

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Pretratamiento de Residuos Lignocelulósicos (Estiércol de Bovino Lechero) y la producción de biogás.

P O R:

OSCAR LÓPEZ LÓPEZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

SEPTIEMBRE DEL 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

Pretratamiento de Residuos Lignocelulósicos (Estiércol de Bovino Lechero) y la producción de biogás.

P O R:

OSCAR LÓPEZ LÓPEZ

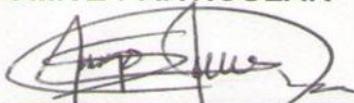
TESIS

QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORES,
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

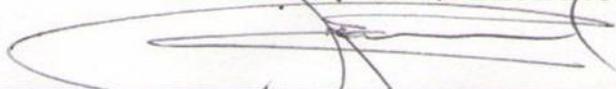
COMITÉ PARTICULAR

Asesor
principal:



DR. JESÚS VÁSQUEZ ARROYO

Asesor :



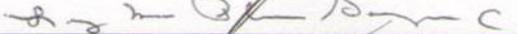
DR. ALEJANDRO MORENO RESÉNDEZ

Asesor :

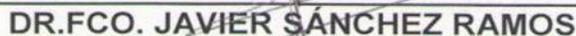


DR. MARIO GARCÍA CARRILLO

Asesor:

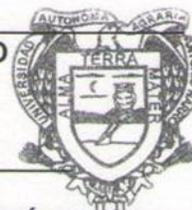


BIOL. PATRICIA GUZMÁN CEDILLO



DR.FCO. JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

SEPTIEMBRE DEL 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

Pretratamiento de Residuos Lignocelulósicos (Estiércol de Bovino Lechero) y la producción de biogás.

P O R

ÓSCAR LÓPEZ LÓPEZ

TESIS

QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR,
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN AGROECOLOGÍA

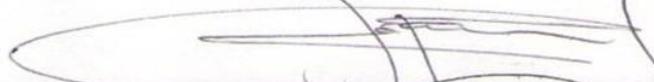
APROBADA POR:

PRESIDENTE:



DR. JESÚS VÁSQUEZ ARROYO

VOCAL:



DR. ALEJANDRO MORENO RESÉNDEZ

VOCAL:

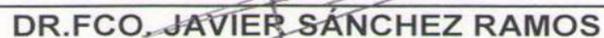


DR. MARIO GARCÍA CARRILLO

VOCAL:



BIOL. PATRICIA GUZMÁN CEDILLO



DR. FCO. JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

SEPTIEMBRE DEL 2011

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente a Dios. Por darme la vida, salud, por conducirme y darme las fuerzas necesarias para salir a delante de cualquier obstáculo, por hacerme una persona de bien y por permitirme la culminación satisfactoria de mi carrera.

A mi **ALMA MATER Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por la oportunidad de aceptarme como alumno, de prepararme en tus aulas día con día, por darme abrigo durante todo este tiempo así como la oportunidad de culminar mi carrera que es lo que tanto anhelaba.

Al **DR. Jesús Vásquez Arroyo**, ha sido un privilegio trabajar con una persona tan valiosa; con mucha cultura y dedicado a su trabajo por lo que es admirable, que antes de ser mi asesor un amigo y un maestro, por compartir sus profundos conocimientos, muchas gracias por guiarme en esta tesis, por toda las facilidades prestadas, por su valioso tiempo, confianza y por creer en mí. Fue un honor y una experiencia muy grata.

AL DR. Alejandro Moreno Reséndez, Por regalarme su tiempo, dedicación y espacio para la realización de esta investigación, por apoyarme en la revisión, muchas gracias Doctor.

AL DR. Mario García Carrillo, por compartir sus conocimientos, por su valioso tiempo y ayuda en la revisión de esta tesis que me fue de gran utilidad para hacer de esta una gran investigación.

Biol. Patricia Guzmán Cedillo, por compartir sus conocimientos conmigo durante el transcurso de mi carrera y de este proyecto por su gran paciencia y dedicación.

Agradezco a las laboratoristas de ciencias básicas y bromatología, por prestarme el espacio y por sus consejos en el transcurso del proyecto.

DEDICATORIA

A DIOS: Por darme la vida y por permitirme vivir y alcanzar mi sueño, por estar conmigo en todo momento y en toda ocasión. Por darme unos padres y hermanos maravillosos, bendiciendo a mi familia en todo momento.

A MIS PADRES:

Jacobo Humberto López Feria, Josefina Isidra López García

Por todos sus consejos, su amor, cariño, educación, dedicación y entrega, por depositar su confianza y haber creído en mí, antes y durante mi carrera, gracias por ser unos padres excelentes, por inculcarme esos valores de respeto, humildad, responsabilidad y honestidad. Por todo su apoyo incondicional porque son los motores de mi vida y mi ejemplo a seguir: porque he sido testigo del esfuerzo, empeño y sacrificio que han hecho para que cada uno de nosotros tenga un futuro mejor, le doy gracias a Dios por tenerlos como padres a quienes les debo lo que soy, quiero que sientan que el objetivo logrado también es de ustedes, la cual constituye la herencia más valiosa que pudiera recibir, les quiere mucho y les ama este su hijo. Muchas gracias.

A MIS HERMANOS

Hilda, Efraín, Madaí, Aurora, Gloria y Ruth. Por todo su cariño, comprensión y apoyo que me han dado a través de sus consejos, por estar conmigo en todo momento que la vida nos ha puesto en el camino de quienes he aprendido mucho, por motivarme para ser mejor cada día, estoy orgullo de ustedes. Gracias hermanos.

A mi cuñado y sobrino: Braulio, Por el apoyo que me has brindado. Yurem, por hacerme feliz con tus sonrisas en momentos difíciles.

A mis amigos: Celia, Ángel, Lupita, Vero, Hipólito, Freddy, Lucí, Elba. Que también formaron parte de mi formación profesional, en momentos malos y buenos que compartí con cada uno.

RESUMEN

La lignocelulosa es el principal componente de la pared celular de las plantas, esta biomasa producto de la fotosíntesis es la fuente de carbono renovable más prometedora para solucionar los problemas actuales de energía. El principal impedimento tecnológico para la utilización de la biomasa vegetal es, en general, la ausencia de una tecnología de bajo costo dirigida a la recalcitrancia de la lignocelulosa. La finalidad del pretratamiento es remover la lignina, hidrolizar la hemicelulosa transformándolos en azúcares fermentables, y reducir la forma cristalizada de la celulosa para liberar la glucosa. El objetivo de la presente investigación fue estimar la producción y composición de biogás del estiércol bovino de ganado lechero bajo pretratamiento con hidróxido de sodio. Se utilizó un arreglo factorial A x B x C en un diseño completamente al azar con dos repeticiones, donde el factor A fue la concentración de sólidos (4 y 8 %); B, el pretratamiento con NaOH (2 y 3 %) y C, sometidos a ebullición (1 y 2 h). Se emplearon frascos ámbar de 550 mL como reactores anaerobios y los tratamientos se incubaron a 37 °C. Se determinó el volumen diario de producción de biogás y la composición del mismo mediante cromatografía de gases. De los resultados encontrados destaca la producción de biogás T4, al 4 % de sólidos con $1.4 \text{ m}^3 \text{ Ton}^{-1} \text{ año}^{-1}$ de estiércol para los tratamientos y de 0.5- $1.4 \text{ m}^3 \text{ Ton}^{-1} \text{ año}^{-1}$ en los testigos. La composición química del metano, en el biogás generado fue de 70%.

PALABRAS CLAVES:Lignocelulosa, pretratamiento básico, biogás, metano, estiércol bovino.

ABSTRACT

The lignocelulosa is the principal component of the cellular wall of the plants, this biomass product of the photosynthesis is the most promising source of renewable carbon to solve the current problems of energy. The principal technological impediment for the use of the vegetable biomass is, in general, the absence of a technology of low cost directed to the recalcitrancia of the lignocelulosa. The purpose of the pretreatment is to remove the lignina, hidrolizar the hemicelulosa transforming them into sugar fermentables, and to reduce the crystallized form of the cellulose to liberate the glucose. The target of the present investigation was to estimate the production and composition of biogas of the bovine ordure of dairy cattle under pretreatment with sodium hydroxide. An arrangement was used factorial A x B x C in a design completely at random with two repetitions, where the factor A was the concentration of solid (4 and 8 %); B, the pretreatment with NaOH (2 and 3 %) and C, submitted to boiling (1 and 2 h). There were used bottles 550 ml amber as anaerobic reactors and the treatments incubated 37 °C. There decided the daily volume of production of biogas and the composition of the same one by means of gas chromatography. From the opposing results he emphasizes the production of biogas T4, to 4 % of occurred rarely with 1.4 m³ Ton-1 year 1 of ordure for the treatments and from 0.5-1.4 m³ Ton-1 year 1 in the witnesses. The chemical composition of the methane, in the generated biogas was 70 %.

KEYWORDS: Lignocellulose, basic pretreatment, biogás, methane, bovine manure.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN.....	vi
PALABRAS CLAVES.....	vii
ABSTRACT.....	vii
KEYWORDS	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivo general.....	3
1.2. Objetivo específico	3
1.3. Hipótesis.....	3
II. REVISION DE LITERATURA	4
2.1. Biomasa lignocelulósica	4
2.2. Composición del estiércol.....	5
2.3. Composición química de la lignocelulosa.....	6
2.4. Celulosa	7
2.4.1. Hidrólisis de la Celulosa.....	9
2.5. Hemicelulosa	10

2.5.1. Composición e Hidrólisis de la Hemicelulosa	10
2.6. Lignina	11
2.7. Pretratamientos lignocelulósicos	13
2.7.1. Método físico	13
2.7.1.1. Fragmentación mecánica y pirolisis.....	13
2.7.2. Métodos físico-químicos	14
2.7.2.1. Explosión de vapor.....	14
2.7.2.2. Explosión de fibra de amoniaco (AFEX).....	15
2.7.3. Métodos químicos.....	15
2.7.3.1. Ozonólisis.....	16
2.7.3.2. Hidrólisis acida.....	16
2.7.3.3. Hidrólisis alcalina.....	17
2.7.3.4. Deslignificación oxidativa.....	17
2.7.3.5. Proceso organosolvente.....	18
2.7.4. Método biológico.....	18
2.8. Pretratamiento básico.....	20
2.8.1. Alcalino	20
2.8.2. Pretratamiento de la fibra.....	221
2.9. Fermentación lignocelulósica	21
2.9.1 Sacarificación y Fermentación Simultánea (SSF).....	23

2.10.	Composición química del biógas	25
2.10.1.	Producción de biógas	26
III.	MATERIALES Y METODOS	28
3.1.	Ubicación geográfica de la Comarca Lagunera.....	28
3.2.	Clima de la Comarca Lagunera.....	28
3.3.	Localización del sitio experimental	29
3.4.	Producción de estiércol	29
3.4.1.	Pretratamiento lignocelulósico	29
3.4.2.	Determinación de elementos solubles en agua (ESA).....	29
3.4.3.	Determinación de hemicelulosa.....	29
3.4.4.	Determinación de celulosa y lignina.....	30
3.5.	Determinación de la producción de biogás.....	31
3.5.1.	Producción de Biogás.....	31
3.5.2.	Composición Química del Biogás.....	31
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
4.1.	composicion química del estiércol bovino lechero.. ¡Error! Marcador no definido.	
4.2.	produccion de biogas por dia	32
4.3.	concentracion de metano..... ¡Error! Marcador no definido.	

4.4.	produccion de electricidad por dia.....	36
4.4.2.	Ahorro de kw-h/vaca.....	37
V.	CONCLUSIONES.....	39
VI.	LITERATURA CITADA.....	41

I. INTRODUCCIÓN

La tasa promedio de consumo de energía global oscila en el orden de los 13 TW/año; 1 TW/año = 31.5×10^{18} J, y se considera que para el 2100, el consumo será de 46 TW/año (Rupprecht *et al.*, 2006), por lo que se presume que para finales del siglo XXI las reservas de energía se reducirán significativamente. Ante la situación señalada, la producción de biocombustibles forma parte de una estrategia competitiva dentro del mercado agrícola internacional. En este momento, países como Estados Unidos buscan terminar con su dependencia de las importaciones petroleras desarrollando energías alternativas. La expansión de la producción de etanol derivado del maíz –en USA, principalmente – ha incrementado la demanda de este cereal llevando a un aumento en sus precios. El Senado de la República Mexicana, aprobó el 27 de abril de 2007, promover el uso y producción de etanol y otros biocombustibles derivados del maíz y el azúcar. De acuerdo con la Ley y Promoción de los Bioenergéticos, el objetivo es producir biocombustibles con el propósito de reemplazar a los combustibles fósiles, en concordancia con el compromiso con el Protocolo de Kioto (González-Merino and Castañeda-Zavala, 2008).

La producción de biogás ha sido una fuente alterna para la generación de energía. La actividad bovina y porcina son en las que comúnmente se establecen sistemas de producción de biogás. La producción de biogás, a partir del recurso de biomasa lignocelulósica tiene el potencial de incrementar su capacidad de producción casi

minimizando los impactos negativos y sociales, porque el recurso lignocelulósico no compite con la producción de alimentos, o con el uso de la tierra. Empleando adecuadamente este recursos, sin embargo, requiere de la conversión de tecnologías tales como hidrólisis y fermentación para producir alcohol o la producción de singas vía gasificación. Estas tecnologías, están actualmente en fase precomercial y encaran problemas técnicos, económicos y políticos (Slade et al., 2009).

Los residuos de la industria azucarera, y potencialmente cualquier residuo agroindustrial, son sustratos más económicos pero más complejos que la sacarosa, y pueden utilizarse para producir etanol. Desde el punto de vista económico se requiere que el residuo agroindustrial se encuentre concentrado en ciertas localidades, y cuyo transporte sea mínimo. Al parecer, el único sustrato que cumple este requisito en nuestro país es el bagazo de caña de azúcar (BCA) (Martínez et al., 2002) y entre otras alternativas en distintas partes del mundo (Wooley et al., 1999).

1.1. Objetivo general

Producción de biogás y estimación de electricidad generada por la degradación de lignocelulosa presente en el estiércol de bovino lechero en la comarca Lagunera.

1.2 Objetivo específico

Estimar la producción y composición química del biogás a partir del pretratamiento alcalino del estiércol de bovino lechero.

1.3 Hipótesis

No existe diferencia en la producción y composición de biogás en los pretratamientos del estiércol de ganado bovino lechero.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Biomasa lignocelulósica

La expresión biomasa lignocelulósica, hace referencia a cualquier tipo de materia orgánica que haya tenido su origen inmediato en un proceso biológico. El concepto de biomasa comprende productos tanto de origen vegetal como animal. En la actualidad se ha aceptado este término para denominar al grupo de productos energéticos y materias primas de tipo renovable que se originan la materia orgánica formada por vía biológica. Quedan, por tanto, fuera de este concepto los combustibles fósiles o los productos orgánicos derivados de ellos, aunque también tuvieron un origen biológico en épocas remotas. (Bär Brenda 2006).

Teniendo en cuenta la definición anterior de biomasa, y de acuerdo con (MiliariumAureum, 2004) ésta se puede clasificar, según su origen en:

- **Biomasa natural:** Es la que se produce en la naturaleza sin ninguna intervención humana. El problema que presenta este tipo de biomasa es la necesaria gestión de la adquisición y transporte del recurso al lugar de utilización.
- **Biomasa residual (seca y húmeda):** Son los residuos que se generan en las actividades agrícolas (leñosas y herbáceas) y pecuarias, en las forestales, en la industria maderera y agroalimentaria, entre otras y que todavía pueden ser utilizados y considerados subproductos.

La madera y otros materiales lignocelulósicos representan la fuente de carbono renovable más abundante sobre la Tierra. La fabricación de papel es uno de los principales usos industriales de la biomasa lignocelulósica, pero ésta también representa una fuente potencial de biocombustibles y compuestos químicos. La pared vegetal cumple distintas funciones: de esqueleto, protección frente al ataque biológico, resistencia a los cambios de presión osmótica, y participación de elementos nutritivos (Bettset *al.*, 1991).

2.2. Composición del estiércol

Un bovino alimentado a base de concentrado produce 1.1 kg de estiércol diario (Grub, 1969) y 3.7 kg alimentado con raciones normales (Clawson *et al.*, 1969). Es obvio que la composición del estiércol está influida por varios factores, siendo el principal, el tipo de la ración y su digestibilidad; otros factores que la afectan son: la edad del ganado y el estado general del animal. Recientemente Rhodes y Orton, (1974) mencionaron algunas características del estiércol de ganado bovino lechero como son: que el nitrógeno se encuentra soluble en un 70%, del cual, 20 % está en forma de proteína y 30% en forma de urea y amoníaco, a continuación se presenta la composición de diferentes animales domésticos (cuadro 1).

Cuadro 1: Composición del estiércol de diferentes animales domésticos.

Especie	Peso vivo (kg)	Estiércol día⁻¹ (Kg)	Producción de CH₄ (%)
Cerdo	50	4.5-6	65-70
Bovinos	400	25-40	65
Equinos	450	12-16	65
Ovinos	45	2.5	63
Aves	1.5	0.06	60
Caprinos	40	1.5	--

La proteína está representada principalmente por células vivas, teniendo éstas la capacidad de sintetizar proteína microbiana a partir del nitrógeno inorgánico. El crecimiento microbiano en el estiércol está limitado principalmente por la poca cantidad de carbohidrato que se encuentra disponible.

2.3. Composición química de la lignocelulosa

La lignocelulosa es el principal y más importante componente de la biomasa producida por la fotosíntesis, anualmente se forman 200,000 millones de toneladas en el mundo (Ragauskas et al., 2006). La pared celular de las plantas está formada por lignocelulosa (figura 1), la composición y porcentajes de los polímeros varían entre las especies de plantas, incluso entre la edad y la etapa de

crecimiento(Jeffries, 1994). Los tres componentes principales de la pared celular de las plantas vasculares son la celulosa, la lignina y la hemicelulosa (Ragauskas et al., 2006; Jeffries, 1994).

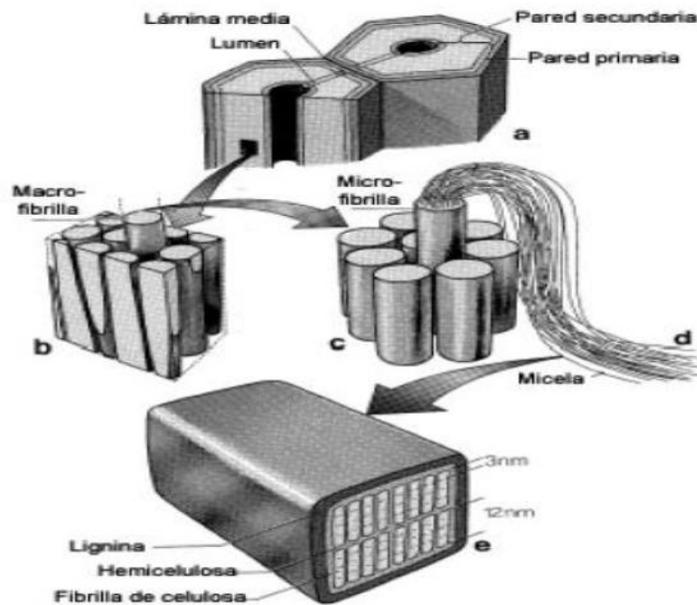


Figura 1. Composición del material lignocelulósico (Ragauskas *et al.*, 2006; Jeffries, 1994)

2.4. Celulosa

La celulosa es el polímero más abundante en las plantas y en la naturaleza, y es utilizada en múltiples procesos industriales, tales como la fabricación de papel y otros. Se constituye en la mayor fuente de azúcares de la mayoría de los residuos agrícolas y forestales (Buranov y Mazza, 2008). La celulosa, es insoluble en agua y su degradación eficiente está ampliamente restringida a aquellos grupos de

microorganismos específicos que son capaces de producir múltiples celulasas (Lyndet *al.*, 2002). En ambientes terrestres, la celulosa tiende a ser altamente lignificada y más difícil de degradar. Sin embargo tanto hongos como actinomicetos pueden obtener acceso a la celulosa en los tejidos maderables debido a su crecimiento hifal (Lyndet *al.*, 2002, de Menezes *et al.*, 2008).

Desde el punto de vista químico, la celulosa es un polímero cristalino formado por cadenas lineales de D-glucosa (moléculas de seis carbonos) unidas a través de sus enlaces β -1,4-glucosídicos. Cada molécula de glucosa posee tres grupos hidroxilos, en los carbonos 2, 3 y 6 (C2, C3 y C6) (Heinze y Liebert, 2001). Por otro lado, una molécula lineal de glucosa, llamada celodextrina, posee extremos reductores y no reductores, zonas donde moléculas específicas inician los ataques de hidrólisis (de polimerización), llamadas enzimas celulolíticas (Coughlan, 1999).

Desde un punto de vista macro, cada una de las hebras de la celulosa están enlazadas a otras mediante puentes de hidrógeno, formando una estructura supra-molecular semi-cristalina, dándole características de insolubilidad. Esta característica de insolubilidad es la que ha llamado la atención de los científicos, en búsqueda de encontrar solventes apropiados que sean capaces de romper los puentes de hidrógeno que se forman entre los grupos hidroxilos de la molécula, para así disolver la celulosa y hacer más fácil su procesamiento (Heinze y Liebert, 2001). Al menos, existen dos tipos de configuraciones de celulosa. En el primero de ellos, denominado

tipo I, el oxígeno asociado al C6 actúa como donante de protones junto al oxígeno del anillo en la misma unidad, siendo el oxígeno asociado al C3, en la unidad adyacente, el aceptor de protones. En la configuración tipo II, todos los puentes de hidrógeno que se establecen entre los átomos anteriormente señalados se conforman entre unidades distintas (Coughlan, 1999).

2.4.1. Hidrólisis de la Celulosa

La celulosa es un polisacárido contenido en las plantas, tiene un papel estructural más que nutricional y es el compuesto orgánico más abundante en la biosfera. El polímero está constituido de residuos de glucosa unidos por enlaces β -1,4. La configuración β le permite formar cadenas muy largas y fuertes. La celulosa requiere de una digestión intensa y, generalmente se lleva a cabo en dos etapas. La primera de ellas se realiza en condiciones ácidas, y su efecto es el de hacer disponible al polímero, la segunda etapa que resulta de la acción combinada de diferentes tipos de actividades enzimáticas: endoglucanasas que hidrolizan los enlaces β -1,4 del esqueleto lineal formado por glucosas, celobiohidrolasas que liberan unidades de disacárido (celobiosa) desde los extremos, y las β -glucosidasas las cuales hidrolizan celobiosa y productos solubles de cadena corta (cinco residuos o menos) en glucosa monomérica. Este proceso se conoce como sacarificación y fermentación simultánea (SSF, por sus siglas en inglés), el aspecto limitante es el económico y se debe

fundamentalmente al elevado costo de los complejos de celulasa que se emplean para realizar la sacarificación (Sheehan y Himmel, 1999; Wooley *et al.*, 1999).

2.5. Hemicelulosa

La hemicelulosa está presente en la pared celular de la planta y en ella forma un gel acuoso en el cual están embebidas las microfibrillas de celulosa. Es un polímero formado principalmente por pares de cinco átomos de carbono (pentosanos): C-xilosa y L-arabínosa y de hexosanos (C6 o azúcares de átomos de carbono) D-glucosa, D-manosa y D-galactosa. También contiene pequeñas cantidades de ácidos orgánicos. Las cadenas poliméricas individuales contienen de 50 a 100 unidades monoméricas de azúcares, debido a que las cadenas de hemicelulosa no son lineales, tienen ramificaciones laterales y no tienen estructura regular, este polímero no es cristalino y es fácilmente hidrolizado.(Cunninghan, 1994).

2.5.1. Composición e hidrólisis de la hemicelulosa

La hemicelulosa es un polisacárido no celulósico de la pared celular de plantas. Las más comunes están compuestas de polímero de xilosa junto con un ácido urónico (ácido de azúcar), radicales acetilo, arabinosa (pentosa) y manosa (hexosa). La hemicelulosa no tiene relación química con la celulosa. La hemicelulosa frecuentemente rodea a las fibras de la celulosa y aumenta su fuerza de unión y de tensión (Katzen *et al.*, 1999).

Para despolimerizar a la hemicelulosa se prefiere la hidrólisis ácida con ácido sulfúrico diluido, a presiones mayores de una atmósfera y temperaturas de 120 a 200 °C. La biomasa en partículas de tamaño relativamente pequeño se somete al proceso de hidrólisis ácida diluida, generando una fracción sólida, mayoritariamente compuesta de celulosa y lignina; y una líquida, que contiene un jarabe, producto de la despolimerización del xilano presente en la hemicelulosa (Ingram *et al.*, 1998).

2.6. Lignina

La lignina es uno de los materiales orgánicos mayormente presentes en las plantas, sólo superada por la celulosa y la hemicelulosa (Buranov y Mazza, 2008). El porcentaje en masa de lignina presente en los desechos agroindustriales varía desde un 15 a un 35 %, y su principal función en la vida vegetal es proteger a la planta y darle resistencia mecánica (Buranov y Mazza, 2008; Rubin, 2008). Además la lignina es un polímero tridimensional amorfo que está altamente ramificado, con una gran cantidad de grupos funcionales presentes, tales como hidroxilos fenólicos y alifáticos (Rubin, 2008).

Las unidades defenólicos y alifáticos están presentes en tres estructuras de tipo alcoholes aromáticos, alcohol p-cumárico, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico, los cuales constituyen a la matriz de lignina como precursores fundamentales. Estos alcoholes conforman los tres monómeros fundamentales de la lignina llamados: fracción p-hidroxifenil (H), fracción guaicil (G) y fracción siringil (S). (Buranov y

Mazza, 2008; Rubin, 2008). Por otro lado la lignina presente en especies herbáceas es distinta de la que se puede encontrar en maderas duras o blandas, debido a que estas últimas presentan solo dos de las tres unidades fundamentales anteriormente citadas: guaiacil y siringil (Lapierre *et al.*, 1995).

En la pared celular la lignina siempre está asociada a carbohidratos, particularmente a hemicelulosas, mediante compuestos intermediarios como el ácido p-cumárico o el ferúlico (ácidos hidroxicinámicos). Éstos, a través de enlaces de tipo éster y éter, forman estructuras llamadas carbohidratos-lignino-fenólicos (Sun *et al.*, 2002). Este tipo de enlaces es el que dificulta la posibilidad de extraer los azúcares desde el material vegetal (Buranov y Mazza, 2008). Otras estructuras presentes en la lignina son los llamados lignanos, los cuales en los materiales herbáceos comprenden hasta un 5 %, donde los principales presentes en residuos agrícolas son el 7-hidroxi-6-metilresinol y el siringaresinol. Ambos establecen enlaces covalentes con carbohidratos, principalmente de tipo glucosídico, los cuales pueden ser extraídos utilizando ácidos o bases diluidas (Buranov y Mazza, 2008). También es posible encontrar estructuras acetiladas, principalmente en la zona que une a la lignina con la zona fenólica (ácido ferúlico o p-cumárico); al igual que los lignanos, estos pueden ser extraídos por bases diluidas (Sarkanen, 1971).

2.7.Pretratamientos lignocelulósicos

Un pretratamiento eficaz debe reunir características como: bajo consumo energético, bajos costes de inversión, utilización de reactivos baratos y fácilmente recuperables y debe ser aplicable a diversos sustratos. Por su naturaleza, los pretratamientos se pueden dividir en cuatro grupos: físicos, físico-químicos, químicos y biológicos (Sun y Cheng, 2002).

2.7.1.Método físico

En este método se encuentra el pretratamiento de fragmentación mecánica y pirolisis a continuación se explicara en que consiste.

2.7.1.1. Fragmentación mecánica y pirolisis.

El material lignocelulósico es fragmentado, triturado y molido (hasta 0.2–2 mm) para aumentar el área de contacto, facilitando el acceso de las celulasas a las fibras de celulosa y aumentando su conversión (Milletet *al.*, 1976). En la pirolisis la lignocelulosa se descompone en diferentes productos gaseosos y carbón residual cuando es tratada con temperaturas altas de hasta 300°C (Kilzer yBroido, 1965). Aunquees un método eficiente para tratar el materiallignocelulósico tiene un costo elevado en comparación con otros métodos.

2.7.2. Métodos físico-químicos

En este método se encuentran los siguientes pretratamientos: explosión de vapor y la explosión de fibra de amoníaco (AFEX).

2.7.2.1. Explosión por vapor

La explosión de vapor es uno de los pretratamientos más efectivos para las maderas duras y desechos agrícolas, pero menos eficiente para maderas suaves (Clark & Mac k íe, 1987). La biomasa es tratada con vapor saturado a una temperatura de 160–260°C (y a una presión de 0.69–4.83 MPa), durante cierto tiempo causando reacciones de autohidrólisis, provocando que la hemicelulosa y lignina son convertidos en oligómeros solubles. Los factores que afectan este proceso son el tiempo del tratamiento, la temperatura, el tamaño de partícula y el contenido de humedad (Duff & Murray, 1996).

Las ventajas de este método son un requerimiento bajo de energía comparado con los métodos físicos convencionales que requieren 70% más energía para alcanzar el mismo tamaño de reducción de las partículas (Holtzaple *et al.*, 1989). Las limitantes del proceso son la destrucción parcial del xilano y la separación incompleta de la lignina y los carbohidratos, así como la generación de compuestos inhibitorios para los microorganismos utilizados en procesos de fermentación (Mackie *et al.*, 1985).

2.7.2.2. Explosión de fibra de amoníaco (AFEX)

Este pretratamiento mejora significativamente la tasa de sacarificación de diversos sustratos lignocelulósicos (Mes- Hartree *et al.*, 1988; Vlasenko *et al.*, 1997; Reshamwala *et al.*, 1995) los cuales son tratados con amoníaco a alta temperatura y presión. Es eficiente para sustratos con poca lignina, logrando hasta el 90% de la hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa (Holtzaple *et al.*, 1991) y no se producen inhibidores ni se requiere que el material lignocelulósico sea triturado. Para reducir los costos y proteger el ambiente, el amoníaco se recicla después reducir los costos y proteger el ambiente, el amoníaco se recicla después del pretratamiento (Dale *et al.*, 1984). El efecto de los métodos físico-químicos varía de acuerdo al material lignocelulósico.

2.7.3. Métodos químicos

El objetivo de estos pretratamientos es solubilizar la fracción de lignina y modificar la estructura de la celulosa facilitando la acción de las enzimas. Entre los pretratamientos químicos se encuentran los tratamientos ozonólisis, hidrólisis ácida, hidrólisis alcalina, deslignificación oxidativa, proceso órgano solvente.

2.7.3.1 Ozonólisis

El ozono degrada la lignina y la hemicelulosa de sustratos como la paja de trigo, los residuos de algodón, del bagazo de caña y del aserrín de pinos y álamos (Ben-Ghedalia&Mirón, 1981). Las reacciones ocurren a presión y temperatura ambiente, provocando que se remueve la lignina hasta en un 8% y el rendimiento del sustrato aumenta en un 57%, no produce residuos tóxicos pero se requiere una gran cantidad de ozono lo que eleva los costos (Vidal & Moliner, 1988).

2.7.3.2. Hidrólisis ácida

Los ácidos como el H_2SO_4 y el HCl concentrados son poderosos agentes que hidrolizan la celulosa, pero son tóxicos, corrosivos y peligrosos por lo que, para su empleo se requieren reactores que resistan su corrosión. Se emplean altas temperaturas y ácidos diluidos que hidrolizan la hemicelulosa transformándola en azúcares solubles en agua, en los residuos queda la celulosa y la lignina, esta última se extrae con solventes orgánicos. El pretratamiento con ácidos mejora la hidrólisis de la celulosa, pero su costo es alto en comparación con otros pretratamientos y requiere una neutralización del pH para evitar la inhibición de la fermentación (Eggeman&Elander, 2005).

2.7.3.3. Hidrólisis alcalina

La hidrólisis alcalina es la adición de bases diluidas a la biomasa y su eficiencia depende del contenido de lignina en los materiales. El hidróxido de sodio diluido produce un hinchamiento, permitiendo un incremento en el área de superficie interna reduciendo el grado de polimerización y cristalinidad de la celulosa, causando la separación de las uniones estructurales entre la lignina y los carbohidratos (Fan *et al.*, 1987). En las maderas duras hay un incremento en la digestibilidad y un descenso del contenido de lignina, en maderas suaves con lignina hasta en un 26% no se han obtenidos resultados eficientes; en general la utilización de bases permite la disolución de la lignina, pero sus costos son altos, haciendo estos métodos no competitivos a gran escala (Sun&Cheng, 2002).

2.7.3.4. Deslignificación oxidativa

El pretratamiento con peróxido de hidrógeno (agente oxidante) aumenta la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática al eliminar cerca del 50% de la lignina y la mayoría de la hemicelulosa, las cuales son solubilizadas liberando la glucosa durante la sacarificación (Azzam, 1989).

2.7.3.5. Proceso organosolvente

Se utilizan solventes orgánicos como metanol, etanol y acetona así como también ácidos inorgánicos como catalizadores (H_2SO_4 ó HCL) que rompen los enlaces de la lignina y la celulosa. La remoción de solventes del sistema es necesaria, ya que inhiben el crecimiento de los organismos, la hidrólisis enzimática y la fermentación (Zhao *et al.*, 2009).

2.7.4. Método biológico

Los tratamientos biológicos son amigables con el ambiente e incrementan la accesibilidad al material celulósico favoreciendo una subsecuente hidrólisis fermentación, sin embargo, es un proceso lento que limita su aplicación a nivel industrial (Hatakka, 1983). Las principales ventajas son el alto rendimiento del producto, las condiciones moderadas de la reacción, la poca generación de compuestos tóxicos y una mínima demanda de energía (Kirk & Jeffries, 1996). Algunas bacterias y hongos de podredumbre blanca y parda oxidan completamente la madera, por lo que tienen aplicaciones biotecnológicas en la conversión de la lignocelulosa a productos de valor industrial (Balan *et al.*, 2008; Martínez *et al.*, 1998). Algunas bacterias celulolíticas utilizadas en pretratamientos biológicos son *Sphingomonas paucimobilis* y *Bacillus circulans* que incrementan la liberación de azúcares hasta en un 94% a partir de papel de oficina (Kurakake *et al.*, 2007). El descubrimiento de enzimas con propiedades importantes resulta muy valioso

(Quiroz- Castañeda et al. 2009) reportaron la caracterización de la actividad celulolítica de los hongos *P. sanguineus* y *B. adusta* en paja de trigo, cuyas enzimas son capaces de tolerar condiciones elevadas de temperatura y funcionan en un amplio rango de pH, lo que los hace potenciales candidatos para ser utilizados en procesos industriales que requieren la hidrólisis de la celulosa. Una alternativa atractiva a la bioconversión es la sacarificación y fermentación simultánea (SSF), en donde las enzimas hidrolíticas y los microorganismos fermentativos están en un mismo reactor (Chandrakant & Bisaria, 1998).

La SSF consolida la hidrólisis de la celulosa y la fermentación de los azúcares en un solo paso, sin embargo, la actividad de las celulasas puede ser inhibida por productos finales como la celobiosa y la glucosa. Entre los organismos usados en la sacarificación y fermentación simultánea se encuentran *S. cerevisiae*, diversas especies de *Kluyveromyces* y *Candida* (Van Markis et al., 2006). El proceso de SSF tiene las siguientes ventajas: (1) aumentar la tasa de hidrólisis por conversión de los azúcares que inhiben la actividad de las celulasas; (2) disminuir los requerimientos de enzimas; (3) elevar el rendimiento del producto; (4) remover inmediatamente la glucosa al producir el etanol; (5) duración corta del proceso y (6) utilización de un único reactor. En cuanto a las desventajas se encuentran la incompatibilidad entre la temperatura de hidrólisis y la fermentación, la tolerancia de los microorganismos al etanol así como la inhibición de las enzimas por el producto (Sun & Cheng, 2002).

2.8. Pretratamiento básico

Aquí se encuentra el pretratamiento alcalino y el pretratamiento de la fibra.

2.8.1. Pretratamiento alcalino

La hidrólisis alcalina se lleva a cabo con soluciones diluidas de NaOH, produciendo una reacción de saponificación, al provocar el rompimiento de los enlaces tipo éster que unen la hemicelulosa con la lignina (Buranov y Mazza, 2008). La porosidad del material lignocelulósico aumenta, gracias a la hinchazón que provoca el tratamiento con el NaOH diluido. Algunas investigaciones postulan que el tratamiento es efectivo para materiales con contenido relativamente bajo de lignina, del orden de 10-18 % (Sun,yCheng, 2001), aunque se han encontrado importantes índices de solubilización de lignina para aserrín de álamo con contenido de lignina de 22 % (Ucar, 1990).

También, otras investigaciones han utilizado la adición de un tratamiento alcalino posterior a uno con ácido diluido, aplicado a granos previamente utilizados para la producción de cerveza brewer'sspentgrain(BSG), en él se logran altos niveles de solubilización de lignina, sin mayores pérdidas de azúcares como fruto de la hidrólisis en esta etapa. En la subsiguiente etapa de sacarificación enzimática se logran índices más elevados de obtención de azúcares, del orden de 15 % superior comprado a la utilización de pretratamiento ácido (Mussatoet *al.*, 2008).

2.8.2.Pretratamiento de la fibra

Pretratamiento es la despolimerización de uno o todos los componentes de la biomasa (hemicelulosa, celulosa y lignina) para que sus azúcares puedan ser fermentadas (Rivers y Ebert, 1987). Para liberar los azúcares de la lignocelulosa el pretratamiento se realiza en dos etapas: primero se solubiliza la hemicelulosa con métodos químicos y después se despolimeriza la celulosa con métodos enzimáticos (Sun y Cheng, 2005).

Existen múltiples métodos para solubilizar la hemicelulosa como: explosión de vapor (Bownell y Saddler, 1984), explosión de la fibra con amonio (Dale y Moreira, 1982), pulverización (Cadoche y López, 1989), ácido diluido (Torget *et al.*, 1990) entre otros. Después del pretratamiento químico los monómeros de la hemicelulosa quedan disueltos en un líquido llamado hidrolizado y la celulosa queda presente en una masa insoluble llamada torta. Estos dos componentes son separados y la torta es expuesta al pretratamiento con hidrólisis enzimática.

2.9. Fermentación lignocelulósica

La fermentación microbiana como campo de investigación ésta siendo revolucionado conceptualmente, esto debido al surgimiento de las secuencias genómicas y al desarrollo de tecnologías que hacen posible trasladar esta información en características con un valor agregado. Son de importancia destacable, las

tecnologías que permiten el monitoreo *in situ e in vivo* de los procesos de catálisis, enzimas, y células en el ambiente industrial (Hahn-Hagerdalet *et al.*, 2008).

La fermentación de los azúcares obtenidos después de la sacarificación enzimática (SHF, *separatedhydrolysisfermentation*) se lleva a cabo por medio de microorganismos. Cuando la fuente de carbono es almidón, la fermentación de los azúcares obtenidos se lleva a cabo normalmente con *S. cerevisiae*, sin embargo, a la hora de fermentar los azúcares provenientes de material lignocelulósico, la *S. cerevisiae* no puede fermentar las pentosas provenientes de la hidrólisis de la hemicelulosa. Así, se ha tenido que investigar en la adición de rutas metabólicas a estos microorganismos de forma que sean capaces de procesar las pentosas, mediante ingeniería genética (Gray *et al.*, 2006).

Otra complejidad que está presente en la fermentación de pentosas y hexosas es la generación de compuestos inhibidores en las etapas previas, tales como el ácido acético y los furanos (Sun y Cheng, 2001). Debido a que los principales monómeros que se obtienen de la hidrólisis del material lignocelulósico son la glucosa y la xilosa, las investigaciones se han enfocado en tener organismos que tengan las dos rutas metabólicas tanto la glucosa como la xilosa para su síntesis. Genes de síntesis de la xilosa han sido incorporados a la levadura y a las bacterias *Zymomonasmobilis*. Otro microorganismo recombinante que tiene la ruta metabólica de síntesis de pentosas es la *Escherichiacoli* FBR5, utilizada para fermentar azúcares provenientes de la

hidrólisis enzimática de residuos de trigo pretratados con ácido sulfúrico diluido a 121 °C por 60 minutos. En dicha investigación, el rendimiento etanol/sustrato fue de 0.413g de etanol/g de sustrato (azúcar)], a 35 °C y pH 6,0 (Saha *et al.*, 2005).

2.9.1 Sacarificación y Fermentación Simultánea (SSF).

El proceso de fermentación y sacarificación simultánea (SSF): por sus siglas en inglés, fue diseñado por laGulfOilCompany y se trata de la hidrólisis enzimática de la celulosa llevada a cabo en presencia de microorganismos fermentadores (Emert *et al.*, 1983). Este proceso se realiza en un solo contenedor y las condiciones son adaptadas para maximizar el desempeño de las enzimas y de los microorganismos. Las enzimas funcionan idealmente en condiciones acidas (pH 4-5) y altas temperaturas (40-50°C). Las condiciones óptimas de los microorganismos fermentadores son de pH neutro (pH 6.8-7) y temperaturas moderadas (30-40°C) (Olsson y Hahn-Hägerdal, 1996).

Se han propuesto metodos para la sacarificación y fermentación simultánea de la celulosa –esto es, la hidrólisis enzimática de glucanos a glucosa llevando a cabo al mismo tiempo la fermentación de la glucosa a etanol. Se tienen reportes del conocimiento de un metodo para una mayor integración del proceso: hidrólisis enzimática de glucanos a glucosa y de xilanos a xilosa llevando al mismo tiempo la fermentación de ambas para producir etanol (Zhang *et al.*, 2009).

Basados en la identificación de las constantes importantes para la predicción del modelo SSCF, el análisis de sensibilidad provee de una guía útil para el mejoramiento de enzima y microorganismos para la SSCF de celulosa y hemicelulosa. De acuerdo con dicho estudio, a fin de optimizar la producción de etanol, los requerimientos más importantes son unos organismos con alta producción de etanol a partir de glucosa y xilosa. La inhibición del etanol sobre la tasa de crecimiento específica es importante. Además de unos organismos para SSCF, deberá de tener capacidad para sobreponerse a la toxicidad e inhibición general del etanol. En el caso estudiado, la cepa de *S. cerevisiae* RWB222, la máxima tasa de crecimiento fue importante, mientras que el caso de la glucosa no presentó sensibilidad, lo cual indica que hay un requerimiento mínimo para una adecuada tasa de crecimiento específico en SSCF, el cual es de 0.16/h tanto para la glucosa y xilosa. En virtud de que la glucosa y xilosa residual son bajas, la inhibición competitiva por el azúcar no es importante y, la constante de saturación indica la afinidad de la célula por el azúcar no son muy sensibles (Zhang *et al.*, 2009).

Un grupo de investigadores de Japón han empleado el CBP para la fermentación de etanol de sorgo utilizando *Flamulinavelutipes*. El procedimiento es muy simple y de bajo costo y puede reducir los costos de consumo de energía, debido a que la materia prima es facil de moler y mezclar con el micelio, se han utilizado mutantes de sorgo, los cuales producen altas concentraciones de azúcares solubles por el proceso CBP (Mizuno *et al.*, 2009).

2.10. Composición química del biogás

El biogás está compuesto por un 50-70% de metano CH_4 y un 30-50% de dióxido de carbono, (CO_2) conteniendo pequeñas cantidades de nitrógeno (N_2), sulfuro de hidrógeno (H_2S), vapor de agua, amoníaco (NH_3), hidrógeno (H_2), pudiendo contener otros compuestos azufrados como mercaptanos y silanos, sulfuro de carbonilo, desulfuro de carbono. En casos puntuales se ha detectado la presencia de trazas de compuestos orgánicos, hidrocarburos superiores al metano como, propano, butanos, esto es muy variable y dependerá de múltiples factores (Anders, 2007)

Cuadro 2: composición química del biogás.

Gas	Porcentaje
Metano	50 – 70
Anhídrido carbónico	30 – 50
Nitrógeno	0.5 – 3
Ácido sulfhídrico	0.1 – 2
Vapor de agua	Saturado

Posee una temperatura de inflamación de 700 °C y su llama alcanza una temperatura de 870 °C. El biogás puede ser utilizado como cualquier otro combustible, tanto para la cocción de alimentos, en sustitución de la leña, el queroseno, el gas licuado, etc., como para el alumbrado, mediante lámparas adaptadas al biogás. Las mezclas de biogás con aire, en una relación 1:20, forman un gas detonante altamente explosivo,

lo cual permite que también sea empleado como combustible en motores de combustión interna adaptados (Durán, 2007).

Con un contenido de metano mucho menor de 50 %, el biogás deja de ser inflamable. A partir de la composición química mencionada el biogás cuyo Poder Calorífico Superior (PCS) es en promedio de 4.600 Kcal. /m³ lo que permite generar entre 1,3-1,6 Kw•h⁻¹, lo cual equivale a medio litro de petróleo, aproximadamente. El contenido de energía de 1 m³ de biogás (60% CH₄ y 40% CO₂) es aproximadamente 6 Kw•h/m³. Esta energía puede ser almacenada y distribuida en diferentes formas (gas a baja presión, media o alta), agua caliente o energía eléctrica.

2.10.1. Producción de biogás

El biogás es producido por bacterias de fermentación que se encargan de descomponer el residual orgánico, a lo que se le denomina proceso de fermentación anaeróbica, ya que se produce en ausencia de oxígeno (Durán, 2007). Materiales no orgánicos, como metales, celulosa, vidrio, losa, etc., no son digeridos o modificados durante el proceso de fermentación, de ahí que resulten inapropiados para la obtención de biogás. (Van et al. 1994., Durán, 2007).

Por lo general se puede obtener biogás a partir de cualquier material orgánico. Comúnmente se emplean las excretas de cualquier índole, la cachaza, los desechos de destilerías, los componentes orgánicos de los desechos sólidos municipales, los

residuos orgánicos de mataderos, el lodo de las plantas de tratamiento residuales, los residuales agropecuarios, los desechos orgánicos de las industrias de producción de alimentos, etcétera (AquaLimpia, 2007). Todos los materiales orgánicos que pueden ser empleados como «cieno de fermentación» están compuestos, en su mayor parte, por carbono (C) y nitrógeno (N). La relación entre ambos tiene gran influencia sobre la producción de biogás. Con el agua aumenta la fluidez del material de fermentación, lo cual es importante para lograr un proceso de fermentación más eficiente y, por tanto, una mayor producción de biogás. En un cieno de fermentación líquido las bacterias de metano llegan con mayor facilidad al material de fermentación fresco, lo que acelera el proceso (Pizarro et al., 2006).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación geográfica de la Comarca Lagunera

La Comarca Lagunera se encuentra ubicada entre los paralelos 25⁰05' y 27⁰54' de latitud norte y los meridianos 103⁰40' y 104⁰45' de latitud oeste de Greenwich, teniendo una altura de 1129 metros sobre el nivel del mar, localizada en la parte suroeste del estado de Coahuila y noroeste del estado de Durango, colindando al norte con el estado de Chihuahua y al sur con el estado de Zacatecas (CNA, 2002).

3.2. Clima de la Comarca Lagunera

El clima de la Comarca Lagunera es de tipo desértico con escasa humedad atmosférica, precipitación pluvial promedio entre 200 y 300 mm anuales en la mayor parte de la región y de 400 a 500 mm en la zona montañosa oeste, con una evaporación anual de 2,600 mm y una temperatura media de 20⁰C. En este último aspecto, el área de la llanura y gran parte de la zona montañosa, presentan dos periodos bien definidos: el periodo comprende de 7 meses abril hasta octubre, en los que la temperatura media mensual varía de 13.6⁰ C. Los meses más fríos son diciembre y enero registrándose en este último, el promedio de temperatura más bajo es de 5.8⁰C aproximadamente (CNA, 2002).

3.3. Localización del sitio experimental

El presente trabajo se llevó a cabo por etapas, desarrollándose en las Instalaciones del Laboratorio de Agroecología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Regional Torreón y en el Laboratorio A de Química de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Juárez del Estado de Durango, Unidad Gómez Palacio.

3.4. Producción de estiércol

El estiércol empleado en el desarrollo del presente estudio, proviene de un establo lechero con un total aproximado de 1,400 cabezas en producción. Por normas de ética se emite el nombre del productor.

3.4.1. Pretratamiento lignocelulósico

Una solución de sólidos (estiércol) del 4 y 8 % de hidróxido de sodio al 2 y 3 % se sometió a ebullición por una y dos horas respectivamente. El pH se ajustó a 7.0 posterior al pretratamiento.

VARIABLES DE ESTUDIO

3.4.1.1. Determinación de Elementos Solubles en Agua (ESA)

Se pesaron 1g de estiércol seco en un matraz Erlenmeyer de 125mL, se adicionaron 100 ml de agua destilada, se mantuvo a 93⁰C por 2 horas en un baño María, se filtró

en un crisol con fibra de vidrio, el residuo se secó a 90°C hasta peso constante y la pérdida de peso fue considerada como elementos solubles en agua.

3.4.1. 2.Determinación de Hemicelulosa

El residuo seco de los ESA, se pasó a un matraz de 250 mL y se adicionaron 100 mL de ácido sulfúrico 0.5 N y se mantuvo por 2 h a 93°C en baño María, el contenido se filtró, se pesó como en el caso anterior y la diferencia de peso representa el porcentaje de hemicelulosa.

3.4.1.3.Determinación de Celulosa y Lignina.

Para la celulosa y lignina el residuo seco de la hemicelulosa se transfirió en un matraz de 250 ml y se le adicionaron 10 mL de ácido sulfúrico al 72 % y se mantuvo a 30°C por una hora en un agitador rotatorio (ShellLab, Sheldon, USA) a 200 rpm. El contenido fue diluido hasta un 4 % del ácido sulfúrico por la adición de 93.4 mL de agua destilada y se esterilizó en autoclave a 1.04 kg • cm⁻² por 40 minutos. Nuevamente el contenido se filtró, se secó y por diferencia de peso se estima el porcentaje de celulosa, por diferencia del porcentaje de la celulosa y hemicelulosa se determina la lignina (Sharma y Arora, 2011).

3.5. Determinación de la producción de biogás

En botellas ámbar de 570 mL con boca de 5 cm, se colocaron 31 g de estiércol seco y 200 mL de agua de la llave (para el tratamiento testigo) por quintuplicado, lo mismo se hizo para los pretratamientos con NaOH al 2 y 3 %. Los tratamientos fueron sometidos a ebullición en baño María por una y dos horas según el tratamiento correspondiente. A cada botella se le colocó su tapón de goma del número 20 y se sellaron con un anillo de aluminio y prensados con una pistola. Se incubaron 37 °C en una incubadora bacteriológica (Felisa, México).

3.5.1. Producción de Biogás.

Para la determinación de biogás, se utilizaron Jeringas estériles desechables de 10 mL y por inserción en los tapones de goma, se determinó el volumen diario del biogás. Para evitar errores de mediciones, se procuró que los volúmenes fueran cerrados (10 ml), de lo contrario no se regresaba su contenido a la botella.

3.5.2. Composición Química del Biogás.

Para la determinación química de los principales componentes del biogás (CH₄ y el CO₂), se utilizó como estándar una mezcla de estos gases a una concentración del 5 % y se inyectó a un cromatógrafo de gases Agilent 6820 con un detector de ionización de flama y una columna Alltech CTR I. Se utilizó helio como flujo como gas acarreador con un flujo de 5 mL por minuto.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Composición química del estiércol bovino lechero

Del presente estudio, se obtuvieron los siguientes resultados en cuanto a la composición química del estiércol (Figura 3), está conformado de 22.8 % de celulosa, un 38.3 % de hemicelulosa y un 30.4 de lignina del cual estos representan el 100% de materia orgánica, equivalente a un 15.53 % del total de estiércol. Estos resultados sobrepasan los valores promedios estimados como componentes de las plantas: celulosa 36-61, hemicelulosa 13-37 y lignina 6-29 % (Sveinsdottir et al., 2011)

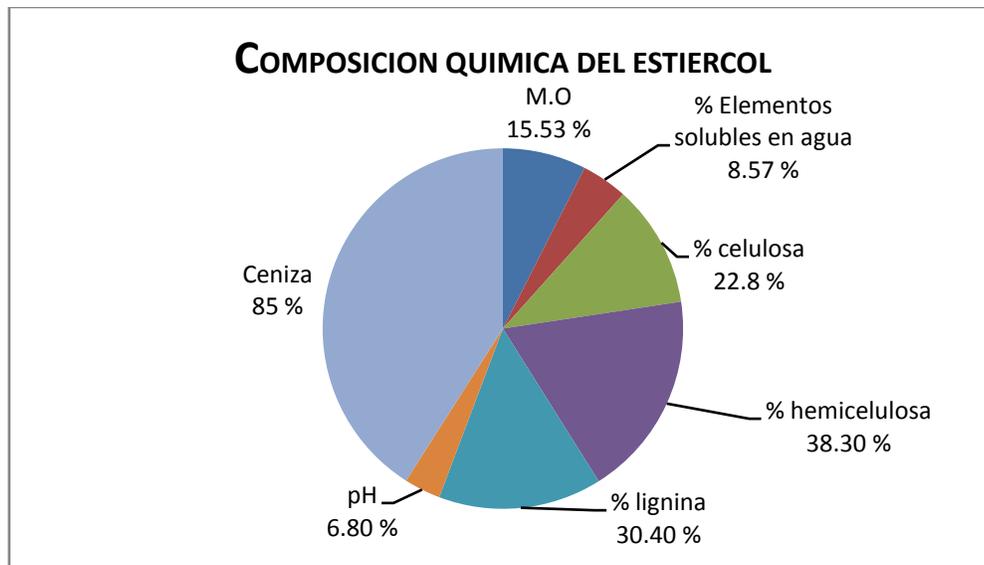


Figura 3. Resultados de composición del estiércol de ganado bovino lechero.

De acuerdo con Yue, et al., (2010), solamente coinciden los resultados en cuanto al contenido de celulosa (21.7 %), mientras que para hemicelulosa y lignina, los resultados encontrados en este estudio fueron superiores (17.1 y 14.5)

respectivamente, cabe destacar que en este caso se empleó la metodología empleada por Sharma y Arora (2011), sería importante evaluar diferencias metodológicas en estudios posteriores. Por otro lado los resultados difieren a lo que menciona Adén et al. (2002) ya que la hemicelulosa tiene un porcentaje (11.6 %), pero más alto en celulosa (32.3 %). Así mismo, Liao et al.(2005), reporta resultados diferentes en cuanto a la composición de celulosa (31.4), hemicelulosa (13.8) y lignina (16.0), lo que nos indica que su composición será variable según el origen y formas de alimentación del ganado.

4.2. Producción de biogás por día

Los resultados encontrados de producción de biogás, estimaron una producción máxima de 32.0 y 16.0 m³Ton⁻¹ST (Figura 4), para T4 en ambas concentraciones de sólidos. El testigo absoluto (T7) a concentración de sólidos del 8 %, genero la máxima producción del biogás (36.3 m³Ton⁻¹ST).

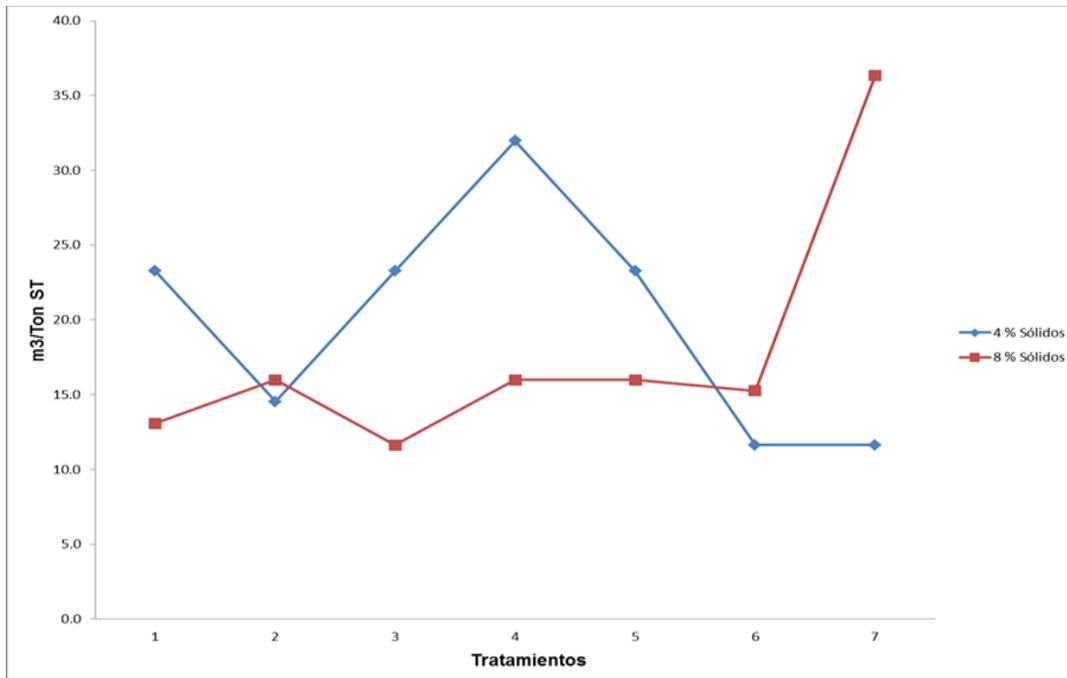


Figura 4: producción de biogás por $M^3Ton^{-1}ST$ en 4 y 8 % de sólidos.

Estos resultados no concuerdan con lo reportado por Yue et al. (2010), quienes estiman una producción diaria de metano de $0.560 m^3$ por vaca, comparándolo con sus resultados, el equivalente de nuestro experimento sería de diez veces menor la cantidad ($0.05 m^3$) considerando la misma cantidad de estiércol producida por vaca lechera (8.52 Kg) Yue., (2010). Resultados que tampoco coinciden con los resultados encontrados por Funk, (2007) $2.57 m^3$ de biogás, como tampoco con los reportados por Pizarro, (2006) de $2 m^3vaca^{-1}día^{-1}$. La producción de biogás puede depender de las condiciones particulares de cada lugar y de cada establo.

4.3. Concentración de metano

El metano representa un poco más del 50% de los gases que constituyen el biogás, lo que hace a éste un combustible con buenas características para ser usado en turbinas o máquinas de combustión interna que accionen generadores eléctricos. La (Figura 6) representa la concentración del metano con 4 y 8 % de sólidos estas mismas con 1 y 2 horas de ebullición en sus tratamientos. En el T1 (1 h de ebullición y 2 % de NaOH) con 8 % de sólidos mostraron buena concentración con un 72.0 % de CH₄. En los tratamientos con 4 % de sólidos no mostraron gran concentración, la concentración que más se acercó al resultado del T1 al 8 % fue el T4 con 37.7 %.

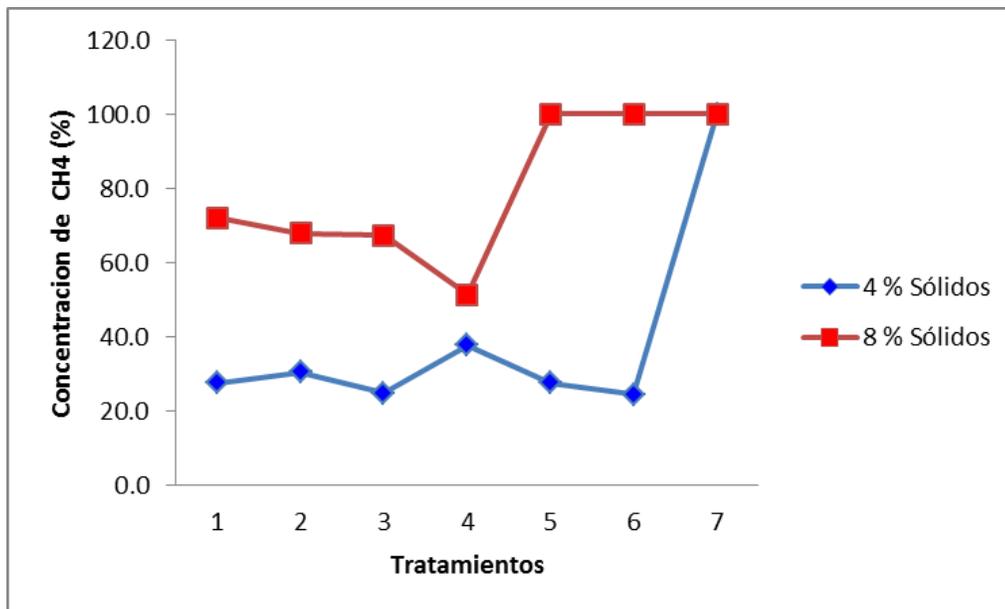


Figura 5. Concentración de metano (%).

La concentración de metano se puede obtener gracias a bacterias anaerobias que son capaces de producirlos en grandes cantidades.

4.4. Producción de electricidad por día

Para la producción eléctrica a partir del biogás producido por la digestión anaerobia del estiércol de bovino, permite el aprovechamiento de energía renovable. Los resultados muestran la producción de energía estimaron 0.194 y 0.097 kW-h/vaca en las dos concentraciones. El T7 (testigo absoluto) género mayor electricidad 0.220 kW-h/ vaca con concentración al 8 %(Figura 6)que de acuerdo a los resultados que obtuvo Yue et al., (2010) este valor es muy bajo indica que una vaca produce 1.45 de kw-h/vaca.

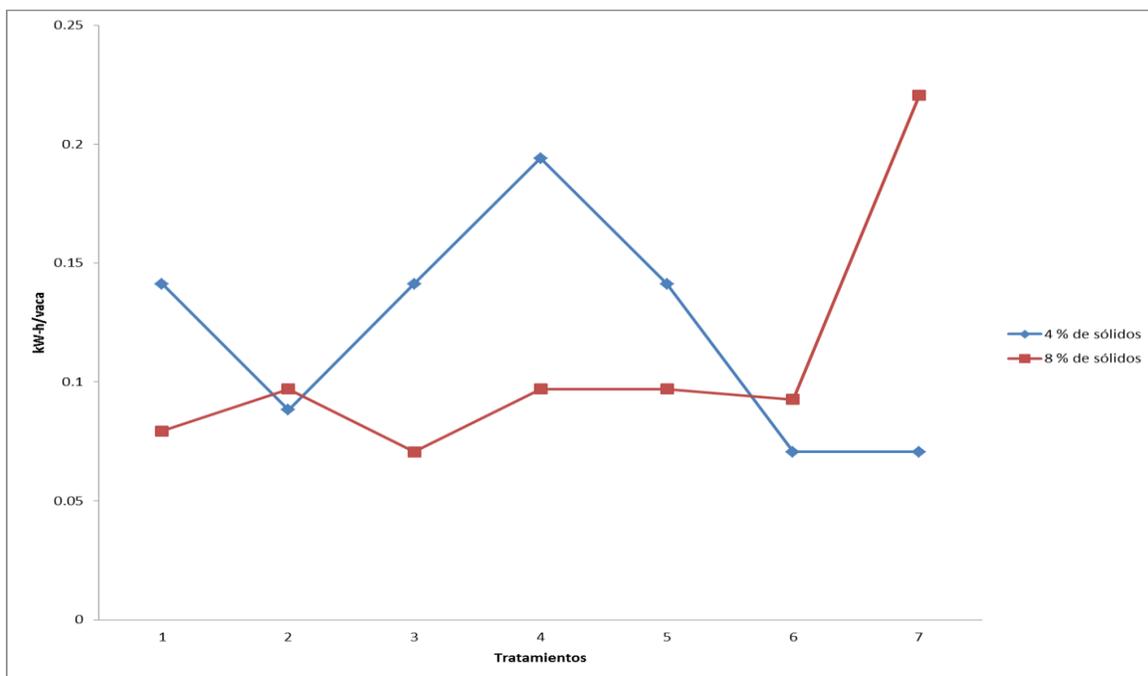


Figura 6. Producción de electricidad en KW-h/vaca

En lo que respecta a la producción de energía eléctrica de acuerdo al biogás producido tomamos en cuenta el valor que dice Van Horn, (1994) donde menciona una eficiencia de 1.0 kw-h/.934 m³ de biogás, ya que cada uno de los tratamientos se dividió entre .934, de acuerdo a lo que dice Van que 1000 vacas podrían generar 2141 kw-h/día suponiendo que produjeran 2000m³ de biogás/día que viene dando una aproximación a diez veces mayor a la producción de los resultados que se obtuvo en esta investigación.

4.4. Ahorro de energía (\$)

Para sacar los resultados de ahorro de energía fue necesario conocer la tarifa de CFE para sacar un valor aproximado. Se puede observar que el tratamiento con mejor producción es al 8 % de sólidos que empezó con un incremento de \$ 0.139, en el T6, cabe destacar que el T6 (al 4 %) \$ 0.101 peso kW/ vaca fue el que menor peso obtuvo, en cuanto a testigos el T7 con \$ 0.317 fue el mejor, lo podemos observar en la Figura 7.

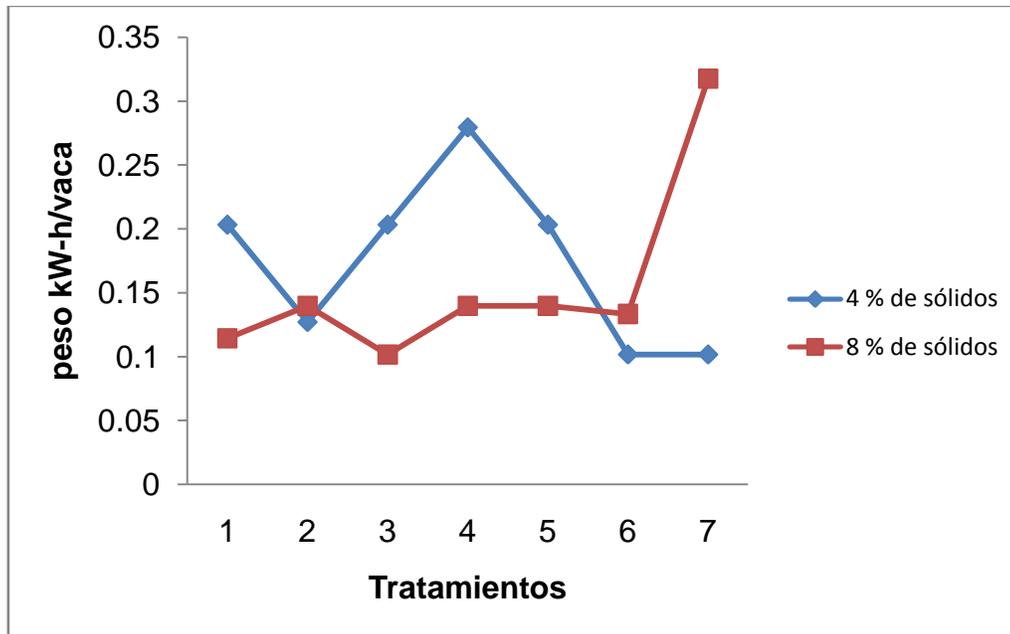


Figura 7. Peso en Kw-h/vaca.

Cabe aclarar que los resultados de estos tratamientos muestran la transformación de kW-h/vaca comparado en 4 y 8 % de sólidos. Los resultados no coinciden con lo que Yuedice que en el experimento que muestran de acuerdo a la producción de biogás por vaca el valor es alto a este experimento.

V. CONCLUSIONES

El análisis de resultados realizado luego del proceso de experimentación permite concluir lo siguiente:

1.- En la producción de biogás los tratamientos que mejor resultados mostraron fueron los del 8 % de sólidos que corresponde a los testigos, esto quiere decir que no es conveniente aplicar NaOH si podemos obtenerlo con más facilidad. En el tratamiento con 4 % de sólidos fue el T4 el que más resultado mostro con un $32.0 \text{ M}^3\text{Ton}^{-1}\text{ST}$.

2.- En lo que respecta a la generación de energía eléctrica el T4 con producción de electricidad de $0.194 \text{ kW}\cdot\text{h}^{-1}\text{vaca}^{-1}$.

4.- Hay que tomar en cuenta que la producción de metano variará de acuerdo a las condiciones de cada establo y de cada región y además que los cálculos realizados en el presente proyecto están basados en aproximaciones.

5.- En los resultados no existen diferencias ya que están produciendo aproximadamente la misma cantidad, Los resultados de este proyecto no concuerdan con los resultados de los autores ya que tenemos una menor producción y por tanto considerar con precaución nuestros resultados.

VI. LITERATURA CITADA

- Aden A, Ruth M, Ibsen K, Jechura J, Neeves K, Sheehan J, Wallace B, Montague L, Slayton A, Lukas J. 2002. Lignocellulosic biomass to ethanol process design and economics utilizing co-current dilute acid prehydrolysis and enzymatic hydrolysis for corn stover. U.S. DOE National Renewable Energy Laboratory, Golden, Colorado.
- Bownell, H.H. y Saddler, J. N. 1984. Steam explosion pretreatment for enzymatic hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering*. Vol. 14: p. 55-68
- Buranov A. y Mazza G. 2008. Lignin in straw of herbaceous crops. *Industrial Crops and Products*, 28: 237-259.
- Cadoche, L., Lopez, G. D. 1989. Assessment of size reduction as a preliminary step in the production of ethanol from lignocellulosic wastes. *Biol. Wastes*. Vol. 30: p.153-157.
- Coughlan M. 1999. Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: An Overview. *Bioresource Technology*, 39:107-115.
- Comisión Nacional del Agua (CNA). 2002. Gerencia regional. Cuencas centrales del norte, subgerencia regional técnica y administrativa del agua. Torreón, Coahuila.
- Dale, B.E. y Moreira, M.J., 1982. A freeze explosion technique for increasing cellulose hydrolysis. *Biotechnology and Bioengineering Symp*. Vol. 12: p.31-43.
- De Menezes, A. B., Lockhart, R. J., Cox, M. J., Allison, H. E. & McCarthy, A. J. 2008. Cellulose degradation by micromonosporas recovered from freshwater lakes and classification of these actinomycetes by DNA gyrase B gene sequencing. *Appl Environ Microbiol*, 74, 7080-4.

- Emert, G. H., R. Katzen, R. E. Fredrickson, K. F. Kaupisch, y C. E. Yeats. 1983. Update on the 50 T/D cellulose-to-ethanol. *Plant. J. Appl. Poly. Sci. Appl. Polymer Symp.* Vol. 37: p.787-795.
- Funk, Ted. 2007. Anaerobic methane digesters for dairy farms: Are you asking the right questions. University of Illinois.
- González-Merino, A. & Castañeda-Zavala, Y. 2008. Biocombustibles, biotecnología y alimentos. *Impactos sociales para México.* Nueva Epoca, 21, 55-83.
- Gray K., Zhao L. y Emptage M. 2006. Bioethanol. *Current Opinion in Chemical Biology*, 10:141-146.
- Hahn-HagerdaL, B., HimmeL, M. E., Somerville, C. & Wyman, C. 2008. Welcome to biotechnology for biofuels. *Biotechnol Biofuels*, 1, 1-4.
- Heinze T. y Liebert T. 2001. Unconventional methods in cellulose functionalization. *Progress in Polymer Science* 26: 1689-1762.
- Ingram,L.O., Conway,T., Clark,D.P., Sewell,G.W., and Preston,J.F. 1987. Genetic engineering of ethanol production in *Escherichia coli*. *Applied Environmental Microbiology*. 53, 2420-2425.
- Ingram,L.O. and Conway,T. 1988. Expression of different levels of ethanologenic enzymes from *Zymomonas mobilis* in recombinant strains of *Escherichia coli*. *Applied Environmental Microbiology*. 54, 397-404.
- Katzen,R., Madson,P.W., Monceaux,D.A., and Bevernitz,K. 1999. Lignocellulosic feedstocks for ethanol production: the ultimate renewable energy source. In *The Alcohol Textbook*, K.A.Jacques, T.P.Lyons, and D.R.Kelsall, eds. (Nottingham: Nottingham University Press), pp. 107-116.
- Lapierre C., Pollet B y Rolando C. 1995. New insights into the molecular architecture of hardwood lignins by chemical degradative methods. *Research on Chemicals Intermediates*, 21:397-412.

- Lynd, L. R., Weimer, P. J., Van Zyl, W. H. & Pretorius, I. S. .2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev*, 66, 506-77, table of contents.
- Millet MA, Baker AJ & Scatter LD. 1976. Physical and chemical pretreatment for enhancing cellulose saccharification. *Biotech.Bioeng. Symp.* 6: 125–153.
- Mizuno, R., Ichinose, H., Honda, M., Takabatake, K., Sotome, I., Takai, T., Maehara, T., Okadome, H., Isobe, S., Gau, M. & Kaneko, S. 2009. Use of whole crop sorghums as a raw material in consolidated bioprocessing bioethanol production using *Flammulina velutipes*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 73, 1671-3.
- Mussato S., Fernandes M., Milagres A. y Roberto I. 2008. Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. *Enzyme and Microbial Technology*, 43: 124-129.
- Olsson, L., Hahn-Hägerdal, B. 1996. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production: *Enzyme Microb. Technol.* Vol. 18: p.312–331.
- Pizarro. C.,W. Mulbry, D. Biersch and P. Kangas. 2006.An economic assessment of algal turf scrubber technology for treatment of dairy manure effluent. *Journal of ecological engineering.* (Article in press) Elsevier.
- Rivers B. Douglas y Ebert H. George. 1987. Lignocellulose pretreatment: A comparison of wet and dry ball attrition. *Springer Netherlands.* Vol. 9: p. 365-368
- Rubin M. 2008. Genomics of cellulosic biofuels. *Nature*, 454: 841-845.
- Rupprecht, J., Hankamer, B., Mussgnug, J. H., Ananyev, G., Dismukes, C. & Kruse, O. 2006. Perspectives and advances of biological H₂ production in microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol*, 72, 442-9.

- Saha B., Iten L., Cotta M. y Wu Y. 2005. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol. *Process Biochemistry* 40: 3693-3700.
- Sheehan, J. and Himmel, M. 1999. Enzymes, energy, and the environment: a strategic perspective on the U.S. department of energy's research and development activities for bioethanol. *Biotechnology Progress* 15, 817-827.
- Slade, R., Bauen, A. & Shah, N. 2009. The commercial performance of cellulosic ethanol supply-chains in Europe. *Biotechnol Biofuels*, 2, 3.
- Sveinsdottir, M., Sigurbjornsdottir, M.A., Orlygsson, J., 2011, Ethanol and hydrogen production with thermophilic bacteria from sugars and complex biomass, In: S.S., S. (Ed.) *Progress in biomass and bioenergy production*. In Tech, Croatia, pp. 359-394.
- Sun Y. y Cheng J. 2001. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83: 1-11.
- Sun R., Sun X., Wang S., Zhu W. y Wang X. 2002. Ester and ether linkages between hydroxycinnamic acids and lignins from wheat, rice, rye and barley straws, maize stems, and fastgrowing poplar wood. *Industrial Crops and Products*, 15: 179-188.
- Sun, Y. Cheng, J. J. 2005. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production: *Bioresource Technology*. Vol. 96: p.1599-1606.
- Torget, R., Walter, P., Himmel, M., Grohmann, K., 1990. Dilute acid pretreatment of short rotation woody and herbaceous crops: *Appl. Biochem. Biotechnol.* 24/25: p.115-126.
- Ucar G. 1990. Pretreatment of poplar by acid and alkali for enzymatic hydrolysis. *Wood Science and Technology*, 24: 171-180.

- Weiner, B. A. and Rhodes, R. A.: Submerged fermentation of filtrate from feed lot waste with. Indigenous organisms. Comunicacion personal. 1975.
- Wooley,R., Ruth,M., Glassner,D., and Sheehan,J. 1999. Process design and costing of bioethanol technology: a tool for determining the status and direction of research and development. *Biotechnology Progress* 15, 794-803.
- Yurimoto, H. 2009. Molecular basis of methanol-inducible gene expression and its application in the methylotrophic yeast *Candida boidinii*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 73, 793-800.
- Yue, Z., Teater, C., Liu, Y., Maclellan, J., Liao, W., 2010, A sustainable pathway of cellulosic ethanol production integrating anaerobic digestion with biorefining. *Biotechnol Bioeng* 105, 1031-1039.
- Zhang, J., Shao, X., Townsend, O. V. & Lynd, L. R. 2009. Simultaneous saccharification and co-fermentation of paper sludge to ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* RWB222-Part I: Kinetic modeling and parameters. *Biotechnol Bioeng*, 104, 920-931.