



S.E.P.

S.E.S

Tec. N.M.

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

**“PURIFICACIÓN DE BIOHIDRÓGENO OBTENIDO A PARTIR DE
RESIDUOS DE CÉSPED HIDROLIZADOS, UTILIZANDO ZIRCONATO
DE LITIO”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

PRESENTA:

CUARTO GONZAGA JESSICA MAYTE

No. DE CONTROL: 1628M1572

DIRECTORA DE TESIS

DRA. MARÍA SONIA MIREYA MARTÍNEZ GALLEGOS

CODIRECTORA DE TESIS

DRA. MARÍA DEL CONSUELO HERNÁNDEZ BERRIEL

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, AGOSTO DE 2018



Metepec, Méx., 07/agosto/2018

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

DEPI-395-782/2018

DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE.

Por este medio comunicamos a usted que la Comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada "PURIFICACIÓN DE BIOHIDRÓGENO OBTENIDO A PARTIR DE RESIDUOS DE CÉSPED HIDROLIZADOS, UTILIZANDO ZIRCONATO DE LITIO", que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Maestra en Ciencias en Ingeniería Ambiental presenta la C. Jessica Mayte Cuarto Gonzaga, con número de control 1628M1572 para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad necesario para proceder a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

DRA. MARÍA SONIA MIREYA MARTÍNEZ GALLEGOS
DIRECTORA DE TESIS

DRA. MARÍA DEL CONSUELO HERNÁNDEZ BERRIEL
CO-DIRECTORA DE TESIS

DR. EDUARDO ORDÓÑEZ REGIL
REVISOR

DR. FRANCISCO JAVIER ILLESCAS MARTÍNEZ
REVISOR



M. en C. ESTHELA MEJÍA ZÁRATE
REVISORA

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
TECNOLÓGICO NACIONAL
DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN





Meteppec, Méx., 08/agosto/2018

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

DEPI-793-/2018

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS

**C. JESSICA MAYTE CUARTO GONZAGA
CANDIDATA AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA AMBIENTAL
PRESENTE.**

De acuerdo con el Reglamento de Titulación del Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica de la Subsecretaría de Educación Superior de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su Trabajo de Tesis titulado "PURIFICACIÓN DE BIOHIDRÓGENO OBTENIDO A PARTIR DE RESIDUOS DE CÉSPED HIDROLIZADOS, UTILIZANDO ZIRCONATO DE LITIO" la División de Estudios de Posgrado e Investigación concede autorización para que proceda a la impresión del mismo.

Sin más por el momento, quedo de usted.

ATENTAMENTE

Educación, Integridad y Ciencia

**DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
TECNOLÓGICO NACIONAL
DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

JLGR/magj



AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por la vida, la salud, las alegrías, mi familia, por permitirme culminar esta nueva etapa pero sobre todo por las experiencias vividas a lo largo de esta hermosa experiencia.

A **CONACYT** por la beca otorgada para llevar a cabo esta investigación y permitirme estar de tiempo completo.

A mi mamá **Leticia Gonzaga Millán** por todo el apoyo y amor que me has brindado a lo largo de mi vida por ser mi confidente, amiga y compañera por todos los buenos y malos momentos, por todas las veces que me alentaste a seguir adelante, pero sobre todo por ser la parte fundamental en mi vida porque gracias a ti he logrado estas metas. TE AMO MAMI.

A mi papá **Pedro Cuarto Lara**, por estar conmigo siempre ante todas las adversidades, porque sé que siempre puedo contar contigo, gracias por todas las risas y palabras de aliento, por compartir conmigo esta etapa TE AMO.

A mi hijo **Mateo de Jesús López Cuarto** por tu sonrisa preciosa, tus abrazos, tu amor, tus ocurrencias y compañía, gracias por inspirarme a seguir adelante eres el centro de mi corazón TE AMO más que a nadie.

A mi esposo **Luis Enrique López Nieto**, por todo tu apoyo, amor y cariño, gracias amor por compartir conmigo esta meta, por ser el amor de mi vida pero sobre todo por decidir empezar una nueva aventura llamada matrimonio TE AMO.

A la **Dra. Sonia Martínez Gallegos** por toda la experiencia compartida, los regaños, las asesorías y tiempo dedicado en la realización de esta tesis, pero sobre todo por su increíble forma de ser.

A la **Dra. María del Consuelo Hernández Berriel** por su apoyo, gestión, dedicación y asesorías en la realización de esta tesis.

Al comité revisor **Dr. Eduardo Ordoñez Regil**, **Dr. Francisco Javier Illescas Martínez** y la **M. en C. Esthela Mejía Zarate**, por el tiempo dedicado en la evaluación de este proyecto y la realización de la tesis.

A mis compañeros de laboratorio **Karina (Kari Chihuahua), Jessica y Juan Carlos** por las pláticas y risas compartidas, por las todas las veces que me apoyaron en aclarar mis dudas, mis mejores deseos para ustedes y mucho éxito en sus metas futuras.

A **Cristian, Ramiro y Ángel** por llegar los últimos meses de la maestría y alegarme con sus ocurrencias, por su amistad y buen ánimo, éxito en todo. Ángel gracias por tu amistad por escucharme y reírte conmigo, gracias por dejarme compartir un poco de este proyecto para tu vida, éxito.

RESUMEN

La producción de H_2 se ha potencializado a lo largo del tiempo debido a que es considerado como biocombustible de energía limpia, gracias a que al llevarse a cabo su combustión se genera vapor de agua como único subproducto, además de que tiene diversas aplicaciones en las nuevas tecnologías, que son amigables con el medio ambiente; entre las cuales se encuentran las celdas de combustión interna.

Sin embargo, la producción de H_2 se lleva a cabo mediante diferentes procesos, dentro de los cuales se encuentran la fermentación, todas ellas producen H_2 y otros gases como CO_2 , por lo que la remoción continua del H_2 es de suma importancia para sus aplicaciones futuras.

El presente trabajo tiene como objetivo purificar con Li_2ZrO_3 , biogás producido mediante digestión anaerobia utilizando residuos de césped (RC) hidrolizados con H_3PO_4 al 5% (v/v). Los RC se caracterizaron mediante FTIR y se realizaron las técnicas fisicoquímicas de sólidos totales (ST), sólidos volátiles totales (SVT), holocelulosa (HOL) y lignina (LIG) para determinar el pre-tratamiento ácido sobre los RC. Posteriormente se determinaron los azúcares glucosa y xilosa mediante el método ácido dinitrosalicílico (DNS), con la concentración máxima se montaron biorreactores de 160 mL, a los que se les adicionaron la concentración máxima de azúcares de 13 g glucosa/L, medio mineral anaeróbico (RAMM) y utilizando como inóculos los microorganismos presentes en los RC, lodos residuales, estiércol de equino y una mezcla de lodos-estiércol (L-E) conectados a un tubo con Li_2ZrO_3 para purificar el biogás. La caracterización del biogás se realizó mediante cromatografía de gases y por diferencia de pesos se midió el porcentaje de adsorción en el Li_2ZrO_3 .

La producción máxima de H_2 se llevó con la mezcla de L-E obteniendo 105 mL/g glucosa, sin embargo, la máxima purificación fue en las muestras para estiércol de equino removiendo el 85% de CO_2 y aumentando el 65% de H_2 posterior a la purificación de biogás, debido a que la generación de biogás se produce lentamente, lo que significa que el flujo que se inyecta en el material afecta el porcentaje de adsorción debido al área superficial que presenta el Li_2ZrO_3 siendo de $0.49\text{ m}^2/\text{g}$, lo que permite concluir que el Li_2ZrO_3 tiene la capacidad de adsorber CO_2 .

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| ÍNDICE DE TABLAS | v |
| ÍNDICE DE FIGURAS | vi |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| Capítulo 1 FUNDAMENTOS | 2 |
| 1.1 Residuos sólidos urbanos | 2 |
| 1.2 Residuos lignocelulósicos | 5 |
| 1.3 Azúcares | 8 |
| 1.3.1 Azúcares reductores | 9 |
| 1.3.2 Pre-tratamiento de lignocelulosa | 10 |
| 1.4 Biogás | 11 |
| 1.5 Reactores biológicos anaeróbicos | 14 |
| 1.6 Biohidrógeno | 15 |
| 1.7 Purificación de biogás | 17 |
| 1.8 Materiales cerámicos | 19 |
| 1.9 Caracterización del biohidrógeno | 21 |
| 1.10 Caracterización de Materiales | 21 |
| 1.10.1 Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier | 22 |
| 1.10.2 Difracción de rayos X | 22 |
| 1.10.3 Área superficial / BET multipunto | 23 |
| Capítulo 2 MÉTODO | 24 |
| 2.1 Reactivos y equipos | 25 |
| 2.2 Colección y acondicionamiento de material lignocelulósico (césped) | 26 |
| 2.2.1 Determinación de sólidos totales | 27 |

| | | |
|------------|--|----|
| 2.2.2 | Determinación de sólidos volátiles totales | 27 |
| 2.2.3 | Preparación de residuos libres de extractivos | 28 |
| 2.2.4 | Determinación de holocelulosa..... | 28 |
| 2.2.5 | Determinación de lignina | 29 |
| 2.3 | Pre-tratamiento del material lignocelulósico..... | 30 |
| 2.3.1 | Hidrólisis ácida de residuos de césped..... | 30 |
| 2.3.2 | Determinación de azúcares reductores en fase líquida | 30 |
| 2.3.3 | Caracterización de la fase sólida | 31 |
| 2.4 | Síntesis del zirconato de litio..... | 32 |
| 2.5 | Caracterización del zirconato de litio..... | 32 |
| 2.5.1 | Difracción de rayos X..... | 32 |
| 2.5.2 | Espectrometría de infrarrojo con transformada de Fourier | 32 |
| 2.5.3 | Área superficial / BET multipunto..... | 33 |
| 2.5.4 | Pruebas de captura | 33 |
| 2.6 | Montaje y operación de biorreactores para la obtención de biohidrógeno ... | 34 |
| 2.7 | Purificación de biohidrógeno | 35 |
| 2.8 | Caracterización de biogás por cromatografía de gases | 36 |
| Capítulo 3 | RESULTADOS | 37 |
| 3.1 | Caracterización de la materia prima..... | 37 |
| 3.1.1 | Caracterización fisicoquímica de la materia lignocelulósica | 37 |
| 3.1.2 | Hidrólisis ácida de los residuos de césped | 38 |
| 3.2 | Azúcares fermentables..... | 43 |
| 3.2.1 | Curva de calibración | 43 |
| 3.2.2 | Determinación de azúcares en los RC hidrolizados | 44 |
| 3.3 | Zirconato de litio | 48 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.3.1 | Difracción de rayos X..... | 48 |
| 3.3.2 | Área superficial..... | 49 |
| 3.3.3 | Pruebas de captura | 50 |
| 3.4 | Producción de biogás..... | 51 |
| 3.4.1 | Montaje y operación de biorreactores..... | 51 |
| 3.4.2 | Cuantificación del biogás | 52 |
| 3.4.3 | Caracterización fisicoquímica de RC | 53 |
| 3.5 | Purificación de biogás | 53 |
| 3.5.1 | Curva de calibración | 53 |
| 3.5.2 | Purificación de hidrógeno | 55 |
| 3.5.3 | Captura de CO ₂ con zirconato de litio..... | 59 |
| 3.6 | Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier | 61 |
| 3.6.1 | Residuos de césped hidrolizado | 61 |
| 3.6.2 | Zirconato de litio | 62 |
| | CONCLUSIONES..... | 66 |
| | REFERENCIAS..... | 67 |
| | ANEXOS | 78 |
| A. | Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) | 78 |
| B. | Medio mineral RAMM | 80 |
| C. | Curva de calibración de gases | 81 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1.1 Fuente de residuos sólidos en la comunidad urbana..... | 3 |
| Tabla 1.2 Contenido de biomasa lignocelulósica en residuos-comunes..... | 5 |
| Tabla 1.3 Composición del biogás..... | 14 |
| Tabla 2.1 Lista de reactivos utilizados en las técnicas de caracterización..... | 25 |
| Tabla 2.2 Técnicas para la caracterización fisicoquímica de los RC..... | 26 |
| Tabla 3.1 Parámetros fisicoquímicos del césped sin tratamiento..... | 37 |
| Tabla 3.2 Parámetros fisicoquímicos del césped posterior al tratamiento ácido..... | 38 |
| Tabla 3.3 Rendimientos máximos de glucosa y xilosa para las diferentes temperaturas..... | 47 |
| Tabla 3.4 Parámetros del Li_2ZrO_3 en diferentes tiempos de agitación por análisis BET..... | 49 |
| Tabla 3.5 Caracterización de los diferentes inóculos empleados para los biorreactores..... | 51 |
| Tabla 3.6 Caracterización fisicoquímica del césped después de la generación de H_2 | 53 |
| Tabla 3.7 Áreas bajo la curva de los estándares..... | 54 |
| Tabla 3.8 Purificación máxima de biogás obtenido con diferentes inóculos..... | 59 |
| Tabla B1. Composición del medio mineral RAMM..... | 79 |
| Tabla C1. Composición y concentración de la mezcla de gases..... | 80 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1.1 Clasificación de los residuos sólidos según sus características. | 4 |
| Figura 1.2 Estructura molecular de la celulosa..... | 6 |
| Figura 1.3 Diferentes monómeros presentes en hemicelulosa..... | 7 |
| Figura 1.4 Estructura de la lignina. | 8 |
| Figura 1.5 Estructura molecular de monosacáridos de glucosa y xilosa..... | 10 |
| Figura 1.6 Efecto del pre-tratamiento en la biomasa lignocelulósica..... | 10 |
| Figura 1.7 Etapas de generación de biogás..... | 12 |
| Figura 1.8. Degradación anaerobia de la materia orgánica..... | 17 |
| Figura 2.1 Descripción del proceso metodológico..... | 24 |
| Figura 2.2 Diagrama para las pruebas de captura, a) tanque de mezcla de gases, b) columna empacada con Li_2ZrO_3 , c) sistema de medición de gases por desplazamiento..... | 33 |
| Figura 2.3 Biorreactor conectado a Li_2ZrO_3 , a) entrada de N_2 y medición de pH, b) Tubo empacado con Li_2ZrO_3 , c) Sistema de captación de biogás, d) Toma de muestra de gases..... | 36 |
| Figura 3.1 Determinaciones fisicoquímicas de los RCCT, a) porcentaje de ST; b) porcentaje de SVT..... | 40 |
| Figura 3.2 Composición de lignina en los RCCT a diferentes temperaturas..... | 41 |
| Figura 3.3 Cantidad de holocelulosa presente en los RCCT a diferentes temperaturas..... | 42 |
| Figura 3.4 Curvas de calibración con azúcares de referencia..... | 44 |
| Figura 3.5 Rendimientos de glucosa y xilosa (x) de RCCT a 115 °C..... | 45 |
| Figura 3.6 Rendimientos de glucosa y xilosa (x) de RCCT a 130 °C..... | 46 |
| Figura 3.7 Rendimientos de glucosa y xilosa (x) de RCCT a 145° C..... | 47 |
| Figura 3.8 Difractogramas del zirconato de litio..... | 48 |
| Figura 3.9 Isoterma adsorción/desorción del Li_2ZrO_3 mezclada por 5 minutos..... | 50 |
| Figura 3.10 Isoterma adsorción/desorción del Li_2ZrO_3 mezclado por 15 minutos..... | 50 |
| Figura 3.11 Porcentaje de captura del Li_2ZrO_3 a diferentes tiempos..... | 51 |
| Figura 3.12 Producción de biogás con diferentes inóculos durante 25 días..... | 52 |
| Figura 3.13 Curvas de calibración con gases de referencia..... | 54 |
| Figura 3.14 Producción de H_2 y CO_2 con hidrolizados antes y después de Li_2ZrO_3 | 55 |
| Figura 3.15 Producción de H_2 y CO_2 con lodos de PTAR antes y después de Li_2ZrO_3 | 56 |
| Figura 3.16 Cromatograma de la muestra LA a 20 días de fermentación..... | 57 |

| | |
|--|----|
| Figura 3.17 Producción de H ₂ y CO ₂ con estiércol de equino antes y después de Li ₂ ZrO ₃ ... | 58 |
| Figura 3.18 Producción de H ₂ y CO ₂ con la mezcla L-E antes y después de Li ₂ ZrO ₃ | 59 |
| Figura 3.19 Porcentaje de captura del Li ₂ ZrO ₃ en los diferentes reactores..... | 60 |
| Figura 3.20 Infrarrojo del césped con y sin tratamiento..... | 62 |
| Figura 3.21 FT-IR del Li ₂ ZrO ₃ a diferentes tiempos de agitación..... | 63 |
| Figura 3.22 FT-IR del Li ₂ ZrO ₃ en diferentes tiempos..... | 64 |
| Figura 3.23 FT-IR del Li ₂ ZrO ₃ posterior a la fermentación..... | 65 |

INTRODUCCIÓN

Los residuos sólidos urbanos (RSU) comúnmente denominados “basura” son generados de manera intrínseca en todas las acciones humanas. Tchobanoglous *et al.*, (2002) mencionan que son una consecuencia de la vida y los definen como “aquellos residuos que provienen de actividades animales y humanas, que normalmente son sólidos y que son desechados como inútiles o sobrantes”.

Dentro de la sub-clasificación de los RSU se encuentran los residuos de jardinería que provienen principalmente de la superficie de áreas verdes presentes en jardines, parques, calles, avenidas, plazas, escuelas, etc. La materia lignocelulósica de la cual está compuesto el césped, ha llamado la atención en los últimos años debido a su alto poder energético, ya que dicho material puede ser pre-tratado, para ser utilizado como fuente de carbohidratos en la generación de biocombustibles. El pre-tratamiento de materiales lignocelulósicos permite reducir la cristalinidad de la celulosa y aumentar la porosidad del material para la obtención de carbohidratos (Sun y Cheng, 2009).

La fermentación de residuos orgánicos para la obtención de biohidrógeno, da lugar a la formación de gases de efecto invernadero como metano (CH_4), dióxido y monóxido de carbono (CO_2 y CO), así como hidrogeno (H_2), entre otros; de estos el CH_4 y el H_2 son combustibles; donde este último está considerado como un gas limpio, ya que al someterse al proceso de combustión genera vapor de agua. La separación de estos gases del biogás es un tema de interés en la investigación, este trabajo se enfoca en particular a la purificación del hidrógeno, llamado también biohidrógeno, para ello se propuso el uso de materiales cerámicos, que permiten la captura de gases contaminantes, un ejemplo de estos materiales son los cerámicos de litio, tales como los zirconatos de litio (Li_2ZrO_3 y Li_8ZrO_6), ambos probados para la captura de CO_2 , sin embargo se ha reportado muy pocas veces para la purificación de H_2 que en este caso son gases producidos en el biogás. Es por todo lo anterior que el presente trabajo se divide en tres capítulos, en el primero se describen los fundamentos teóricos de la producción de biogás y de los materiales cerámicos, en el segundo se presenta la parte metodológica del proyecto donde se describen las técnicas analíticas empleadas para el desarrollo de este trabajo, y en el último capítulo se encuentran los resultados obtenidos para la producción de biohidrógeno y su purificación.

Capítulo 1 FUNDAMENTOS

1.1 Residuos sólidos urbanos

El acelerado crecimiento de la población y las diferentes actividades productivas que desarrollan las sociedades traen como resultado la generación de residuos sólidos, líquidos o gaseosos, que la mayoría de las veces causan efectos negativos sobre el ambiente y la salud humana. Ejemplo de ellos son los RSU que según la Ley general de prevención y gestión integral de residuos (LGPGIR) son los que se generan en las casas habitación, industrias, comercios entre otros dando como resultado de la eliminación de los materiales que se utilizan en las actividades domésticas (productos de consumo y sus envases, embalajes o empaques), o los que provienen de cualquier otra actividad que se desarrolla en establecimientos o en la vía pública y los que no sean considerados como residuos de otra índole (SEMARNAT, 2017).

En las últimas seis décadas la población en México creció de 30 millones de habitantes (1950) a 119 938 millones en 2015 (INEGI, 2009) y la generación de residuos pasó de 3 millones de toneladas en la década de los 50's (SEMARNAT, 2017) a 42 100 000 millones de toneladas en la actualidad (SEDESOL, 2017). Esto significa que cada habitante genera alrededor de un kilogramo de basura al día (SEMARNAT, 2017). Para el año 2012 las entidades federativas con mayor generación de residuos fueron el Estado de México con 6 789 000 de toneladas, Ciudad de México con 4 949 000 de toneladas, Veracruz y Nuevo León 2 301 000 y 2 253 000 de toneladas respectivamente. Hoy en día la generación de RSU en México alcanza cifras nunca antes vistas (SEDESOL, 2017; SEMARNAT, 2017) debido a factores como la explosión demográfica, al proceso de urbanización y a los hábitos de consumo actuales, entre otros.

La composición de los RSU depende, entre otros factores, de los patrones de consumo de la población, ya que países con menores ingresos generan menor cantidad de RSU, pero presentan mayor cantidad de residuos orgánicos, mientras que los países con mayor ingreso económico los residuos generados son mayormente inorgánicos (Martinez-Morales, 2016)

En la Tabla 1.1 se muestra la clasificación de los RSU y fuentes de generación o instalaciones donde son generados.

Tabla 1.1 Fuente de residuos sólidos en la comunidad urbana

| Fuentes | Instalaciones actividades o localización donde se generan | Tipos de residuos sólidos |
|---|--|--|
| Doméstica | Viviendas aisladas y bloques de baja, mediana y elevada altura, etc., unifamiliares y multifamiliares | Residuos de comida, papel, cartón, plásticos, textiles, cuero, residuos de jardín, madera, vidrio, latas de hojalata, aluminio, otros metales, cenizas, hojas en la calle, residuos especiales, (artículos voluminosos, electrodomésticos, bienes de línea blanca, residuos de jardín recogidos separadamente, baterías, pilas, aceite, neumáticos), residuos domésticos peligrosos. |
| Comercial | Tiendas, restaurantes, mercados, edificios de oficina, hoteles, moteles, imprentas, gasolineras, talleres mecánicos. | Papel, cartón, plásticos, madera, residuos de comida, vidrio, metales, residuos especiales, (ver párrafo superior), residuos peligrosos, etc. |
| Industrial | Escuelas, hospitales, cárceles, centros gubernamentales. | Igual a comercial |
| Construcción y demolición | Lugares nuevos de construcción, lugares de reparación/renovación de carreteras, derribos de edificios, pavimentos rotos. | Madera, acero, hormigón, suciedad,, etc. |
| Servicios municipales (excluyendo plantas de tratamiento) | Limpieza de calles, paisajismo, limpieza de cuencas, parques y playas, otras zonas de recreo. | Residuos especiales, basura, barreduras de la calle, recortes de árboles y plantas, residuos de cuencas, residuos generales de parques, playas y zonas de recreo. |
| Plantas de tratamiento incineradoras municipales | Agua, aguas residuales y procesos de tratamiento industrial, etc. | Residuos de plantas de tratamiento, compuestos principalmente de fangos |
| Industrial | Construcción, fabricación ligera y pesada, refinerías, plantas químicas, centrales térmicas, demoliciones, etc. | Residuos de procesos industriales, materiales de chatarra, etc. Residuos no industriales incluyendo residuos de comida, basura, cenizas, residuos de demolición y construcción, residuos especiales y peligros. |
| Agrícolas | Cosechas de campo, árboles frutales, viñedos, ganadería intensiva, granjas, etc. | Residuos de comida, residuos agrícolas, basura, residuos peligrosos. |

Fuente: Tchobanoglous *et al.*, 1994

En la mayoría de los países, la composición de los RSU muestra que la materia orgánica representa el mayor porcentaje de residuos de desecho, en la Figura 1.1 se muestra el

porcentaje de los RSU generados en México, donde al ser comparados con otros países, el mayor porcentaje representa a los residuos orgánicos.

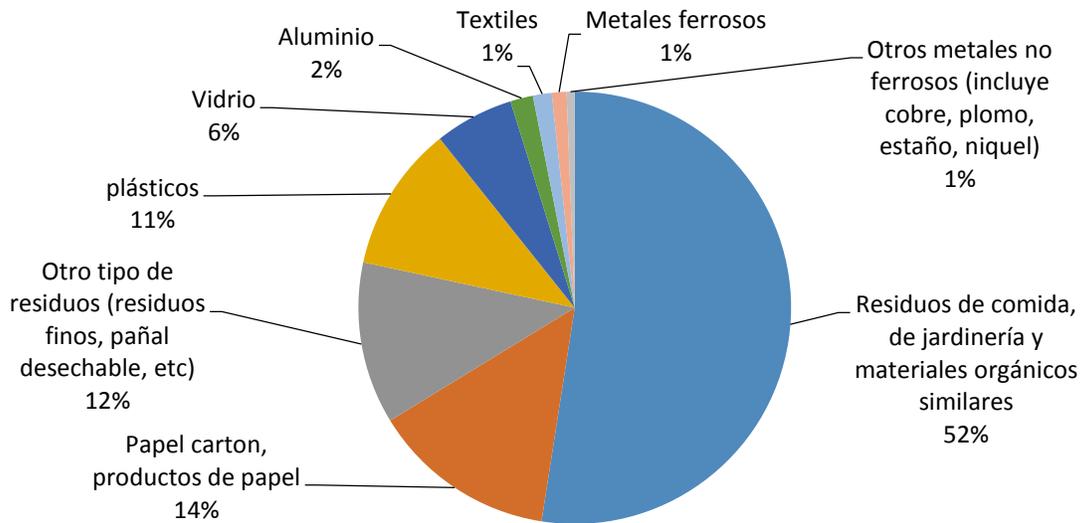


Figura 1.1 Clasificación de los residuos sólidos según sus características.
Fuente: SEMARNAT (2017).

Dentro de la sub-clasificación de los RSU, se hallan los residuos de jardinería que están constituidos por hojas, ramas y césped los cuales se encuentran presentes en las áreas verdes que generan grandes volúmenes de desechos cuando se lleva a cabo su mantenimiento.

Chávez (2012) menciona que el sistema de disposición final para los RSU más utilizado en países en vías de desarrollo, como México, es el relleno sanitario (RESA). Según la SEMARNAT (2004), los RESA son obras de infraestructura que involucran métodos de ingeniería para la disposición final de los RSU y de manejo especial, a través de un proceso que va desde el tratamiento y la compactación, hasta la cubierta final de los residuos. Al depositar los RSU en el RESA, estos comienzan a descomponerse mediante una serie de procesos químicos complejos, siendo los principales productos de la descomposición el lixiviado y el biogás. El manejo inadecuado de los RSU ha tenido y sigue teniendo repercusiones en la calidad del aire, agua y suelo, debido a la proliferación de fauna nociva, generación de lixiviados y emanación de gases (Cruz-Alvarado 2013; Röben 2002; Vargas García *et.al.*, 2014).

1.2 Residuos lignocelulósicos

Los residuos lignocelulósicos, también conocidos como biomasa lignocelulósica, son los materiales orgánicos más abundantes presentes en la pared celular de las plantas, tienen una producción anual global de más de 200 billones de toneladas métricas en base seca y corresponden a los residuos forestales, agrícolas, orgánicos y de la industria del papel y comida (Sawatdeenarunat *et al.*, 2015). La principal característica de los residuos agrícolas, es la presencia de la pared celular que está constituida por macromoléculas que presentan un importante potencial nutricional y energético. Estas macromoléculas pueden ser utilizadas para la producción de biogás, biodiesel y bioenergía (Zheng *et al.*, 2014). Saratale *et al.* (2008) y Sawatdeenarunat *et al.* (2015) realizaron una recopilación de las fracciones de celulosa, hemicelulosa y lignina de diferentes residuos lignocelulósicos los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2 Contenido de biomasa lignocelulósica en residuos comunes

| Material lignocelulósico | Celulosa (%) | Hemicelulosa (%) | Lignina (%) |
|---------------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------|
| Nuez | 25-30 | 25-30 | 25-35 |
| Césped | 25-40 | 35-50 | 10-30 |
| Paja de trigo | 33-38 | 26-32 | 17-19 |
| Tallo de sorgo | 27 | 25 | 11 |
| Paja de arroz | 32-47 | 19-27 | 5-24 |
| Mazorca de maíz | 45 | 35 | 15 |
| Rastrojo de maíz | 37.5 | 22.4 | 17.6 |
| Salvado de trigo | 30 | 50 | 15 |
| Bagazo de azúcar de caña | 25 | 17 | 12 |

Fuente: Saratale *et al.* (2008); Sawatdeenarunat *et al.* (2015)

La composición de los materiales lignocelulósicos es el factor que define la viabilidad del procesamiento fisicoquímico para la producción de biocombustibles, pues de acuerdo a su

contenido de lignina, celulosa y hemicelulosa se definen las condiciones bajo las cuales serán desarrolladas las etapas correspondientes al pre-tratamiento, hidrólisis y fermentación. En este mismo sentido la composición y rendimiento de los residuos de céspedes y forrajes dependen del estado de desarrollo de la planta, del clima y del suelo, además de la variedad de la especie (Cardona *et al.*, 2012).

El material orgánico de lignocelulosa está compuesto principalmente por los polímeros celulosa, hemicelulosa y lignina los cuales son matrices de homo y heterosacáridos que poseen diferentes propiedades, grados de cristalinidad y composición dependiendo del tipo, especie y recurso de biomasa (Agbor *et al.*, 2011)

- a) Celulosa: mostrada en la Figura 1.2, es el principal componente estructural de la pared celular de las plantas, otorga resistencia mecánica y estabilidad química. Es un homopolisacárido compuesto por β -glucosas mediante enlaces β -(1-4) glucosídicos agrupados en cadenas que forman microfibras (Singh *et al.*, 2014). Las moléculas de celulosa tienen diferentes orientaciones a lo largo de su estructura, esto le confiere una región amorfa y otra cristalina, de las cuales la cristalina es difícilmente biodegradable (Zheng *et al.*, 2014). Algunos microorganismos son capaces de producir celulasas y enzimas que permiten utilizar de manera directa la celulosa de las plantas, sin embargo, los métodos de pre-tratamiento de celulosa son necesarios en aplicaciones industriales a fin de hacer sustentable, eficiente y económicamente viable el proceso (Roy y Kumar 2013).

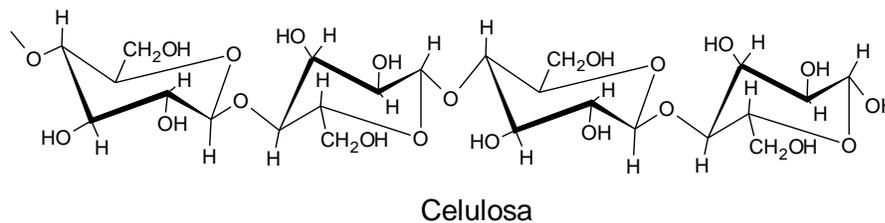


Figura 1.2 Estructura molecular de la celulosa. Fuente: Zheng *et al.* (2014).

- b) Hemicelulosa: Es el segundo polímero más abundante (20-50%) de la biomasa lignocelulósica, es heterogéneo y está compuesto por pentosas, hexosas y azúcares acetiladas unidos mediante enlaces glucosídicos (β -1,4 y en menor proporción β -1,3), un esquema de la hemicelulosa se muestra en la Figura 1.3 (Agbor *et al.*, 2011). El peso

molecular de la hemicelulosa, su grado de cristalinidad y resistencia mecánica son mucho menores a los de la celulosa, es un polímero ramificado y sus composición, en términos, de monosacáridos difiere mucho de especie a especie de planta (Kalia *et al.*, 2011). En función al tipo dominante de azúcar se puede identificar la diferencia entre distintos tipos de hemicelulosas, es decir xilanos, mananos, β -glucanos, arabinanos y galactanos, tienen como unidad fundamental D-xilosa, D-manosa, D-glucosa, L-arabinosa y D-galactosa (Prinsen, 2010). La hemicelulosa presente en residuos de césped (RC) está constituida principalmente por xilosa, mientras que los residuos forestales presentan en su mayoría manosa (Agbor *et al.*, 2011). Cabe destacar que a pesar que todos ellos forman parte de su composición también se encuentran ácidos hexurónicos además de otros azúcares.

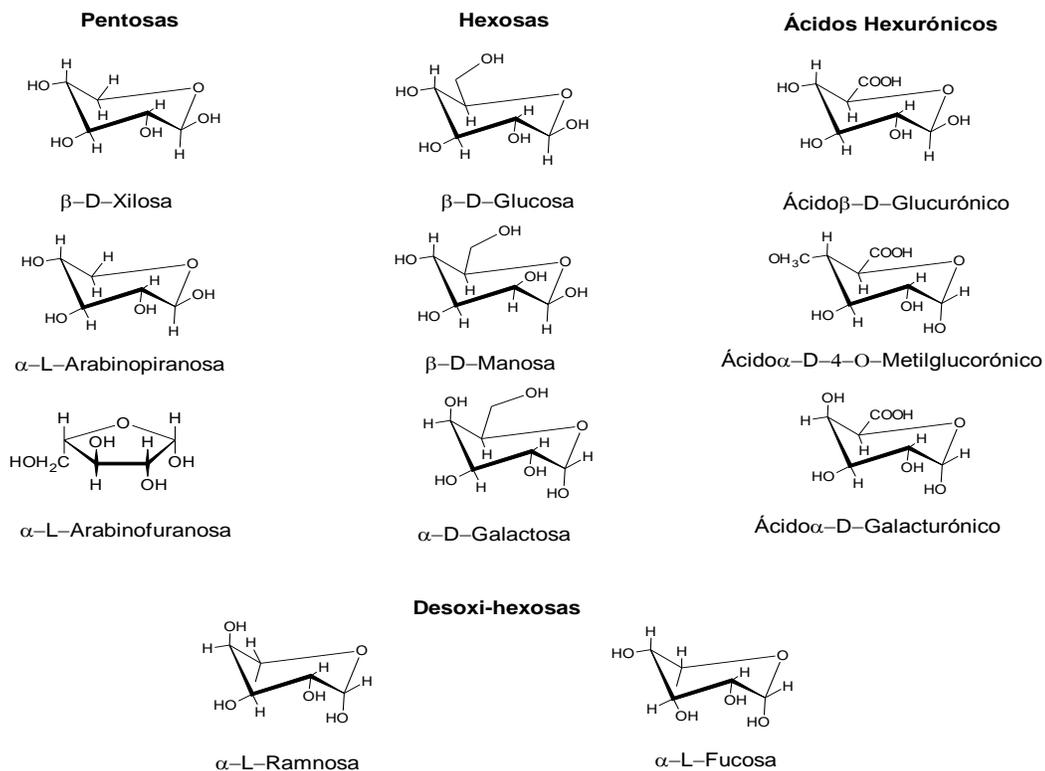


Figura 1.3 Diferentes monómeros presentes en hemicelulosa. Fuente: Prinsen, (2010).

- c) Lignina: es un polímero hidrocarbonado complejo que posee constituyentes aromáticos y alifáticos, su principal monómero es fenil propano unido de diferentes formas como se muestra en la Figura 1.4. Este polímero es amorfo, hidrofóbico, termoplástico, no hidrolizable por ácidos y presenta propiedades mecánicas inferiores a la celulosa (Kalia *et al.*, 2011; Ramos *et al.*, 2015). La lignina se subdivide en lignina núcleo y lignina no núcleo:

- Lignina no núcleo: consiste en compuestos fenólicos de bajo peso molecular liberado de la pared celular por hidrólisis que está representado por los ácidos p-hidroxicinámico unidos por un éster.
- Lignina núcleo: consiste en polímeros fenilpropanoides en la pared celular, muy condensada y muy resistente a la degradación. Se compone de unidades p-hidroxifenil (H), guayacil (G) y sirigil (S).

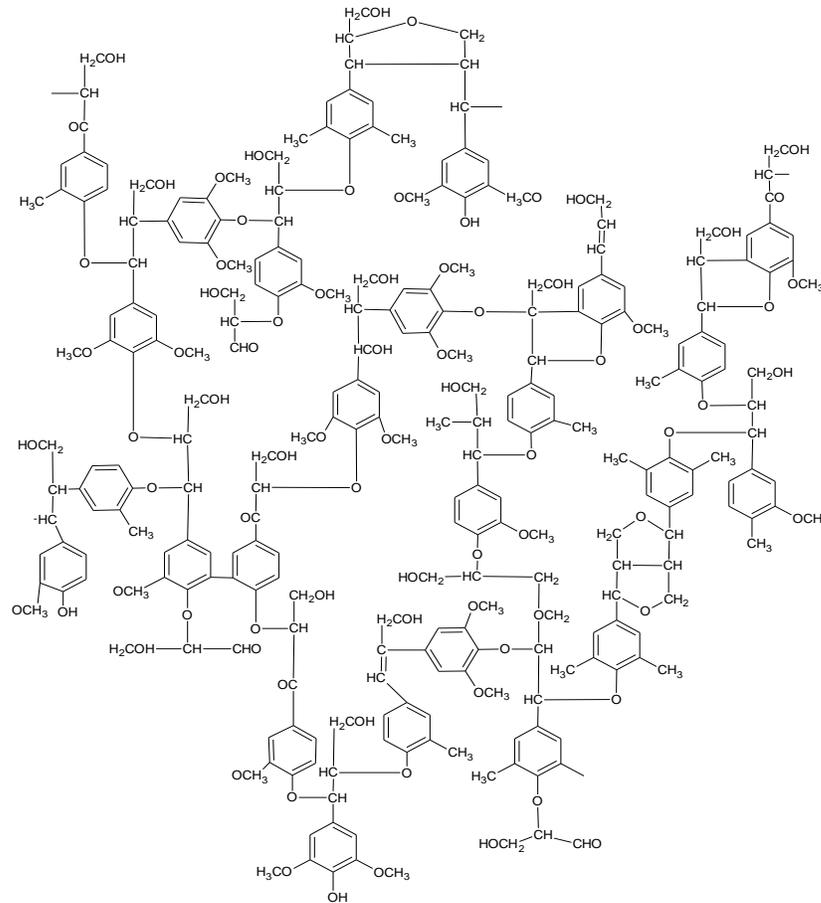


Figura 1.4 Estructura de la Lignina. Fuente: Ramos *et al.* (2015)

1.3 Azúcares

Los glúcidos, también llamados azúcares o sacáridos, son un grupo de biomoléculas orgánicas que están presentes en la naturaleza. Los glúcidos se definen sencillamente desde un punto de vista químico como polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas, o bien sustancias que por hidrólisis dan lugar a este tipo de compuestos.

Los monosacáridos son azúcares simples, no hidrolizables que consisten en una sola unidad de polihidroxialdehído o polihidroxicetona, que estos a su vez se clasifican en aldosas y cetosas. Además de los monosacáridos simples, existe en la naturaleza una serie de derivados de los mismos que tienen una gran importancia biológica, sobre todo los derivados de algunas aldohexosas como la glucosa, manosa y galactosa.

Estos derivados se obtienen por sustitución de alguno de los grupos hidroxilo por algún otro grupo funcional, o bien por oxidación o reducción de alguno de los átomos de carbono del monosacárido original (Bohinski, 1987). Algunos de los monosacáridos más comunes son dihidroxiacetona, *D* –glucosa, *D* –galactosa, *D* –fructuosa, *D* –manosa, entre otros, cada una existe en estado monomérico libre o en estructuras oligoméricas y/o poliméricas, como azúcar sin modificar o como derivado (Bohinski, 1987). La mayoría parte de la glucosa presente en la lignocelulosa está localizada dentro de los polímeros cristalinos de la celulosa. La hemicelulosa también los contiene pero en forma de copolímeros conformados por glucosa, xilosa y otros (Jiménez *et al.*, 2012). La mayoría de ellos conserva el poder reductor característico de los monosacáridos.

1.3.1 Azúcares reductores

Los azúcares son compuestos provenientes de la celulosa y hemicelulosa, en particular, la glucosa y la xilosa son los componentes principales de cada uno (Lenihan *et al.*, 2010) estos carbohidratos son los responsables directos de la producción de biohidrógeno. Los azúcares están compuestos principalmente por carbono, hidrógeno y oxígeno (C, H y O), los cuales, en las unidades llamadas monosacáridos simples, se encuentran en tal proporción que por cada átomo de carbono existe una cantidad de H y de O equivalente a una molécula de agua. A estas moléculas se encuentran unidos dos tipos de grupos funcionales, grupos $-OH$ y grupos $=COO$, de este último se encuentran en sus dos vertientes: el grupo aldehído o el grupo cetona o ceto (Peña *et al.*, 2004).

Tanto la glucosa como la xilosa son monosacáridos cíclicos (Figura 1.5) fácilmente degradado por microorganismos mediante el proceso de fermentación (Wang *et al.*, 2011).

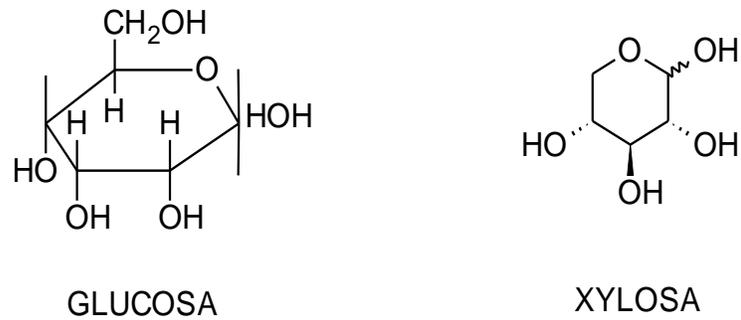


Figura 1.5 Estructura molecular de monosacáridos de glucosa y xilosa. Fuente: Wang *et al.* (2011).

1.3.2 Pre-tratamiento de lignocelulosa

El pre-tratamiento requerido para alterar la estructura de la biomasa lignocelulósica y hacer más accesible a la celulosa, a fin de facilitar la conversión de los carbohidratos en azúcares fermentables se conoce como hidrólisis (Ren *et al.*, 2009). La Figura 1.6 muestra el efecto del pre-tratamiento sobre la materia orgánica. La selección del pre-tratamiento afecta el costo y el rendimiento de la hidrólisis subsecuente y de la fermentación (Saratale *et al.*, 2008).

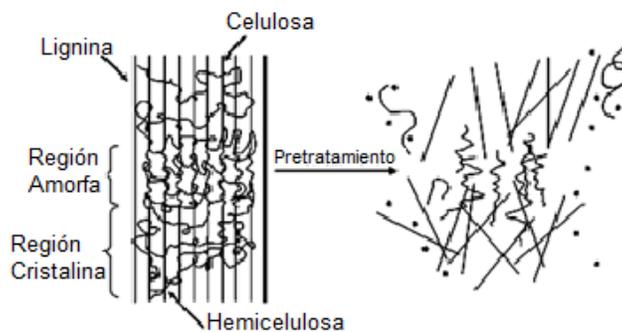


Figura 1.6 Efecto del pre-tratamiento en la biomasa lignocelulósica. Fuente: Saratale *et al.* (2008).

El pre-tratamiento ideal debe mejorar la fermentación de los azúcares evitando la pérdida y degradación de los sacáridos, disminuir la producción de inhibidores, mejorar la hidrólisis de celulosa y tener bajos costos de operación y de requerimientos energéticos (Roy y Kumar, 2013). La valoración de un pre-tratamiento depende de un parámetro denominado “factor de severidad”, el cual está definido como el efecto combinado de la temperatura, acidez y tiempo de contacto (Agbor *et al.*, 2011). El factor de severidad se determina aplicando un cociente

entre la cantidad total de azúcares y los inhibidores presentes en la fase líquida (Cao *et al.*, 2009) y se determina con la siguiente ecuación:

$$CSF = \log \left(t - e^{\left(\frac{T_h - T_r}{14.75} \right)} \right) - pH \quad \text{Ec.1.1}$$

Dónde:

CSF: factor de severidad combinado

t: tiempo (min)

T_h: temperatura de hidrólisis

T_r: temperatura de referencia

1.4 Biogás

El biogás es un gas combustible que se genera en medios naturales o en dispositivos específicos, por las reacciones de biodegradación de la materia orgánica (MO), mediante la acción de microorganismos y otros factores, en ambiente anaeróbico (Posada *et al.*, 2010), es un proceso biológico en el que la MO se descompone en productos gaseosos como metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂), hidrógeno (H₂), ácido sulfhídrico (H₂S), entre otros. El proceso de generación de biogás es complejo por las reacciones bioquímicas involucradas ya que muchas de ellas suceden de forma simultánea. El proceso de generación de biogás se divide en cuatro mecanismos de producción de biogás como se muestra en la Figura 1.7

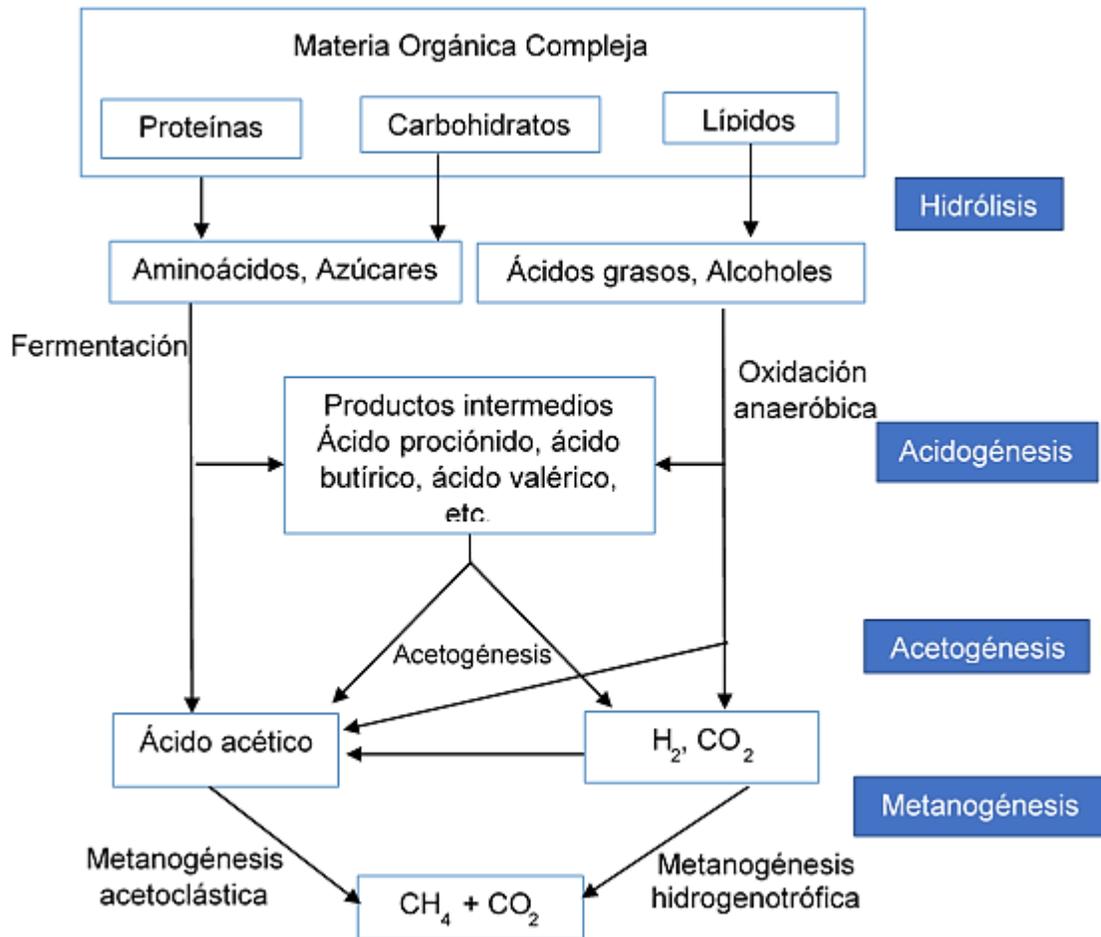
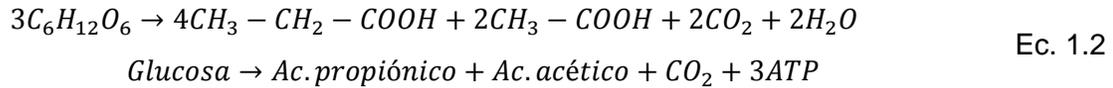


Figura 1.7 Etapas de generación de biogás. Fuente: Acosta *et al.* (2005).

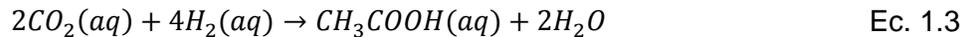
Las cuatro fases secuenciales en la generación del biogás son las cuales se llevan a cabo en medio anaerobio:

- a) Hidrólisis: consiste en una transformación de compuestos de alto peso molecular como son los lípidos, polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos, mediante enzimas hidrolasas en las que los compuestos complejos y no disueltos se fragmentan de tal manera que sean susceptibles de emplearse como fuente de materia y energía para los microorganismos.

- b) Acidogénesis: implica la conversión microbiana de los compuestos resultantes de la hidrólisis, en compuestos intermedios de bajo peso molecular, como son aminoácidos, propionato, butirato entre otros como se muestra en la ecuación 1.2.



- c) Acetogénesis: etapa donde los ácidos y los alcoholes que provienen de la acidogénesis se transforman por la acción de bacterias en ácido acético (CH_3COOH) y pequeñas concentraciones de ácido fúlvico así como otros ácidos más complejos; el CO_2 es el principal gas generado, aunque también se produce H_2 .



- d) Metanogénesis: consiste en la transformación bacteriana del CH_3COOH y del ácido fórmico (CH_2O_2) en CO_2 y CH_4 , así como la formación de este último a partir del H_2 y CO_2 como se muestra en las ecuaciones 1.4 y 1.5.



Como se describió en la sección 1.1, el CH_4 no resulta ser el único producto de la degradación anaerobia de la materia orgánica, ya que se trata de una mezcla de gases, la cual está compuesta por un 60% de CH_4 , un 38% de H_2 y un 2% de otros gases trazas. Como se muestra en la Tabla 1.3, el CH_4 y el CO_2 se consideran combustibles y por lo tanto tienen un valor agregado, aquí radica el interés en separarlos del resto de los gases para poder utilizarlos como combustibles, debido a que mientras se encuentren mezclados no es recomendable su uso, ya que un proceso de combustión de esta mezcla puede generar SO_x , que son gases altamente tóxicos para el ser humano (Acosta *et al.*, 2005; María *et al.*, 2015). Por otra parte los productos como etanol, butanol y lactato también contienen hidrógeno que puede ser liberado (Acosta *et al.*, 2005).

Tabla 1.3 Composición del biogás.

| Compuesto | Concentración |
|------------------|---------------|
| CH ₄ | 50-70% |
| CO ₂ | 30-50% |
| H ₂ | 1-10% |
| N ₂ | <3% |
| O ₂ | <0.1% |
| H ₂ S | 0-8000 ppm |

Fuente: Acosta *et al.*, 2005

1.5 Reactores biológicos anaeróbicos

Los sistemas anaerobios son unidades bien estabilizadas para la biodegradación de la materia orgánica del agua residual. La implementación y aplicación de los sistemas anaerobios se debe principalmente al desarrollo de reactores de altas cargas, ya que una de las características más relevantes de estos sistemas es el desacoplamiento del tiempo de retención de sólido (TRS) y el tiempo de retención hidráulico (TRH), que resulta en una alta retención de biomasa activa (Gong *et al.*, 2018; Rico *et al.*, 2017).

Existen diferentes tipos de reactores, que además de la actividad metabólica de los microorganismos, ya sea anaeróbico o aeróbico, se clasifican con base en la forma en que la población microbiana se encuentra dentro del mismo. Cuando el biorreactor cuenta con un medio natural o sintético que sirve de soporte para que se desarrolle la comunidad microbiana en forma de lama o película. A continuación, se describen los biorreactores más comunes:

- a) Reactores de alta tasa: se caracterizan por un mezclado al medio de reacción, ya sea mediante agitación mecánica, por recirculación de gas o líquido o combinación de ambos. Las cargas orgánicas van de 2 a 3.6 kgSSV/m³*d, son operados a temperatura constante entre 30 y 40 °C de temperatura con TRH de 10 a 20 días.
- b) Reactor anaeróbico de flujo ascendente (UASB): el efluente es distribuido en el fondo del reactor y viaja en modo de flujo ascendente a través del lecho de biomasa. Los contaminantes orgánicos son convertidos en biogás que es generado al elevarse en el reactor cuando se proporciona una agitación adecuada de los residuos, eso sin necesidad de mezclado mecánico. La operación de los reactores UASB se basa en la actividad autorregulada de diferentes grupos de bacterias que degradan la materia orgánica y se

desarrollan de forma interactiva. Dichos grupos bacterianos establecen entre si relaciones simbióticas de alta eficiencia metabólica, bajo la forma de gránulos cuya densidad les permite sedimentar en el reactor. La biomasa permanece en el biorreactor sin necesidad de soporte adicional. El biogás es colectado en un separador trifásico, el cual es operado con una baja sobrepresión para aumentar el intercambio gas-líquido del área (Rico *et al.*, 2017).

- c) Reactores de baja tasa: son aquellos en los que el proceso se lleva a cabo sin calentamiento ni mezclado, lo que favorece la estratificación del fluido, formando tres zonas distintas; una capa flotante de natas, un nivel intermedio de sobrenadante y una capa inferior de biomasa. Debido a la estratificación a la ausencia de contacto entre los microorganismos y el sustrato, el volumen del digestor sin mezcla se utiliza a no más del 50% de forma efectiva y toda la descomposición se restringe en la zona inferior, la alimentación y salidas de la biomasa son discontinuas. Poco después de haber sido alimentado, se generan burbujas de gas y la acción de estas, al aumentar de volumen, tienden a subir a la superficie lo que genera un mezclado. Los tiempos de TRH se encuentran entre 30 y 90 días, con cargas recomendadas de 0.5 y 1.6 kgSSV/m³*d, poseen bajas eficiencias de remoción de contaminantes, es decir una remoción de SSV en un 60% y un 30% de demanda biológica de oxígeno (DBO₅) removida (Gong *et al.*, 2018).

1.6 Biohidrógeno

El hidrógeno (H₂) es un gas combustible que forma parte del biogás y es la fuente de energía más atractiva para el futuro, debido a que su combustión no resulta contaminante, permitiendo de esta manera una disminución en la generación de gases de efecto invernadero, ya que el H₂ cuando se combina con el oxígeno (O₂) del aire, se libera la energía química almacenada en el enlace H-H, generándose solamente vapor de agua como producto de su combustión (Andr *et al.*, 2012).

Puesto que no se producen gases de efecto invernadero durante su combustión, el H₂ ofrece un gran potencial para reducir las emisiones de CO₂ que se generan durante la combustión de sus precursores de origen fósil. El H₂ prácticamente no se encuentra en estado libre en la tierra, por lo que no es una energía primaria; sin embargo, puede producirse a partir de distintos precursores mediante procesos químicos o bioquímicos (Bedoya *et al.*, 2007).

Estudios referidos (Fuess *et al.*, 2015; Gonzales *et al.*, 2016; Khan *et al.*, 2017; Patel *et al.*, 2016; Sawatdeenarunat *et al.*, 2015) a la producción de biohidrógeno, han hecho demasiado énfasis en procesos de biofotólisis con agua utilizando cianobacterias y microalgas, fotodescomposición de materia orgánica a partir de bacterias fotosintéticas y fermentación anaerobia aprovechando el metabolismo de microorganismo anoxicos (Ballesteros *et al.*, 2008); sin embargo, la fermentación anaerobia se presenta como la opción más factible para la producción de biocombustibles, en especial para la generación de biohidrógeno (Cheng *et al.*, 2011).

- a) Fotofermentación: se define como el proceso de producción de H₂ a partir de sustratos orgánicos residuales, se lleva a cabo a partir de organismos fotosintéticos (Datar *et al.*, 2007). Este proceso es particularmente estudiado en lixiviados provenientes de procesos de la fermentación anaerobia, buscando obtener un valor agregado de los residuos líquidos obtenidos (Castro *et al.*, 2011).
- b) Fermentación anaerobia: la digestión anaerobia es una fermentación microbiana en ausencia de O₂ que da lugar a una mezcla de gases conocida como biogás compuesta principalmente de CH₄ y CO₂, así como a una suspensión acuosa o lodo que contiene componentes difíciles de degradar y los minerales inicialmente presentes en la biomasa (Hong *et al.*, 2012).

Debido a lo anterior y a los estudios realizados por Ballesteros *et al.* (2008); Bedoya *et al.* (2007); Cardona *et al.* (2012); Jiménez Islas *et al.* (2012); Ramos *et al.* (2015); Vélez-Izquierdo *et al.* (2013) en materiales lignocelulósicos, la hidrólisis ácida que se lleva a cabo en diferentes sustratos seguida de una degradación anaerobia para generar la producción de biogás, la hidrólisis transforma los compuestos insolubles en solubles simples y pueden ser más fácilmente absorbidos a través de la pared celular de los microorganismos, para que después dichas moléculas hidrolizadas sean catalizadas por bacterias fermentativas en alcoholes y ácidos grasos teniendo como resultado de este proceso, la producción de H₂ y CO₂ tal como se muestra en la Figura 1.8 (Corrales *et al.*, 2015).

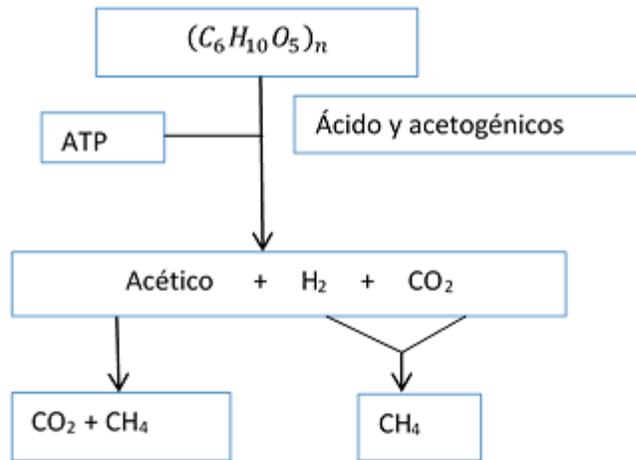


Figura 1.8. Degradación anaerobia de la materia orgánica. Fuente: Corrales *et al.* (2015).

1.7 Purificación de biogás

La producción de biohidrógeno implica su separación de una mezcla de gases (biogás) producida por microorganismos, el cual no es apto para ser utilizado directamente, debido a que la concentración de hidrógeno en esta mezcla no es lo suficientemente alta y otros gases producidos en el proceso, como el CO_2 , impiden su utilización en aplicaciones como las celdas de combustible. De esta forma, las mejoras en la separación del gas contribuirán de forma directa a aplicaciones económicamente viables del biohidrógeno (Cheng *et al.*, 2011).

La remoción continua de hidrógeno del biogás es de suma importancia debido a que la acumulación de este gas y otros producidos en la degradación anaerobia, generalmente reducen la tasa de producción de hidrógeno, debido al aumento de la presión parcial de estos gases. Otros gases (CH_4 , H_2S , NH_3), producto de la fermentación, también deben ser separados para usar el H_2 . Además, se debe tener en cuenta que la purga con gases inertes como el N_2 y el argón, para garantizar la anaerobiosis, afecta el proceso de separación (Agbor *et al.*, 2011; Akpınar *et al.*, 2010; Ballesteros *et al.*, 2008; Baucher *et al.*, 2014).

Existen varios métodos de remoción y purificación selectiva de H_2 usando tecnologías de membranas solas o combinadas con otros métodos (Bakonyi *et al.*, 2013). El proceso más usado es la separación de gas, donde se maneja una presión conducida por membranas, separando la mezcla de gases con membranas porosas o no porosas, basándose en la permeabilidad y selectividad de los gases. Es común que la separación de hidrógeno se haya conducido a altas temperaturas y utilizado membranas termo-resistentes y de materiales muy

costosos; por otro lado, también hay estudios donde no es necesario utilizar altas temperaturas y las membranas de polímeros pueden ser menos termoestables y por tanto más baratos, sin embargo, aún los resultados obtenidos no son muy prometedores (Cao *et al.*, 2009).

Las tecnologías que han sido usadas para el tratamiento primario son operaciones de procesos físicos simples que representan la primera etapa en la reducción de la cantidad de contaminantes del biogás. Los principales contaminantes removidos o reducidos son H₂O (contaminada) llamada condensado y partículas. Estas tecnologías se han empleado por muchos años en diferentes procesos y son actualmente adaptadas a las plantas de manejo de biogás; asimismo, los tratamientos secundarios, que incluyen procesos físicos y químicos, son diseñados para proporcionar un nivel de limpieza de gas mayor que el alcanzado utilizando solo con los tratamientos primarios (Harasimowicz *et al.*, 2015). El biogás (CH₄-CO₂) no es absolutamente puro, puesto que contiene partículas y trazas de otros gases.

Todas estas impurezas deben ser removidas dependiendo de la utilización que tendrá el biogás. La purificación de biogás es importante por dos razones principales, la primera para aumentar el poder calorífico del biogás y la segunda para cumplir los requerimientos de algunas aplicaciones de biogás (motores, calderas, celdas de combustible, vehículos, etc.).

El tratamiento completo implica que se elimina gran parte del CO₂, vapor de agua y otros gases traza del biogás, mientras que el reformado es la conversión de CH₄ en H₂. Las partículas sólidas en el biogás se filtran con los colectores de partículas convencionales, para la remoción de gases traza, las técnicas utilizadas son el lavado, adsorción y secado (Stanikova *et al.*, 2015), algunas de las técnicas más utilizadas como tratamientos secundarios para la purificación del biogás son las siguientes:

- a) Lavado: Para eliminar el CO₂ y H₂S del biogás se puede utilizar un lavado a presión contracorriente con agua. Para la remoción de CO₂ en particular, los factores críticos son pH, presión y temperatura. Para incrementar la eficiencia en el lavado del CO₂ desde el biogás debe haber condiciones de alta presión, baja temperatura y pH alcalino.
- b) Separación por membranas: Cosoli *et al.* (2008) realizaron un trabajo para estudiar la remoción de H₂S a partir de corrientes de biogás con diferentes zeolitas. Los principales resultados de este trabajo confirmaron que las zeolitas hidrofílicas son las más indicadas para la adsorción de H₂S.
- c) Adsorción: es la interacción entre el gas y el adsorbente, puede ser física que se da por fuerzas de Van der Waals, y la adsorción química que se da por enlaces covalentes. Un

adsorbente para el lavado con agua caliente presurizada consta de una columna rellena con material de empaque, el cual es percolado con agua fresca.

1.8 Materiales cerámicos

Los cerámicos se pueden clasificar de acuerdo a su microestructura en: cerámicos cristalinos, cerámicos no cristalinos o vidrios y vitrocerámicos. Los materiales cerámicos se caracterizan por poseer algunas de las siguientes propiedades:

- a) presentan una gran resistencia al desgaste, rozamiento y deformación.
- b) soportan temperaturas elevadas.
- c) presentan estabilidad química y son resistentes a la corrosión.
- d) son aislantes térmicos y eléctricos.

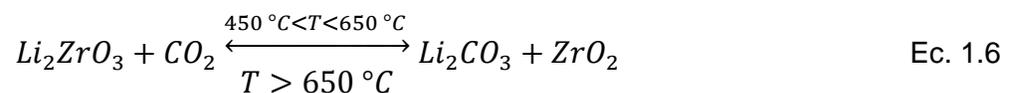
La aplicación más importante que se ha dado a los cerámicos, se centra en los materiales para la industria de la construcción. Sin embargo, en años recientes y con el desarrollo tecnológico, se ha comenzado a explorar nuevas áreas de aplicación para dichos materiales.

En ese sentido, diferentes cerámicos alcalinos se han considerado como posibles captadores de CO₂, donde varios de estos trabajos mencionan que la captura de CO₂ es modificada por el vapor de agua, por ejemplo Alcérreca-Corte *et al.* (2008); Fauth *et al.* (2005); Iwan *et al.* (2009); Santillán-Reyes y Pfeiffer (2011). No obstante, este fenómeno no se ha caracterizado completamente. Entre estos materiales, el zirconato de sodio (Na₂ZrO₃) se considera como un captador selectivo para CO₂. Sin embargo, no son muchos los documentos que muestran los efectos de vapor de agua durante la adsorción de CO₂ en esta cerámica. Ida *et al.* (2004) mostraron que el vapor de agua tiene un impacto importante en la captura de CO₂ y la cinética de regeneración, así como en la estabilidad de zirconatos de litio (Li₂ZrO₃) y Na₂ZrO₃. Más tarde, Marínez-dlCruz y Pfeiffer (2010) describieron el mecanismo de absorción de agua en K-dopado Li₂ZrO₃ en presencia y ausencia de CO₂.

Los cerámicos de litio han sido ampliamente estudiados como material para la operación de reactores de fusión nuclear, como dispositivos electrónicos, además, en los últimos años, estos cerámicos se han propuesto como captadores de CO₂ y otros gases tales como CO, H₂S (Marínez-dlCruz y Pfeiffer 2010).

En todas las aplicaciones tecnológicas, la exposición de los cerámicos de litio al vapor de agua puede afectar a su funcionamiento. Por ejemplo, la naturaleza higroscópica de los cerámicos de litio es un factor crítico en la selección de materiales para el diseño y fabricación del cerámico, debido a su afinidad hacia la humedad, puede producir una disminución en sus propiedades por la presencia de H₂O adsorbida. Otros cerámicos que se han utilizado para la captura de CO₂ son, el meta-zirconato de litio (Li₂ZrO₃) u orto-silicato de litio (Li₄SiO₄).

El Li₂ZrO₃ presenta características importantes para captura del CO₂ debido a que la reacción entre el carbonato de litio (Li₂CO₃) y el óxido de zirconio (ZrO₂) es usualmente empleada para la producción de Li₂ZrO₃ debido a la característica de ser una reacción reversible en la absorción de CO₂ como ya ha sido reportada (Nair *et al.*, 2014). La absorción de CO₂ es representada en la ecuación 1.6 de la siguiente manera:



Al momento de llevarse a cabo la reacción, el número de componentes iniciales se mantiene y aunque la reacción del Li₂ZrO₃ y CO₂ es selectiva, ocurre haciendo que la remoción sea posible. Por otra parte una de las cualidades de este material cerámico es que presenta estabilidad en altas temperaturas en la captura de CO₂ presentando buenas rutas de absorción a temperaturas mayores de 400 °C. Además, según la reacción, 1 mol de Li₂ZrO₃ puede reaccionar con 1 mol de CO₂ que en términos volumétricos se puede expresar que por 1 cm³ de Li₂ZrO₃ el material puede absorber ~534cm³ de CO₂ (Iwan *et al.*, 2009).

Los resultados obtenidos del comportamiento de estos absorbentes, es que pueden regenerarse rápidamente si se usan a altas temperaturas, ya que presentan durabilidad tras repetidos ciclos de captura-regeneración. El material cerámico presenta características prometedoras, pero es importante destacar que estas dependen principalmente de la forma de síntesis, una de ellas es la mezcla de polvos, en esta técnica se hacen reaccionar de manera mecánica y se someten a tratamiento térmico por un periodo de tiempo largo.

1.9 Caracterización del biohidrógeno

Para caracterizar gases de una mezcla, el método por excelencia es la cromatografía de gases (CG), que es un técnica de separación de mezclas multicomponentes, donde las muestras se mueven a través del lecho mediante un flujo continuo de gas que se convierte en la fase móvil, si la columna es lo suficientemente grande, todos los componentes emergen de manera secuencial como impulsos separados, y un analizador en la salida muestra la concentración de cada componente de la fase móvil.

El movimiento de las sustancias durante la CG es el resultado de dos fuerzas oponibles, la fuerza de manejo de la fase móvil y la fuerza resistente o acción de retardo del adsorbente. La fuerza de manejo mueve la sustancia del origen de la columna en dirección del flujo de la fase móvil. La acción de retardo impide el movimiento de las sustancias arrastrándolas del flujo y adhiriéndolas al adsorbente, las moléculas se encuentran alternando entre estar pegadas al adsorbente o despegadas en el flujo, esto da como consecuencia que pese a que el flujo es constante, solo una fracción de las moléculas se están moviendo, las sustancias que se mueven más lentamente es porque están siendo unidas más fuertemente a la fase estacionaria, mientras que aquellas que se mueven más rápidamente es porque son menos solubles o de poca afinidad

La CG se clasifica en cromatografía de gas-sólido (GSC) donde la fase estacionaria es un sólido adsorbente y cromatografía de gas-líquido (GLC) donde un líquido de peso molecular elevado, mantenido en un sólido poroso es la fase estacionaria. GLC es más común que GSC debido a que los componentes de la alimentación por lo general se separan entre las fases en proporciones constantes. En la GLC, cada componente de la muestra de alimentación se mueve a través de la columna a una velocidad proporcional a la del gas acarreador e inversamente proporcional a la capacidad de la fase estacionaria más la fase móvil (Kolomnikov *et al.*, 2018; McCabe *et al.*, 2007; Shah, Jain *et al.*, 2017).

1.10 Caracterización de Materiales

Consiste en la obtención de información de un material es decir la composición, estructura, topografía, morfología, propiedades generales, entre otras, a partir de la interacción de una señal eléctrica, luminosa o térmica con una porción del material. Por tanto, toda caracterización de un material supone una respuesta al mismo, algunas de ellas se describen a continuación.

1.10.1 Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier

La espectroscopía en el infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) se aplica a la determinación cualitativa de especies moleculares de todo tipo mediante la vibración de sus enlaces, se usa además para la determinación estructural de especies orgánicas y bioquímicas. La región más utilizada es la del infrarrojo medio que se extiende de 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , el principio de funcionamiento del espectrómetro consiste en hacer incidir un haz de luz, la cual es reflejada por varios espejos generando un haz de referencia de luz infrarroja y otro haz que pasa sobre la muestra, estos son reenfocados a otro espejo y reflejados en el difractor, el cual dispersa la luz similar a un prisma, la luz dispersa es enviada a un detector, generando una señal eléctrica, produciendo así un espectro de distribución donde se observa la cantidad de energía absorbida por el material como función del número de onda y es característica de cada uno de los grupos funcionales (Perkins *et al.*, 2016).

1.10.2 Difracción de rayos X

La difracción de rayos X (DRX) es una técnica que se basa en el fenómeno óptico conocido como difracción, provocado por la dispersión de la radiación electromagnética al interactuar con la materia. En el caso particular de los rayos X, cuya longitud de onda se encuentra en el orden de nanómetros, su interacción con los materiales revela detalles acerca de su estructura cristalina y al comparar el patrón de difracción obtenido para una muestra en particular, con los hallados en bases de datos especializadas, es posible identificar la fase cristalina y sus parámetros de red. Para los estudios analíticos de difracción, la muestra se muele hasta obtener un polvo fino homogéneo, de esa forma los numerosos cristales están orientados en todas las direcciones posibles y por tanto, cuando un haz de rayos X atraviesa el material, se puede esperar que un número significativo de partículas estén orientadas de tal manera que cumplan con la ley de Bragg de la reflexión que permite estudiar las direcciones de rayos X sobre la superficie de un cristal produciendo interferencias constructivas, dado que permite predecir los ángulos en los que los rayos X son difractados por un material con estructura atómica periódica, para todos los espacios interplanares posibles y relacione las posiciones angulares de los haces difractados reforzados en función de la longitud de onda (λ) de la radiación de rayos X incidentes y del espacio interplanar d_{hkl} de los planos cristalinos (Perkins *et al.*, 2016).

1.10.3 Área superficial / BET multipunto

El área específica es una propiedad que presentan los materiales sólidos. Esta magnitud tiene bastantes aplicaciones, sobre todo en las áreas de adsorción, se estableció un tratamiento generalizado de la isoterma de adsorción física de Langmuir, en el que se asume que un gas inerte a baja temperatura logrará absorber sobre toda la superficie disponible y formara capas múltiples (BET multipunto) (Mel'gunov y Ayupov, 2017).

Las isotermas de adsorción se obtienen al variar la presión relativa del gas (p/p_0) a temperatura constante y se registra el valor del volumen absorbido en el sólido. A medida que aumenta la presión relativa se forma la primera capa (monocapa), hasta formar multicapas sobre la superficie del sólido. El aumento en la presión relativa provoca el colapso de las multicapas formadas en la superficie, produciendo la condensación capilar. A partir de este punto decrece la presión relativa registrándose la curva de desorción, a esto se le denomina histéresis. Entre los gases que se pueden utilizar para este tipo de experimentos los más comunes es el N_2 (Mel'gunov y Ayupov, 2017).

Capítulo 2 MÉTODO

El desarrollo del presente trabajo se muestra en la Figura 2.1, y la descripción de cada una de las actividades se describe posteriormente.

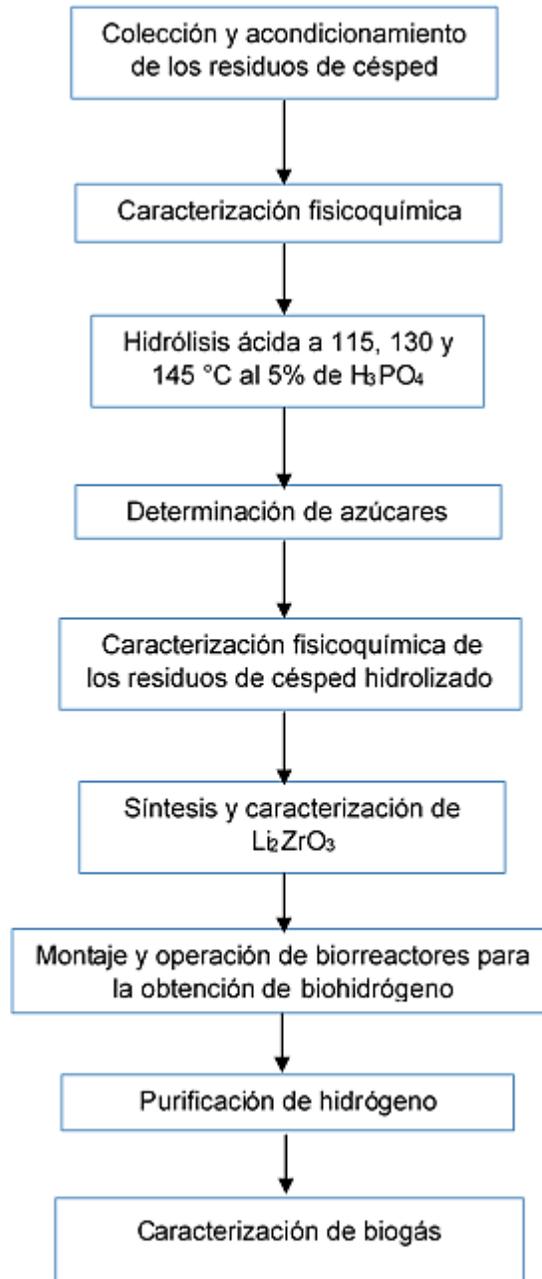


Figura 2.1 Descripción del proceso metodológico.

2.1 Reactivos y equipos

En las Tabla 2.1 y 2.2 se muestran respectivamente los reactivos y equipos utilizados para el desarrollo de este trabajo.

Tabla 2.1 Lista de reactivos utilizados en las técnicas de caracterización

| Reactivo | Fórmula | Pureza (%) | Marca |
|-------------------------------|---------------------------------|------------|------------|
| Alcohol etílico | C_2H_6O | 94.9 | Hycel |
| Tolueno | $C_6H_5CH_3$ | 99.5 | Meyer |
| Ácido acético glacial | CH_3COOH | 99.7 | Meyer |
| Ácido fosfórico | H_3PO_4 | 85.0 | Fermont |
| Acido bromhídrico | HBr | 48.0 | Aldrich |
| 3-5 ácido dinitrosalicílico | $2-(OH)-3,5-(NO_2)_2C_6H_2COOH$ | 98.0 | Aldrich |
| Tartrato de sodio y potasio | $C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$ | 99.0 | Jalmek |
| Mezcla de gases CO_2-CH_4 | CH_4-CO_2 | 50.50 | Praxair |
| Ácido sulfúrico | H_2SO_4 | 96.9 | Fermont |
| Acetona | $(CH_3)_2CO$ | 99.7 | J.T.Barker |
| Clorito de sodio | $NaClO_2$ | 80-85 | Meyer |
| Óxido de zirconio | ZrO_2 | 97.0 | Aldrich |
| Carbonato de potasio | K_2CO_3 | 96.0 | Fermont |
| Carbonato de litio | $LiCO_3$ | 99.6 | Aldrich |
| Cloruro de magnesio | $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ | 99 | Meyer |
| Cloruro cúprico | $CuCl_2$ | 99 | Meyer |
| Fosfato de potasio monobásico | KH_2PO_4 | 99 | Meyer |
| Fosfato de potasio dibásico | K_2HPO_4 | 98 | Meyer |
| Cloruro ferroso | $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ | 98 | Jalmek |
| Molibdato de sodio | $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ | 99.5 | Meyer |
| Cloruro de zinc | $ZnCl_2$ | 97 | Jalmeck |
| Ácido bórico | H_3BO_3 | 99 | J.T.Barker |
| Cloruro de manganeso | $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ | 98 | Meyer |
| Cloruro de calcio | $CaCl_2$ | 99 | Meyer |
| Cloruro de cobalto | $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ | 98 | Meyer |
| Cloruro de níquel | $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ | 97 | Meyer |
| Cloruro de amonio | NH_4Cl | 99 | Meyer |
| Selenito de sodio | Na_2O_3Se | 98 | Aldrich |
| Hidróxido de sodio | $NaOH$ | 96 | Meyer |

Tabla 2.2 Lista de equipos utilizados para el desarrollo de la metodología

| Equipo | Marca | Modelo |
|-----------------------|----------------------|----------------|
| Mufla | Lindberg | 51894 |
| Estufa | Riossa | H-33 |
| Bascula analítica | OHAUS | AP210 |
| Horno de secado | Riossa | 304 |
| Calefactor | York | YU5SH12-6A |
| Espectrofotómetro | Cole-Fomer | 1100RS |
| Calentador | Pelonis | NY15MB-7 |
| Potenciómetro | Conductronic | Pc-18 |
| Cromatógrafo de gases | Agilent Technologies | 7890B (G3440B) |

2.2 Colección y acondicionamiento de material lignocelulósico (césped)

Los RC se adquirieron del Instituto Tecnológico de Toluca (ITT), se almacenaron en bolsas herméticas y fueron llevados al Laboratorio de Pruebas Piloto (LPP) del Laboratorio de Investigación en Ingeniería Ambiental (LIIA) del ITT, estos residuos fueron secados a temperatura ambiente durante 3 días para posteriormente ser triturados y tamizados por malla No. 60 hasta alcanzar 250 μm . Al césped colectado se le realizó una caracterización fisicoquímica mediante las técnicas que se presentan en la Tabla 2.2, las cuales que se describen a continuación.

Tabla 2.2 Técnicas para la caracterización fisicoquímica de los RC

| Parámetros | Técnica | Referencia |
|---------------------------------|---------------------------|------------------------------------|
| Sólidos Totales (ST) | NMX-AA-016-1984 | SEMARNAT, 2008 |
| Sólidos volátiles totales (SVT) | 2540G de Standard Methods | APHA, 2005 |
| Residuos libres de extractivos | ASTM D1105-56 | Colin-Urieta <i>et. al.</i> , 2007 |
| Holocelulosa | Método del clorito | Wise, <i>et. al.</i> 1946 |
| Lignina | ASTM D1106-56 | Colin-Urieta <i>et. al.</i> , 2007 |
| pH | NMX-AA-025-1981 | SEMARNAT, 2008 |

2.2.1 Determinación de sólidos totales

El contenido de humedad presente en los RC pre-hidrolizados se realizó conforme a la técnica para sólidos totales (ST) descrita en la NMX-AA-016-1984 (SEMARNAT, 2008). Dentro de una balanza analítica, se colocó la cápsula de aluminio de 20 mL a peso constante, donde se depositó con espátula 1 g de la muestra previamente homogenizada y pre-tratada, el peso fue registrado considerando los cuatro dígitos proporcionados por la balanza. Posteriormente las cápsulas fueron introducidas en una estufa a 45 °C por 12 h, concluido el tiempo fueron colocadas en un desecador por 30 minutos para enfriamiento y así proceder a pesarlas se repitió este procedimiento hasta alcanzar peso constante.

El porcentaje de humedad se determinó mediante el uso de la ecuación 2.1 tomando en cuenta que para obtener G_1 y G se debe restar el peso de la capsula de aluminio:

$$\% Hbh = \frac{(G - G_1)}{G} * 100 \quad \text{Ec. 2.1}$$

Dónde:

$\% Hbh$: Porcentaje de humedad base húmeda.

G : Peso de muestra sólida húmeda en g.

G_1 : Peso de muestra sólida seca en g.

2.2.2 Determinación de sólidos volátiles totales

Las muestras que anteriormente fueron analizadas para obtener $\%Hbh$ fueron dispuestas para la determinación de sólidos volátiles totales (SVT) conforme a la técnica 2540G del Standard Methods (APHA, 2005), donde se usaron cápsulas de aluminio de 20 mL con las muestras secas de RC pre-hidrolizados. Se colocaron en una mufla a 550 °C por una hora, concluido el tiempo se reduce la temperatura a 250 °C y son pasadas a la estufa a 105 °C por 30 minutos, posteriormente se depositan en un desecador por otros 30 minutos y se pesan nuevamente, dicho procedimiento se repitió hasta alcanzar peso constante .

El porcentaje de sólidos volátiles totales se determinó mediante el uso de la ecuación 2.2 considerando que para obtener G_1 y G_2 se debe restar el peso de la cápsula de aluminio:

$$\%SVT = \frac{(G_1 - G_2)}{G_1} * 100 \quad \text{Ec. 2.2}$$

Dónde:

$\%SVT$: Porcentaje de sólidos volátiles totales base seca.

G_1 : Muestra seca o sólidos totales.

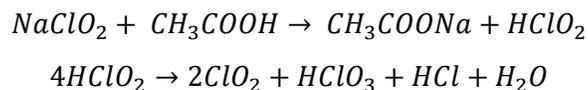
G_2 : Residuos después de calcinación.

2.2.3 Preparación de residuos libres de extractivos

Los residuos una vez triturados y pre-hidrolizados, son dispuestos para realizar la técnica ASTM D1105-56 (Colin-Urieta *et al.*, 2007) el equipo y material utilizado en esta técnica fueron certificados clase A, ya que permite la aproximación casi exacta del volumen requeridos para el disolvente, con ayuda de las pinzas y la espátula se procedió a pesar en una báscula 4.8 g de sustrato base seca dentro de un cartucho WHATMAN calibre 27x80 mm para extracción previamente pesado. El cartucho se colocó en un extractor soxhlet que fue conectado a reflujo 1:2 etanol: tolueno dentro de una mantilla de calentamiento con sensor de temperatura por 4 h. El procedimiento anterior se repitió para realizar un lavado de la muestra con 60 mL de agua destilada, con el cartucho previamente escurrido y seco a temperatura ambiente.

2.2.4 Determinación de holocelulosa

La determinación de holocelulosa (HOL) en las muestras de RC pre-hidrolizados se realizó de acuerdo al método del clorito reportado por Wise *et al.*, (1946) el cual se basa en la acción del dióxido de cloro (ClO_2) cuyos productos de acción acuosa y caliente hacen que la lignina se separe en forma soluble. El ClO_2 se genera utilizando clorito de sodio y ácido acético (Wise *et al.*, 1946).



El material de vidrio utilizado en esta técnica fue certificado clase A; se pesó con ayuda de una espátula 1 g de la muestra seca y libre de extractivos (M_1) se colocó en un matraz Erlenmeyer de boca ancha de 125 mL al que se le añadió una solución de 0.32 g de clorito de sodio (NaClO_2) en 32 mL de agua destilada a la que con anterioridad se le habían adicionado 3 gotas de ácido acético. Los matraces preparados se pusieron a reaccionar en un termo baño con

agua destilada a 75 °C durante 4 h. Cada 30 minutos se agitaron y cada hora se agregaron 3 gotas de ácido acético y 0.32 gramos de clorito de sodio. Una vez concluido el tiempo se dejó enfriar y con un papel filtro WHATMAN 125 mm previamente pesado e identificado se filtró el contenido.

Las muestras separadas fueron lavadas con 200 mL de agua destilada a 75 °C hasta obtener un color pálido, al terminar este procedimiento, se realizó un lavado con 100 mL de acetona ((CH₃)₂CO), se dejó reposar por 10 minutos y posteriormente se colocó el filtro en cápsulas de aluminio de 300 mL previamente pesadas e identificadas se colocaron en la estufa por 72 h a 40 °C. Concluido el tiempo las capsulas se depositaron en un desecador por 30 minutos, finalmente se pesaron rápidamente en una balanza analítica para evitar la hidratación de la HOL. Para el cálculo del %HOL se utilizó la ecuación 2.3.

$$\%HOL = \frac{M_3 - M_2}{M_1} * 100 \quad \text{Ec. 2.3}$$

Dónde:

%HOL: es el porcentaje de holocelulosa en base seca.

M₁: es el peso de la muestra seca libre de extractivos.

M₂: es el peso de la capsula de aluminio y el papel filtro WATHMAN.

M₃: es el peso de la holocelulosa seca en la capsula de aluminio con el papel filtro WHATMAN.

2.2.5 Determinación de lignina

La determinación de lignina (LIG) en los RC pre-hidrolizados, se realizó de acuerdo al método ASTM D1106-56 reportado por Colin-Urieta *et al.* (2007), se pesó 1 g de muestra libre de extractivos (*M₁*) en un matraz de 250 mL se añadieron 2.5 mL de una solución de ácido bromhídrico al 40 % v/v y 25 mL de una solución de ácido sulfúrico al 72% v/v, se dejó reposar por 2 h agitándose cada 30 minutos, concluido el tiempo se agregaron 100 mL de agua destilada y se puso a hervir en una parrilla de calentamiento durante 5 minutos, previamente se pesó e identifico un papel filtro (*M₂*) para cada una de las muestras, con auxilio de un embudo Buchner se filtró la muestra y se lavó con agua destilada a 75 °C hasta alcanzar pH neutro (se midió con papel pH). Se colocó el papel filtro dentro de una capsula de aluminio de 300 mL y se secó a 70 °C por 12 h. Al término se colocaron en un desecador por 30 minutos para enfriarse y se pusieron a peso constante.

Se pesó y se calculó el contenido de LIG mediante la siguiente ecuación:

$$\%LIG = \frac{(M_3 - M_2)}{M_1} * 100 \quad \text{Ec. 2.4}$$

Dónde:

$\%LIG$: es el porcentaje de lignina base seca

M_1 : es el peso de la muestra seca libre de extractivos

M_2 : es el peso del papel filtro seco

M_3 : es el peso de lignina seca en el papel filtro

2.3 Pre-tratamiento del material lignocelulósico

Para la conversión de la materia lignocelulósica se requieren de diferentes etapas para que el proceso sea efectivo dentro de las cuales se encuentran la selección de la biomasa, reducción de tamaño y pre-tratamiento, este último es el más importante para la conversión de los polisacáridos en azúcares fácilmente degradables, en estas etapas se describen las técnicas utilizadas.

2.3.1 Hidrólisis ácida de residuos de césped

El pre-tratamiento de los residuos de césped se llevó a cabo mediante hidrólisis ácida, se realizó por duplicado, como reactores se utilizaron frascos herméticos de 100 mL en donde se pesaron 5 g de los residuos de césped tamizados en malla No. 60 se adicionaron 75 mL de una solución de ácido fosfórico (H_3PO_4) al 5% v/v de concentración, se dejaron reaccionar a 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 h dentro de un horno esterilizador a temperaturas de 115, 130 y 145 °C. Concluidos los tiempos de reacción, las muestras frías fueron filtradas en papel filtro poro medio, la fase líquida fue almacenada y guardada en refrigeración a 4 °C mientras que la fase sólida fue neutralizada e introducida en una estufa a 40 °C por 12 h, posteriormente fue almacenada en frascos herméticos.

2.3.2 Determinación de azúcares reductores en fase líquida

Una vez concluida la hidrólisis los RC fueron filtrados, el hidrolizado se almacenó y posteriormente se realizó lavado a la fase sólida con 10, 30 y 50 mL (L10, L30, L50) de agua destilada a temperatura ambiente. Para la determinación de azúcares se utilizó el método de

ácido dinitrosalicílico (DNS) (Buendia-Díaz, 2013; y Monroy-Soler y Cristancho-Cruz, 2014) el cual se dividió en tres partes:

- a) Preparación del reactivo DNS: Se preparó una solución de 50 mL de hidróxido de sodio 2 N; se pesaron 30 g de tartrato doble de sodio y potasio tetrahidratado (sal de Rochell) y fueron agregados en la solución, finalmente se agregó 1 g de ácido dinitrosalicílico a la solución de NaOH con tartrato de potasio, se agitó con ayuda de un agitador magnético hasta su completa disolución y se aforó a 100 mL.
- b) Preparación de la curva calibración: A partir de una solución de 10 g/L de glucosa se prepararon patrones de 0.25, 0.5, 1.0 hasta 7 g/L en incrementos constantes de concentración de 0.5 g/L, lo mismo se realizó para la curva de calibración de xilosa. Se eligieron como azúcares de referencia a la glucosa y xilosa debido a que han sido reportadas repetidamente en la literatura como monosacáridos patrón en determinaciones de reductores. El estándar con DNS se realizó por triplicado y se determinó su promedio.
- c) Preparación de las muestras: Los lavados de los RC pre-hidrolizados se ajustaron con hidróxido de sodio a un pH mayor de 8, se colocaron 3 mL dentro de un tubo de ensayo y fueron centrifugados a 5,000 rpm durante 5 minutos, se tomó una muestra de 0.5 mL y se hizo reaccionar cada muestra con 0.5 mL de solución DNS en un tubo HACH. Después, las muestras fueron sometidas a baño maría a una temperatura de 90 °C durante 5 minutos, se dejaron enfriar y se añadieron 10 mL de agua destilada, las muestras se agitaron hasta observar homogeneidad, finalmente se leyeron en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 540 nm.

2.3.3 Caracterización de la fase sólida

Los RC pre-hidrolizados fueron lavados con agua destilada hasta ser neutralizados, posteriormente se depositaron en vidrios reloj y se dejaron secar a temperatura ambiente por 24 h. Concluido el tiempo de secado se realizaron las determinaciones fisicoquímicas que se presentan en la Tabla 2.2. Asimismo se realizó un análisis por espectrometría infrarroja en un espectrómetro Varian 640-IR FT-IR con ATR de diamante obteniendo los espectros correspondientes en el intervalo de 4000-500 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y 16 barridos, una vez seca la muestra con ayuda de una espátula se tomó una pequeña porción y se colocó

en el espectro de infrarrojo de tal manera que el diamante fuera cubierto por completo, el cual previamente se limpió con una solución de alcohol etílico al 70% (v/v)..

2.4 Síntesis del zirconato de litio

Para la síntesis del material Li_2ZrO_3 se preparó con la mezcla de carbonato de litio (LiCO_3), óxido de zirconio (ZrO_2) y carbonato de potasio (K_2CO_3), en una relación 1.1:1.0:0.2 (w:w) (Li_2CO_3 : ZrO_2 : K_2CO_3) con base a lo reportado por Halabi *et al.* (2011); Ida *et al.* (2004). Los materiales se pesaron y mezclaron en un mortero de porcelana, posteriormente se le adicionaron 5 mL de acetona y la mezcla se agitó en un periodo de tiempo de 5 y 15 minutos, más adelante, dicha mezcla fue secada a 70 °C durante 2 h y en seguida se calcino a 850 °C durante 12 h. Una vez concluido el tiempo de calcinación la muestra se colocó en una estufa a 120 °C por 30 minutos para disminuir la temperatura de la muestra, posteriormente se colocó en un desecador por 20 minutos, al concluir el tiempo el material cerámico se almacenó en frascos herméticos para su posterior caracterización.

2.5 Caracterización del zirconato de litio

Para verificar que el material sintetizado correspondió al Li_2ZrO_3 la mezcla de polvos se sometió a caracterización que fueron DRX, FT-IR, área superficial / BET multipunto y a pruebas de captura que se describen a continuación.

2.5.1 Difracción de rayos X

La mezcla de polvos se sometió al análisis de DRX, se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), en un equipo Bruker Discover D8 ($\text{Cu } \alpha \lambda=1.54 \text{ \AA}$), intensidad de 20 mA, voltaje de 35 kV, a una velocidad de barrido de 10° (2 θ)/min y en un intervalo de 2 θ de 10° a 70° con base a Marínez-dlCruz y Pfeiffer (2010). Los productos se identificaron utilizando el software Diffrac Suite Eva y la base de datos PDF (Powder Diffraction File).

2.5.2 Espectrometría de infrarrojo con transformada de Fourier

Se realizó un análisis de FTIR en un espectrómetro Varian 640-IR FT-IR con ATR de diamante obteniendo los espectros correspondientes en el intervalo de 4000-500 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y 16 barridos, una vez seca la muestra con ayuda de una espátula se

tomó una pequeña porción y se colocó en el espectro de infrarrojo de tal manera que el diamante fuera cubierto por completo, el cual previamente se limpió con una solución de alcohol etílico al 70% (v/v).

2.5.3 Área superficial / BET multipunto

Para el análisis de área superficial, se colocó un peso conocido de Li_2ZrO_3 en celdas previamente pesadas, el pre-tratamiento se realizó en un equipo Belprep II, en condiciones de $150\text{ }^\circ\text{C}$ por 27 h para liberar la humedad presente en el material cerámico, con base a lo reportado por Ida et al. (2004); Marínez-dlCruz y Pfeiffer (2010), concluido el tiempo se monitorearon en un equipo Belsorp max para determinar el área superficial, previamente se colocó nitrógeno líquido esta técnica es llamada adsorción de nitrógeno a 77 K.

2.5.4 Pruebas de captura

Una vez obtenido y sintetizado el zirconato, se procedió a empaquetar tubos de vidrio de 6 mm de diámetro con un gramo de Li_2ZrO_3 previamente seco, posteriormente se registró el peso y el tubo se conectó por un extremo a un tanque de gas con una mezcla al 50:50 de $\text{CO}_2\text{-CH}_4$ y por el otro extremo se conectó a un sistema de desplazamiento con solución salmuera como se muestra en la Figura 2.2. La mezcla de gases se hizo circular en un intervalo de tiempo comprendido entre 1 y 6 h con diferencia de una hora entre cada uno, el flujo de gas se mantuvo en 90 mL/h, concluido el tiempo se desconectaron los tubos del sistema y se procedió a registrar el peso final para determinar el porcentaje de captura de CO_2 que presenta el material por diferencia de peso.

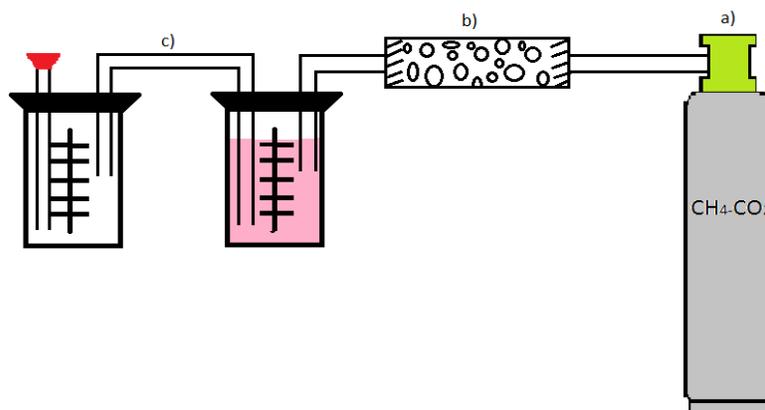


Figura 2.2 Diagrama para las pruebas de captura, a) tanque de mezcla de gases, b) columna empacada con Li_2ZrO_3 , c) sistema de medición de gases por desplazamiento.

2.6 Montaje y operación de biorreactores para la obtención de biohidrógeno

El montaje y operación de biorreactores escala laboratorio se realizó por duplicado se utilizaron frascos de 160 mL, a los que se les adicionó 80 mL de azúcar hidrolizado con la concentración de azúcares más alta y se dejaron fermentar con los microorganismos propios de los RC, considerados como blancos (B), posteriormente se realizó la adición de los inóculos de lodos residuales, estiércol de caballo y lodos-estiércol, a los que se les determinó ST. LIG, HOL y SVT conforme a la normatividad (NMX-AA-034-SCFI-2015) y la demanda química de oxígeno (DQO) mediante la técnica aprobada por la agencia para la protección del ambiente de EE.UU. (USEPA) (HACH, 2000) descrita en el anexo A.

- a) Lodos (L) residuales fueron colectados de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales (PTAR) de Jocotitlán en el Estado de México. Posteriormente se adicionaron 13 mL de lodos residuales como inóculo a los frascos herméticos y se dejaron fermentar.
- b) Estiércol de equino (E) se recolectó de la rancharía “Las fuentes Yече” ubicada en el Municipio de Jocotitlán Estado de México, procurando que la dieta básica de los caballos fuera césped, posteriormente se adicionaron 13 mL como inóculo para favorecer la fermentación.
- c) La mezcla de lodo-estiércol (L-E) se realizó adicionando 6.5 mL de lodos residuales y 6.5 mL de estiércol para obtener una relación de 50:50 y mantener una concentración de DQO no mayor a 6500.

Posteriormente a los biorreactores se añadieron 13 mL de medio mineral RAMM descrito en el Anexo B, debido a que con el medio mineral RAMM asegura una adecuada dotación de nutrimentos, se tienen 123.85 mg P/L y 138.7 mg N/L alimentado y considerando que las concentraciones de DQO deben de estar entre 1000 a 8000, todo lo anterior con base a lo reportado por Bakonyi *et al.* (2013); Khan *et al.* (2017); Patel *et al.* (2016).

Acto seguido se burbujearon las muestras con gas N₂ durante 3 minutos para desplazar el O₂ existente y generar un medio anaeróbico en el sistema (Terreros, 2014), posteriormente se conectaron a un sistema de desplazamiento de solución salmuera que antes se conectó a un tubo con Li₂ZrO₃. Se dejaron fermentar por tiempos de 5 a 25 días con incrementos de 5 días entre cada muestra, finalmente se midió pH, desplazamiento de biogás y temperatura.

- a) Temperatura y pH: la temperatura del laboratorio se midió diariamente y se controló con un calefactor y dos calentadores logrando temperatura de 30-35 °C. Para medir el pH, con ayuda de una jeringa y cuidando de no introducir aire se recolectaron 3 mL de muestra con mucho cuidado se depositaba en un frasco de 15 mL de capacidad y con un potenciómetro previamente calibrado se midió pH y temperatura, después se colectó de nuevo la muestra y se introdujo en el reactor correspondiente para no perder el volumen inicial del reactor.
- b) Biogás: la medición de biogás se realizó diariamente, el sistema se conectó a una jeringa invertida introducida en solución salmuera a pH 4, utilizando rojo de metilo como indicador, se registró el volumen desplazado y con ayuda de una jeringa cuidando de no introducir aire al sistema se extrajo el biogás acumulado.

Al finalizar la fermentación se realizó la caracterización fisicoquímica de la fase sólida descrita en la sección 2.2 y a la fase líquida se le determinaron las técnicas de ST, LIG, HOL, DQO y SVT de acuerdo a la NMX-AA-034-SCFI-2015.

2.7 Purificación de biohidrógeno

Los biorreactores fueron directamente conectados a un tubo de 6 mm de diámetro empaquetado con 1 g de Li_2ZrO_3 como se muestra en la Figura 2.3 previamente pesado y cubierto con una película plástica para evitar variaciones en el peso final.

Las muestras de biogás se colectaron con ayuda de una jeringa, se tomaron 5 mL de muestra y se inyectaron en viales de 15 mL a los que previamente se les adicionaron 10 mL de solución salmuera a pH 4, se les colocó un suba-seal para facilitar la inyección y toma de muestra, posteriormente se extrajo con una jeringa el volumen de aire presente en el vial y finalmente se inyectaron los 5 mL de biogás colectados de los biorreactores.

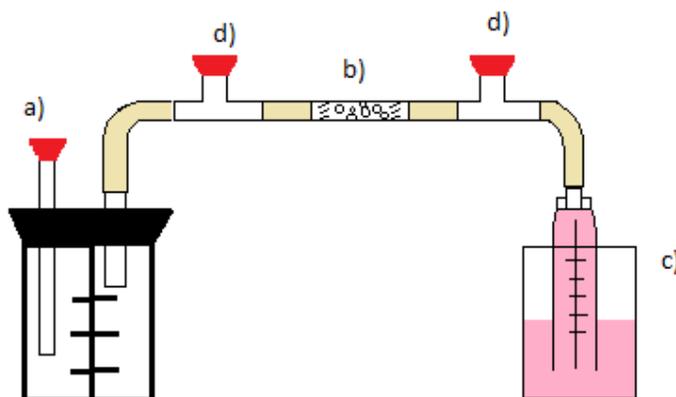


Figura 2.3 Biorreactor conectado a Li_2ZrO_3 , a) entrada de N_2 y medición de pH, b) Tubo empaquetado con Li_2ZrO_3 , c) Sistema de captación de biogás, d) Toma de muestra de gases.

Finalmente y por diferencia de peso se calculó el porcentaje de adsorción del Li_2ZrO_3 retirando del tubo la película plástica antes colocada y con guantes para no afectar el peso final del tubo se colocó con cuidado en una balanza analítica y se registró su peso.

2.8 Caracterización de biogás por cromatografía de gases

Las determinaciones de CG se realizaron en la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) campus Azcapotzalco, con ayuda de una jeringa de 10 mL se inyectaron 5 mL de biogás anteriormente colectado evitando que la solución salmuera donde se había almacenado la muestra se introdujera en el cromatógrafo con dos detectores TCD, con las columnas empacadas con número de parte CP81025, CP81071, CP81072 y CP81073 con composiciones éster acrílico, estireno/divinileter, dimetacrilato de etinolglicol y estireno/divinilbenceno respectivamente. Se utilizó como gas de arrastre nitrógeno, las muestras se analizaron durante 8 minutos utilizando el programa M2 registrado en el equipo, leyendo las muestras antes y después de pasar por tubo empaquetado con Li_2ZrO_3 y se cuantificó con la curva de calibración descrita en el Anexo C.

Capítulo 3 RESULTADOS

En este capítulo se presentaran los resultados obtenidos mediante la experimentación planteada, se muestra la caracterización fisicoquímica de la materia prima, determinación de azúcares, la síntesis del Li_2ZrO_3 y la purificación de biohidrógeno.

3.1 Caracterización de la materia prima

La caracterización de la materia prima se llevó a cabo en dos apartados en el primero se realizó la caracterización de la materia lignocelulósica donde se describe la importancia de la técnica de remoción de lípidos y la segunda se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica posterior a la hidrolisis ácida descritas a continuación

3.1.1 Caracterización fisicoquímica de la materia lignocelulósica

Una vez triturada y tamizada en malla 60 la muestra de césped adquirida del ITToluca, fue sometida a la determinación de residuos libres de extractivos reportada por Colin-Urieta (2007) que mediante la mezcla de solventes remueve los lípidos presentes en el material lignocelulósico, permitiendo obtener un valor exacto en la cantidad de lignina, celulosa y hemicelulosa (Roy y Kumar, 2013; Singh *et al.*, 2017).

Debido a que los RC se encuentran dentro de los materiales lignocelulósicos se determinó el efecto que tiene la técnica de extractivos en los RC, realizando un análisis comparativo con y sin extractivos al césped sin tratamiento (RCST) su caracterización fisicoquímica se presenta en la Tabla 3.1; donde dichos resultados muestran que no existen diferencias significativas entre las muestras para las técnicas de ST, LIG, HOL y los SVT.

Tabla 3.1 Parámetros fisicoquímicos del césped sin tratamiento.

| Determinación | Sin extractivos (%) | Con extractivos (%) |
|---------------------------------|---------------------|---------------------|
| Humedad | 5.12 | 5.18 |
| Sólidos Volátiles Totales (SVT) | 13.10 | 13.02 |
| Holocelulosa (HOL) | 54.61 | 54.01 |
| Lignina (LIG) | 22.67 | 22.43 |

3.1.2 Hidrólisis ácida de los residuos de césped

Previamente a la caracterización fisicoquímica y como se mencionó anteriormente las muestras de RC se sometieron a pre-tratamiento ácido (RCCT) con H₃PO₄ al 5% (v/v) para determinar un análisis comparativo de la técnica con y sin extractivos a temperaturas de 115 y 130 °C en los tiempos 0.5, 1.5 y 3.0 h, es decir el tiempo inicial, medio y final, con base a lo reportado en la literatura (Da Silva *et al.*, 2015; Ramos *et al.*, 2015; Roy y Kumar, 2013), finalmente se determinó humedad, SVT, HOL y LIG en la fase sólida de los RCCT, muestran en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2 Parámetros fisicoquímicos del césped posterior al tratamiento ácido.

| Determinación | Temperatura (°C) | Tiempo (h) | Sin extractivos (%) | Con extractivos (%) |
|---------------------------|------------------|------------|---------------------|---------------------|
| Humedad | 115 | 0.5 | 5.02 | 5.19 |
| | | 1.5 | 5.02 | 5.17 |
| | | 3.0 | 5.01 | 5.18 |
| | 130 | 0.5 | 4.91 | 4.71 |
| | | 1.5 | 5.84 | 5.88 |
| | | 3.0 | 5.00 | 5.01 |
| Sólidos Volátiles Totales | 115 | 0.5 | 10.64 | 10.78 |
| | | 1.5 | 11.88 | 11.08 |
| | | 3.0 | 12.69 | 12.25 |
| | 130 | 0.5 | 11.03 | 11.06 |
| | | 1.5 | 10.57 | 10.43 |
| | | 3.0 | 12.72 | 12.70 |
| Holocelulosa | 115 | 0.5 | 52.31 | 52.21 |
| | | 1.5 | 52.09 | 52.12 |
| | | 3.0 | 52.79 | 51.81 |
| | 130 | 0.5 | 54.52 | 52.49 |
| | | 1.5 | 55.71 | 55.95 |
| | | 3.0 | 55.04 | 51.30 |
| Lignina | 115 | 0.5 | 20.17 | 20.44 |
| | | 1.5 | 21.64 | 21.85 |
| | | 3.0 | 21.17 | 21.57 |
| | 130 | 0.5 | 21.52 | 21.74 |
| | | 1.5 | 22.21 | 22.21 |
| | | 3.0 | 22.46 | 22.83 |

De manera general, se observa muy poca variación en la determinación de humedad para las muestras con y sin extractivos, sin embargo en las muestras anteriores al realizarse los SVT se presenta una ligera variación en el tiempo 3.0 h para ambas temperaturas, es decir que la cantidad de lípidos presentes en los RC no presenta mayor influencia en la determinación de los parámetros, el mismo comportamiento se presenta para HOL es decir que al comparar las muestras con y sin extractivos no presentaron diferencias significativas para las temperaturas de 115 y 130 °C y por otro lado para la LIG la variación es ligeramente mayor, lo que indica que al realizarse la técnica de extractivos descrita en el apartado 2.2.3, no afecta los resultados de la caracterización fisicoquímica de los RCCT, sin embargo las variables de temperatura y tiempo del tratamiento favorecen la degradación de la materia. (Bernabé-Santiago *et al.*, 2013; Bonilla y Moya, 2014; Honorato Salazar y Hernández Pérez, 1998).

Los resultados obtenidos en este trabajo son adecuados para llevar a cabo el tratamiento ácido, ya que el contenido de SVT es superior al 15% en peso puede neutralizar parte del ácido que se usa en el pretratamiento, generando de esta manera la baja degradación de LIG y HOL.

Por otra parte, se determinó la cantidad de HOL presente en los RC obteniendo los resultados mostrados en la Tabla 3.2. Estos resultados presentaron diferencia entre las muestras con extractivos y sin extractivos de 1.55 y 1.13% para los tratamientos de 115 y 130 °C con respecto al tiempo máximo de hidrólisis (3.0 h) siendo comparadas con las muestras de RCST respectivamente, es decir, que conforme la temperatura aumenta el porcentaje de HOL disminuye. Se realizó el análisis a los RCST obteniendo 55% y 54% de HOL para las muestras de extractivos y sin extractivos respectivamente, lo que quiere decir que el realizar la técnica de extractivos antes de determinar la técnica de HOL no afecta los resultados obtenidos.

La HOL representa la celulosa y hemicelulosa presente en los RC. Los resultados son menores a los que presenta Prado-Martínez *et al.* (2012) que obtiene 78.86% de HOL para el rastrojo de maíz, que es sometido a tratamiento con ácido sulfúrico (H₂SO₄), el cual resulta ser un ácido fuerte que permite un mayor rendimiento de hidrólisis. Por otra parte López *et al.* (2010) realizaron un estudio similar usando tallos de girasol en tratamiento ácido con HCl, obteniendo un 76.96% de HOL, aunque este material se encuentra clasificado dentro de los residuos de jardinería presenta una mayor cantidad de LIG a comparación con los de RC.

Una vez realizada la técnica de extractivos, se determinó que no existen diferencias significativas en la caracterización fisicoquímica en los RC, sin embargo y debido a que el

tratamiento ácido y el incremento de temperatura según lo reportado por Da Silva *et al.*, (2015); Ramos *et al.*, (2015); Roy y Kumar, (2013) favorece la fragmentación del material lignocelulósico se anexó la temperatura de 145 °C para las pruebas siguientes.

a) Humedad y sólidos volátiles totales

Una vez realizada la técnica de extractivos anteriormente descrita, se determinaron los SVT y el contenido de ST obteniendo los resultados que se presentan en la Figura 3.1 a diferentes tiempos. Se puede observar que la humedad que contienen las muestras es de 4 a 10% en peso, esto se puede atribuir a la ruptura y formación de nuevos enlaces de su estructura, provocados por el pre-tratamiento ácido de los RC y permite el contacto con el aire. Por otra parte en la Figura 3.1 (b) se puede observar que la temperatura aplicada a las muestras (115, 130 y 145 °C) no influye en la determinación de SVT, para ninguna de las tres temperaturas este comportamiento puede ser atribuido al tiempo de hidrólisis lo que quiere decir que la degradación de la materia lignocelulósica se ve afectada por el tiempo, debido a que se logra alcanzar un punto máximo a las 0.5 h y posteriormente se logra una lectura estable en los sólidos y los valores resultan ser muy similares, debido a que la materia lignocelulósica se degrada lentamente aun al incrementar la temperatura (Saha, 2003). Comparando los resultados obtenidos con RCST de la Tabla 3.1, en temperaturas de 115, 130 y 145 °C la cantidad de SVT presentes en la Figura 3.1 (b) son mayores a los RCST es decir la cantidad de SVT presente en los RCCT aumentan, debido a que la LIG presente en la materia lignocelulósica es menor comparada con otros residuos (Akpınar *et al.*, 2010; Lenihan *et al.*, 2010; López-Linares *et al.*, 2013; Taherzadeh y Karimi, 2008).

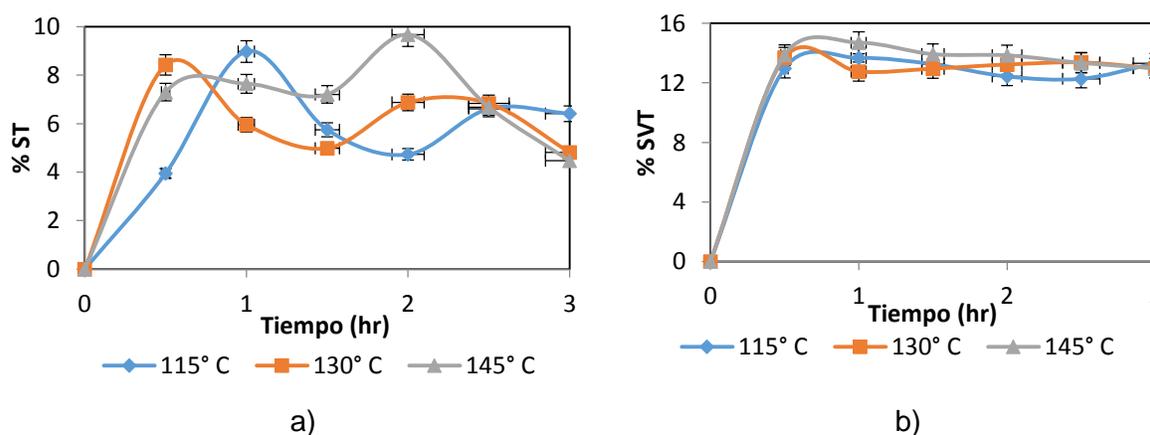


Figura 3.1 Determinaciones fisicoquímicas de los RCCT, a) porcentaje de ST; b) porcentaje de SVT

b) Lignina

Dentro de la caracterización fisicoquímica para RCCT se determinó el contenido de lignina que se muestra en la Figura 3.2, el cual se encuentra dentro del rango de 10-30% que fue reportado por Saratale *et al.* (2008) y Sawatdeenarunat *et al.* (2015), el tratamiento ácido realizado a los RC da como resultado un aumento de 3.2% en concentración de LIG en los RCST con respecto a los RCCT, es decir que conforme se lleva a cabo la hidrólisis se reduce la concentración de LIG en el material, lo que permite incrementar los rendimientos de glucosa y xilosa, ya que una vez que la LIG se ha fragmentado, permite la liberación de la celulosa y hemicelulosa (Jönsson *et al.* 2013; Kalia *et al.* 2011; Ren *et al.* 2009; Singh *et al.* 2014).

Se observa que la cantidad de LIG en las muestras de RCCT cambian con respecto al tiempo de reacción, no se aprecia un equilibrio aparente según los tiempos empleados de 0.5 a 11.5 h sin embargo posterior a las 2.0 h la cantidad de LIG comienza a estabilizarse, esto se puede deber a la homogeneidad de la muestra; en el trabajo de Moya y Duran (1992), mencionan que la variación en el porcentaje de LIG se debe a la absorción de humedad del ambiente y la pérdida de peso es por el incremento de temperatura.

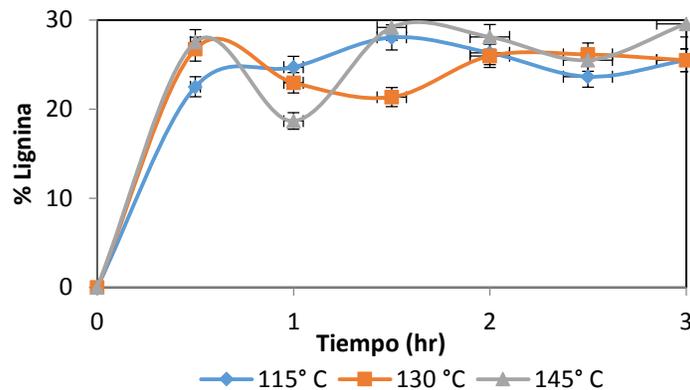


Figura 3.2 Composición de lignina en los RCCT a diferentes temperaturas.

De igual forma, la cantidad de LIG reportada para las muestras de RCCT a tres temperaturas diferentes indican que las muestras de 130 °C representan una degradación casi constante después de 2 h de tratamiento, esto prueba que la LIG es térmicamente estable y su degradación se llevó a cabo lentamente, según lo reportado por Khan *et al.* (2017), que probaron diferentes sustratos para la producción de azúcares fermentables para la obtención de biohidrógeno.

Por otra parte, los resultados obtenidos también hacen referencia a Da Silva *et al.* (2015) que reporta un porcentaje de 10-30% de LIG para el césped, lo cual permite comparar los porcentajes obtenidos en este trabajo que se encuentran en un rango de 18-29%, determinando que se encuentran dentro del rango reportado; sin embargo, las muestras de 145 °C se encuentran cercanas al 30% de composición de LIG, lo que significa que entre más tiempo de maduración tenga el césped, mayor será la cantidad de LIG que contenga (Chen *et al.* 2016).

c) Holocelulosa

La cantidad de holocelulosa presente en el césped, determinada a diferentes temperaturas, se muestra en la Figura 3.3. Se observa que el tratamiento térmico realizado a 115, 130 y 145 °C permite la degradación de la hemicelulosa y celulosa, componentes principales del césped; sin embargo, el comportamiento de la degradación no es definido debido a que las temperaturas de tratamiento no logran marcar un compartamiento, ya que los porcentajes crecen y decrecen sin tener una tendencia definida. Al mismo tiempo se identifican puntos posteriores a la 1.5 h donde la cantidad de HOL aumenta, esto se debe a que la LIG se encuentra presente ya que su degradación es más lenta debido a que es un polímero hidrocarbonado complejo que posee constituyentes aromáticos y alifáticos (Kamireddy *et al.* 2013; Ramos *et al.* 2015).

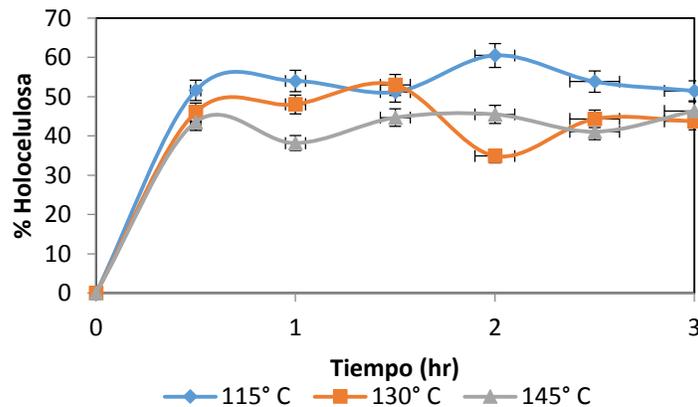


Figura 3.3 Cantidad de holocelulosa presente en los RCCT a diferentes temperaturas

Comparando los tratamientos en las temperaturas de 115 y 130 °C, se observa que la tendencia en la degradación no es definida en todos los puntos, sin embargo la diferencia en el punto de 1.5 h para 115 °C es de 6% y 3% para 130 °C con respecto a los RCST. No

obstante, cabe mencionar que para la temperatura de 145 °C en el mismo punto es del 18%, debido a que entre mayor sea la temperatura del tratamiento ácido, se favorece la degradación de la HOL, aunque al mismo tiempo incrementa la producción de hidroximetil furfural, el cual se produce a partir de la degradación de la hemicelulosa, provocando que se genere un componente inhibidor de degradación enzimática, (Carvalho *et al.*, 2016).

Por otro lado, para la temperatura de 130 °C se observa que la degradación no alcanza un equilibrio aparente con respecto al peso inicial del césped; debido a que estos resultados comparados con la cantidad de LIG obtenida posterior a la hidrólisis, demuestra que la degradación de la HOL influye directamente en la liberación de monosacáridos al ser sometido a un tratamiento ácido (Carvalho *et al.* 2016; Roy y Kumar 2013; Sawatdeenarunat *et al.* 2015).

En el estudio realizado por Sawatdeenarunat *et al.* (2015) se obtiene una producción del 47% de hemicelulosa y del 30% de celulosa para residuos de girasol, al comparar este sustrato con el césped resulta ser mas rígido, pero presenta una mayor cantidad de LIG, lo que ayuda a demostrar que entre mejor sea la degradación de la celulosa se obtendrán mayores rendimientos en la producción de biogás, ya que esto se ve favorecido por la capacidad de conversión de polisacáridos a monosacáridos, es decir, que el tratamiento aplicado a los residuos de césped en este trabajo trae consigo una alta remoción de celulosa para el tratamiento de 130 °C, ya que se puede observar que la degradación de la celulosa empieza a decrecer posterior a las 2.5 h de tratamiento térmico.

3.2 Azúcares fermentables

Para determinar la eficiencia de degradación de los RC posterior a la hidrólisis ácida con H_3PO_4 a diferentes tiempos, se determinó la cantidad de azúcares mediante la técnica de DNS, se consideraron como azúcares de referencia a la glucosa y xilosa debido a que son monosacáridos presentes en la materia lignocelulósica.

3.2.1 Curva de calibración

La curva de calibración obtenida a partir de los azúcares presentó un alto valor del coeficiente de correlación R^2 0.993 y 0.990 para glucosa y xilosa respectivamente lo que garantiza el ajuste de los datos dándole validez a la curva de calibración y permite la medición de los datos. La Figura 3.4 muestra las curvas de calibración obtenidas utilizando glucosa y xilosa como azúcares de referencia.

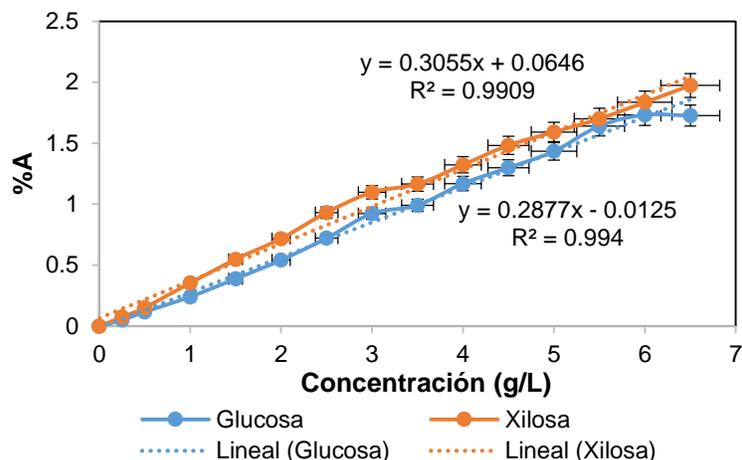


Figura 3.4 Curvas de calibración con azúcares de referencia

3.2.2 Determinación de azúcares en los RC hidrolizados

En la Figura 3.5 se observa que la producción de azúcares se detecta desde antes de alcanzar los 15 minutos de reacción, ésto puede atribuirse a la presencia de monosacáridos como glucosa y xilosa en los RC, los cuales fueron solubilizados al contacto con el tratamiento ácido. Se obtuvo un rendimiento máximo de glucosa a las 2 h a 115 °C, posteriores al inicio del pre-tratamiento, generando 13 g de Glucosa/L considerando la suma de los lavados L10, L30 y L50, ya que corresponden al mismo tiempo de hidrólisis. De acuerdo a lo reportado por Lenihan *et al.* (2010), el valor resulta menor, ya que en dicho trabajo se obtienen 55.2 g/L en 8 minutos de tratamiento ácido, esta diferencia de rendimiento en tiempo se atribuye a que el origen de los sustratos es distinto, en este estudio se utilizan RC mientras que en el reportado se usó cáscara de papa que resulta ser un material más noble, debido a la presencia de almidón en su estructura.

Por otra parte, en el estudio realizado por Cao *et al.* (2009) cuantificaron la producción de azúcares reductores a partir de rastrojo de maíz utilizando un tratamiento con H₂SO₄ diluido (2.13% v/v) a 121 °C, obteniendo un total de 12.23 g/L al término de su proceso (105 min). Aunque la temperatura favorece la hidrólisis al mismo tiempo, los monosacáridos como la xilosa tienden a oxidarse formando hidroximetil furfural en temperaturas mayores a 100 °C, disminuyendo la producción de azúcares. Cabe señalar que la presencia de HOL es mayor en los RC con respecto al rastrojo de maíz, es decir que la cantidad de Glucosa y Xilosa es de

13.00 g/L y 11.37 g/L respectivamente para los RC, obteniendo un rendimiento más alto de azúcares con el tratamiento ácido empleado para 115°C.

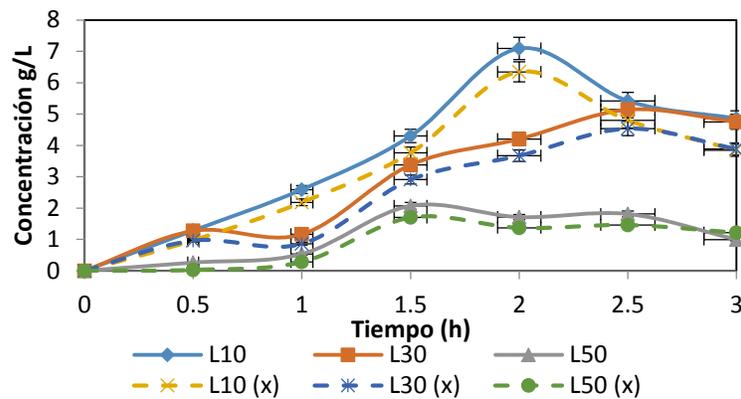


Figura 3.5 Rendimientos de glucosa y xilosa (x) de RCCT a 115 °C

Aunque los rendimientos de glucosa y xilosa incrementan con respecto al tiempo, se observa que a partir de las 3 h las concentraciones de azúcares disminuyen, aunque en particular en el L10 el rendimiento máximo se observa a las 2 h y posteriormente decrece, para L30 al cumplirse las 2.5 h se obtiene el rendimiento máximo y para L50 se obtiene a 1.5 h, aunque es importante mencionar que la concentración de xilosa es menor que la de glucosa en todos los casos excepto para las 3 h, donde los monosacáridos siguen decreciendo, obteniendo un rendimiento máximo de 11.37 g de xilosa/L y 13 g de glucosa/L para el tiempo de 1.5 h, este bajo rendimiento se atribuye a la inestabilidad que presenta dicho monómero a temperaturas mayores de 100 °C, debido a que esto favorece la descomposición de la xilosa en furfural, componente que inhibe el crecimiento de los microorganismos utilizados en el proceso de fermentación, sin embargo es importante determinar el tiempo óptimo en la producción de azúcares, para que de esta manera se obtenga el rendimiento máximo y permitir el buen desarrollo microbiano (Wang *et al.* 2011).

Para el tratamiento realizado a los RC en temperatura de 130 °C los resultados se muestran en la Figura 3.6. Se observa solo un incremento del 0.68% de glucosa y un decremento del 2.63% de Xilosa con respecto al tratamiento de 115 °C, obteniendo un rendimiento máximo a las 1.5 h para todos los casos y al cumplirse las 2 h la concentración de azúcares disminuyó; es importante mencionar que la temperatura de 130 °C favorece la degradación del material lignocelulósico obteniendo una concentración de glucosa ligeramente mayor, aunque para la xilosa la temperatura resulta ser un factor importante que provoca que la concentración

disminuya (Wang *et al.* 2011). Por otro lado, el incremento en la concentración de glucosa de debe a la degradación de la celulosa, lo que trae como resultado que su hidrólisis sea más lenta y por lo tanto requiera más tiempo de contacto que permita el incremento en los rendimientos de glucosa. Con respecto a la producción de xilosa durante los tratamientos a 115° y 130° C, éstos resultan inferiores comparados con el trabajo realizado por Sánchez *et al.* (2013) que obtiene un rendimiento máximo de 22.82 g xilosa/L al minuto de contacto a 160 °C en concentración de 0.5% v/v de H₂SO₄ para residuos de paja de trigo, lo que indica entre menor sea el porcentaje de concentración de ácido del tratamiento ácido, aunque el H₂SO₄ presenta mejores rendimientos de hidrolisis en comparación con el H₃PO₄, este último es menos fuerte que otros ácidos y reduce la producción de inhibidores del crecimiento de microorganismos, además de que las trazas de este ácido que puedan quedar adheridas a los residuos pueden ser aprovechadas como medio mineral por los microorganismos (Avci *et al.*, 2013; Taherzadeh y Karimi, 2008).

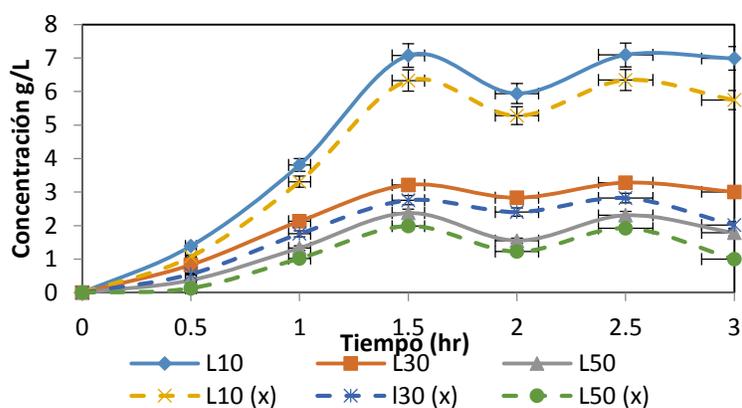


Figura 3.6 Rendimientos de glucosa y xilosa (x) de RCCT a 130 °C.

Los rendimientos de azúcares para las muestras de RCCT a 145° C se muestran en la Figura 3.7, donde puede observarse que se tiene mayor generación de azúcares en el tiempo de 2 h solo para la muestra L30, ya que para L10 el crecimiento es continuo conforme transcurre el tiempo obteniendo, el máximo a 2.5 h y L50 obtiene el rendimiento máximo a las 2 h y posteriormente es inestable, generando 17 g/L y 14 g/L de glucosa y xilosa respectivamente, ésto es debido al aumento de temperatura para el tiempo de reacción, lo que favorece la degradación de la celulosa y la hemicelulosa. Se muestra como decrece la producción de azúcares, ésto puede ser por la deshidratación de la xilosa en furfural (Cheng *et al.* 2011; Garrote *et al.* 2001; Kamireddy *et al.* 2013; Ramos *et al.* 2015).

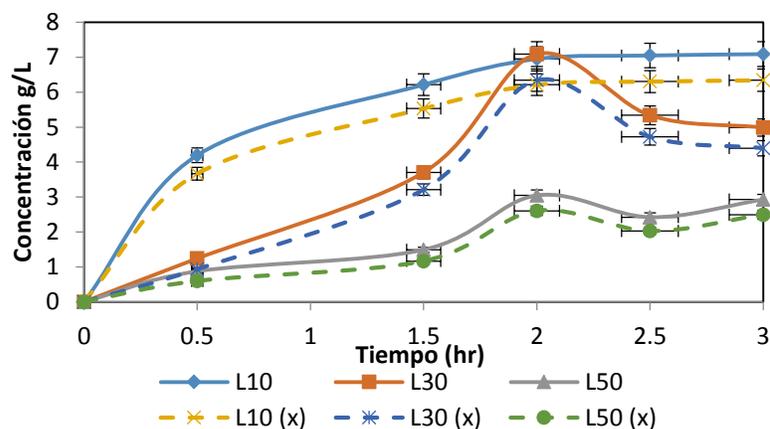


Figura 3.7 Rendimientos de glucosa y xilosa (x) de RCCT a 145°.

En la Tabla 3.3 se resumen los resultados obtenidos de la hidrólisis a 115, 130 y 145 °C, donde se muestran los tiempos óptimos en que se obtienen las concentraciones máximas de glucosa y xilosa al sumar los lavados de L10, L30 y L50. Se presentan los rendimientos más altos para este trabajo con el tratamiento a 145 °C, con los resultados el pre-tratamiento de hidrólisis a 2 h, estos resultados demuestran que la disminución en el peso de LIG antes mencionada incrementa la conversión de azúcares para la producción de biohidrógeno, debido a que lo anterior favorece la degradación microbiana de los azúcares producidos en el tratamiento ácido (Avci *et al.*, 2013; Datar *et al.*, 2007; López-Linares *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2013).

Tabla 3.3 Rendimientos máximos de glucosa y xilosa para las diferentes temperaturas

| Temperatura (°C) | Tiempo óptimo (h) | Concentración máxima de glucosa (g/L)* | Concentración máxima de xilosa (g/L)* |
|------------------|-------------------|--|---------------------------------------|
| 115 | 1.5 | 13.00 | 11.37 |
| 130 | 1.5 | 13.09 | 11.07 |
| 145 | 2.0 | 17.00 | 14.00 |

*Suma de los lavados L10, L30 y L50 en el mismo tiempo

Es importante mencionar que aunque los resultados son favorables para 145 °C, la producción de inhibidores se lleva a cabo a mayor temperatura, si bien el H₃PO₄ empleado en este trabajo disminuye la producción de estos inhibidores en la temperatura de 130 °C la hidrólisis se puede

detener a 1.5 h obteniendo un rendimiento alto de 13.09 g/L y 11.07 g/L para glucosa y xilosa permitiendo optimizar el proceso para la producción de biohidrógeno.

3.3 Zirconato de litio

Una vez sintetizado el Li_2ZrO_3 se realizaron las técnicas de caracterización para determinar si el tiempo de agitación es una variable que interfiera en la síntesis del material, estos resultados se muestran a continuación.

3.3.1 Difracción de rayos X

Los resultados de la DRX se presentan en la Figura 3.8, aquí se incluyen los picos del Li_2CO_3 (monoclínico), ZrO_2 (monoclínico) y del Li_2ZrO_3 . El análisis realizado por DRX, muestra que el Li_2ZrO_3 mezclado por 5 minutos coincide con la tarjeta PDF 76-1150 obteniendo $\text{Li}_{1.8}\text{ZrO}_3$, mientras que la tarjeta PDF 33-0843 corresponde a la muestra mezclada por 15 minutos dando como resultado Li_2ZrO_3 , no se observan diferencias significativas entre los picos de ambas muestras en cuanto a la intensidad y ubicación de los picos, lo que significa que no hay cambios estructurales importantes al variar el tiempo de agitación de los reactivos para obtener el Li_2ZrO_3 lo que quiere decir que no hay un cambio estructural significativo asociado al tiempo de agitación, sin embargo fue posible identificar la estructura cristalina y permite verificar que el material sintetizado corresponde al Li_2ZrO_3 .

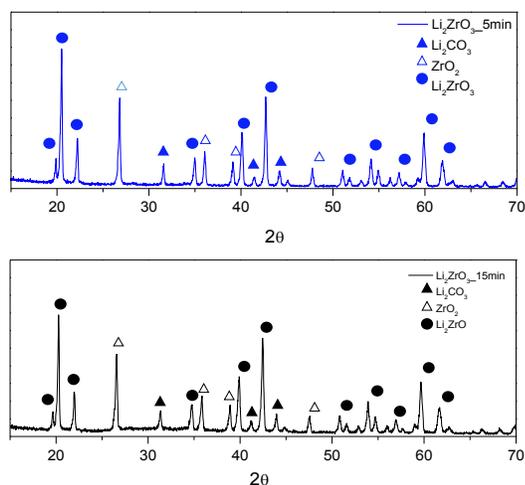


Figura 3.8 Difractogramas del zirconato de litio.

3.3.2 Área superficial

Se determinó el área superficial mediante el modelo BET (A_{SBET}) obteniéndose los resultados mostrados en la Tabla 3.4. Según los datos se observan ligeras variaciones para el volumen de poro en tiempos de agitación de 5 y 15 min, mientras que para el diámetro de poro no hay diferencias. Estos resultados confirman lo que se observa en las isotermas de adsorción, debido a que no existen afectaciones asociadas al tiempo de agitación entre ambas muestras, obteniendo el mismo resultado que en DRX, por lo que se concluye que los tiempos de agitación no son una variable de influencia en la obtención del Li_2ZrO_3 empleado en este trabajo.

Tabla 3.4 Parámetros del Li_2ZrO_3 en diferentes tiempos de agitación por análisis BET

| Muestra | A_{SBET} m^2/g | Volumen de poro (cm^3/g) | Diámetro de poro (nm) |
|-----------------------------------|-------------------------------------|---|--------------------------|
| $(\text{Li}_2\text{ZrO}_3)$ 5min | 0.49305 | 0.00074 | 6.0255 |
| $(\text{Li}_2\text{ZrO}_3)$ 15min | 0.42069 | 0.00062 | 5.9001 |

El área superficial obtenida de 0.49 y 0.42 m^2/g para los tiempos de 5 y 15 min respectivamente para este trabajo son semejantes a los obtenidos por *Ida et al.* (2004) quien utilizó las mismas relaciones de Li_2CO_3 , ZrO_2 y K_2CO_3 (1.1:1.0:0.2) calcinando a 850 °C por 12 h obteniendo 0.5 m^2/g de área superficial. Sin embargo, para el trabajo reportado por *Marínez-dlCruz y Pfeiffer*, (2010) se obtiene un área mayor de 0.9 m^2/g , la diferencia entre estas áreas puede ser atribuida a que la relación de Li_2CO_3 , ZrO_2 y K_2CO_3 fue de 1.1:1.0:0.1 ya que utilizaron la misma temperatura y tiempo de calcinación.

Las isotermas de las muestras de Li_2ZrO_3 a 5 min y Li_2ZrO_3 a 15 min se observan en las Figuras 3.9 y 3.10, ambas gráficas son muy similares y corresponden a las isotermas del tipo II, que es el modelo que se utiliza para describir adsorbentes no porosos, llevándose a cabo la adsorción en la superficie del sólido (*Marínez-dlCruz y Pfeiffer*, 2010).

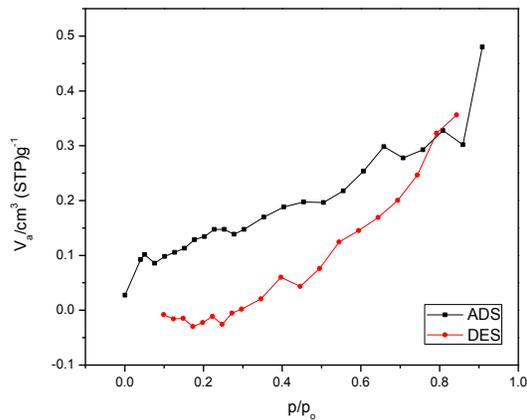


Figura 3.9 Isotherma adsorción/desorción del Li_2ZrO_3 mezclada por 5 minutos

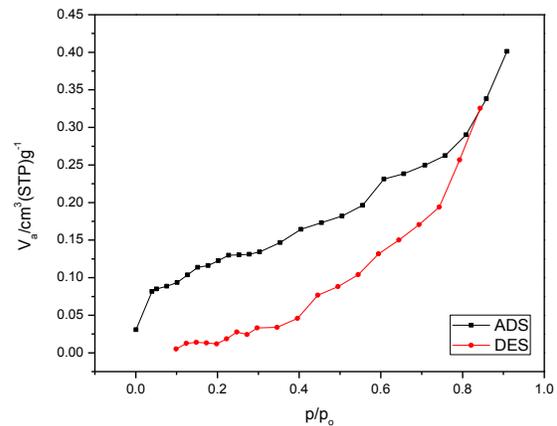


Figura 3.10 Isotherma adsorción/desorción del Li_2ZrO_3 mezclado por 15 minutos

3.3.3 Pruebas de captura

Las primeras pruebas de captura con el Li_2ZrO_3 se realizaron utilizando una mezcla $\text{CO}_2\text{-CH}_4$ a través del zirconato, el cual se pesó con la mayor exactitud posible antes y después del experimento, para hacer evidente la diferencia de peso en el zirconato, cuyo aumento de peso se asocia al proceso de captura del CO_2 . Con la primera prueba se obtuvo una variación del 2.39% en peso para 2 h de flujo continuo sobre el material, el cual corresponde a un volumen en gas de 90 mL/h y 2.68% para 6 h circulando 260 mL/h, lo cual muestra un comportamiento estable después de las 5 h, los resultados obtenidos en esta prueba se presentan en la Figura 3.11, donde el punto máximo de absorción fue a las 4 h siendo el 3% para tiempos cortos.

El material puede experimentar un período de ajuste con un tiempo de contacto óptimo debido a que existe la posibilidad de incrementar la captura del CO_2 del gas manipulando esta variable. Los resultados obtenidos en este trabajo son menores a los que obtuvo Xiao *et al.* (2011) de 16% de absorción de CO_2 en el Li_2ZrO_3 se debe a las diferentes condiciones de operación, ya que utilizaron $575\text{ }^\circ\text{C}$ y una presión parcial de 0.3 bar y las pruebas de captura de CO_2 se llevaron a cabo en un horno y para este trabajo se emplea una mezcla multicomponentes en relación 50:50 de $\text{CO}_2\text{-CH}_4$, a presión atmosférica y temperatura ambiente.

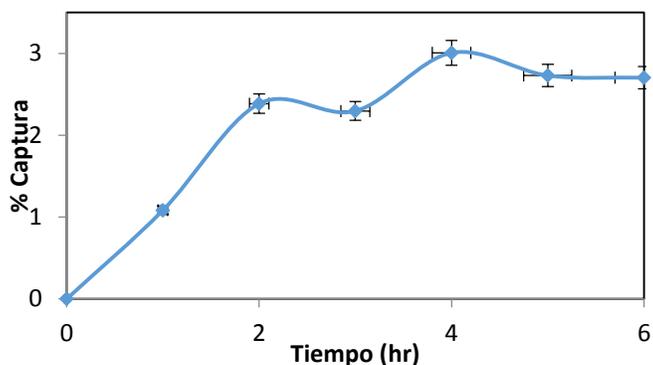


Figura 3.11 Porcentaje de captura del Li₂ZrO₃ a diferentes tiempos.

3.4 Producción de biogás

La producción de biogás se describe a continuación, primero se presentan los resultados para el montaje y la operación de biorreactores, posteriormente la cuantificación del biogás y finalmente la caracterización fisicoquímica de los RC.

3.4.1 Montaje y operación de biorreactores

Para el montaje de los biorreactores para la obtención de biogás se utilizó el hidrolizado a los 90 minutos a 130 °C, con concentración de 13.09 g/L de glucosa y 11.07 g/L de xilosa. Se realizó la caracterización que se presenta en la Tabla 3.5, en donde se muestran los resultados de pH, ST, SVT y DQO de los hidrolizados, lodos, estiércol de equino y la mezcla L-E, empleados como inóculos en la operación de los biorreactores. Los resultados obtenidos en el análisis previo correspondiente a DQO asegura una adecuada dotación de nutrientes alimentados con el medio mineral anaeróbico (RAMM) según lo reportado por Shelton y Tiedje (1984) de 1000 a 8000 mg/L.

Tabla 3.5 Caracterización de los diferentes inóculos empleados para los biorreactores.

| Inóculo | DQO (mg/L) | pH | ST (%) | SVT (%) |
|-----------------------|---------------|------|--------|---------|
| Hidrolizado | 1833 | 5.00 | 74.64 | 28.65 |
| Lodos | 1316.65 | 6.82 | 78.10 | 34.97 |
| Estiércol | 1100 | 6.75 | 79.07 | 25.42 |
| Lodos-estiércol (L-E) | 2378.73 | 7.21 | 78.21 | 38.80 |

Hadin y Eriksson (2016) reportaron que los SVT para lodos y estiércol en una caracterización inicial de los materiales se obtenía el 36 y 30%, estos valores representan una disminución menor al 5% que los obtenidos para este trabajo, esta diferencia se asocia a la alimentación de los animales seleccionados para tomar las muestras de estiércol. Por otro lado, la mezcla de estos dos materiales presentó hasta 38% de SVT, lo cual resultó benéfico para la producción de biogás.

3.4.2 Cuantificación del biogás

La Figura 3.12 muestra los resultados de la obtención de biogás mediante fermentación anaerobia, la producción del gas se generó a partir del día uno de operación. Se observa que conforme se incrementa el tiempo en el biorreactor, la producción de biogás aumenta, hasta alcanzar el rendimiento máximo de 265 mL al día 20, siendo la mezcla de los inóculos L-E la que presentó la mayor eficiencia en la producción de biogás, en comparación con los inóculos independientes (95 mL y 80 mL para estiércol y lodos respectivamente) y con los blancos, que solo presentan los microorganismo de los RC (112 mL de biogás). Según Vera-Toledo *et al.* (2016) al cambiar inóculos se favorece la fermentación, esta propuesta se confirma con la mezcla L-E empleada en este trabajo que obtuvo el rendimiento máximo, es decir, la mezcla de inóculos empleados favoreció la producción de biogás.

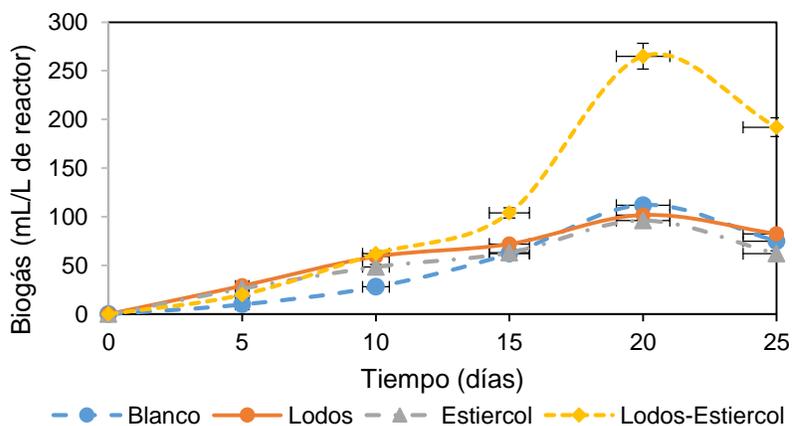


Figura 3.12 Producción de biogás con diferentes inóculos durante 25 días.

3.4.3 Caracterización fisicoquímica de RC

La caracterización fisicoquímica de los RC hidrolizados inicial y final de la operación de los biorreactores se muestra en la Tabla 3.6, donde se puede observar que no existe una variación considerable en las técnicas de LIG y HOL debido a que los microorganismos únicamente degradaron los azúcares solubles en los RC, puesto que aún están presentes los polímeros de la materia lignocelulósica, es decir que no hay variaciones en la fase sólida, una vez concluidos los 25 días de fermentación.

Tabla 3.6 Caracterización fisicoquímica del césped después de la generación de H₂.

| Muestra | SVT removidos (%) | LIG inicial (%) | HOL inicial (%) | LIG final (%) | HOL final (%) |
|---------------|-------------------|-----------------|-----------------|---------------|---------------|
| Blanco (B) | 10.96 | 22.27 | 53.01 | 22.16 | 52.74 |
| Lodos (L) | 10.68 | 25.45 | 53.75 | 25.49 | 53.26 |
| Estiércol (E) | 7.92 | 39.91 | 53.27 | 39.81 | 53.01 |
| L-E | 19.01 | 38.16 | 49.16 | 38.25 | 48.65 |

Para el porcentaje de SVT removidos presentados en la Tabla 3.4 se obtuvo que el mayor porcentaje de remoción fue de 49% para las muestras que corresponden a la mezcla de L-E, obteniendo la máxima producción de biogás debido a que los SVT favorecen la producción de biogás en cada tratamiento. De acuerdo a lo reportado por Sarabia Méndez *et al.* (2017), se obtuvo un 50% de remoción de los SVT trabajando con la mezcla lodos activados y excretas de borrego en relación 1:1, este porcentaje es similar al que se obtuvo en este trabajo aun cuando las excretas fueron diferentes.

3.5 Purificación de biogás

Para la purificación de biogás se utilizó el Li₂ZrO₃ y los resultados obtenidos mediante CG se presentan en tres apartados, donde se describen las curvas de calibración, la purificación de hidrógeno generado con diferentes inóculos y finalmente la captura de CO₂ en el Li₂ZrO₃ que por diferencia de peso se obtuvo el porcentaje de adsorción del material.

3.5.1 Curva de calibración

Para la curva de calibración se consideraron como gases de referencia al H₂ y CO₂, este último proveniente de una mezcla de gases de biogás obteniendo las áreas bajo la curva presentadas

en la Tabla 3.7, donde se especifica que la concentración de H₂ incrementó mientras que la del CO₂ decreció. Es importante mencionar que debido a que el rango de pH empleado en este trabajo es de 5.0-5.5 provoca que la generación de CH₄ no se lleve a cabo, es por eso que las curvas de calibración solo se indican para el H₂ y CO₂.

Tabla 3.7 Áreas bajo la curva de los estándares.

| Relación H ₂ /mezcla de gases | Área bajo la curva | |
|---|--------------------|-----------------|
| | H ₂ | CO ₂ |
| 0:100 | 0 | 314.67 |
| 25:75 | 219.828 | 250.15 |
| 50:50 | 451.72 | 164.97 |
| 75:25 | 689.54 | 90.82 |
| 100:0 | 851.01 | 0 |

Las curvas de calibración obtenidas mediante cromatografía de gases (CG), presentaron un alto valor del coeficiente de correlación R² 0.996 y 0.997 para H₂ y CO₂ respectivamente. La Figura 3.13 muestra las curvas de calibración obtenidas utilizando hidrógeno y la mezcla de gases de biogás.

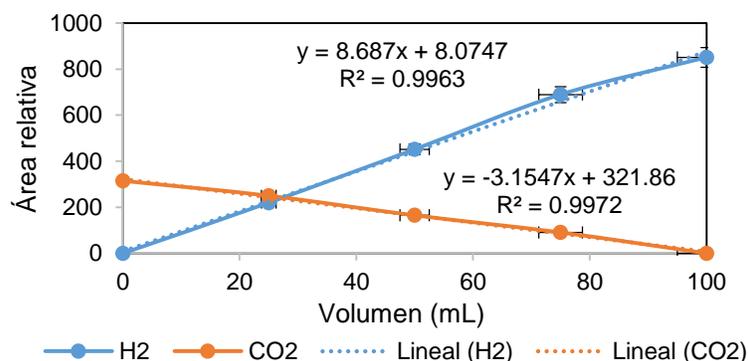


Figura 3.13 Curvas de calibración con gases de referencia

Considerando el área bajo la curva de los cromatogramas obtenidos para las diferentes muestras y el volumen inyectado en el análisis de CG, se determinó el porcentaje equivalente para cada uno de los gases de importancia en el trabajo, posteriormente del volumen total

presentado en la Figura 3.13 se determinó el volumen obtenido de H₂ y CO₂ durante los 25 días de fermentación y son los resultados que se describen a continuación.

3.5.2 Purificación de hidrógeno

La Figura 3.14 muestra la producción de H₂ y CO₂ a diferentes tiempos, las muestras se identificaron como ACO₂ y DCO₂ para la medición de la purificación antes y después de pasar a través del Li₂ZrO₃ para los cuatro inóculos empleados en este trabajo. Lo mismo se realizó para el porcentaje de H₂ identificadas como AH₂ y DH₂ para la medición de la purificación antes y después, para las muestras que contienen hidrolizados considerados como B, las muestras BA corresponden al análisis realizado mediante CG antes de que el biogás entrara en contacto con el Li₂ZrO₃ y las muestras de BD corresponden al análisis posterior al Li₂ZrO₃.

El biogás producido en los reactores, presentó un equilibrio en la generación de CO₂ y H₂ en el período de 5 y 15 días para las muestras antes y después de la purificación. Aunque se obtiene un punto máximo a los 5 días de fermentación reduciendo el 39% de CO₂ y aumentando solo el 9% el H₂, también se dio un volumen inicial de CO₂ y H₂ de 79 y 72 mL respectivamente, al hacer pasar el flujo de biogás por el Li₂ZrO₃ que corresponden al día 20, los porcentajes iniciales cambian, el CO₂ baja un 85% en volumen quedando 12 mL, mientras que el H₂ aumenta su volumen resultando de 101 mL, estos resultados se obtienen de la generación máxima del biogás para las muestras. La purificación se lleva a cabo en todos los puntos, permitiendo que el material Li₂ZrO₃ atrape en su estructura al CO₂ potencializando la generación de H₂.

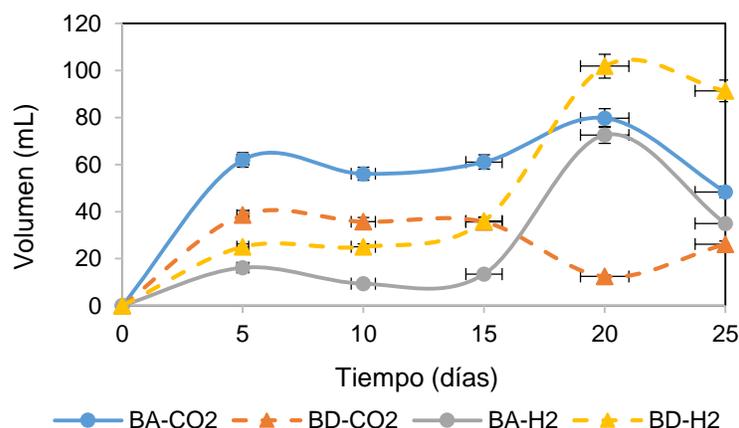


Figura 3.14 Producción de H₂ y CO₂ con hidrolizados antes y después de Li₂ZrO₃.

Se obtuvo biogás en los reactores a los que se adicionaron primero lodos que se muestran en la Figura 3.15, donde se obtuvo menor rendimiento en la producción de H₂ comparada con los blancos (BA-H₂ y BD-H₂), que según Andres y Rodriguez, (2012) se debe a la presencia de materiales sintéticos que retardan el proceso de degradación.

En la Figura 3.15 se muestra el rendimiento de H₂ y CO₂ correspondiente a las muestras de lodos LA y LD que corresponden a las muestras de antes y después de la purificación con el Li₂ZrO₃ respectivamente. Estos resultados demostraron que el tratamiento térmico a los que se sometieron los lodos para eliminar las bacterias metanogénicas resultó benéfico, debido a que la presencia de microorganismos metanógenos fue eliminada evitando de esta manera la producción de CH₄ y potenciando la presencia de bacterias mesofílicas del tipo *Clostridium* y *Enterobacter*, productoras de H₂ presentes en los lodos de las PTAR, es decir, que el H₂ producido durante la digestión anaeróbica se consume durante la reducción de CO₂ por parte de los metanógenos, lo cual se puede corroborar en la Figura 3.16 (Acosta *et al.*, 2005; Gonzales *et al.*, 2016; Khan *et al.*, 2017).

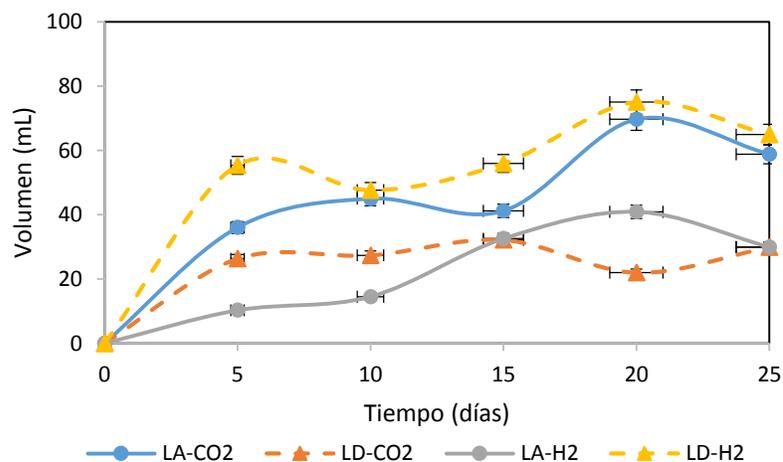


Figura 3.15 Producción de H₂ y CO₂ con lodos de PTAR antes y después de Li₂ZrO₃

En la generación de H₂ con lodos se obtuvieron dos rendimientos máximos, el primero que se obtuvo a los 5 días y el rendimiento máximo a los 20 días, la producción de biogás se favoreció a los 5 días, debido a que según Terreros (2014) la fase de degradación de acidogénesis cambia a acetogénesis, obteniendo un rendimiento alto en la producción de biogás, no obstante el rendimiento máximo se obtuvo a los 20 días de fermentación con 75 y 22 mL de H₂ y CO₂ respectivamente, después de la purificación con Li₂ZrO₃.

En la Figura 3.16 se presenta el cromatograma de la muestra de lodos antes de la purificación con Li_2ZrO_3 a los 20 días, se puede observar que el pico de CO_2 se obtiene a los 2.5 minutos y se demuestra que el CH_4 no se identifica en el cromatograma, debido a que se presenta a partir de los 5 minutos, es decir que la concentración de H_2 está influenciada significativamente por el pH, según Hung *et al.* (2011) obtienen 147 mL de H_2/g de glucosa a un pH de 5.2, mientras que a un pH mayor a 6.0 los niveles de H_2 decrecen significativamente.

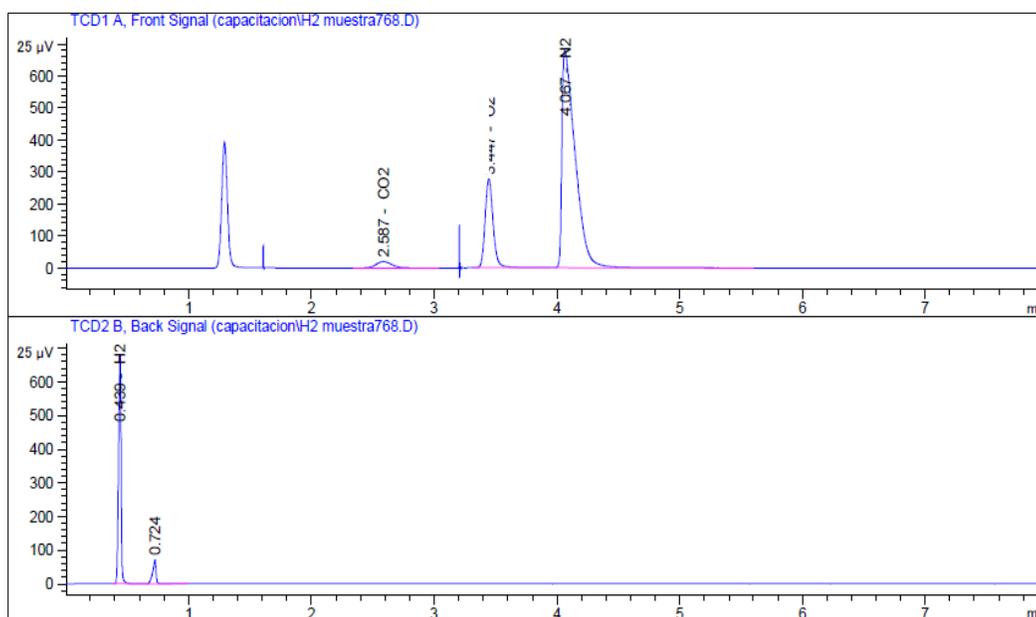


Figura 3.16 Cromatograma de la muestra LA a 20 días de fermentación.

Por otra parte, para los biorreactores a los que se les adicionó como inóculo estiércol de equino se identificaron como EA y ED que corresponden a las muestras de antes y después de la purificación, obteniendo el rendimiento máximo de H_2 a los 20 días de fermentación resultando 84 y 54 mL de CO_2 y H_2 respectivamente antes de la purificación con Li_2ZrO_3 , disminuyendo el 65% para el CO_2 y aumentando un 85% el volumen de H_2 respectivamente estos resultados se muestran en la Figura 3.17 muestra un comportamiento semejante al de lodos e hidrolizado debido al cambio de fase de degradación, debido a que según Khan *et al.* (2017) la clase de los inóculos afecta directamente la producción de H_2 , se han realizado diversos estudios principalmente con heces de diferentes animales entre ellos pandas que Xing *et al.* (2014) determinaron que la concentración de heces debe ser en relación de 10:30 (v/v) heces: agua, para una concentración de azúcares totales de 15 g /L para obtener un volumen de H_2 de 165

mL que resulta ser mayor al generado en este trabajo lo cual se atribuye a la relación de heces adicionadas como inóculo la fue menor siendo únicamente 1:10 (v/v) de heces:agua a la concentración de azúcares totales utilizadas para la operación de estos biorreactores.

Cabe mencionar que en este trabajo se emplearon heces equinas y no la de otros animales que han sido ampliamente estudiadas, debido a que presentan enzimas degradadoras como la dismutasa (Hadin y Eriksson, 2016), que metaboliza compuestos oxidantes intermedios de césped, lo cual ayuda a reducir la concentración de O_2 .

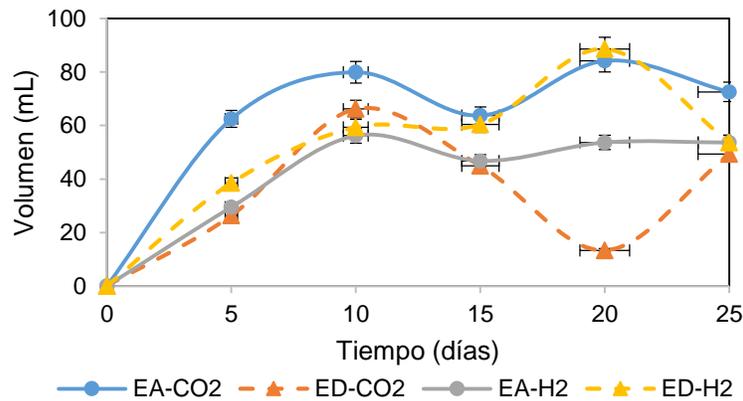


Figura 3.17 Producción de H_2 y CO_2 con estiércol de equino antes y después de Li_2ZrO_3

El rendimiento máximo de H_2 se obtuvo con la mezcla de L-E (Figura 3.18), obteniendo 95 y 73 mL de H_2 y CO_2 para las muestras LEA- CO_2 y LEA- H_2 antes de la purificación con Li_2ZrO_3 y después de la purificación se obtuvo el 10% más para H_2 y el 20% menos de CO_2 para las muestras LED- H_2 y LED- CO_2 respectivamente quedando 105 mL y 58 mL de H_2 y CO_2 , es decir que la mezcla de los inóculos favoreció la producción de biogás y el Li_2ZrO_3 permitió su purificación, así como el pre-tratamiento térmico de los lodos, ya que durante todo el proceso de generación no hubo presencia de CH_4 , debido a que el pH se mantuvo en el rango de 5.0-5.5 para que las bacterias presentes fueran productoras de H_2 y no de CH_4 , conforme a lo recomendado en estudios donde utilizan lodos provenientes de una PTAR y heces de diferentes animales que como inóculos (Hung *et al.*, 2011; Xing *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2012).

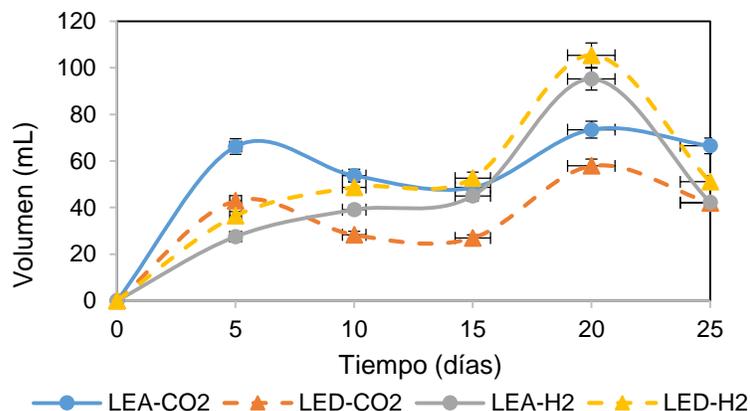


Figura 3.18 Producción de H₂ y CO₂ con la mezcla L-E antes y después de Li₂ZrO₃.

Los resultados obtenidos en la purificación de biogás se resumen en la Tabla 3.8 donde se muestran los resultados del volumen de CO₂ y H₂ antes y después para cada uno de los inóculos correspondientes al tiempo de 20 días de fermentación, el cual presentó el punto máximo de producción de biogás.

Tabla 3.8 Purificación máxima de biogás obtenido con diferentes inóculos.

| Inóculo | CO ₂ antes (mL/g glucosa) | CO ₂ después (mL/g glucosa) | H ₂ antes (mL/g glucosa) | H ₂ después (mL/g glucosa) | CO ₂ removido (%) | H ₂ purificado (%) |
|---------|--------------------------------------|--|-------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| B | 79 | 12 | 72 | 101 | 85 | 27 |
| L | 69 | 22 | 71 | 82 | 68 | 9 |
| E | 84 | 13 | 54 | 89 | 85 | 65 |
| L-E | 73 | 58 | 95 | 105 | 21 | 10 |

En la generación del total de biogás total se obtuvieron 287, 394, 395 y 643 mL para las muestras B, L, E y L-E respectivamente resultados que se describen en el apartado 3.4.2 obteniendo la máxima producción de H₂ para la mezcla de L-E logrando producir 309 mL de H₂/g glucosa posterior a la purificación aumentando un 24% posterior a la purificación.

3.5.3 Captura de CO₂ con zirconato de litio

En la Figura 3.19 se muestra el porcentaje de captura de CO₂ en el Li₂ZrO₃, donde el punto máximo se obtuvo a los 20 días de fermentación para los cuatro inóculos, lo que está relacionado a los resultados obtenidos en la Tabla 3.8. El comportamiento de adsorción en el Li₂ZrO₃ fue creciendo conforme transcurrió el tiempo de fermentación, hasta los 20 días cuando se obtuvo el 10% de adsorción para la mezcla L-E y posteriormente decreció hasta el

5%, debido a que la cantidad de biogás generado también disminuyó su producción. El Li_2ZrO_3 tiene la capacidad de adsorber el CO_2 como lo reporta Ida *et al.*, (2004) y la adsorción es una reacción gas-sólido representada en la Ecuación (6) de la sección 1.8. Se observa que la concentración de CO_2 disminuye con respecto al tiempo debido a que el material retiene en sus poros este gas de efecto invernadero, generando una reacción ácido-base (Ec.1.6) , sin embargo, Bakonyi *et al.* (2013) en la purificación de H_2 mediante membranas, consideraron que la capacidad de adsorción en el material también se ve afectada por la baja presencia de vapor de agua.

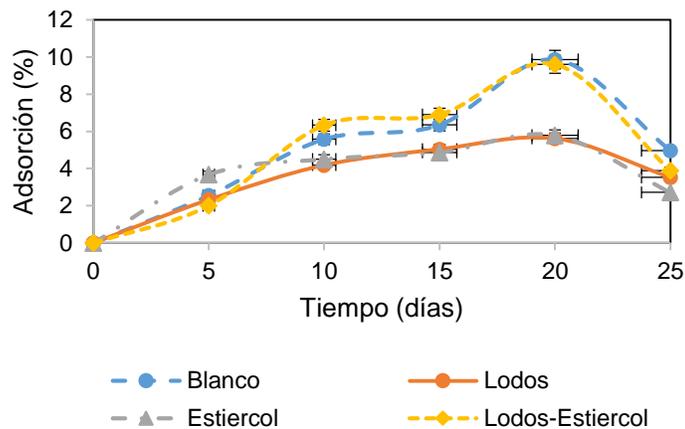


Figura 3.19 Porcentaje de captura del Li_2ZrO_3 en los diferentes reactores.

Los resultados obtenidos en este trabajo para la tasa de captura del CO_2 se encuentra por debajo de lo que hasta ahora se ha reportado en la literatura, debido a que son diferentes las condiciones iniciales como temperatura y presión a la que es sometido el material es en estudios realizados. Por ejemplo Ida *et al.* (2004) llevaron a cabo un estudio detallado sobre las propiedades de adsorción del Li_2ZrO_3 preparado por una reacción en estado sólido, obteniendo que el Li_2ZrO_3 necesitó más de 24 h para alcanzar el 18% en peso de la capacidad de adsorción a temperaturas de 873 K ocupando una mezcla de N_2/CO_2 , como gases puros, por otra parte Nakagawa y Ohashi (1998) han reportado resultados similares a los de Ida *et al.* (2004), obteniendo el 19% de peso de la capacidad de adsorción a temperaturas de 700 K.

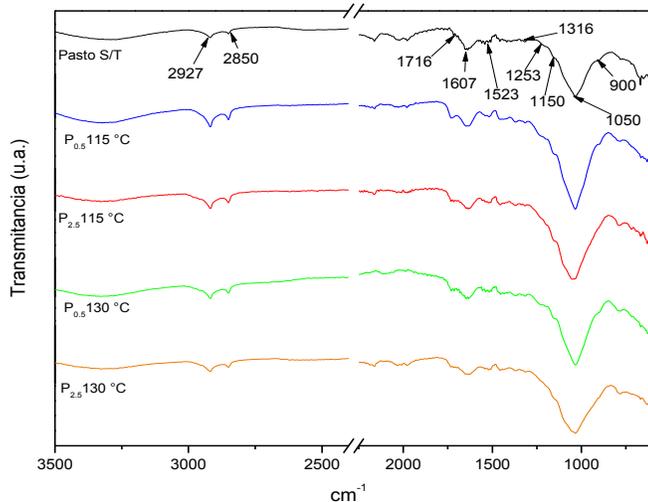
3.6 Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier

Las muestras sólidas de RCCT se sometieron a caracterización mediante FTIR para verificar los resultados obtenidos en las técnicas de SVT, LIG y HOL el análisis de estos espectrogramas se describe a continuación.

3.6.1 Residuos de césped hidrolizado

Para comprender el efecto de la hidrólisis ácida en el césped, los RC fueron caracterizados por FTIR como se muestra en la Figura 3.20. Se identificaron bandas en 1050 cm^{-1} que corresponde a la vibración del enlace C-O de la Celulosa que está asociado al enlace 1,4- β glucosídico. Este pico disminuye de intensidad conforme la temperatura del tratamiento aumenta, al mismo tiempo en que se ensancha obteniendo el mismo comportamiento para la temperatura de $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Corrales *et al.*, 2015).

Por otra parte, con respecto a la degradación de la LIG entre RCST y RCCT, la definición en el pico a 1607 cm^{-1} correspondiente al grupo carbonilo del enlace C=O de la LIG, conforme el tiempo y la temperatura los picos se definen Esta vibración aumenta conforme el tiempo de hidrólisis aumenta, lo que puede ser atribuido a la degradación de la LIG a causa del tratamiento. En la muestra RC se observa la presencia de un anillo aromático en la banda localizada en 1716 cm^{-1} , que corresponden al enlace C=C, presente en la estructura de la LIG que se define con el aumento de temperatura, después del tratamiento, este efecto puede deberse a un cambio en la estructura de los anillos fenólicos de la LIG debido al tratamiento ácido de las muestras (Corredor *et al.* 2009; Kaith y Kaur 2011). También se muestra la vibración asimétrica en 2850 cm^{-1} y simétrica a 2927 cm^{-1} de C-H que corresponden a aldehídos que resultan de la fragmentación de los polímeros de celulosa y hemicelulosa.



| cm ⁻¹ | Enlace |
|------------------|--------|
| 2927-2850 | C-H |
| 1716 | C=C |
| 1607 | C=O |
| 1050 | C-O |

Figura 3.20 Infrarrojo del césped con y sin tratamiento.

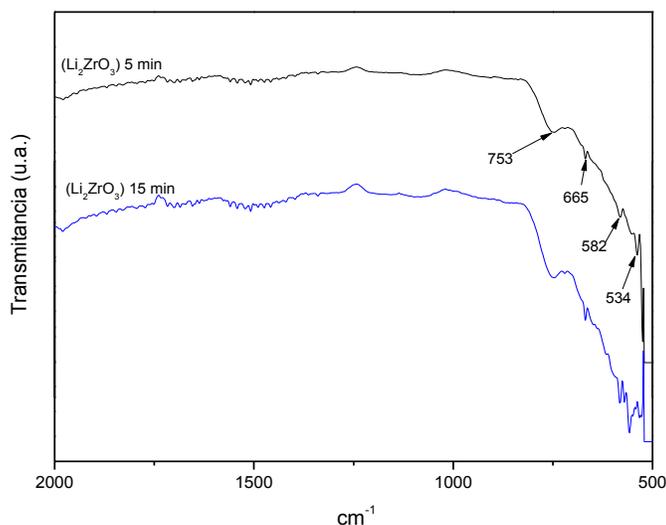
3.6.2 Zirconato de litio

Para el análisis del Li_2ZrO_3 mediante FTIR los resultados se describen en tres incisos: en el primero se detallan los resultados obtenidos para la síntesis del Li_2ZrO_3 a diferentes tiempos de agitación, en el segundo se presentan las pruebas de captura sobre el Li_2ZrO_3 con la mezcla de gases $\text{CO}_2\text{-CH}_4$ y en el último están los resultados posteriores a la purificación.

a) Síntesis del zirconato de litio

Los espectros de FTIR para el Li_2ZrO_3 en los tiempos de agitación de 5 y 15 min se muestran en la Figura 3.21, en ambas muestras se pueden identificar las bandas correspondientes a los carbonatos utilizados en la síntesis del material, determinado que el tiempo de agitación no presenta cambios en la estructura del Li_2ZrO_3 ; asimismo pueden apreciarse diferentes bandas en 753 y 665 cm^{-1} correspondientes al enlace C=O en mediana intensidad, que pertenecen a los carbonatos utilizados en la síntesis del Li_2ZrO_3 y la banda de 582 cm^{-1} al enlace O-Zr correspondiente al óxido de zirconio, sin embargo se observa el enlace Zr-OH en la banda de 534 cm^{-1} (Marínez-dlCruz y Pfeiffer 2010).

Estos resultados comparados con los DRX descritos en la sección 3.3.1, corroboran que el material sintetizado corresponde al Li_2ZrO_3 , determinando que los tiempos de agitación para la síntesis del material no presentan diferencias que prueben que la agitación sea un factor de importancia que afecte la adsorción del CO_2 , debido a que lo anterior se demuestra con los datos de área superficial para ambos tiempos.



| cm^{-1} | Enlace |
|------------------|--------|
| 753 | C=O |
| 665 | C=O |
| 582 | O-Zr |
| 534 | Zr-OH |

Figura 3.21 FT-IR del Li_2ZrO_3 a diferentes tiempos de agitación.

b) Pruebas de captura

Arefi *et. al.* (2016) mencionan que en presencia de CO_2 , el Li_2ZrO_3 sufre una reacción reversible, por lo que podrían detectarse los reactivos empleados para la síntesis al ser puestos en contacto con la mezcla $\text{CO}_2\text{-CH}_4$, regresando el Li_2ZrO_3 a los componentes principales. Para comprobar la reversibilidad del zirconato se analizó mediante FTIR después del proceso de captura descrita en la sección 3.3.3.

En la Figura 3.22 se presenta el Li_2ZrO_3 no sometido a captura y las muestras utilizadas a 2 y 6 h, observándose las bandas en 753, 665 y 582 cm^{-1} que son características para el Li_2ZrO_3 en los 3 gráficos; sin embargo a 2 y 6 h se puede apreciar la formación adicional de una banda en 1425 cm^{-1} que corresponde a C=O. Esto significa que el Li_2ZrO_3 no se revierte en su totalidad a sus reactivos, sin embargo, la nueva banda muestra la presencia del carbonato de litio, lo que significa que una parte del material se reconvirtió en los reactivos iniciales. Lo anterior comprueba que el producto del material sintetizado no sufrió cambios significativos asociados a la captura. Por otra parte, en las muestras de 2 y 6 h se observa la presencia de bandas correspondientes al Li_2CO_3 así como para el K_2CO_3 en la banda de 850 cm^{-1} , que como lo menciona Arefi *et. al.* (2016), al ser puestos en contacto con la mezcla $\text{CO}_2\text{-CH}_4$ el Li_2ZrO_3 regresa a los componentes principales; es decir como se muestra en la Ecuación (1.6) esta

reconversión se asocia solo al tiempo de captura y a la baja cantidad de CO₂ capturado en el material.

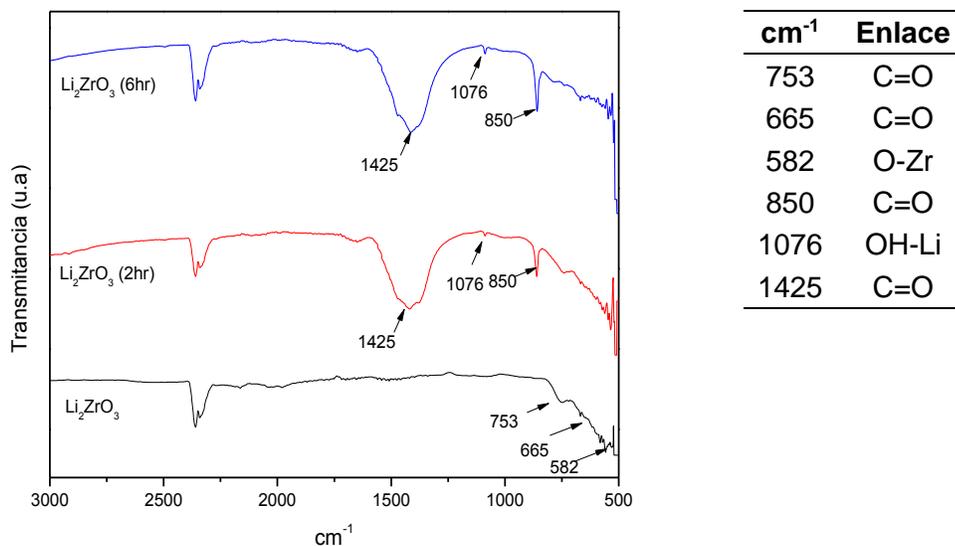
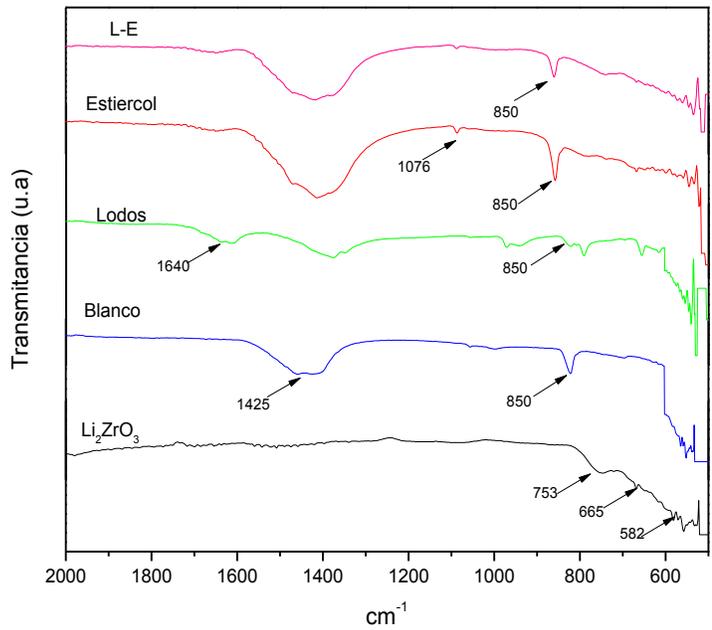


Figura 3.22 FT-IR del Li₂ZrO₃ en diferentes tiempos

c) Zirconato de litio posterior a la purificación

La Figura 3.23 muestra los espectros para el Li₂ZrO₃ obtenidos una vez concluidos los 25 días de fermentación, donde puede apreciarse la presencia de diferentes bandas de absorción características de los enlaces Zr-O y Li-O, así como las especies de carbonatos e hidroxilos localizados sobre la superficie de las partículas correspondientes al Li₂ZrO₃ que se encuentran en 753, 665 y 582 cm⁻¹. Amorim *et al.* (2016); Arefi *et al.* (2016), Kakihana (1996); Marínez-dlCruz y Pfeiffer (2010) y Nakagawa y Ohashi (1998) reportan que regresa a sus componentes principales mediante una reacción reversible del Li₂ZrO₃, lo cual se comprueba con las bandas 1075 y 1425 cm⁻¹ que corresponden a la presencia de Li₂CO₃ y K₂CO₃.

Sin embargo, debido a que la generación del H₂ se llevó mediante un proceso microbiológico se generaron diversos ácidos orgánicos, entre ellos el ácido propiónico que se produce en fase líquida y gaseosa, ésta última se presenta en la banda de 1640 cm⁻¹ y corresponde al grupo hidroxilo -OH generado en el proceso de fermentación de la muestra de lodos, lo que permite explicar que el Li₂ZrO₃ puede adsorber algunos ácidos orgánicos como propiónico, butírico entre otros (Castro *et al.*, 2011a; Marínez-dlCruz y Pfeiffer, 2010).



| cm^{-1} | Enlace |
|------------------|---------|
| 582 | -O-CO-O |
| 665 | -O-CO-O |
| 753 | O-Zr |
| 850 | -O-CO-O |
| 1076 | OH-Li |
| 1425 | C=O |
| 1640 | O-H-O |

Figura 3.23 FT-IR del Li_2ZrO_3 posterior a la fermentación.

CONCLUSIONES

La técnica de residuos libres de extractivos no presentaron diferencia con las técnicas de ST, SVT, LIG y HOL debido a que la cantidad de lípidos presentes en los RC fue baja, por lo que la caracterización fisicoquímica se pudo realizar sin extracción previa de lípidos.

La degradación de celulosa, hemicelulosa y LIG se favorece conforme el tiempo y la temperatura aumentan, maximizando los rendimientos de glucosa y provocando la oxidación de la xilosa formando componentes inhibidores.

Las técnicas de caracterización DRX y BET para el material confirman que el producto obtenido corresponde al Li_2ZrO_3 y permiten objetar que el tiempo de agitación afecta su síntesis.

El inóculo de L presentó una menor producción de H_2 comparado con los inóculos B, E y L-E, obteniendo solamente 75 mL, debido a que en los lodos se encuentran materiales sintéticos como detergentes que retardan la producción de biogás.

El empleo del tratamiento térmico para los lodos y las condiciones de pH óptimas (5.0-5.5) en el montaje de los biorreactores permitió que en la composición del biogás generado para todos los inóculos, no produjeran CH_4 favoreciendo la producción de H_2 .

El Li_2ZrO_3 presentó un mayor porcentaje de purificación para las muestras con el inóculo E logrando aumentar el 65% de H_2 y remover el 85% de CO_2 debido a que la producción de biogás se llevó a cabo más lentamente, determinando que la adsorción se ve afectada directamente por el flujo de gases.

El análisis de FTIR realizado a los RC sustenta que la degradación de la materia lignocelulósica mediante el ácido permite la descomposición de LIG, de igual forma confirma que en el Li_2ZrO_3 llevó a cabo la conversión del material, generando nuevamente los productos iniciales, debido a la presencia del CO_2 en la mezcla de gases.

REFERENCIAS

- Acosta, L., Yaniris, A. O., y Cristina, M. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar, 1, 35–48.
- Agbor, V. B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A., y Levin, D. B. (2011). Biomass pretreatment: fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*, 29(6), 675–685. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.005>
- Akpinar, O., Gunay, K., Yilmaz, Y., Levent, O., y Bostanci, S. (2010). Enzymatic processing and antioxidant activity of agricultural waste autohydrolysis liquors. *BioResources*, 5(2), 699–711. <https://doi.org/10.15376/biores.5.2.699-711>
- Alcérreca-Corte, I., Fregoso-Israel, E., y Pfeiffer, H. (2008). CO₂ absorption on Na₂ZrO₃: A kinetic analysis of the chemisorption and diffusion processes. *Journal of Physical Chemistry C*, 112(16), 6520–6525. <https://doi.org/10.1021/jp710475g>
- Amorim, S. M., Domenico, M. D., Dantas, T. L. P., José, H. J., y Moreira, R. F. P. M. (2016). Lithium orthosilicate for CO₂ capture with high regeneration capacity: Kinetic study and modeling of carbonation and decarbonation reactions. *Chemical Engineering Journal*, 283, 388–396. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.07.083>
- Andres, S., y Rodriguez, T. (2012). Producción de biohidrógeno a partir de residuos mediante fermentación oscura : una revisión crítica (1993-2011) Biohydrogen production from wastes via dark fermentation : A critical review. *Ingeniare. Revista Chilena de Ingeniería*, 20(3), 398–411. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0718-33052012000300014>
- APHA. (2005). American Public Health Association. “Standard Methods for Water and Wastewater Examination.” Retrieved May 20, 2015, from <https://www.standardmethods.org/>
- Avci, A., Saha, B. C., Dien, B. S., Kennedy, G. J., y Cotta, M. A. (2013). Response surface optimization of corn stover pretreatment using dilute phosphoric acid for enzymatic hydrolysis and ethanol production. *Bioresource Technology*, 130, 603–612. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.104>
- Avci, A., Saha, B. C., Kennedy, G. J., y Cotta, M. A. (2013). High temperature dilute phosphoric acid pretreatment of corn stover for furfural and ethanol production. *Industrial Crops and Products*, 50, 478–484. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.055>

Bakonyi, P., Nemestóthy, N., y Bélafi-Bakó, K. (2013). Biohydrogen purification by membranes: An overview on the operational conditions affecting the performance of non-porous, polymeric and ionic liquid based gas separation membranes. *Hydrogen Energy*, 38(23), 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.05.158>

Ballesteros, I., Ballesteros, M., Manzanares, P., Negro, M. J., Oliva, J. M., y Sáez, F. (2008). Dilute sulfuric acid pretreatment of cardoon for ethanol production. *Biochemical Engineering Journal*, 42(1), 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.06.001>

Baucher, M., Monties, B., Montagu, M. Van, y Boerjan, W. (2014). Biosynthesis and genetic engineering of lignin. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2(March), 37–41.

Bedoya, A., Ramírez, J. E., Vásquez, J. E., Castrillón, J. C., y Arias, M. (2007). Aproximación Al Estado Del Arte Biological Production of Hydrogen: a Literature Survey. *Dyna*, 137–157. Retrieved from <http://www.google.com.co/url?sa=tyrct=jyq=produccion biologica de hidrogeno: una aproximacion al estado del arte&source=webycd=1yved=0CCQFjAAyurl=http://dyna.unalmed.edu.co/ediciones/154/articulos/a14v75n154/a14v75n1>

Bernabé-Santiago, R., Ávila-Calderón, L. E. A., y Rutiaga-Quiñones, J. G. (2013). Componentes químicos de la madera de cinco especies de pino del municipio de Morelia, Michoacán. *Madera Bosques*, 19(2), 21–35.

Bohinski, R. C. (1987). *Modern concepts in biochemistry (Second Edi)*. Boston, Massachusetts, E.U.A: Allyn y Bacon, Incorporated.

Bonilla, R., y Moya, R. (2014). Determinación de los extractivos y su correlación con el peso específico básico de diez especies utilizadas como sombra en cafetales de Costa Rica. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 11(27), 34–46. <https://doi.org/10.18845/rfmk.v11i27.1776>

Buendia-Diaz, V. H. (2013). Obtención de azúcares por hidrólisis ácida y ensayos metanogénicos a partir de *Jatropha curcas* L. y *Pennisetum*. Universidad Veracruzana.

Cao, G., Ren, N., Wang, A., Lee, D.-J., Guo, W., Liu, B. Zhao, Q. (2009). Acid hydrolysis of corn stover for biohydrogen production using *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* W16. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(17), 7182–7188. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.07.009>

Cardona, E. M., Rios, L. A., y Peña, J. D. (2012). Disponibilidad de variedades de pastos y forrajes como potenciales materiales lignocelulósicos para la producción de bioetanol en Colombia. *Informacion Tecnologica*, 23(6), 87–96. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642012000600010>

Carvalho, A. R., Fragoso, R., Gominho, J., Saraiva, A., Costa, R., y Duarte, E. (2016). Water-energy nexus: Anaerobic co-digestion with elephant grass hydrolyzate. *Journal of Environmental Management*, 181, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.06.012>

Castro, E., Díaz, M. J., Cara, C., Ruiz, E., Romero, I., y Moya, M. (2011a). Bioresource Technology Dilute acid pretreatment of rapeseed straw for fermentable sugar generation. *Bioresource Technology*, 102(2), 1270–1276. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.057>

Castro, E., Díaz, M. J., Cara, C., Ruiz, E., Romero, I., y Moya, M. (2011b). Dilute acid pretreatment of rapeseed straw for fermentable sugar generation. *Bioresource Technology*, 102(2), 1270–1276. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.057>

Chavez, M. (2012). Producción de biogás en Rellenos Sanitarios (2°). México, Mexico.

Chen, L., Li, J., Lu, M., Guo, X., Zhang, H., y Han, L. (2016). Integrated chemical and multi-scale structural analyses for the processes of acid pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. *Carbohydrate Polymers*, 141, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.079>

Cheng, C.-L., Lo, Y.-C., Lee, K.-S., Lee, D.-J., Lin, C.-Y., y Chang, J.-S. (2011). Biohydrogen production from lignocellulosic feedstock. *Bioresource Technology*, 102(18), 8514–8523. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.059>

Colin-Urieta S, García-Calderón Ma.A, López-Albarran P, R.-Q. J. (2007). Análisis preliminar de la composición química de la madera de *Cordia eleagnoides* DC. In 4to. Congreso Forestal, IV Simposio Internacional sobre técnicas agroforestales, III Congreso Internacional de Jovenes Investigadores DEFORS y I Taller sobre Silvicultura Urbana (p. 20). La Habana, Cuba.

Corrales, L., Antolinez, D., Bohórquez, J., y Corredor, A. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *Nova*, 13 (23), 55–81. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n24/v13n24a06.pdf>

Corredor, D. Y., Salazar, J. M., Hohn, K. L., Bean, S., Bean, B., y Wang, D. (2009). Evaluation and characterization of forage sorghum as feedstock for fermentable sugar production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 158(1), 164–179. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8340-y>

- Cosoli, P., Ferrone, M., Pricl, S., y Fermeglia, M. (2008). Hydrogen sulphide removal from biogas by zeolite adsorption. Part I. GCMC molecular simulations. *Chemical Engineering Journal*, 145(1), 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2008.07.034>
- Cruz-Alvarado, G. (2013). Depuración del gas. Retrieved September 1, 2016, from <http://es.slideshare.net/GreciaCruzAlvarado/gases-53802732>
- Da Silva, J., Chaves, R., Neto, A., Pimentel, V., y Santos, A. (2015). Extraction, Addition and Characterization of Hemicelluloses from Corn Cobs to Development of Paper Properties. *Procedia Materials Science*, 8, 793–801. <https://doi.org/10.1016/j.mspro.2015.04.137>
- Datar, R., Huang, J., Maness, P., Mohagheghi, A., Czernik, S., y Chhornet, E. (2007). Hydrogen production from the fermentation of corn stover biomass pretreated with a steam-explosion process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(8), 932–939. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2006.09.027>
- Fauth, D. J., Frommell, E. A., Hoffman, J. S., Reasbeck, R. P., y Pennline, H. W. (2005). Eutectic salt promoted lithium zirconate: Novel high temperature sorbent for CO₂ capture. *Fuel Processing Technology*, 86(14–15), 1503–1521. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2005.01.012>
- Fuess, L. T., Mazine Kiyuna, L. S., Garcia, M. L., y Zaiat, M. (2015). Operational strategies for long-term biohydrogen production from sugarcane stillage in a continuous acidogenic packed-bed reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.10.143>
- Garrote, G., Domínguez, H., y Parajó, J. C. (2001). Generation of xylose solutions from *Eucalyptus globulus* wood by autohydrolysis-posthydrolysis processes: Posthydrolysis kinetics. *Bioresource Technology*, 79(2), 155–164. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00044-X](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00044-X)
- Gong, B., Wang, Y., Wang, J., Huang, W., Zhou, J., y He, Q. (2018). Intensified nitrogen and phosphorus removal by embedding electrolysis in an anaerobic–anoxic–oxic reactor treating low carbon/nitrogen wastewater. *Bioresource Technology*, 256(December 2017), 562–565. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.014>
- Gonzales, R. R., Sivagurunathan, P., y Kim, S. H. (2016). Effect of severity on dilute acid pretreatment of lignocellulosic biomass and the following hydrogen fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(46), 21678–21684. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.06.198>

- HACH, C. (2000). Manual de Análisis de Agua, (970), 1997–2000.
- Hadin, Å., y Eriksson, O. (2016). Horse manure as feedstock for anaerobic digestion. *Waste Management*, 56, 506–518. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2016.06.023>
- Harasimowicz, M., Orluk, P., Zakrzewska-Trznadel, G., y Chmielewski, A. G. (2015). Application of polyimide membranes for biogas purification and enrichment. *Journal of Hazardous Materials*, 144(3), 698–702. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.01.098>
- Hong, B., Xue, G., Weng, L., y Guo, X. (2012). Pretreatment of moso bamboo with dilute phosphoric acid. *BioResources*, 7(4), 4902–4913.
- Honorato Salazar, A. J., y Hernández Pérez, J. (1998). Determinación de componentes químicos de la madera de cinco especies de encino del estado de Puebla. *Madera y Bosques*, 4(2), 79–93.
- Hung, C. H., Chang, Y. T., y Chang, Y. J. (2011). Roles of microorganisms other than Clostridium and Enterobacter in anaerobic fermentative biohydrogen production systems - A review. *Bioresource Technology*, 102(18), 8437–8444. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.084>
- Ida, J. ichi, Xiong, R., y Lin, Y. S. (2004). Synthesis and CO₂ sorption properties of pure and modified lithium zirconate. *Separation and Purification Technology*, 36(1), 41–51. [https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(03\)00151-5](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(03)00151-5)
- INEGI. (2009). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Retrieved May 2, 2015, from <http://cuentame.inegi.org.mx/economia/primarias/agri/default.aspx?tema=E>
- Iwan, A., Stephenson, H., Ketchie, W. C., y Lapkin, A. A. (2009). High temperature sequestration of CO₂ using lithium zirconates. *Chemical Engineering Journal*, 146(2), 249–258. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2008.06.006>
- Jiménez Islas, D., Abreu Corona, A., López y López, V., Tellez Jurado, A., y Gracida Rodríguez, J. (2012). Obtención de azúcares fermentables mediante hidrólisis ácida de. *Revista Internacional de Contaminacion Al Ambiente*, 28(2), 151–158.
- Jönsson, L. J., Alriksson, B., y Nilvebrant, N.-O. (2013). Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-16>

Kakahana, M. (1996). Invited Review "Sol-Gel" Preparation of High Temperature Superconducting Oxides. *Sol-Gel Science and Technology*, 6, 7–55.

Kalia, S., Kaith, B., y Kaur, I. (2011). Cellulose fibers: bio-and nano-polymer composites: green chemistry and technology. (K. Susshel, B. S. Kaith, y I. Kaur, Eds.). Springer Science. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-1730-7>

Kamireddy, S. R., Li, J., Abbina, S., Berti, M., Tucker, M., y Ji, Y. (2013). Converting forage sorghum and sunn hemp into biofuels through dilute acid pretreatment. *Industrial Crops y Products*, 49, 598–609. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.018>

Khan, M. A., Ngo, H. H., Guo, W., Liu, Y., Zhang, X., Guo, J., Wang, J. (2017). Biohydrogen production from anaerobic digestion and its potential as renewable energy. *Renewable Energy*. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.04.029>

Kolomnikov, I. G., Efremov, A. M., Tikhomirova, T. I., Sorokina, N. M., y Zolotov, Y. A. (2018). Early stages in the history of gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1537, 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.01.006>

Lenihan, P., Orozco, A., O'Neill, E., Ahmad, M. N. M., Rooney, D. W., y Walker, G. M. (2010). Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Chemical Engineering Journal*, 156(2), 395–403. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.10.061>

López-Linares, J. C., Cara, C., Moya, M., Ruiz, E., Castro, E., y Romero, I. (2013). Fermentable sugar production from rapeseed straw by dilute phosphoric acid pretreatment. *Industrial Crops and Products*, 50, 525–531. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.028>

López, F., García, J. C., Pérez, A., Feria, J., Zamudio, M. A. M., y Garrote, G. (2010). Chemical and energetic caracterizacion of species with a high-biomass production: Fractionation or their components. *Environmental Progress*, 29(4), 499–509. <https://doi.org/10.1002/ep>

María, E., González-sánchez, M. E., Pérez-fabiel, S., y Wong-villarreal, A. (2015). Residuos agroindustriales con potencial para la. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(3), 229–235.

Marínez-dlCruz, L., y Pfeiffer, H. (2010). Toward Understanding the Effect of Water Sorption on Lithium Zirconate (Li_2ZrO_3) during Its Carbonation Process at Low Temperatures, 9453–9458. <https://doi.org/10.1021/jp1020966>

Martinez-Morales, I. N. (2016). Reingeniería del relleno sanitario de Zinacantepec con la revalorización de residuos sólidos urbanos. Departamento de estudios de posgrado, Instituto Tecnológico de Toluca.

McCabe, W. L., Smith, J. C., y Peter, H. (2007). Operaciones unitarias en ingeniería química (Séptima).

Mel'gunov, M. S., y Ayupov, A. B. (2017). Direct method for evaluation of BET adsorbed monolayer capacity. *Microporous and Mesoporous Materials*, 243, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2017.02.019>

Monroy-Soler, R. A., y Cristancho-Cruz, L. M. (2014). Manual de métodos creativos. Boyacá, Colombia.

Moya, M., y Duran, P. (1992). Obtención de lignina y celulosa de residuos de maíz. Uniciencia.

Nair, Balagopal N., Yamaguchi, Takeo, Kawamura, Hiroto, Nakao, S.-I. (2004). Processing of Lithium zirconate for applications in carbon dioxide separation: Structure and properties. *Ceramics International*, 87(1), 68–74.

Nakagawa, K., y Ohashi, T. (1998). A Novel Method of CO₂ Capture from High Temperature Gases. *Journal of The Electrochemical Society*, 145(4), 1344. <https://doi.org/10.1149/1.1838462>

Patel, A. K., Vaisnav, N., Mathur, A., Gupta, R., y Tuli, D. K. (2016). Whey waste as potential feedstock for biohydrogen production. *Renewable Energy*, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.02.039>

Peña Díaz, A., Arroyo Begovich, A., Gómez Puyou, A., y Tapia Ibargüengoytia, R. (2004). *Bioquímica* (2nd ed.). D.F., México: Limosa.

Perkins, S. J., Nan, R., Li, K., Khan, S., y Abe, Y. (2016). Analytical ultracentrifugation combined with X-ray and neutron scattering: Experiment and modelling. *Methods*, 54(1), 181–199. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2011.01.004>

Posada, G., Mario, J., Arrieta, A., Martínez, B., Javier, H., Mario, J. Martínez, B. (2010). Análisis comparativo de las propiedades de combustión de las mezclas metano-hidrógeno con respecto al metano. *Ingeniería y Desarrollo*, 20, 19–34.

Prado-Martínez, M., Anzaldo-Hernández, J., Becerra-Aguilar, B., Palacios-Juárez, H., Vargas-Radillo, J. de J., y Rentería-Urquiza, M. (2012). Caracterización de hojas de mazorca de maíz y de bagazo de caña para la elaboración de una pulpa celulósica mixta. *Madera y Bosques*, 18, 37–51.

Prinsen, P. (2010). Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas, 92.

Ramos, R. T., Alpírez, G. M., y Beleño, M. T. (2015). Lignina obtenida de residuos agrícolas como biocombustible de tercera generación. *Ciencia y Tecnología*, 15, 151–164.

Ren, N., Wang, A., Cao, G., Xu, J., y Gao, L. (2009). Bioconversion of lignocellulosic biomass to hydrogen: Potential and challenges. *Biotechnology Advances*, 27(6), 1051–1060. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.05.007>

Rico, C., Montes, J. A., y Rico, J. L. (2017). Evaluation of different types of anaerobic seed sludge for the high rate anaerobic digestion of pig slurry in UASB reactors. *Bioresource Technology*, 238, 147–156. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.014>

Röben, E. (2002). Diseño, construcción, operación y cierre de rellenos sanitarios Municipales. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Tamaulipas, México.

Roy, A., y Kumar, A. (2013). Pretreatment Methods of Lignocellulosic Materials for Biofuel Production : A Review. *Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences*, 4(2), 181–193.

Saha, B. C. (2003). Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30(5), 279–291. <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0049-x>

Sánchez, C., Serrano, L., Andrés, M. A., y Labidi, J. (2013). Furfural production from corn cobs autohydrolysis liquors by microwave technology. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 513–519. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.042>

Santillán-Reyes, G. G., y Pfeiffer, H. (2011). Analysis of the CO₂ capture in sodium zirconate (Na₂ZrO₃). Effect of the water vapor addition. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 5(6), 1624–1629. <https://doi.org/10.1016/j.ijggc.2011.09.009>

Sarabia Méndez, M. A., Laines Canepa, J. R., Sosa Olivier, J. A., y Escalante Espinosa, E. (2017). Producción de biogás mediante codigestión anaerobia de excretas de borrego y rumen adicionadas con lodos procedentes de una planta de aguas residuales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(1), 109–116. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.01.10>

Saratale, G. D., Chen, S. Der, Lo, Y. C., Saratale, R. G., y Chang, J. S. (2008). Outlook of biohydrogen production from lignocellulosic feedstock using dark fermentation - A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 67(11), 962–979.

Sawatdeenarunat, C., Surendra, K. C., Takara, D., Oechsner, H., y Khanal, S. K. (2015). Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, 178, 178–186. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.103>

SEDESOL. (2010). Residuos Residuos.

SEMARNAT. (2004). Secretaría del Medio ambiente y Recursos naturales. Residuos sólidos urbanos. Retrieved June 29, 2015, from <http://www.semarnat.gob.mx/temas/residuos-solidos-urbanos>

SEMARNAT. (2008). Secretaría del Medio ambiente y Recursos Naturales, NMX-AA-16-1984. Protección al ambiente -contaminación del suelo - residuos sólidos municipales - Determinación de humedad. Retrieved May 22, 2015, from <https://issuu.com/simarsureste/docs/nmx-aa-016-1984/1>

Shah, J., Jain, S., Shukla, A., Gupta, R., y Kotnala, R. K. (2017). A facile non-photocatalytic technique for hydrogen gas production by hydroelectric cell. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(52), 30584–30590. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2017.10.105>

Shelton, D. R., y Tiedje, J. M. (1984). General Method for Determining Anaerobic Biodegradation Potential, 47(4), 850–857.

Singh, R., Shukla, A., Tiwari, S., y Srivastava, M. (2014). A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 32, 713–728. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.051>

Singh, Y. D., Mahanta, P., y Bora, U. (2017). Comprehensive characterization of lignocellulosic biomass through proximate, ultimate and compositional analysis for bioenergy production. *Renewable Energy*, 103, 490–500. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.11.039>

Stanikova, D., Surova, M., Ticha, L., Petrasova, M., Virgova, D., Huckova, M. Gasperikova, D. (2015). Chile: Remoción de barreras para la electrificación rural con energías renovables. “Manual del biogás.” *Physiological Research*, 64(6), 883–890. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>

Sun, Y., y Cheng, J. (2009). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7)

Taherzadeh, M. J., y Karimi, K. (2008). Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(9), 1621–1651. <https://doi.org/10.3390/ijms9091621>

Tchobanoglous, G., y Kreith, F. (2002). *Handbook of Solid Waste Management* (2nd ed.). McGraw-Hill Education. <https://doi.org/10.1036/0071356231>

Terreros, J. (2014). Digestión anaerobia de dos etapas de lodos primarios y secundarios con reactores anaerobios de flujo ascendente. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa.

Vargas García, Ma. del Carmen, Andreu Rodríguez, Francisco Javier, Fernandez Güelfo, Luis Alberto, Fernandez Morales, Francisco Jesús, García-Morales, J. L. (2014). *De Residuo a Recurso, el camino hacia la sostenibilidad*. Barcelona: 2014.

Vélez-Izquierdo, A., Guevara-Hernández, F., Castro-Gómez, H., Ovando-Cruz, J., Hellin, J., Espinosa-García, J. A., Hernández-Rodríguez, V. M. (2013). *Rastrojos: Manejo, uso y mercado en el centro y sur de México*.

Vera-Toledo, P., Moreno-Andrade, I., García-Lara, C. M., Vera-Toledo, P., Moreno-Andrade, I., y García-Lara, C. M. (2016). Influencia del origen del inóculo sobre la producción de biohidrógeno. *CienciaUAT*, 10(2), 63–71.

Wang, L., Jiang, Y., Li, C., Li, X., Wang, L., Jiang, Y., Mu, X. (2011). Microwave-assisted Hydrolysis of Corn Cob for Xylose Production in Formic Acid. *Materials for Renewable Energy y Environmente (ICMREE)*, 1, 332–335. <https://doi.org/10.1109/ICMREE.2011.5930824>

Wise L.E., Murphy, A. D. (1946). Chlorite holocellulose, its fractionation and beating on summative wood analysis and on studies on the hemicelluloses. *Paper Trade*, 122, 35–42.

Xiao, Q., Tang, X., Liu, Y., Zhong, Y., y Zhu, W. (2011). Citrate route to prepare K-doped Li₂ZrO₃ sorbents with excellent CO₂ capture properties. *Chemical Engineering Journal*, 174(1), 231–235. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.09.005>

Xing, Y., Fan, Y. T., Hou, H. W., Guo, L., Joseph, D. D., Matsumoto, Y., ... Wang, Y. (2014). Production of Cellulose-Hydrogen from Corn Stalk based on Acid-enzyme Two-Stage Pretreatment by Mixed Culture, 1045–1048. <https://doi.org/10.1063/1.3366343>

Zhao, M. X., Yan, Q., Ruan, W. Q., Miao, H. F., Ren, H. Y., y Xu, Y. (2012). A comparative study of sequential hydrogen-methane and independent methane production from kitchen wastes. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects*, 34(11), 1046–1054. <https://doi.org/10.1080/15567031003753520>

Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F., y Li, Y. (2014). Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*, 42, 35–53. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2014.01.001>

ANEXOS

A. Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO)

Para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) se utilizó el método de digestión de reactor HACH Método 8000 para aguas residuales y mar:

1. Homogenizar 100 mL de muestra por 30 segundos para muestras con grandes cantidades de sólidos aumentar el tiempo de homogenización a 60 segundos.
2. Conectar el reactor de demanda química de oxígeno y precalentar a 150 °C, colocando el escudo de plástico enfrente del reactor.
3. Extraer la tapa de un tubo de reactivo para digestión de DQO para rango apropiado

| Rango de concentración de muestra (mg/L) | Tipo de tubo de reactivo (P/DQO) |
|--|----------------------------------|
| 0-150 | Baja |
| 0-1500 | Alto |
| 0-15000 | Alto plus |

4. Sostener el tubo en un ángulo de 45 grados y colocar con ayuda de una pipeta 2 mL (0.2 mL para el rango 0 a 15000 mg/L) de muestra en el frasco. El reactivo derramado afectará la exactitud de la prueba y es peligroso para la piel y otros materiales. No realizar pruebas con frascos que han sido derramados. Si se produce un derrame lavar con agua corriente.
5. Volver a colocar la tapa del tubo bien ajustada. Enjuagar la parte exterior del tubo de DQO con agua desionizada o secarlo con una toalla de papel.
6. Sostener el tubo por la tapa y colocar sobre una tina. Invertir suavemente varias veces para mezclar los contenidos, el tubo se calentará durante la mezcla. Colocar el tubo en el reactor DQO precalentado.
7. Preparar un blanco repitiendo los pasos 3 a 6 sustituyendo 2 mL (0.2 mL para el rango 0 a 15000 mg/L) de agua desionizada por la muestra asegurándose que la pipeta este limpia.
8. Calentar los tubos durante 2 h. Muchas muestras se digieren completamente en menos de dos h. Si se desea, medir la concentración (mientras todavía esta caliente) con intervalos de 15 minutos hasta que la lectura siga igual. Enfriar los tubos hasta temperatura ambiente para las mediciones finales.

9. Desconectar el reactor y esperar aproximadamente por 20 minutos hasta que los tubos enfríen a 120 °C o menos.
10. Invertir cada tubo varias veces mientras aún están calientes, posteriormente colocarlos en un estante y esperar hasta que hayan alcanzado temperatura ambiente.
11. Utilizar una de las siguientes técnicas analíticas para medir DQO:
 - a. Método colorimétrico 150 mg/L DQO
 - b. Método colorimétrico 1500 mg/L DQO
 - c. Método colorimétrico 15000mg/L DQO

B. Medio mineral RAMM

La preparación del medio mineral RAMM se realizó a partir de soluciones concentradas con los diferentes reactivos y se mezclaron en la proporción que se indica en la Tabla B1.

Tabla B.1 Composición del medio mineral RAMM

| Reactivo | Solución madre (g/L) | mL Sm/L medio | Concentración del medio (mg/L) |
|---------------------------------------|----------------------|---------------|--------------------------------|
| Solución 1 | | 50 | |
| K ₂ HPO ₄ | 7.0 | | 350.00 |
| Solución 2 | | 50 | |
| KH ₂ PO ₄ | 5.40 | | 270.00 |
| NH ₄ Cl | 10.60 | | 530.00 |
| CaCl ₂ •2H ₂ O | 1.50 | | 75.00 |
| MgCl ₂ •6H ₂ O | 2.00 | | 100.00 |
| Solución 3 | | 10 | |
| FeCl ₂ •4H ₂ O | 2.00 | | 20.00 |
| Solución 4 | | 1 | |
| MnCl ₂ •4H ₂ O | 0.50 | | 0.50 |
| H ₃ BO ₃ | 0.05 | | 0.05 |
| ZnCl ₂ | 0.05 | | 0.05 |
| CuCl ₂ | 0.03 | | 0.03 |
| NaMoO ₄ •2H ₂ O | 0.01 | | 0.01 |
| CoCl ₂ •6H ₂ O | 0.05 | | 0.05 |
| NiCl ₂ •6H ₂ O | 0.05 | | 0.1 |
| Na ₂ SeO ₃ | 0.05 | | 0.1 |

El medio mineral RAMM se preparó a partir de las soluciones concentradas 1, 2, 3 y 4 añadiendo lo indicado en el la tercer columna.

- Solución 3: FeCl₂•4H₂O (2 g/L) disolver directamente en 1 mL de HCl concentrado, cuando queden algunos cristales sin disolver, agregar agua hasta aforar a 1 L.
- Solución 4 de oligoelementos: se disuelven perfectamente en un vaso las dos primeras sales, en otro vaso se disuelven los reactivos restantes excepto el CoCl₂•6H₂O que se disuelve en un recipiente por separado agregando 1 mL de HCL concentrado. Finalmente se mezclan las 4 soluciones y se afora a 1 L con agua desionizada.

C. Curva de calibración de gases

Se prepararon relaciones de 0:100, 25:75, 50:50, 75:25 y 100:0 por ciento (%) de hidrógeno y una mezcla gases estandarizada con componentes del biogás reportados en la literatura para la digestión anaerobia, dicha concentración se muestra en la Tabla D.1. Se inyectaron 5 mL de gases en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies que contenía las columnas con número de parte CP81025, CP81071, CP81072 y CP81073, con dos detectores TCD se utilizó como gas de arrastre nitrógeno, las muestras se analizaron durante 8 minutos utilizando el programa M2 registrado en el equipo. Una vez obtenidos los datos, el calibrado se realizó por duplicado y se determinó su promedio.

Tabla C.1 Composición y concentración de la mezcla de gases

| Gas | Concentración (%) |
|---|-------------------|
| Dióxido de carbono (CO ₂) | 30 |
| Metano (CH ₄) | 50 |
| Nitrógeno (N ₂) | 15 |
| Monóxido de carbono (CO) | 5 |
| Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S) | 150 mg/L |

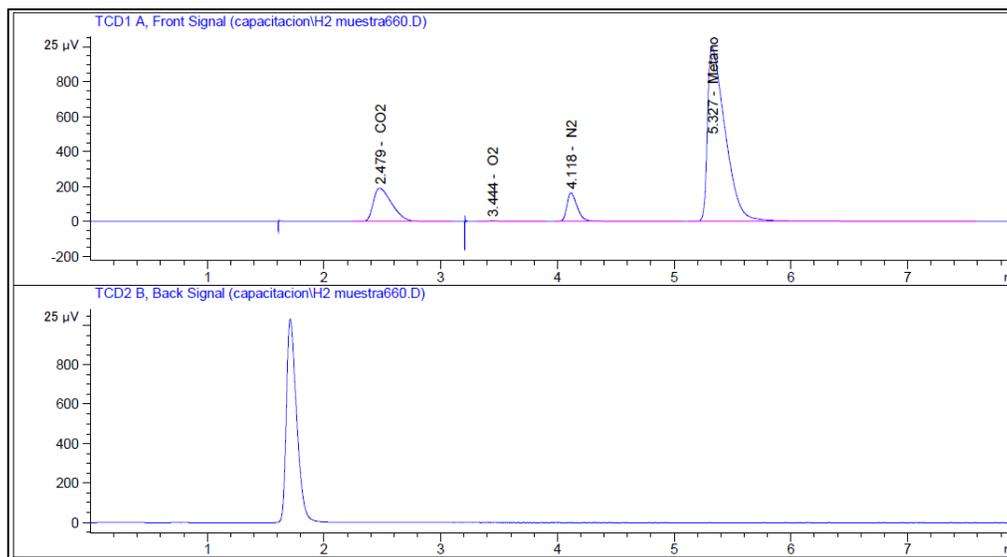


Figura C.1 Cromatograma de la mezcla de gases.