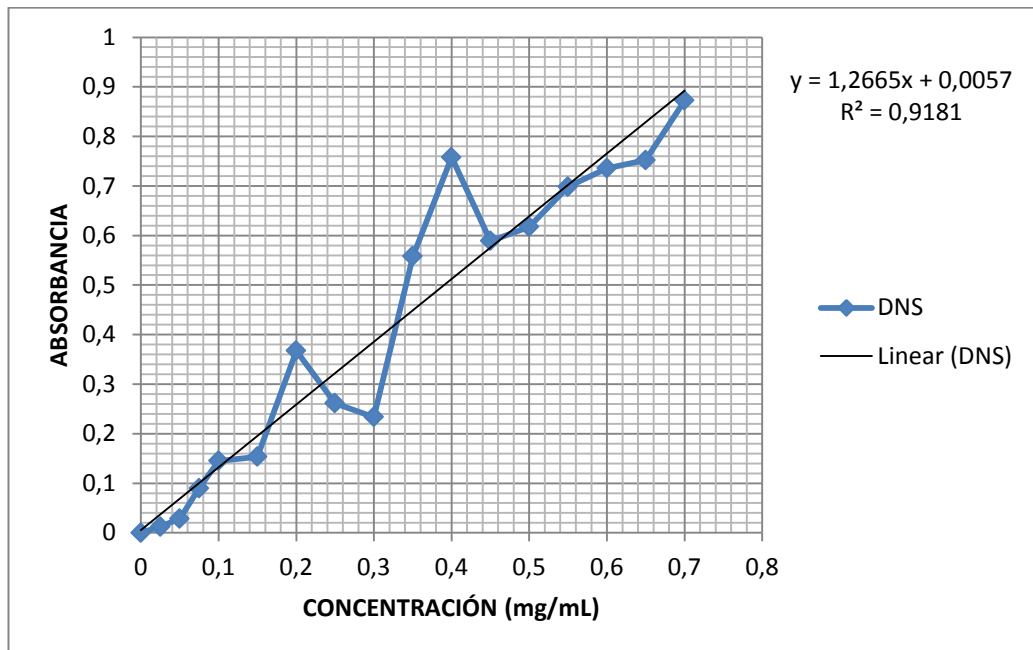
Procedimiento

- Agregar 1 ml de reactivo a 1 ml de muestra usando tubos tapa rosca.
- Dejar en baño con agua en ebullición durante 5 minutos.
- Detener la reacción en un baño de hielo.
- Agregar 10 ml de agua destilada, y dejar reposando durante 15 minutos.
- Leer densidad óptica a 540 nm contra un blanco obtenido con el procedimiento anterior, pero agregando agua destilada.

Construcción de la curva patrón de glucosa

Se preparan una muestra estándar de glucosa con concentración conocida y se hacen diluciones de ésta, se aplica el método DNS y se lee su absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm. Con los datos obtenidos, se traza un gráfico lineal de la concentración de glucosa (azúcar

reductor) como una función de absorción, y así se determina la ecuación que relaciona las dos cantidades.



ANEXO C

DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES Y ALCALINIDAD

La alcalinidad es la capacidad ácido neutralizante de una sustancia química en la solución acuosa. Esta alcalinidad de una sustancia se expresa en equivalentes de base por litro. Esta se puede hallar gracias a diferentes equipos entre los cuales el más importante es el pH-metro.

Materiales:

- Vaso de precipitado de 100 ml
- Probeta de 25 ml
- Centrífuga refrigerada
- pH-metro
- Agitador magnético
- 2 Balones esmerilados de fondo redondo o plano
- Condensador
- Plancha de calentamiento
- 2 Buretas
- Soporte de plancha
- Soporte universal
- Pinzas con nuez
- Solución de NaOH al 0,1 N
- Solución de HCl al 0,1 N

Procedimiento

1. Tomar una muestra aproximadamente de 40 ml durante el proceso de digestión, en tubos falcom de 50 ml.
2. Centrifugar las muestras por 15 min a 10000 gravedades.
3. Llevar el sobrenadante a frascos plásticos, medir pH y registrar el valor.
4. Medir 5 ml del sobrenadante y llevarlo a un vaso de precipitado de 100 ml.
5. Medir en una probeta 25 ml de agua destilada y agregarla a los 5 ml de sobrenadante medido anteriormente.

6. Titular con una solución previamente preparada de HCl 0,1 N hasta alcanzar un pH de 4,5 y registrar volumen (V1), manteniendo agitación continúa.
7. Continuar titulado con la solución de HCl sin dejar de agitar hasta alcanzar un pH de 3, registrar volumen (V2).
8. Llevar la muestra a un balón esmerilado, adaptarlo al condensador.
9. Calentar hasta ebullición y mantener por 2 minutos.
10. Titular con una solución previamente preparada de NaOH 0,1 N hasta alcanzar un pH de 6,5, registrar el volumen (V3).

Cálculos

$$\text{Alcalinidad} = \frac{A1 * N_{HCl} * 50000}{50} \left[\frac{mg}{l} \right]$$

$$AGVT = \frac{B * N_{NaOH} * 60}{50} \left[\frac{g}{l} \right]$$

ANEXO D

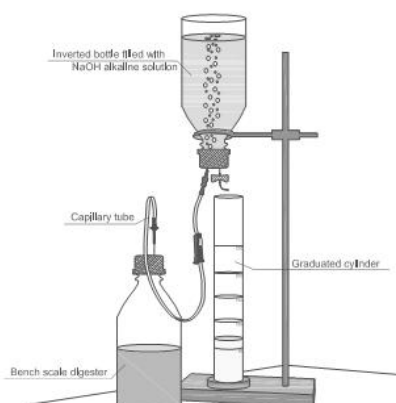
MÉTODO DE DESPLAZAMIENTO ALCALINO

Materiales:

- Biodigestor anaerobio
- Solución 0,1 N NaOH
- Fenolftaleína
- Mangueras y agujas
- Recipiente colector de 1L

Procedimiento:

Cada reactor se conecta con la botella de desplazamiento alcalino por medio de una red de mangueras de plástico y agujas como se muestra en el esquema. El biogás producido en el reactor se burbujea en la solución alcalina con fenolftaleína como indicador y pH mayor que 12, en la cual el CO_2 es absorbido y el volumen de gas metano desplaza un volumen igual de la solución alcalina. El volumen de la solución desplazada fuera de la botella en el recipiente colector es equivalente al volumen de metano generado por el sistema.



Esquema de montaje para la medición de volumen de metano

ANEXO E
TABLA DE TARIFAS DE ENERGIA – EMPRESA ESSA.

ELECTRIFICADORA DE SANTANDER S.A. ESP.											
INFORMA A SUS USUARIOS DEL SISTEMA DE ENERGIA ELECTRICA DE DEPARTAMENTO DE SANTANDER Y SUR DEL CESAR											
De acuerdo con las resoluciones 119/07, 097/08, 121/09 y 172/09 expedidas por la Comisión de Regulación de Energía y Gas CREG,											
que permiten establecer los costos de la prestación del servicio a usuarios regulados, las tarifas para el mes de julio-11											
TARIFAS RESIDENCIALES											
ESTRATO		1		2		3		4			
PROPIEDAD	NIVEL	% SUBSIDIO	TARIFA	% SUBSIDIO	TARIFA	% SUBSIDIO	TARIFA	% SUBSIDIO	TARIFA	TARIFA	TARIFA
ACTIVOS	MEDIDA		\$/kWh		\$/kWh		\$/kWh		\$/kWh	\$/kWh	\$/kWh
ESSA	I	-59.44%	154.9889	-49.30%	193.7361	-15.00%	324.8105		382.1300		
CLIENTE	I	-59.39%	140.3017	-49.23%	175.3769	-15.00%	293.6294		345.4464		
Nota: El subsidio es aplicado hasta el consumo de subsistencia.											
TARIFAS NO RESIDENCIALES											
ESTRATO		5 y 6		COMERCIAL / INDUSTRIAL		ACUEDUCTOS. ESP		OFICIAL			
PROPIEDAD	NIVEL	% CONTRIB.	TARIFA	CONTRIB.	TARIFA	CONTRIBUCION	TARIFA	CONTRIBUCION	TARIFA	TARIFA	TARIFA
ACTIVOS	MEDIDA		\$/kWh	20%	\$/kWh	10%	\$/kWh	10%	\$/kWh	\$/kWh	\$/kWh
ESSA	I	20.00%	458.5560	76.4260	458.5560	38.2130	420.3430		382.1300		
CLIENTE	I	20.00%	414.5357	69.0893	414.5357	34.5446	379.9910		345.4464		
	II			63.9022	383.4130	31.9511	351.4619		319.5108		
	III			48.4953	290.9716	24.2476	266.7239		242.4763		
	IV			43.6061	261.6366	21.8031	239.8336		218.0305		