



UNIVERSIDAD FEDERAL DE OURO PRETO
ESCUELA DE MINAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AMBIENTAL



Fabián Camilo Otálora Tapiero

Evaluación de la producción de Biogás en sistemas de dos etapas usando un reactor anaerobio de lecho fijo estructurado (ASTBR) y reactor metanogénico escalonado (RME) alimentado con licor de pentosas.

Ouro Preto, diciembre 2018

Fabián Camilo Otálora Tapiero

Evaluación de la producción de Biogás en sistemas de dos etapas usando un reactor anaerobio de lecho fijo estructurado (ASTBR) y reactor metanogénico escalonado (RME) alimentado con licor de pentosas.

Monografía presentada a la facultad de Ingeniería Ambiental de la Federal de Ouro Preto como parte de los requisitos para la obtención del título Ingeniero Ambiental.

Orientador: Dr. Héctor Javier Luna Wandurraga
Dr. Bruno Eduardo Lobo Baêta
Dr. Juan Daniel Valderrama
Msc Oscar Herrera Adarme

Ouro Preto, diciembre 2018

Marco constitucional

El presente trabajo de graduación fue desarrollado dentro del marco de cooperación institucional entre la Universidad Antonio Nariño y la Universidade Federal de Ouro Preto, el cual busca promover la transferencia de conocimiento y tecnología entre los dos países, el trabajo EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS EN SISTEMAS DE DOS ETAPAS USANDO UN REACTOR ANAEROBIO DE LECHO FIJO ESTRUCTURADO (ASTBR) Y REACTOR METANOGÉNICO ESCALONADO (RME) ALIMENTADO CON LICOR DE PENTOSAS fue orientado por los profesores de la Universidad Antonio Nariño (UAN) Héctor Javier Luna Wandurraga, Juan Daniel Valderrama y por el profesor de la Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) Bruno Eduardo Lobo Baêta y co-orientador Oscar Fernando Herrera.



BRUNO BAÊTA

Director Trabajo de Grado (UFOP)



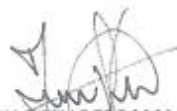
HÉCTOR LUNA

Director Trabajo de Grado (UAN)



OSCAR HERRERA

Co-director Trabajo de Grado (UFOP)



JUAN VALDERRAMA

Co-director Trabajo de Grado (UAN)

UAN
UNIVERSIDAD
ANTONIO NARIÑO



UFOP

Universidade Federal
de Ouro Preto

T172e Tapiero, Fabián Camilo.
Evaluación de la producción de Biogás en sistemas de dos etapas usando un reactor anaerobio de lecho fijo estructurado (ASTBR) y reactor metanogénico escalonado (RME) alimentado con licor de pentosas [manuscrito] / Fabián Camilo Tapiero. - 2018.

70f.: il.: graf.; tabs.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Baeta.

Coorientador: Prof. Dr. Héctor Javier Wnadurrawa.

Monografía (Graduação). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Minas. Departamento de Engenharia Ambiental.

1. Biorrefinería. 2. Biometanización. 3. Licor de pentosas.. 4. Comportamiento hidrodinámico. 5. Biogás. I. Baeta, Bruno. II. Wnadurrawa, Héctor Javier. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

Catálogo: ficha.sisbin@ufop.edu.br CDU: 504



ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE GRADUAÇÃO
Curso de Engenharia Ambiental
Escola de Minas

Aos dez dias do mês de dezembro de 2018, às 15 horas, no Laboratório de Química Ambiental LQTA - Auditório, foi defendida a monografia de final de curso: "Evaluación de la producción de Biogás en sistemas de dos etapas usando reactor de anaerobio de lecho fijo estructurado (ASTBR) y reactor metanogénico escalonado (RME) alimentado con licor de pentosas", requisito da disciplina AMB-108 - Trabalho de Graduação II, pelo aluno Fabián Camilo Otálora Tapiero, sendo a comissão avaliadora formada pelos professores Dr. Héctor Luna (Orientador - UAN), Dr. Bruno Eduardo Lobo Baêta (Orientador - UFOP), Dr. Sergio Francisco de Aquino e Dr. Iván Alejandro Avila León.

Após apresentação e arguição sobre o trabalho, a comissão avaliadora deliberou por unanimidade pela APROVAÇÃO do candidato com a nota 7,0, concedendo-lhe o prazo de até 15 dias para incorporar no texto final as alterações determinadas/sugeridas pela banca.

O aluno fará jus aos créditos e conceito de aprovação na disciplina AMB108 (Trabalho de Graduação II) após a inserção do trabalho no Sistema de Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Cursos da UFOP (BDTCC - UFOP), com folha de autorização da versão final da monografia assinada pelos membros da banca e envio do link da monografia à coordenadora da disciplina.

Para fins de registro, foi lavrada a presente ata que é assinada pelos membros da comissão examinadora e pelo discente.

Ouro Preto, MG, 10 de dezembro de 2018.

Hector J. Luna W

Dr Héctor Luna (Orientador)

Facultad de Ingenierías Ambiental y Civil - Universidad Antonio Nariño (UAN)

Bruno Eduardo Lobo Baêta

Dr Bruno Eduardo Lobo Baêta (Orientador)

Departamento de Química Industrial - Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP)

Sergio Francisco de Aquino

Dr Sergio Francisco de Aquino

Departamento de Química Industrial - Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP)

Iván Alejandro Avila León

Dr Iván Alejandro Avila León

Facultad de Ingenierías Ambiental y Civil - Universidad Antonio Nariño (UAN)

Fabián Camilo Otálora Tapiero

Fabián Camilo Otálora Tapiero

Aluno do curso de Engenharia Ambiental - UFOP

Agradecimientos

Quiero agradecer a Dios en primer lugar por poner en mi camino a personas de grandes cualidades en los momentos necesarios de este largo camino.

A mi madre y hermana quienes siempre serán un apoyo incondicional y mi motivación a seguir este recorrido que me apasiona. A mis orientadores profesores Héctor y Bruno les agradezco el apoyo, la confianza y el ejemplo de ser unos excelentes profesionales con las mejores cualidades humanas, a Oscar y Jineth por las enseñanzas y la colaboración.

A mis profesores y compañeros a lo largo de este camino en especial a los del laboratorio de ingeniería ambiental en Bogotá y a los chicos del laboratorio LQTA en Ouro Prêto quienes brindaron su apoyo y palabras de ánimo.

Son muchas personas las que de una u otra forma aportaron para la materialización de este sueño, comparto con ustedes esta alegría y les manifiesto una gratitud incansable.

*“Mucha gente pequeña, en lugares pequeños,
haciendo cosas pequeñas, está cambiando el mundo.”*

*“Muita gente pequena, em lugares pequenos,
fazendo coisas pequenas, estão mudando a face do mundo”*

Eduardo Galeano.

Resumen

Las biorrefinerías están perfiladas a ser el reemplazo de las industrias dedicadas a la explotación de combustibles fósiles y el aprovechamiento de residuos orgánicos de gran abundancia debe ser la principal materia prima de estos sistemas, para garantizar un buen funcionamiento es necesario optimizar cada parámetro físico, químico y biológico para desarrollar bioprocesos eficientes, por tanto, este trabajo tuvo como objetivo principal evaluar la producción experimental de biogás en un sistema anaerobio compuesto por un fraccionamiento de las etapas de la biometanización, con el fin de potenciar la obtención de bioproductos.

La etapa acidogénica fue operada en un reactor anaerobio de lecho fijo estructurado (ASTBR) alimentado con una mezcla de licor de pentosas y solución nutriente donde se puede potenciar la producción de hidrógeno y ácidos grasos volátiles (AGV), de manera continua se operó la etapa metanogénica en un reactor metanogénico escalonado (RME) inoculado con una mezcla de residuos orgánicos de elevado contenido de microorganismos metanogénicos y 180 g de cenizas de bagazo de caña de azúcar (CBCA) aprovechando este residuo del proceso de cogeneración de gases en la etapa industrial de la caña de azúcar y su capacidad de actuar como agente adherente, aportante de nutrientes y estabilizador de pH. El sistema fue operado durante 100 días con variaciones en la carga orgánica.

Se encontraron valores óptimos de carga orgánica aplicada (COA) para el sistema alimentado con licor de pentosas como sustrato, mediante la comparación de una COA baja de 1.45 kgDQO/m³.d en la fase de operación 1 con una COA de 3.32 kgDQO/m³.d en la fase de operación 2 donde para el sistema acidogénico, los valores de remoción de DQO estuvieron dentro de los parámetros normales hallados en la literatura entre 25 y 31 % lo cual permitió alimentar la etapa metanogénica con este efluente de COA 1.01 y 2.32 kgDQO/m³.d para las fases 1 y 2 respectivamente.

La producción de biogás tuvo un notable aumento con el cambio de COA durante las fases comparadas, tanto en el reactor anaerobio de lecho fijo estructurado (ASTBR) como reactor metanogénico escalonado (RME), llegando a alcanzar en la metangénesis una producción de 625.87 Nml CH₄.d⁻¹ en el reactor de volumen 2300 ml con 10% de *head space*, alcanzando un 42.5 % como CH₄, en la etapa acidogénica la producción de biogás fue de 72.16 Nml.d⁻¹, en el reactor de volumen de 1850 ml con 20% de *head space*, no es un valor elevado pero se

conserva acorde con la literatura expuesta en esta investigación ya que los microorganismos en este proceso usan el substrato para síntesis celular y producción de AGV.

Una vez realizada la operación del sistema se evaluó el comportamiento hidrodinámico del reactor ASTBR donde ocurrió la etapa acidogénica mediante test de trazadores con un compuesto inerte que no afectó biológicamente los procesos metabólicos de los microorganismos, este ensayo sirvió para evaluar parámetros operacionales como el TRH, hidrodinámicamente se encontró que el diseño del biorreactor garantiza una mezcla completa del fluido a lo largo de su recorrido ascendente por el biorreactor.

Palabras Clave

Biorrefinería, biometanización, licor de pentosas, biogás y comportamiento hidrodinámico.

Abstract

The bio-refineries are profiled to be the replacement of industries dedicated to the exploitation of fossil fuels and should use organic waste of great abundance as their main raw material. It is necessary to optimize each physical, chemical and biological parameter to guarantee a good operation as well to develop efficient bioprocesses. Therefore, the main objective is to evaluate the experimental production of biogas in an anaerobic system composed of fractionation of the stages of bio-methanization, to promote the production of bio-products.

The acidogenic stage was operated in an anaerobic structured-bed reactor (ASTBR) fed with a mixture of pentose liquor and nutrient solution where the production of hydrogen and volatile fatty acids (VFA) can be enhanced. The methanogenic stage was continuously operated in a methanogenic reactor (RME), inoculated with a mixture of organic waste that had a high content of methanogenic microorganisms, and 180 g of sugarcane bagasse ash for its ability to act as an adherent agent, nutrient contributor and pH stabilizer while taking advantage of this waste from the processes of cogeneration of gases in the industrial stage of sugar cane. The system was operated for 100 days with variations in the organic load.

Optimal values of organic loading rate (OLR) were found for the system fed with pentose liquor as substrate, by comparing a low OLR of 1.45 kgCOD / m³.d in operation phase 1, with a OLR of 3.32 kgCOD / m³.d in the phase of operation 2. As for the acidogenic system, the values of COD removal were within the normal parameters found in the literature between 25 and 31%, which allowed to feed the methanogenic stage with this effluent of OLR 1.01 and 2.32 kgDQO / m³.d for phases 1 and 2 respectively.

The biogas production had a remarkable increase with the change of OLR during the compared phases, both in the anaerobic structured-bed reactor (ASTBR) and stepped methanogenic reactor (RME), reaching a production of metagenénesis of 625.87 Nml CH₄. d⁻¹ in a 2300 ml reactor with 10% head space, reaching 42.5% as CH₄. In the acidogenic stage the biogas production was 72.16 Nml.d⁻¹, in the 1850 ml reactor with 20% of head space, is not a high value but it is conserved according to the literature exposed in this investigation since the microorganisms in this process use the substrate for cellular synthesis and production of VFA.

Once the operation of the system was performed, the hydrodynamic behaviour of the ASTBR reactor where the acidogenic stage occurred, was evaluated by tracer tests with an inert compound that did not affect biologically the metabolic processes of the microorganisms.

This test was used to evaluate operational parameters such as hydraulic retention time. It was hydrodynamically found that the design of the bioreactor ensures a complete mixing of the fluid along its upward path through the bioreactor.

Key Words

Biorefinery, biomethanization, pentose liquor, biogas and hydrodynamic evaluation.

Lista de abreviaturas

AH: Auto-hidrolisis
AGV: Ácidos Grasos Volátiles
ASTBR: Reactor de Lecho Fijo Estructurado
BC: Bagazo de caña de azúcar
BM: Balance de Masa
CBCA: Ceniza de bagazo de caña de azúcar
DA: Digestión Anaerobia
DQO: Demanda Química de Oxígeno
ER: Eficiencia de remoción
FF: Furfuraldehído
HMF: 5 – hidroximetil-2-furfuraldehido
HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Resolución
NL: Normal Litro
PAC: Carbón activado en polvo
PHA: Polihidrohialcanoatos
PM: Punto Medio
PVC: Policloruro de Vinilo
PVM: Producción Volumétrica de Metano
RME: Reactor Metanogénico Escalonado
RSL: Relación Sólido/Líquido
SE: Salida Escalonado
SME: Salida Metanogénico Escalonado
STV: Sólidos totales volátiles
UASB: Reactor anaerobio de flujo ascendente

LISTA DE TABLAS

Tabla 2. Parámetros de operación.....	38
Tabla 3. Composición de la solución nutriente	39
Tabla 4. Factores de conversión a DQO	40
Tabla 5. Caracterización de la fracción sólida.....	48
Tabla 6. Parámetros de operación en el sistema.	50
Tabla 7. Composición del sustrato	54
Tabla 8. Resultados estadísticos del test de trazadores.	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de procesos para la obtención de azúcar refinada y panela donde se evidencian sub productos y residuos del proceso.	19
Figura 2. Productos de una biorrefinería cuya materia prima son materiales lignocelulósicos.	21
Figura 3. Esquema del reactor ASTBR	33
Figura 4. Inmovilización del inóculo en la matriz.....	34
Figura 5. Esquema del RME	35
Figura 6. (A) Medidor de biogás en operación. - (B) Esquema de flujo de biogás dentro del medidor.....	36
Figura 7. Montaje experimental.	38
Figura 8. Diagrama de balance de masa en términos de DQO.....	41
Figura 9. Curva de calentamiento en la auto-hidrólisis	45
Figura 10. pH del licor de pentosas	46
Figura 11. Caracterización del licor de pentosas.....	47
Figura 12. % de remoción de las CBCA sobre los compuestos del licor de pentosas.	49
Figura 13. Modelos de adsorción por compuestos. A. Furfuraldehído. B. Hidroximetilfurfural. C. Glucosa	50
Figura 14. Comportamiento del pH en el sistema por cada etapa operada.	52
Figura 15. % de remoción de DQO	53
Figura 16. DQO por biorreactor	54
Figura 17. Evaluación de AGV en el sistema	55
Figura 18. Biogás ASTBR. A. Producción total. B. Valores de producción por componente.	56
Figura 19. Producción y composición de biogás en el RME	57
Figura 20. Perfil de curva obtenido por ensayo hidrodinámico en la respuesta de concentración del trazador. A. Curva de salida del trazador en el intervalo del tiempo. B. Perfil de distribución de tiempo de residencia teórico y experimental.....	59

Sumario

1. Introducción	14
2. Objetivos	16
2.1. Objetivo general:.....	16
2.2. Objetivos específicos	16
3. Estado del arte	17
3.1. Biorrefinería.....	17
3.2. Caña de azúcar	18
3.3. Subproductos del procesamiento industrial de la caña de azúcar	19
3.3.1. Melaza	19
3.3.2. Bagazo de caña de azúcar	20
3.4. Bio-productos obtenidos a partir de bagazo de caña	21
3.4.1. Ácidos grasos de cadena corta o ácidos grasos volátiles (AGV)	22
3.4.2. Polihidroxialcanoato (PHA)	22
3.4.3. Biogás	23
3.4.4. BioHythane	23
3.5. Auto-Hidrólisis (Técnica)	24
3.6. Digestión anaerobia – Biometanización	24
3.6.1. Hidrólisis	25
3.6.2. Acidogénesis (Fermentación y oxidación de productos de la hidrólisis)	25
3.6.3. Acetogénesis	25
3.6.4. Metanogénesis	26
3.7. Biorreactores anaerobios.....	26
3.7.1. Ensayo hidrodinámico.....	27
4. Materiales y Métodos	28

4.1.	Caracterización de Bagazo de Caña.....	28
4.1.1.	Cuantificación de la humedad	28
4.1.2.	Lignina insoluble	28
4.1.3.	Lignina soluble.....	29
4.1.4.	Determinación de hemicelulosa y celulosa	30
4.2.	Obtención del licor de pentosas	31
4.3.	Determinación de la capacidad de adsorción de las cenizas.....	31
4.4.	Biorreactores	32
4.4.1.	Biorreactor acidogénico.	32
4.4.1.	Inoculación	33
4.4.2.	Reactor Metanogénico Escalonado	34
4.4.3.	Inoculación	35
4.5.	Medición de biogás.....	35
4.6.	Operación y evaluación de los biorreactores	37
4.6.1.	Balance de masa.....	40
4.7.	Ensayo hidrodinámico por medio de trazadores.....	42
5.	Presentación y discusión de resultados.....	45
5.1.	Caracterización del licor de pentosas y la fracción sólida resultante del pretratamiento.....	45
5.2.	Adsorción de las cenizas de bagazo de caña de azúcar (CBCA).....	48
5.3.	Operación y análisis del sistema.....	50
5.3.1.	pH.....	51
5.3.2.	Remoción de materia orgánica (DQO).....	52
5.3.3.	Análisis de AGV.....	54
5.3.4.	Producción y composición del Biogás	56
5.4.	Ensayo hidrodinámico	58

6. Recomendaciones	62
7. Referencias	63

1. Introducción

A medida que avanza el desarrollo global nos vemos evocados a tomar medidas de adaptación hacia la construcción de fuentes energéticas sostenibles. El desarrollo global se limitó durante un largo periodo de tiempo a la dependencia de energías provenientes de combustibles lo que generó impactos ambientales, sociales, económicos y políticos irreversibles. En busca de soluciones efectivas en el último siglo se han implementado múltiples estrategias con el objetivo de mitigar impactos ambientales y reestablecer las economías con modelos de producción sostenible. Dentro del ámbito político se han gestionado acuerdos, protocolos y compromisos entre la comunidad internacional los cuales comprometen de manera activa a los países por medio formulación de leyes que orienten a las economías en un horizonte claramente definido de manera global. Durante la última década se ha venido fortaleciendo el concepto de la Bio-economía impulsando consigo el desarrollo de tecnologías e investigación para una producción más limpia, la apertura a nuevos mercados aprovechando el uso de la biodiversidad y la eco-intensificación que busca un punto de equilibrio entre los beneficios agrícolas, socioeconómicos y ambientales. (HENRY; PAHUN; TRIGO, 2014)

Es indispensable para un ingeniero ambiental plantear soluciones viables al problema previamente identificado, por tanto, se realiza un enfoque hacia el sector agrícola debido a que es allí donde se tiene el mayor potencial para el desarrollo de metodologías como la que se estudia en esta investigación. Según datos de la Organización de las Naciones Unidas Para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en la región de América del sur el sector agrario pertenece a una de las principales bases de la economía, se tienen 11 546 570 Ha dedicadas al cultivo de caña de azúcar donde algunos de los mayores productores a nivel regional y mundial son Brasil y Colombia, durante la próxima década la producción azucarera crecerá a razón de 3% anualmente lo cual amplía las perspectivas en el aprovechamiento de los residuos generados como biomasa de segunda generación (FAO, 2017).

Las biorrefinerías son la síntesis de la integración de procesos biológicos, químicos y operaciones físicas donde se han desarrollado tecnologías las cuales han resultado altamente eficientes en el aprovechamiento de materia orgánica y residuos para la obtención de energía y productos químicos. Es necesario el desarrollo de plataformas base para el proceso de obtención de una amplia gama de bioproductos, esto requiere una serie de pasos como lo son

un pretratamiento eficiente (físico o químico) que realice la ruptura de moléculas complejas y una biosíntesis donde los microorganismos actúen en la producción de sustancias de utilidad industrial.

Durante la digestión anaerobia (DA) son producidas sustancias intermedias como AGV de gran utilidad que pueden ser aplicados para la producción de polihidroxicanoatos (PHA) si se piensa en aprovechamiento industrial de estas sustancias para la obtención de materias primas químicas y obtención de biogás el cual es el producto final de la DA. Considerando la producción de las anteriores sustancias a partir de licor de pentosas el cual es una mezcla producto del pretratamiento por auto-hidrolisis es necesario percibir el contenido de compuestos que son considerados inhibidores para los microorganismos como el Furfuraldehído (FF) y 5 – hidroximetil-2-furfuraldehído (HMF)(BARAKAT *et al.*, 2012),

Para la optimización de biorrefinerías es preciso analizar diferentes configuraciones de biorreactores, de co-digestión y de pretratamientos de biomasa. En la actualidad existe una amplia gama de biorreactores donde se alteran parámetros hidráulicos mediante el diseño y se configuran diferentes parámetros operacionales como carga orgánica aplicada (COA), tiempo de retención hidráulico (TRH), consorcios de microorganismos y diferenciación de las etapas de biometanización, mediante ensayos de funcionamiento hidrodinámico se consiguen modelar y determinar los comportamientos de estos sistemas.

Los procesos de biorrefinación contienen un amplio margen de aplicabilidad dependiendo del producto o subproducto de interés, para este caso se evalúa la producción de biogás a partir de la digestión anaerobia en dos etapas del licor de pentosas obtenido después del pre tratamiento por auto-hidrólisis del bagazo de caña.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente surge la pregunta problema para la cual se desenvuelve este estudio: ¿Cuál es el potencial de producción de Biogás en un sistema de dos etapas utilizando un biorreactor de lecho fijo estructurado ASTBR etapa acidogénica y un reactor anaeróbico escalonado RME etapa metanogénica alimentado con licor de pentosas de caña de azúcar como substrato en diferentes cargas?

2. Objetivos

2.1. Objetivo general:

Evaluar la producción de biogás en un sistema de dos etapas usando un reactor anaerobio de lecho fijo estructurado y un reactor metanogénico escalonado con licor de pentosas como sustrato del sistema.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar el licor de pentosas obtenido a partir del pre tratamiento de auto-hidrólisis de bagazo de caña de azúcar.
- Evaluar el desempeño de un reactor ASTBR alimentado con licor de pentosas obtenido del residuo de bagazo de caña a diferentes cargas.
- Evaluar el desempeño de un RME alimentado con efluente de biorreactor ASTBR como sustrato.
- Evaluar la capacidad de adsorción de las cenizas del bagazo de caña (CBCA) sobre los compuestos del licor de pentosas.
- Determinar el comportamiento hidrodinámico del reactor ASTBR por medio de ensayo de trazadores.

3. Estado del arte

3.1. Biorrefinería

Las biorrefinerías son un símil conceptual a una refinería de crudo debido a que está conformada por múltiples procesos que convierten una materia prima en productos intermedios y productos finales. Se han desarrollado como la clave para el acceso a una producción integrada de alimentos, materias primas, productos químicos, materiales y combustibles del futuro pensando en la integración de técnicas físicas, químicas y biológicas (KAMM; KAMM, 2004), el objetivo principal en el desarrollo de biorrefinerías se define por la *ecuación 1*:

$$\text{Mezcla de materia prima (Biomasa) + Procesos biológicos} = \text{Productos de valor agregado} \quad \textit{Ecuación 1}$$

Uno de los primeros aportes a la construcción del concepto de biorrefinería fue hecho en los años 20 y es conocido como *quimiurgia*, término acuñado del inglés *Chemurgy* desarrollado por el estadounidense William Hale quien pensó en dar un uso adicional a los cultivos agrícolas que se tenían en esa época (PERMESWARAN, 2010) lo cual se convertiría posteriormente en la base conceptual de las biorrefinerías de primera generación dedicadas a la producción de etanol de 1G, este modelo se vio opacado tiempo después debido a la necesidad de garantizar seguridad alimentaria a las comunidades, por lo que surgieron las biorrefinerías de segunda generación que tienen como fin aprovechar material residual lignocelulósico como el bagazo de caña para el establecimiento de plataformas como la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y también productos energéticos como etanol 2G y biogás, en la constante búsqueda de optimizar procesos y hacer cada vez modelos más sustentables de producción. Después de un tiempo se implementó el uso de algas y microalgas para garantizar mejores rendimientos en términos de tiempo y calidad de los biocombustibles, este tipo de sistemas se puede llamarlo de tercera generación. Aunque la tercera generación es aún un avance, el estudio y la literatura sobre esto es reciente y se perfila como una tecnología de alta viabilidad; ya se ha definido un horizonte claro como lo es la denominada cuarta generación que consiste en el uso de modificación genética y genómica tanto de materia prima como de microorganismos (GOMEZ MILLAN, 2015; MONCADA; TAMAYO; CARDONA, 2014)

El marco del presente trabajo se desarrolló en torno de la biorrefinería de segunda generación de la caña de azúcar. El procesamiento industrial de la caña de azúcar deja consigo una serie de materiales residuales que tienen diversas cualidades para ser aprovechados dentro de modelos de biorrefinerías como las ya implementadas que producen etanol 2G y biogás.

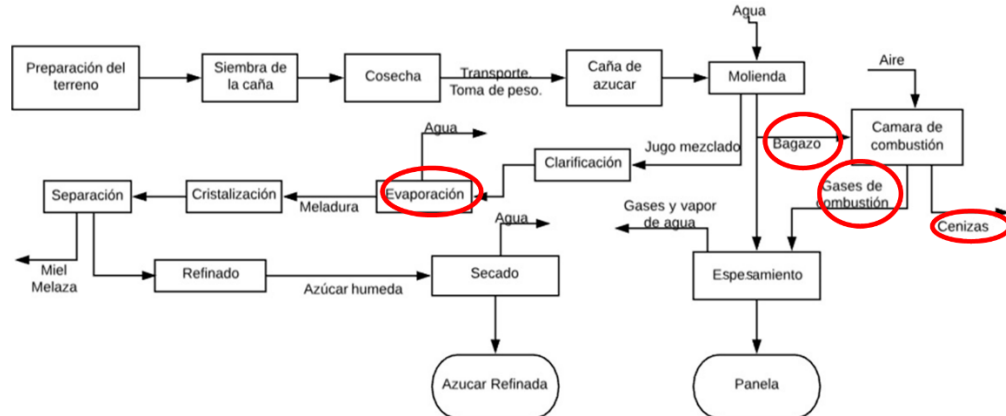
3.2. Caña de azúcar

La caña de azúcar es una gramínea originaria de la India y perteneciente al género *Saccharum*, en cuyo tallo se forma y acumula un jugo rico en sacarosa, compuesto que al ser extraído y cristalizado forma el azúcar. Esta llegó al continente americano en la época de colonización de Brasil. A nivel regional la explotación de caña de azúcar es una de las actividades agrícolas más fuertes lo que le da un potencial a la generación de residuos lignocelulósicos, bagazo de caña y la paja seca de la caña de azúcar (RAC) (RIBEIRO *et al.*, 2017)

En la *figura 1* se observa el proceso de transformación que sufre la caña de azúcar y los subproductos obtenidos a lo largo de la cadena, es posible evidenciar la cantidad de energía requerida durante las múltiples etapas del proceso industrial, la caña de azúcar es fuente de productos de interés alimenticio como endulzantes y licores, también a partir de ella se pueden generar biocombustibles como etanol 1G y 2G y compuestos químicos.

En las etapas diferenciadas en la *figura 1* se destaca la producción del bagazo de caña posterior a la molienda, una fracción de este es sometida a cámaras de combustión para la obtención de gases de co-generación, esta etapa deja como resultado cenizas residuales con contenido de nutrientes. La producción de bioetanol o etanol 2G es realizada con la fracción sólida del restante de BC que no fue sometido a combustión y es llevada a un pretratamiento térmico, este biocombustible podría suplir el gasto energético que se da en etapas del alto consumo como la evaporación.

Figura 1. Diagrama de procesos para la obtención de azúcar refinada y panela donde se evidencian sub productos y residuos del proceso.



Fuente: El autor

3.3. Subproductos del procesamiento industrial de la caña de azúcar

3.3.1. Melaza

Es un tipo de miel viscosa y densa, de color oscuro que surge como producto final, resultado del proceso de extracción del azúcar, clarificado y cristalización repetitiva a partir de la caña de azúcar, se considera una mezcla compleja formada por sacarosa, azúcar invertido, sales y otros compuestos solubles en que normalmente están presentes en el jugo de caña (Honig, 1974). La melaza y el bagazo de caña conforman el 25 % del total de del total de subproductos de la caña, el cual está constituido principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, investigaciones como la realizada por (JOSÉ *et al.*, 2007) muestran el aprovechamiento de este producto de diferentes maneras, una parte es empleada para la alimentación animal y otra se utiliza en la elaboración de alcohol carburante también para la producción de lácteos y numerosos productos biotecnológicos. Los principales componentes de la melaza son el agua y los carbohidratos como es mostrado a continuación en la **tabla 1**.

Tabla 1. Composición de la melaza de caña de azúcar.

<i>Componente</i>	<i>Composición (%)</i>
Agua	20
Sacarosa	35
Glucosa	7
Levulosa	9
Otras sustancias reductoras	3
Otros carbohidratos	4.1
Cenizas	12
Compuestos nitrogenados	4.5
Compuestos no nitrogenados	5
Ceras, esteroides y esterofosfolípidos	0.4

Fuente: JOSÉ *et al.*(2007)

3.3.2. Bagazo de caña de azúcar

El bagazo de caña de azúcar es un residuo lignocelulósico fibroso con un alto contenido de carbohidratos en forma de hemicelulosa principalmente, procedente de la extracción del jugo la caña de azúcar en el proceso de molienda en las plantas y destilerías. Se estima que por cada tonelada de caña de azúcar procesada se obtienen entre 250 a 280 kg de bagazo (RIBEIRO, 2016). Actualmente una fracción del bagazo es utilizado en la como combustible sólido en sistemas de cogeneración de energía. Sin embargo, en función de sus características químicas la utilización del bagazo como substrato para producción de etanol 2G es muy interesante en el aprovechamiento de la fracción que no fue quemada y fue sometida a un pretratamiento térmico para disponibilidad celulosa en la parte sólida resultante, todavía para que el proceso se desarrolle de una forma eficiente es necesario mejorar el acceso por parte de los microorganismos a la celulosa, para tanto, es necesario la realización de un pretratamiento capaz de quitar la hemicelulosa y lignina. Los pre tratamientos térmicos son interesantes por aumentar el área superficial del material y remover de forma eficiente las hemicelulosas mejorando la biodegradabilidad de la celulosa que queda presente en las fibras. La fracción líquida remaneciente del pretratamiento es un licor rico en pentosas y hexosas las cuales pueden ser aprovechadas por los microorganismos en el proceso de biometanización y de esta manera producir biogás, es así como se puede obtener un ciclo completo para el tratamiento y la valorización de esta biomasa.

3.4. Bio-productos obtenidos a partir de bagazo de caña

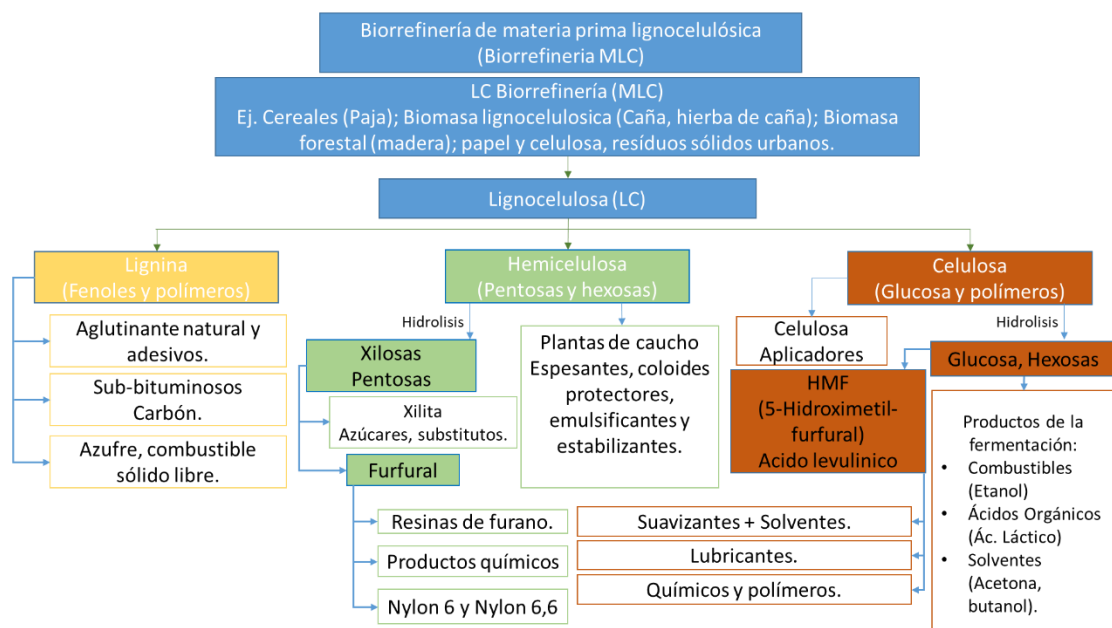
Como se ha resaltado en diferentes puntos de este trabajo, los bio-productos se perfilan como el reemplazo a la dependencia de sustancias de baja biodegradabilidad y su obtención puede generar un pilar importante desde el punto de vista económico e industrial.

Estos se obtienen a partir de resultados parciales o finales de los procesos biológicos, el objeto esencial del proceso de biorrefinamiento es alcanzar un rendimiento del 100% es decir aprovechar la totalidad de la materia prima (GOMEZ, 2015), los productos pueden clasificarse en los siguientes grandes grupos:

- Biocombustibles: CH₄, H₂, Biodiésel y Bioetanol.
- Bio-productos químicos y materiales: AGV, fenoles, furfurales, ácidos de interés industrial (Succínico, láctico, acético, etc), resinas y poliésteres (MEIGHAN *et al.*, 2017).

A continuación, se muestra la **figura 2** en la cual se detalla el proceso para generación de subproductos a partir de biomasa lignocelulósica, se evidencia una amplia cantidad de subproductos lo cual aumenta considerablemente el valor agregado de esta tecnología.

Figura 2. Productos de una biorrefinería cuya materia prima son materiales lignocelulósicos.



Fuente: Autor adaptado de (GAVRILESCU, 2014)

En la figura anterior se observa en detalle los productos que pueden ser obtenidos a partir de cada polímero que compone la materia orgánica lignocelulósica en la cual se centra este trabajo. Es destacable resaltar la amplia gama de sustancias químicas que se pueden obtener (resinas, estabilizantes, lubricantes, solventes), uno de los principales obstáculos de los modelos primarios de biorrefinerías era la competencia en la producción de compuestos químicos frente a la industria de los combustibles fósiles, ahora, esto muestra amplios desarrollos en tecnologías de biorrefinerías para la obtención de iguales o mejores resultados con inversiones mínimas desde el punto de vista general de un análisis de ciclo de vida y producción.

3.4.1. Ácidos grasos de cadena corta o ácidos grasos volátiles (AGV)

Los ácidos grasos volátiles (AGV) son producto de la etapa acidogénica, tienen múltiples aplicaciones como la producción de bioenergía y la eliminación biológica de nutrientes de las aguas residuales, funcionan también como fuente de carbono para la generación de microorganismos. (LIU et al., 2018). Estos son los principales sustratos para la producción de polihidroxialcanoatos (PHA) ya que existen microorganismos capaces de metabolizar AGV para producir PHA de manera intracelular (TORREZ, ÁLVAREZ, TURBA, & MATTIASSON, 2008).

Los AGV son considerados compuestos reguladores dentro del proceso de biometanización ya que la formación de estos se da en un nivel intermedio y son disponibilizados para que las bacterias arqueas metanogénicas puedan consumirlos y producir biogás, estos ácidos orgánicos funcionan también como indicadores del proceso de acidificación, al ser evaluada de manera constante las variaciones en la producción pueden indicar rutas metabólicas preferenciales por ciertos microorganismos.

3.4.2. Polihidroxialcanoato (PHA)

Los PHA son macromoléculas formadas a partir de ácidos grasos sintetizados por bacterias, el polihroxibutirato (PHB) y el polihidrovalerato (PHV) son los tipos de PHA más comunes ya los microorganismos incorporan y metabolizan de manera preferente el ácido acético y butírico para producir PHB, el ácido propiónico y valérico es metabolizado para dar lugar a los PHV en materia de producción a partir de efluentes de biorreactores acidogénicos se han calculado valores producción de entre 60-70 % y 40-30% respectivamente (FUESS, 2017).

Son compuestos de importante aplicación industrial ya que se perfilan como reemplazo de productos plásticos y farmacéuticos puesto que cumplen características mecánicas y termo resistentes similares a los producidos por la industria petroquímica cuya biodegradabilidad es bastante prolongada en el tiempo por el contrario los PHA tienen la capacidad de degradarse en CO₂ y H₂O en condiciones aerobias o a CH₄ bajo parámetros anaerobios (DELGADO & CORDOBA, 2015).

3.4.3. Biogás

Es la mezcla gaseosa de CH₄, H₂ y CO₂, caracterizados por la ausencia de color y la baja densidad producto de la degradación de materia orgánica en la fase metanogénica, también se pueden encontrar trazas de N₂, O₂, NH₃ y H₂S (RIBEIRO, 2016). La utilidad para este producto es amplia gracias a su poder calorífico, un claro ejemplo se da Suecia donde se ha implementado como fuente de combustible de vehículos cuyo valor es muy competitivo con los combustibles fósiles (HOLM-NIELSEN; AL SEADI; OLESKOWICZ-POPIEL, 2009).

La separación de etapas permite incrementar la producción de H₂ en el sistema acidogénico y de CH₄ en el sistema metanogénico puesto que se garantizan velocidades de reacción específicas para cada grupo de microorganismos. El comportamiento microbiano para la producción de gas es específico y se da de manera coordinada preferiblemente en temperaturas de rango mesófilo, para el proceso de metanogénesis o respiración anaerobia las bacterias hidrogenotróficas consumen el H₂ y CO₂ generados en la etapa acidogénica (HOLM-NIELSEN; AL SEADI; OLESKOWICZ-POPIEL, 2009).

3.4.4. BioHythane

Esencialmente se produce de manera convencional de la forma CH₄ + H₂ = Hythane®, desarrollado y patentado por esta compañía que acuñó este nombre sobre los años 80's. El prefijo Bio se debe al origen de los gases CH₄ y H₂ puesto que son extraídos de la degradación anaerobia en la etapa metanogénica y acidogénica respectivamente. Tiene una amplia aplicación puesto que se mejora en términos de eficiencia el poder calorífico permitiendo así el reemplazo de combustibles altamente contaminantes en motores de combustión interna, turbinas a gas, turbinas a gas seguidas en serie con turbinas a vapor (FUESS, 2017).

Todavía para que la producción de los bio-productos sean hechas de una forma viable es necesario en función de la complejidad de la biomasa enviarla a una etapa de pretratamiento capaz de aumentar la accesibilidad de la biomasa.

3.5. Auto-Hidrólisis (Técnica)

Es una técnica de tratamiento hidrotérmico el cual permite la solubilización de la hemicelulosa. El agua actúa como solvente y nucleófilo en las reacciones, requiere temperaturas del rango de 150°C a 200°C y presiones entre 10 y 40 Bar. No carece de la necesidad de adicionar químicos como ácidos o catalizadores lo cual le da una ventaja tanto ambiental como económicamente sobreentendiendo que no requiere reactores de materiales especiales para resistir corrosión (BAËTA,2016). Durante el pretratamiento es generado una fracción sólida rica en celulosa que es destinada a etapa de hidrolisis enzimática y después a la fermentación. La fracción líquida que también es llamada de hidrolizado contiene una grande cantidad de pentosas que pueden ser por ejemplo utilizada como substrato para la producción del biogás. Sin embargo, para que la producción sea considerada eficiente la etapa de pretratamiento tiene que ser optimizada de forma a disminuir la formación de los compuestos conocidos como furanos que son inhibidores a los microorganismos anaerobios. Además, para que sea posible la producción del biogás con el hidrolizado de hemicelulosa es también necesario evaluar las configuraciones de los sistemas anaerobios utilizados, una vez que los mismos tienden a trabajar con una elevada carga orgánica aplicada.

A continuación, se describen las etapas de mayor relevancia dentro del proceso complejo de DA.

3.6. Digestión anaerobia – Biometanización

La digestión anaerobia (DA) está conformada por una serie de procesos biológicos los cuales por medio de microorganismos y procesos enzimáticos degradan la materia orgánica para dar paso a productos de valor agregado. La obtención de licor de pentosas a partir del pretratamiento por auto-hidrólisis de BC es el paso previo a la biometanización de este residuo (BAËTA, 2016).

3.6.1. Hidrólisis

Es la primera etapa de la DA, aquí los microorganismos convierten sustancias complejas en sustancias de menor complejidad por medio de exoenzimas que degradan polímeros en monómeros y oligómeros. Variables como el pH, TRH, tamaño y composición del sustrato pueden afectar la velocidad de esta etapa, es por esto por lo que aquí se determina la eficiencia en la producción de biogás. Se ha determinado que, en hidrolizados de hemicelulosa, los oligómeros generados por la hidrólisis parcial de la hemicelulosa también pueden afectar la tasa de degradación (SILVA, 2018).

3.6.2. Acidogénesis (Fermentación y oxidación de productos de la hidrólisis)

Las células de los microorganismos incorporan los productos de la hidrólisis y los metabolizan por medio de su organismo fermentativo. Estos microorganismos son capaces de transformar azúcares, aminoácidos y ácidos grasos producto de la hidrólisis de la materia orgánica compleja, como resultado se obtienen compuestos más simples como lo son: ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico los cuales se caracterizan por ser ácidos de cadena corta es decir contienen menos de cinco carbonos, también se obtienen alcoholes, hidrogeno, dióxido de carbono y nuevas células bacterianas. La diversidad de productos generados en esta etapa se debe a la capacidad de las bacterias fermentativas de adaptar su metabolismo para aprovechar de la mejor manera la disponibilidad energética del medio en el cual se encuentran (RIBEIRO, 2016).

3.6.3. Acetogénesis

Es realizada por tres diferentes tipos de bacterias acetogénicas: Bacterias Acetogénicas Productoras obligadas de hidrógeno (BAPOH), Bacterias Homoacetogénicas (BHA) y Bacterias Sulfatorreductoras (BSFR). Estos microorganismos son responsables de la oxidación de compuestos intermedios como propionato y butirato disponibilizando así sustratos para las Arqueas metanogénicas capaces de producir acetato, hidrógeno y CO₂. Es una relación simbiótica que permite tener regulación en las condiciones de CH₄ y CO₂. (Ribeiro, 2016). El Acetato y H₂ son los principales productos de la oxidación anaerobia de los ácidos grasos de cadena corta y para dar paso a la metanogénesis es necesaria la eliminación del H₂ (PAVLOSTATHIS; GIRALDO-GOMEZ, 1991).

3.6.4. Metanogénesis

Aquí se obtienen los productos finales de la biometanización, esta depende de manera directa del funcionamiento adecuado de las fases anteriores y la interacción con los parámetros hidráulicos para así obtener los sustratos necesarios para la producción de CH₄ y CO₂.

Las bacterias metanogénicas se dividen en 3 grupos los cuales se caracterizan por desarrollar rutas metabólicas diferentes: Bacterias Metanogénicas Acetoclásticas (BMA) las cuales transforman el acetato en metano y son responsables de un 60% a 70% de la producción total de CH₄, (Ribeiro, 2016) Bacterias Metanogénicas Hidrogenotróficas (BMH) utilizan CO₂ y H₂ para la producción de CH₄ y las Bacterias Homoacetoclasticas (BHA) que tienen la capacidad de transformar de manera simultánea acetato, H₂ y CO₂ (SACRAMENTO-RIVERO; ROMERO; CORTÉS-RODRÍGUEZ, 2010)

3.7. Biorreactores anaerobios

Estas estructuras se han diseñado como medio de depósito donde es posible una interacción controlada entre microorganismos y un efluente que se desea tratar biológicamente, parámetros biológicos, físicos y químicos se pueden ajustar según la necesidad.

En la actualidad existen diversas y variadas configuraciones de biorreactores anaerobios, pero estos se basan en una serie de parámetros hidrodinámicos por los cuales se pueden resaltar los siguientes sistemas teniendo en cuenta que muchos otros son combinaciones e hibridaciones estructurales entre estos.

1. Reactor anaerobio de flujo ascendente

Este reactor conocido como UASB debido a sus siglas en inglés se basa en la formación de un denso manto de lodo en la parte inferior del, es allí donde se dan los procesos de degradación biológica. La acumulación de sólidos suspendidos y sedimentables contribuyen a la creación de biomasa dentro del reactor, así como el crecimiento de los microorganismos y la agrupación de los mismos en gránulos sedimentables. (GIM *et al.*, 2014).

2. Reactor agitado de mezcla completa

Denominado reactor CSTR, en este reactor se supone una mezcla completa, no se asume que haya gradientes de concentración en cualquier tiempo y los procesos de mezcla son instantáneos.

3. Reactor Biológico de Membrana (MBR)

Los biorreactores anaerobios de membranas o Reactor Biológico de Membrana (MBR) (biologic membrane bioreactors) son sistemas que combinan procesos biológicos de degradación de materia orgánica con un sistema físico de separación por membranas hechas a partir de materiales que permiten la circulación de forma específica de componentes físicos y químicos de cierto sustrato.

Se tienen estudios que evalúan la capacidad de biorreactores de membranas inmersa para sustituir sistemas que requieren mayor área y mayores operaciones unitarias como lo es lodos activados (BAËTA, 2012).

Para conocer un poco más acerca de las configuraciones de los reactores es fundamental el estudio de la hidrodinámica de los reactores. El conocimiento del perfil hidrodinámico de los reactores es fundamental para los estudios cinéticos y para los diseños de las plantas en una mayor escala.

3.7.1. Ensayo hidrodinámico

El comportamiento hidrodinámico del reactor es un aspecto por tener en cuenta con el fin de garantizar la eficiencia en la operación, La velocidad de las reacciones biológicas está ligada directamente a la tasa de transferencia de masa y la distribución de las reacciones a lo largo del biorreactor. El tipo de flujo dentro del reactor influye sobre las reacciones bioquímicas ya que estas se dan también según la distribución de la biomasa en el reactor, una distribución deficiente puede ocasionar cortos circuitos hidráulicos, caminos preferenciales y zonas muertas dentro del biorreactor, lo que disminuye el tiempo de retención hidráulico y así mismo el volumen útil del biorreactor (CARVALHO *et al.*, 2008).

4. Materiales y Métodos

4.1. Caracterización de Bagazo de Caña

La caracterización del BC se realizó en la fracción sólida y líquida que resulta posteriormente al pretratamiento para la obtención del licor de pentosas.

4.1.1. Cuantificación de la humedad

La determinación de la humedad fue realizada por medio de la *ecuación 2*, para ello se empleó una balanza termogravimétrica marca OHAUS®, modelo MB25 donde se calentó 1 gramo de bagazo de caña muestra hasta 105 °C por triplicado, garantizando así la separación del contenido húmedo de la muestra durante un tiempo que muestre una variabilidad de la humedad menor al 5%.

$$H(\%) = \frac{m_{total} - m_{seca}}{m_{total}} * 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

De la anterior ecuación se obtiene el valor de H en porcentaje (%), m_{total} es el valor de la masa inicial en la balanza y m_{seca} es el valor de la muestra después del procedimiento.

4.1.2. Lignina insoluble

Teniendo como base la Norma TAPPI T222 om-02 se realizó la determinación del contenido de lignina, el procedimiento fue realizado con 4 réplicas de manera paralela con las modificaciones que serán descritas a continuación, se pesaron aproximadamente 0,7133 g de BC (base seca) previamente triturados en un molino de cuchillos (40-60 mesh), posteriormente se transfirieron a un tubo autoclavable con capacidad de 500 ml y se añadieron 10,7 ml de solución de ácido sulfúrico 72% (m/m) ($d = 1,64 \text{ g mL}^{-1}$). La mezcla BC/ácido permaneció en agitación constante durante 2 horas en la etapa de condensación.

Para la etapa de hidrólisis el ácido fue diluido a una concentración de 3% (m/v), para lo anterior se vertieron 400 ml de agua destilada en los tubos autoclavables, previamente la autoclave fue llevado a una temperatura constante de 121°C donde se dejaron los tubos por 60 minutos y 1 atm de presión.

Para la etapa de filtración se utilizaron filtros de embudo de vidrio con disco de vidrio sinterizado tipo ASTM 10-15 M previamente calcinados en mufla a 550°C por 2 horas y pesados, la solución es filtrada y los recipientes con la fracción sólida o material insoluble son

secados en una estufa con recirculación de aire a 80°C durante 4 horas luego, son llevados a un desecador hasta lograr un peso constante y puestos en una mufla durante 2 horas a 525°C al retirarlos se dejan en un desecador hasta tener un peso constante. En esta etapa se considera que toda la materia orgánica insoluble oxidada es lignina, por tanto, la lignina insoluble fue determinada gravimétricamente siguiendo la **ecuación 3**.

$$\text{Lignina (\%)} = \frac{m_f}{m_i} * 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde m_f es la masa de lignina (g) residual y m_i es la masa inicial (g) de la muestra en base seca.

4.1.3. Lignina soluble

Para la determinación del contenido de lignina soluble se utilizó la fracción líquida resultante del proceso de filtración durante la etapa de determinación de lignina insoluble por el método de Klason. Las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro HP UV-vis modelo 8453 en las longitudes de onda de 215 nm y 280 nm según el procedimiento adaptado por (MARABEZI, 2009). Las concentraciones de lignina soluble se calcularon según la **ecuación 4**

$$C \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{4,53*(A_{215}-A_{280})}{300} \quad \text{Ecuación 4}$$

La ecuación 3 es obtenida a partir de la solución simultanea de las **ecuaciones 5 y 6**.

$$A_{280} = 0,68C_D + 18C_L \quad \text{Ecuación 5}$$

$$A_{215} = 0,15C_D + 70C_L \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde,

A_{280} =Valores de absorbancia obtenidos a 280nm

A_{215} =Valores de absorbancia de la solución obtenidos a 215 nm

C_D = Concentración de los carbohidratos ($g. L^{-1}$)

C_L = Concentración de la lignina soluble ($g. L^{-1}$)

Los valores de 0,68 y 0,15 son respectivamente las absortividades molares de los productos de degradación de los carbohidratos en 280 nm y 215 nm, y los valores de 18 y 70 son absortividades molares de la lignina soluble en 280 y 215 respectivamente.

4.1.4. Determinación de hemicelulosa y celulosa

La cuantificación de la celulosa y hemicelulosa fue realizada con la fracción líquida resultante del filtrado en la determinación de la lignina insoluble. Con análisis en cromatografía de alta resolución (HPLC) donde se identificaron los compuestos de: celobiosa, glucosa, xilosa, arabinosa, ácido fórmico, ácido acético, 2-furfuraldeído (FF) y 5-hidroximetil-2-furfuraldeído (HMF).

El equipo utilizado cuenta con un sistema de bombas binarias (modelo LC-30AD Shimadzu®), muestreador automático (modelo SIL 30AC - Shimadzu®), detector de índice de refracción (RID-6A SHIMADZU) y columna Aminex HPX 87H (300 x 7.8 mm BIO-RAD). La fase móvil fue una solución de ácido sulfúrico 5 mmol/L^{-1} bombeada a razón de $0,6 \text{ ml} * \text{min}^{-1}$ y se usó un horno (CTO-10A SHIMADZU) el cual mantuvo la columna a una temperatura de 55°C .

Para la determinación de ácidos orgánicos (Fórmico, acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico), FF y HMF se usaron las mismas condiciones de la determinación de azúcares solo con variación en el tipo de detector utilizado el cual fue UV-Vis (SPD-10AV SHIMADZU) de doble canal con longitudes de onda de 210 nm para determinar ácidos y 274 para los compuestos de FF y HMF.

Una vez obtenidos los análisis cromatográficos las masas de celobiosa y glucosa se convierten en cantidades de glucanas; las masas de xilosa y arabinosa en xilanas y arabinanas respectivamente, la masa de ácido acético fue convertida en grupos acetil. Los valores determinados de HMF y FF son convertidos en cantidad de glucanas e xilanas multiplicándose los compuestos por los factores de hidrólisis 1,286 y 1,375 respectivamente. Las **ecuaciones 7 y 8** fueron usadas para la conversión de los componentes del hidrolizado en cantidad de celulosa y hemicelulosa.

$$Celulosa (\%) = \left[\frac{((0,95C_{Celobiosa}) + (0,9C_{Glucosa}) + (3,52C_{\text{Ácido Fórmico}}) + (1,29C_{HMF})) * V_{H_2O+SO_4}}{m_i} \right] * 100$$

Ecuación 7

Hemicelulosa (%)

$$= \left[\frac{((0,88C_{Celobiose}) + (0,88C_{Arabinosa}) + (1,375C_{FF})) * V_{H_2O+SO_4}}{m_i} \right] * 100$$

Ecuación 8

El balance de masa para los componentes del BC fue calculado teniendo en cuenta la **ecuación 9**.

$$\text{Balance de masa (\%)} = C + P + L + I \qquad \text{Ecuación 9}$$

Donde, C es la cantidad celulosa (%), P cantidad de hemicelulosa (%), L cantidad de lignina (Soluble + Insoluble) (%) e I es el contenido de inorgánicos (%).

4.2. Obtención del licor de pentosas

Los ensayos de auto-hidrólisis fueron realizados bajo las condiciones DC4 optimizadas por (BAËTA, *et al.*, 2016), donde se evalúan en sistemas de dos etapas en lote la biodetoxicación del hidrolizado para mejorar el potencial de producción de hidrógeno y metano. Las condiciones específicas que se mantuvieron fue temperatura de 182,9°C, tiempo de contacto de 40,71 minutos y relación sólido/líquido de $4\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{BC}$.

Para producir la cantidad necesaria de hidrolizado para la operación continua de los biorreactores se utilizó un reactor Parr modelo 4848 cuya capacidad en volumen es de 2 L. La masa de BC fijada para la fase experimental fue de 120g (Base seca). Posteriormente al pretratamiento el BC se premo en una prensa hidráulica de la marca Solab, modelo SL10/15/E, obteniendo un rendimiento del 87% (± 400 ml). La fracción líquida fue almacenada en una temperatura de -20°C hasta ser utilizado como sustrato de la etapa acidogénica. La fracción sólida fue almacenada y caracterizada según los procedimientos descritos en el ítem 4.1.

4.3. Determinación de la capacidad de adsorción de las cenizas

En la etapa metanogénica se emplearon 185 gramos de cenizas de bagazo de caña de azúcar (CBCA) provenientes de la quema de BC en una planta perteneciente a la Asociación de Industrias Sucoenergéticas de Minas Gerais (SIAMIG) localizada en el triángulo minero.

Para la determinación de la capacidad adsorbente de las CBCA sobre los compuestos presentes en el sustrato (ácidos orgánicos, carbohidratos y subproductos como furanos), se realizó un test de adsorción donde se mantuvieron condiciones constantes de 35°C, pH= 7,2, agitación de 180 rpm en una incubadora orbital refrigerada marca TECNAL, Modelo TE-421.

Se analizó el efecto adsorbente de las cenizas en las siguientes cantidades 15 y 40 g.L⁻¹, cada ensayo fue realizado por triplicado.

Se determinó mediante ensayos preliminares que el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio de adsorción es de 24 h, posteriormente se analizaron las muestras en cromatografía líquida de alta resolución según la metodología usada en el ítem 4.1.3., donde se obtuvieron las eficiencias de remoción de los compuestos analizados.

Por medio de la **ecuación 10** se determinó la cantidad de inhibidores adsorbidos por unidad de adsorbente.

$$q_e = \frac{(C_i - C_f) \cdot V}{W_{ads}} \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde, q_e es la cantidad de compuesto adsorbidos en la etapa sólida (mg/g), C_i es la concentración inicial del hidrolizado (mg/L), C_f es la concentración de la fracción líquida después de 24 horas de agitación (mg/L), V es el volumen de hidrolizado (L) y W_{ads} es la cantidad de CBCA adicionado en (g).

El tipo de modelamiento utilizado fue establecido siguiendo la metodología de (TSAI; JUANG,1999), donde se analiza la raíz media residual del error (RMSE) como esta dado a continuación en la **ecuación 11**.

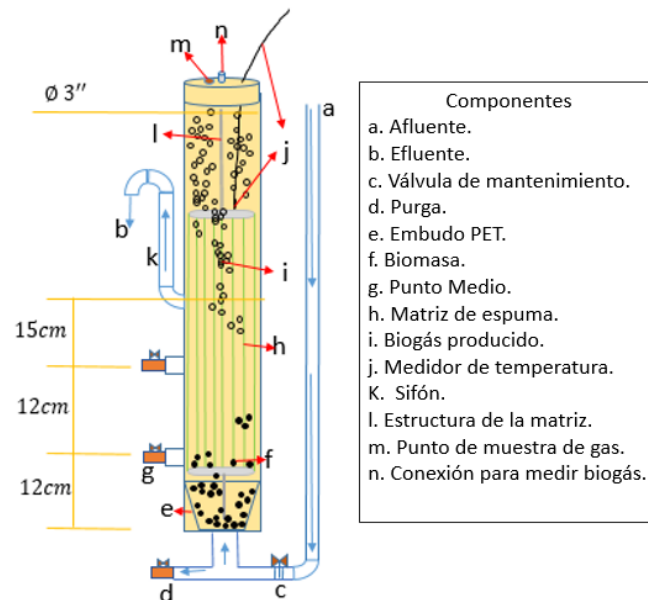
Donde, q_e es la cantidad de compuestos inhibidores adsorbidos por la fracción sólida, q_i es el valor calculado a partir de las isotermas definidas por los modelos del ítem 3.6. Para valores de RMSE pequeños se definen ajustes ideales a la curva.

4.4. Biorreactores

4.4.1. Biorreactor acidogénico.

El biorreactor utilizado para este trabajo fue operado previamente por (OVIEDO, 2018) como se observa en la figura 3 el reactor tiene configuración de ASTBR la cual se ha trabajado en diferentes ensayos en la Universidad Antonio Nariño, fue construido con policloruro de vinilo (PVC), un material de bajo costo que es maleable y permite una fácil manipulación para el mantenimiento. El volumen de diseño fue de 1850 ml con un 20% de headspace y diámetro interno de 5.8 cm.

Figura 3. Esquema del reactor ASTBR



Fuente: Autor

Con el fin de concentrar la biomasa sedimentable se realizó una adaptación en la parte inferior del biorreactor con una botella PET, el biorreactor cuenta con 3 puntos de monitoreo simétricamente ubicados los cuales son efluente, punto medio y purga. Se adoptó un sistema sifón con el fin de mantener una diferencia de presión para garantizar la salida del biogás por el punto de monitoreo y mantener la lámina de agua dentro del biorreactor.

Para el control de temperatura como se evidencia en los múltiples estudios analizados se garantizó una tasa mesófila para los microorganismos de 35°C por medio de un circuito de calentamiento externo y monitoreo interno compuesto por un Termostato digital W1209 y cordón de calentamiento de resistencia de $158 \text{ ohm} \cdot \text{m}^{-1}$.

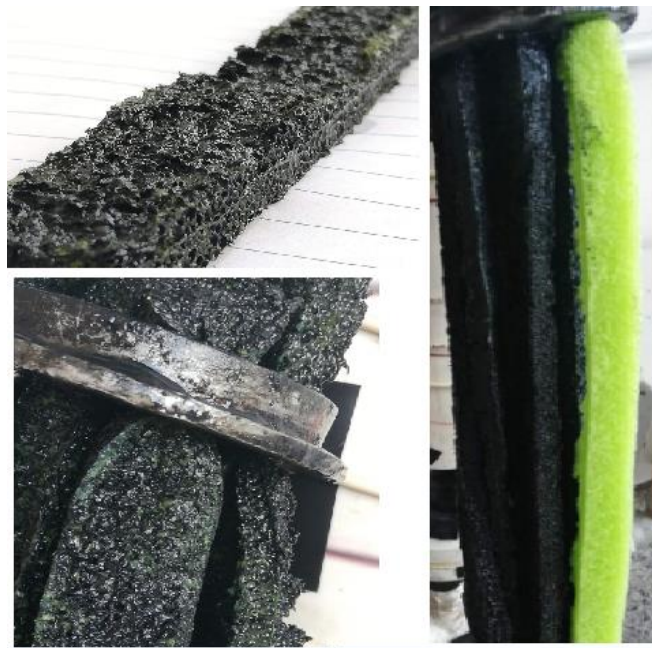
El licor de pentosas fue alimentador al biorreactor desde un tanque de almacenamiento por medio de una bomba peristáltica marca Milán modelo BP600 de doble canal.

4.4.1. Inoculación

Para la inoculación de la etapa acidogénica se siguió la metodología descrita por (CORDEIRO, 2018). Con una mezcla inicial compuesta por 300 ml de estiércol de vaca y 600 ml de agua destilada, se realizó una caracterización en términos de sólidos suspendidos volátiles y se mezcló con lodo anaerobio buscando obtener un contenido final de 50% en masa de estiércol de vaca.

El inóculo fue sometido a un tratamiento térmico en autoclave a 100 °C durante 2 horas, para garantizar la fijación del inóculo en la matriz del biorreactor, este se recirculo durante 8 horas a un caudal de 3.8 ml/min. En la *figura 4* se observa la inmovilización del inóculo en la matriz.

Figura 4. Inmovilización del inóculo en la matriz.



Fuente: Autor

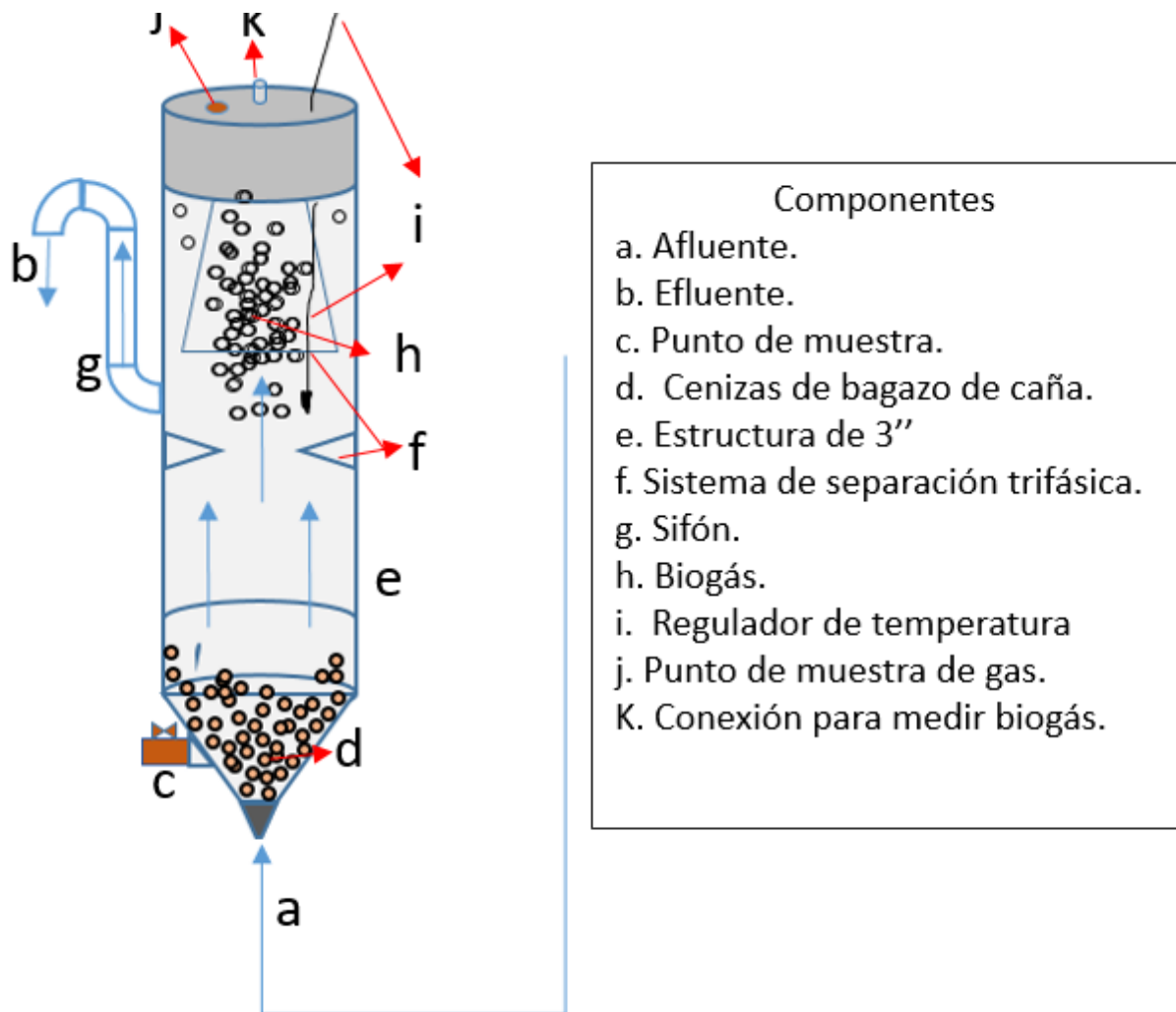
4.4.2. Reactor Metanogénico Escalonado

Para la etapa metanogénica del sistema se utilizó un reactor de diámetro variable el cual fue operado previamente por (CORDEIRO, 2018).

El reactor de diámetro variable de flujo ascendente (RME) detallado en la *figura 5* está construido con material PVC, el volumen es de 2300 ml y compuesto por tres puntos de muestra (Afluente, efluente y punto de muestra).

Para garantizar la temperatura se instaló un sistema igual al descrito en el ítem 4.4.1. y la estructura de alimentación fue con una bomba peristáltica Milan modelo BP600 de doble canal, y tanque de almacenamiento.

Figura 5. Esquema del RME



Fuente: Autor

4.4.3. Inoculación

Para la inoculación de este reactor se utilizó una mezcla de especies que favorecen la producción de H_2 y CH_4 .

Se inoculó el biorreactor con una mezcla de 500 ml compuesta por 400 ml de lodo proveniente de un reactor UASB dedicado al tratamiento de aguas residuales urbanas y 100 g de estiércol de vaca, se adicionaron también 180 g de ceniza de bagazo de caña.

4.5. Medición de biogás

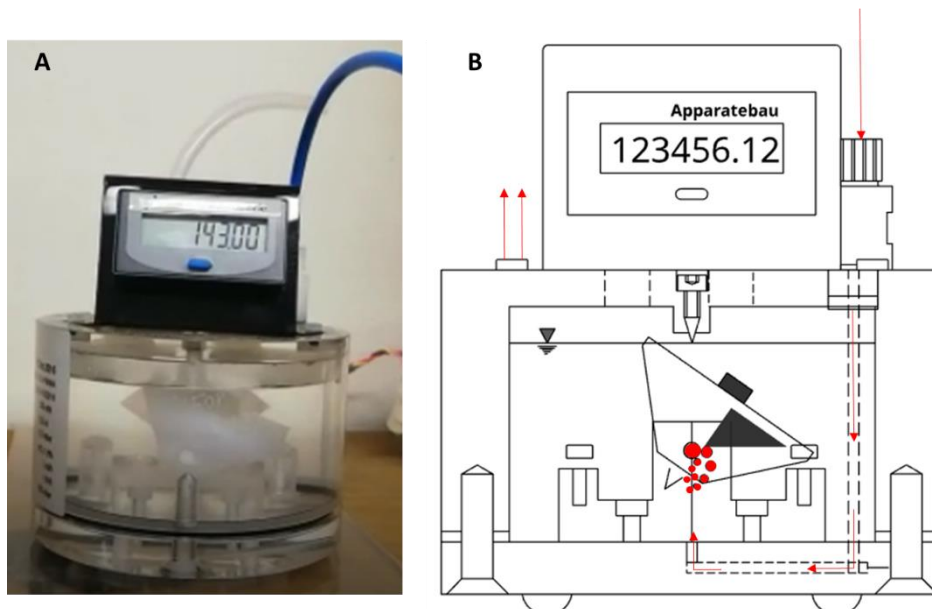
Para la cuantificación de biogás producido por el sistema se utilizaron medidores *Ritter MilliGascounter*[®], la **figura 6 (A)** muestra el flujo del biogás dentro del medidor donde el

gas sube como pequeñas burbujas a través del líquido dentro del medidor hacia cada una de las dos cámaras de medición de manera alterna, es decir cuando se llena una cámara con un volumen de gas determinado, la flotabilidad de la cámara llena hace que la celda de medición se vuelque de una manera tal que la segunda cámara de medición comience a llenarse y la primera se vacíe (cada uno de estos movimientos se denomina pulso). El procedimiento de inclinación de la celda de medición permite que un imán registre mediante sensores magnéticos cada movimiento y el sistema cuente el volumen desplazado de manera acumulativa.

Por lo tanto, la medición del volumen de gas se realiza al contar las inclinaciones de la celda de medición con una resolución de ± 3 ml/pulso y finalmente el gas es evacuado por una boquilla.

La calibración volumétrica fue de 3.22ml/pulso y 3.58ml/pulso para los biorreactores ASTBR y RME, respectivamente. Como se muestra en la **figura 6 (B)** el medidor registra el volumen acumulado, durante la operación del sistema este valor fue registrado en intervalos de 24 horas y el medidor reiniciado con la misma frecuencia.

Figura 6. (A) Medidor de biogás en operación. - (B) Esquema de flujo de biogás dentro del medidor.



Fuente: Autor (Adaptado)

El biogás es una mezcla gaseosa combustible, incoloro y de baja densidad producto de la biometanización de la materia orgánica (COSTA, 2006), La medición de la composición

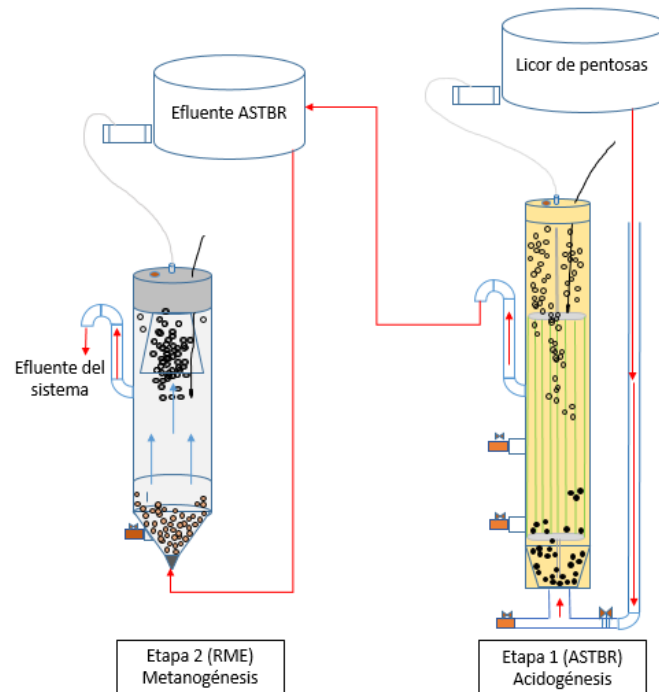
del biogás fue realizada en un cromatógrafo de fase gaseosa marca Shimadzu Modelo GC-2014 donde se tomó una muestra de 1 ml directamente de cada biorreactor con una jeringa de vidrio Gastight®. El equipo opera mediante un detector de conductividad térmica a una temperatura de 120 °C, con columna capilar de criba molecular de Msieve 5Å (5A) de Marc Restek mantenida a 120 °C, con nitrógeno 5.0 como gas de arrastre a velocidad lineal de 23,8 mL.min⁻¹.

La cuantificación de gas se hizo a partir de la construcción de una curva de calibración con la inyección de una mezcla de gas estándar preparada por la empresa EGB Gases Especiales la cual está compuesta por CH₄, H₂, CO₂ y N₂ donde las fracciones molares de los gases de interés son 24.9 % para metano y 25.4 % para hidrógeno.

4.6. Operación y evaluación de los biorreactores

El montaje experimental consistió en la operación con flujo continuo de un sistema de dos etapas separadas en dos biorreactores con el fin de potenciar la producción de biogás a partir del licor de pentosas, en la *figura 7* se detalla proceso de tratamiento y el recorrido del fluido por cada una de las fases experimentales, desde la alimentación inicial de la solución nutriente y el licor de pentosas, pasando por la etapa acidogénica y posteriormente siendo almacenado este efluente hasta por 14 horas para finalmente ser tratado en la etapa metanogénica.

Figura 7. Montaje experimental.



Fuente: Autor

Los biorreactores se evaluaron con los parámetros descritos en la **tabla 1** durante el tiempo de operación, para el reactor ASTBR se midieron los parámetros en el afluente, purga, punto medio y efluente asumiendo este último como afluente (alimento) del reactor RME donde también se monitoreo el punto medio y efluente.

Tabla 2. Parámetros de operación

Parámetro	Intervalo de análisis	ASTBR	RME	Técnica
pH	Diaria	Si	Si	Potenciométrica
Temperatura (°C)	Diaria	Si	Si	Medición digital
Producción y Composición del Biogás	Diaria	Si	Si	Cromatografía gaseosa

Azúcares, AGV's y furanos	2-3 veces por semana	Si	Si	Cromatografía líquida de alta resolución
DQO	2-3 veces por semana	Si	Si	Método colorimétrico de flujo cerrado
SSV	1 vez por mes	Si	Si	Determinación gravimétrica / Calcinación

Teniendo en cuenta que el licor de pentosas contiene bajas cantidades de nutrientes necesarios para los microorganismos como nitrógeno y fósforo (BAËTA, *et al.*, 2016) se hizo necesaria la aplicación de una solución suplementaria que aportara estos nutrientes en la etapa acidogénica en el reactor ASTBR, dicha solución fue preparada según lo descrito por (AQUINO, 2007) aportando así micro y macro nutrientes para garantizar una relación DQO:N:P cercana a los valores ideales en el proceso de DA 350:5:1, conforme a la *tabla 2* se preparó la solución para una DQO de 10g.L⁻¹.

Tabla 3. Composición de la solución nutriente

Micronutrientes	Concentración (mg.L⁻¹)	Macronutrientes	Concentración (mg.L⁻¹)
FeCl ₃ .6H ₂ O	10.0	NH ₄ Cl	2224
ZnCl ₂	0.26	(NH ₄) ₂ HPO ₄	89
MnCl ₂ .4H ₂ O	2.50	MgCl ₂	500
(NH ₄) ₆ MO ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	3.20	CaCl ₂ .H ₂ O	378
AlCl ₃ .6H ₂ O	0.26	NaHCO ₃	5000
CoCl ₂ .6H ₂ O	10.0	(NH ₄) ₂ HPO ₄	265
NiCl ₂ .6H ₂	26.0	-	-

H ₃ BO ₃	6.0	-	-
CuCl ₂ .2H ₂ O	16.0	-	-
HCl	1 ml/L	-	-

Fuente: (AQUINO, 2007)

4.6.1. Balance de masa

El balance de masa se realizó en términos de DQO, por medio de las reacciones de oxidación de cada compuesto, se calculó el factor de conversión para cada uno según lo descrito en la *tabla 2*, se consideró la DQO_{afuente}, DQO_{efluente} compuesta por (DQO_{AGV}, DQO_{Furanos} y DQO_{Desconocida}), DQO_{Biogás} y DQO_{SSV} como se muestra en la *ecuación 12* para determinar el BM de cada biorreactor según el diagrama de la *figura 8*.

Es importante resaltar que los valores mostrados en el **ítem 5 (Resultados)** fueron previamente convertidos a valores de DQO para trabajar con los datos obtenidos en parámetros uniformes, esto fue hecho mediante los factores de conversión descritos en la *tabla 4*.

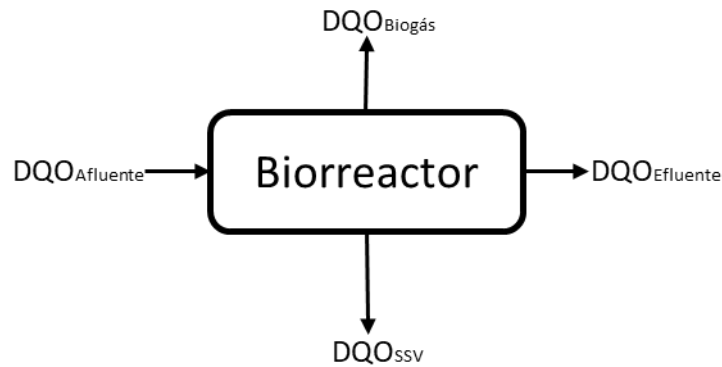
Tabla 4. Factores de conversión a DQO

Compuesto	Reacción de oxidación	Factor de conversión (gDQO. gCompuesto)
Glucosa (C ₆ H ₁₂ O ₁₆)	$C_6H_{12}O_{16} + 6O_2 \rightarrow 6O_2 + 6H_2O$	1.45
Xilosa (C ₅ H ₁₀ O ₅)	$C_5H_{10}O_5 + 5O_2 \rightarrow 5O_2 + 5H_2O$	1.07
Arabinosa (C ₅ H ₁₀ O ₅)	$C_5H_{10}O_5 + 5O_2 \rightarrow 5O_2 + 5H_2O$	1.07
HFor (CH ₂ O ₂)	$2CH_2O_2 + O_2 \rightarrow 2O_2 + 2H_2O$	1.39
HAc (C ₂ H ₄ O ₂)	$C_2H_4O_2 + 2O_2 \rightarrow 2O_2 + 2H_2O$	1.07
HProp (C ₃ H ₆ O ₂)	$2C_3H_6O_2 + 7O_2 \rightarrow 6O_2 + 6H_2O$	3.02

HBut (C ₄ H ₆ O ₂)	C ₄ H ₆ O ₂ + 5O ₂ → 4O ₂ + 4H ₂ O	1.82
HIsob (C ₄ H ₆ O ₂)	C ₄ H ₆ O ₂ + 5O ₂ → 4O ₂ + 4H ₂ O	1.82
HVal (C ₅ H ₁₀ O ₂)	2C ₅ H ₁₀ O ₂ + 13O ₂ → 10O ₂ + 10H ₂ O	2.04
HIsob (C ₅ H ₁₀ O ₂)	2C ₅ H ₁₀ O ₂ + 13O ₂ → 10O ₂ + 10H ₂ O	2.04
HMF (C ₆ O ₆ O ₃)	C ₆ O ₆ O ₃ + 6O ₂ → 6O ₂ + 3H ₂ O	1.52
FF (C ₅ H ₄ O ₂)	2C ₅ H ₄ O ₂ + 5O ₂ → 5O ₂ + 2H ₂ O	1.67
Metano CH ₄	CH ₄ + 2O ₂ → O ₂ + 2H ₂ O	4

Fuente: Autor

Figura 8. Diagrama de balance de masa en términos de DQO



Fuente: Autor.

$$BM = \left(\frac{DQO_{Efluente} + DQO_{Biogás} + DQO_{SSV}}{DQO_{Afluyente}} \right)$$

Ecuación 11

4.7. Ensayo hidrodinámico por medio de trazadores

Para el estudio hidrodinámico del reactor ASTBR se aplicó la técnica de curva de distribución del tiempo de residencia (DTR). Se determinó experimentalmente mediante un ensayo de estímulo-respuesta con la inyección del trazador seleccionado el cual fue cloruro de litio.

El comportamiento hidrodinámico del reactor ASTBR fue estudiado utilizando la técnica de curva de distribución del tiempo de residencia (DTR). La DTR fue determinada experimentalmente a través del ensayo estímulo-respuesta por pulso usando Cloruro de litio como trazador. Este procedimiento fue realizado al final de la operación del reactor y consistió en la inyección de una masa de 8.183 g del trazador inerte LiCl en el reactor con una jeringa aforados en un balón volumétrico de 100ml, la concentración del trazador fue medida en la salida del reactor durante un periodo de 3 TRH es decir 24h, mediante la toma de muestras periódicamente cada 30 minutos durante las primeras 8 horas y posteriormente cada hora durante las 16 horas restantes.

Las muestras recolectadas fueron filtradas y diluidas, la determinación del litio presente en las muestras fue hecha en un cromatógrafo de iones modelo Metrohm equipado con un detector 732-IC y columna Metrosep A SUPPP 5-250 Metrohm. Con el fin de minimizar el grado de error se realizó previamente un ensayo de adsorción por el medio de soporte del reactor (espuma) sobre el trazador el cual arrojó en triplicado una condición de adsorción nula.

A partir de los resultados de la concentración de Li^+ en el tiempo medido, fue posible determinar una función de tiempo de residencia, $E(t)$. Esta función es presentada en la **ecuación 13** y describe de manera cuantitativa cuanto tiempo permanece cada partícula del fluido en el reactor.

$$E(t) = \frac{c(t)}{\int_0^{\infty} c(t) dt} \quad \text{Ecuación 12}$$

Donde $C(t)$ es la concentración del trazador en el efluente en el tiempo t (m.L^{-1}).

El perfil de distribución del tiempo de retención hidráulico permite realizar el cálculo del tiempo de residencia medio del fluido y de la fracción de volumen muerto dentro del biorreactor, también se realizó la caracterización del patrón de mezcla dentro del reactor en comparación con los modelos hidráulicos ideales de mezcla completa y flujo pistón, por

medio del cálculo del número de dispersión axial y del número de reactores de mezcla completa en serie.

El tiempo de residencia medio, t_m , está relacionado al tiempo medio en el que las moléculas del fluido permanecen en el reactor, este fue calculado según lo descrito en la **ecuación 14**.

$$t_m = \frac{\int_0^{\infty} tE(t)dt}{\int_0^{\infty} E(t)dt} = \int_0^{\infty} tE(t)dt \quad \text{Ecuación 13}$$

Donde, t_m es el tiempo de retención hidráulica (h); t es el tiempo transcurrido durante el análisis con el trazador (horas) y $E(t)$ es la función de distribución del tiempo de residencia (h^{-1}).

El cálculo del porcentaje de volumen muerto del reactor fue realizado a partir de la **ecuación 15**.

$$\% \text{ de volumen muerto} = \left(\frac{1 - TRH_{Real}}{TRH_{Teórico}} \right) \cdot 100 \quad \text{Ecuación 14}$$

Donde, TRH_{real} es el tiempo de residencia medio del fluido dentro del reactor calculado experimentalmente.

La función $E(t)$ fue normalizada mediante la obtención de la curva de distribución del tiempo de retención hidráulico en función del tiempo adimensional, $E(\theta)$. El parámetro θ fue definido como t/t_m y la función $E(\theta)$ está representada por la **ecuación 16**.

$$E(\theta) = t_m \cdot E(t) \quad \text{Ecuación 15}$$

Donde, θ es el tiempo de residencia normalizado del fluido dentro del reactor (adimensional), t es el tiempo transcurrido durante el análisis con el trazador (horas) y t_m es el tiempo de residencia medio del fluido dentro del reactor (horas).

La varianza σ^2 es una medida indicativa de la dispersión junto con la distribución del tiempo de residencia del fluido en el reactor y fue calculada mediante la **ecuación 17**.

$$\sigma = \int_0^{\infty} (t - t_m)^2 \cdot E(t)dt \quad \text{Ecuación 16}$$

Donde, t es el tiempo (horas) transcurrido durante el análisis de trazadores, t_m es el tiempo medio de residencia del fluido en el reactor (horas) y $E(t)$ es la función de distribución del tiempo de residencia (h^{-1}).

El ajuste de la curva experimental de distribución de tiempo de retención hidráulico en función del tiempo adimensional $E(t)$, fue realizado con base en los modelos teóricos uniparamétricos de dispersión de gran intensidad y de tanques en serie. En el modelo de dispersión, el reactor se evalúa como un reactor de flujo pistón, donde ocurre dispersión axial de flujo y no hay mezcla completa o difusión a lo largo del camino de flujo. El modelo de tanques en serie simula el comportamiento del reactor al ser evaluado por el número de reactores de mezcla completa en serie (CARVALHO *et al.*, 2008)

Por lo tanto, el número de dispersión axial $D \cdot uL^{-1}$ y el número de reactores de mezcla completa en serie, N , fueron calculado por las *ecuaciones 18 y 19*, respectivamente.

$$\sigma_{\theta^2} = \frac{\sigma^2}{t_m^2} = 2 \cdot \left(\frac{D}{uL}\right)^2 \cdot [1 - e^{-uL/D}] \quad \text{Ecuación 17}$$

$$N = \frac{1}{\sigma_{\theta^2}} \quad \text{Ecuación 18}$$

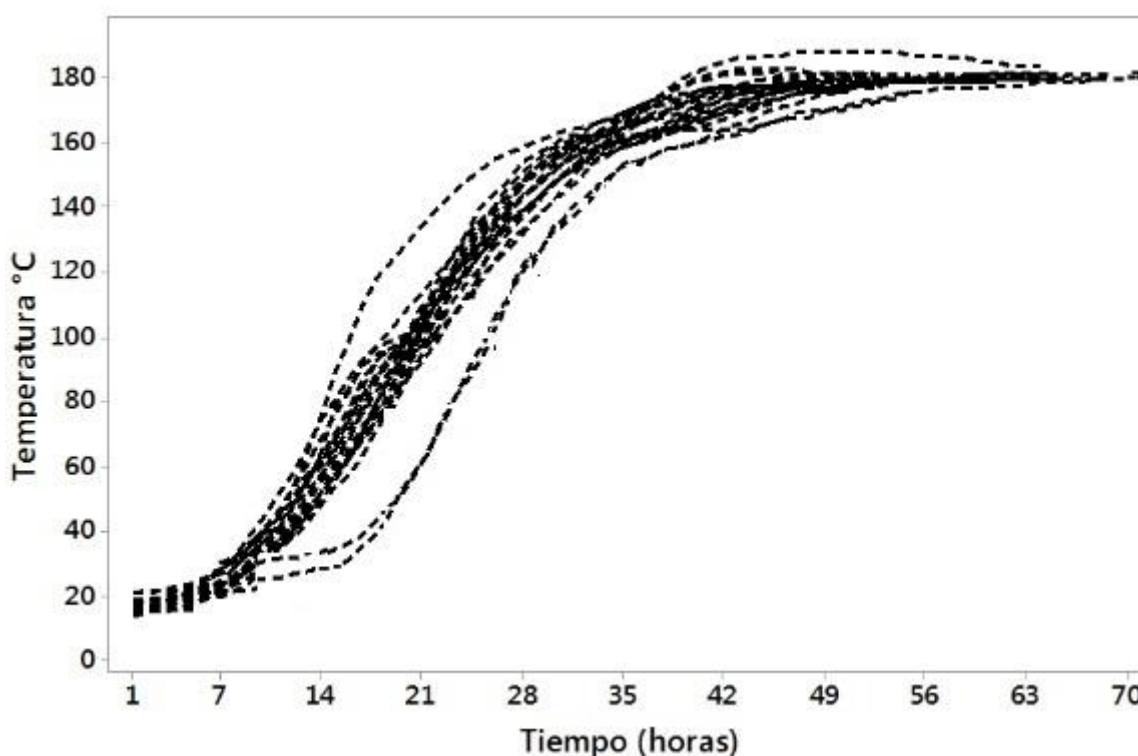
Para las anteriores ecuaciones: σ_{θ} es la varianza normalizada (adimensional), σ^2 es la varianza h^2 y t_m es el tiempo de residencia medio del fluido en el reactor (horas).

5. Presentación y discusión de resultados

5.1. Caracterización del licor de pentosas y la fracción sólida resultante del pretratamiento

Durante la fase experimental se realizó 26 veces el procedimiento de pretratamiento con el fin de obtener el volumen de licor de pentosas necesario para garantizar el funcionamiento continuo del sistema, el proceso de auto-hidrólisis se realizó según lo descrito en el ítem 4.1, donde los valores promedio de temperatura fueron de $178^{\circ}\text{C} \pm 3$ y el tiempo de contacto medio fue de $65 \text{ min} \pm 2$ como se muestra en la *figura 9*.

Figura 9. Curva de calentamiento en la auto-hidrolisis



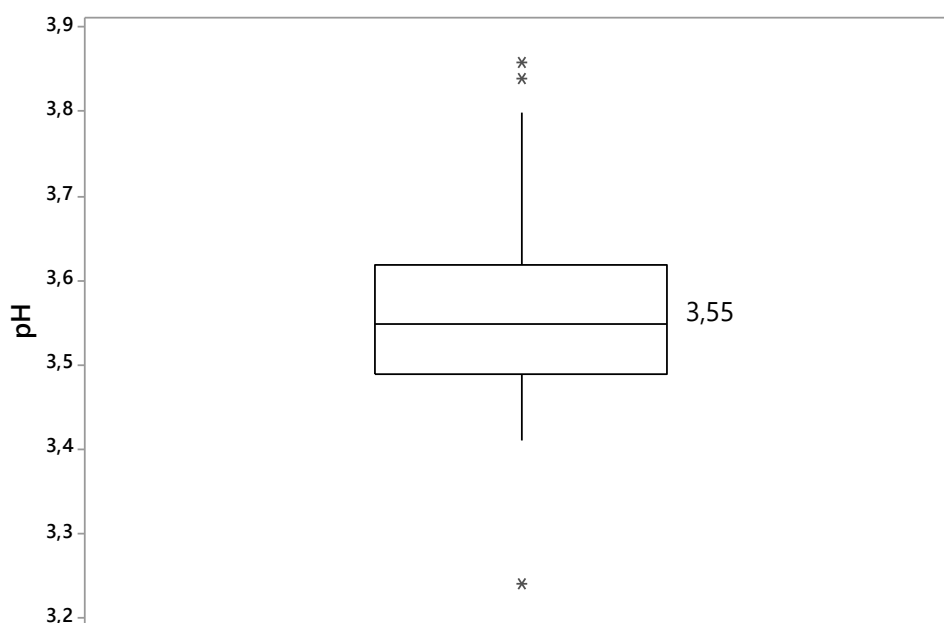
Fuente: Autor

La figura 9 muestra el perfil de la temperatura en el tiempo de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica donde el índice de severidad en el 92 % de los ensayos fue de 4.2 ± 0.05 lo cual según autores como (DE OLIVEIRA, 2010; HEITZ *et al.*, 1991) se considera un índice severo o alto, los tiempos máximos de reacción obtenidos fueron de 72 minutos con temperaturas menores a 175°C .

Las *figuras 10 y 11* muestran las variables estudiadas para la caracterización del licor de pentosas, donde, pH, compuestos y DQO fueron cuantificados con el fin de determinar las condiciones del sustrato de alimentación.

La variable de pH se mantuvo con un valor medio de 3.55, y para ninguna muestra fue menor de 3.2 ni mayor que 3.9, este rango probablemente debido a la producción de ácido fórmico y ácido acético durante el proceso de auto-hidrólisis junto con los compuestos derivados de furanos como el furfuraldehído (FF) y 5- hidroximetil furfural (HMF) que son resultantes de la degradación de pentosas y hexosas respectivamente (MARTON *et al.*, 2006).

Figura 10. pH del licor de pentosas



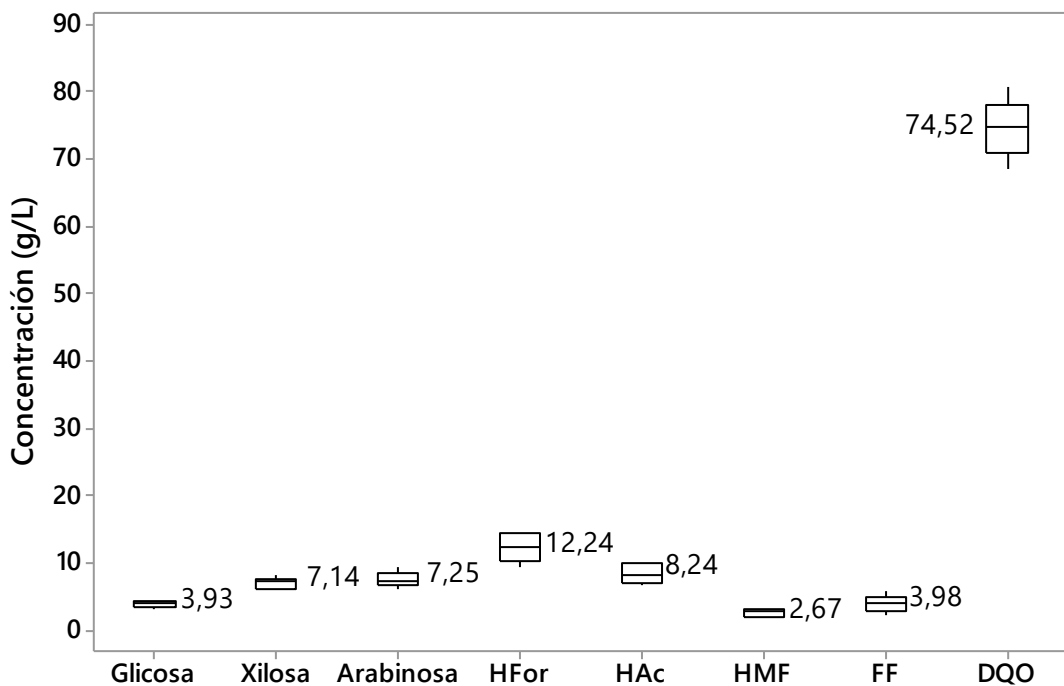
Fuente: Autor

La cuantificación de compuestos presentes en la fracción líquida resultante del proceso de AH es mostrada en la *figura 11* donde se observan valores destacados en concentraciones (gDQO.L⁻¹) de 3.93, 7.14, 7.25, 12.24 g. y 8.24 para pentosas glucosa, xilosa y arabinosa y ácidos orgánicos como acético y fórmico respectivamente, esta producción comparada con otros pretratamientos como lo es el proceso de hidrólisis ácida e hidrólisis combinada con ruptura enzimática y procesos de detoxificación estudiados por (HAHN-HÄGERDAL, BÄRBEL, CARLOS MARTÍN, MATS GALBE, C. FREDRIK WAHLBOM, 2009; LAOPAIBOON *et al.*, 2010; OLSSON; HAHN-HÄGERDAL, 1996). El proceso de auto-

hidrolisis puede alcanzar rendimientos de estas sustancias entre 24 % y 35 % mayores que procesos más complejos desde el punto de vista económico, energético y químico, como hidrolisis ácida, pre-tratamiento alcalino el cual está asociado a explosiones de vapor, radiación con rayos de electrones y micro-ondas (RABELO, 2010).

Como lo reportan (BAËTA, *et al.*, 2016; RIBEIRO, 2016) la producción de HMF y FF puede ocasionar procesos inhibitorios en los microorganismos metanogénicos específicamente, estos productos de la AH son generados como consecuencia de las altas temperaturas durante la hidrólisis de pentosas, además hay también otros compuestos tóxicos originados de los fenoles oriundos de la lignina. De acuerdo con (DA SILVA, *et al.*, 2012) para controlar la formación de inhibidores el pH durante el pre tratamiento debe mantenerse en un rango entre 4 y 7 ya que a este pH y con temperaturas intermedias los azúcares hemicelulósicos se retienen en forma oligomérica y la formación de monómeros se minimiza.

Figura 11. Caracterización del licor de pentosas



*HFor: Ácido Fórmico, HAC: Ácido Acético.

La DQO del licor de pentosas de $74.52 \text{ g.L}^{-1} \pm 5.7$ se relaciona con un valor elevado el cual puede causar alteraciones en la pérdida de rendimiento del sistema como consecuencia de un modelo de inhibición por sustrato, las condiciones de severidad altas aumentan la solubilidad de la lignina y la celulosa lo que genera una mayor cantidad de materia orgánica en la fracción líquida resultante del pretratamiento (CORDEIRO, 2018; YE CHEN, JAY J. CHENG; DEPARTMENT, 2013).

Entre tanto como se observó anteriormente la fracción líquida del hidrolizado hemicelulósico es rica en pentosas como xilosa y arabinosa, la fracción sólida generada del pretratamiento de la biomasa lignocelulósica está compuesta como se muestra en la *tabla 4* por un alto contenido de celulosa y lignina, no obstante es probable que la baja cantidad de hemicelulosa en la fracción sólida se deba al factor de severidad alto del pretratamiento térmico, el cual es capaz de remover una mayor cantidad de este compuesto en la biomasa.

Tabla 5. Caracterización de la fracción sólida

Fracción Sólida			Balance de Masa
Lignina Total	Hemicelulosa	Celulosa	
27.79%	12.11%	65.41 %	105.31 %

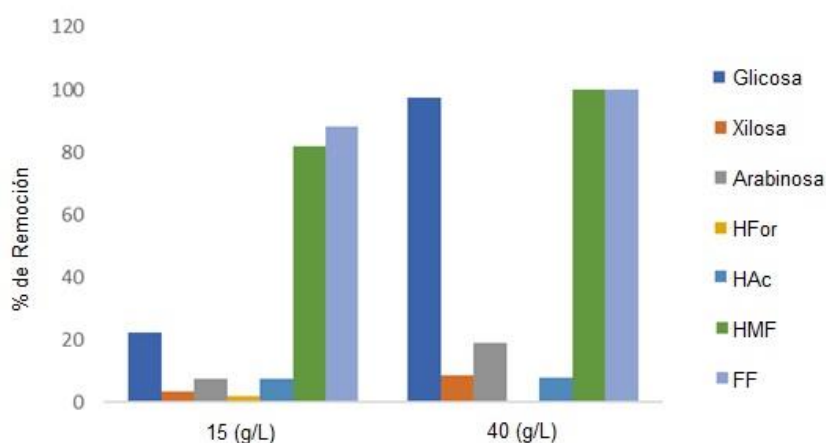
5.2. Adsorción de las cenizas de bagazo de caña de azúcar (CBCA)

Según lo señalado por (BRUNELLI; PISANI, 2006) las cenizas de BC son fuente de macro y micro nutrientes, también contienen propiedades alcalinas lo que permite la neutralización de compuestos ácidos y beneficia a los microorganismos en la etapa metanogénica obteniendo valores de pH entre 6,5 y 8.

Se evaluó la capacidad de adsorción en dos concentraciones de adsorbente 15 y 40 g/L, mediante los modelos de Langmuir, Freundlich, Temkin y Sips, con sus respectivas ecuaciones, los compuestos analizados fueron las pentosas glucosa, xilosa y arabinosa los ácidos orgánicos acético y fórmico y los furfurales HMF y FF que se consideran sustancias inhibitorias en altas concentraciones.

En la **figura 12** se muestran los resultados de remoción obtenidos para cada compuesto, las sustancias HMF y FF tienen el mayor nivel de remoción con valores de 83 % y 91 % para HMF y FF en 15 g/L y 98% para ambas en 40 g/L.

Figura 12. % de remoción de las CBCA sobre los compuestos del licor de pentosas.

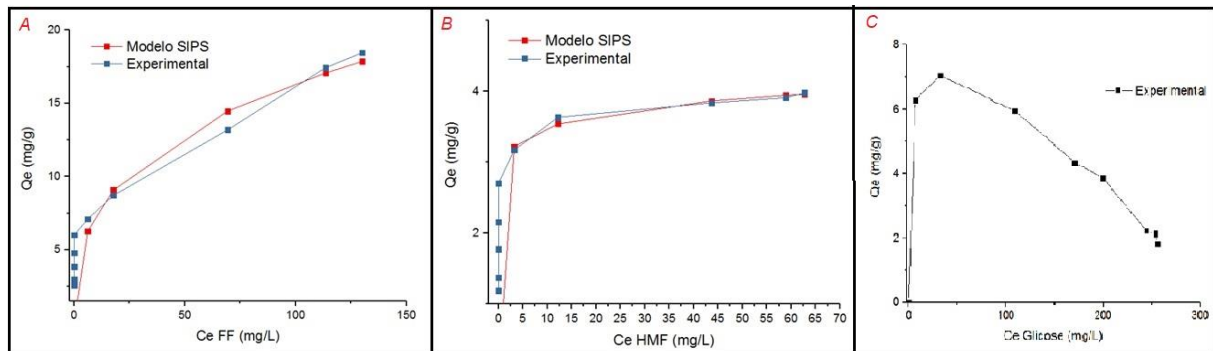


Como se discutió anteriormente los compuestos HMF y FF derivados del tratamiento por AH tienen cualidades inhibitorias sobre los microorganismos metanogénicos, por tanto, se hace necesaria una solución viable en el marco del concepto de biorrefinación. La adición de cenizas de bagazo de caña de azúcar (CBCA) puede reducir la inhibición en la DA eliminando o reduciendo la biodisponibilidad de los inhibidores sin afectar el proceso de DA (FAGBOHUNGBE *et al.*, 2017).

El modelo de Sips permitió observar el comportamiento de las CBCA como matriz de captación de estos compuestos. La **figura 13 A** muestra el comportamiento con relación a la concentración de FF adsorbido por cantidad de CBCA, donde la relación máxima alcanzada fue de 130 mg/L de FF adsorbidos por cada 18 gramos de CBCA, la parte B de la misma figura muestra una tendencia de saturación para la matriz de CBCA. -

Es evidente un fenómeno de adsorción-desorción para la glucosa, como se muestra en la **figura 13. C.** donde ocurre saturación en la matriz de CBCA al alcanzar una concentración de 40 mg/L y posteriormente se da una disminución de este valor, indicando así un proceso de retención momentánea para este compuesto.

Figura 13. Modelos de adsorción por compuestos. A. Furfuraldehido. B. Hidroximetilfurfural. C. Glucosa



Estudios como el presentado por (SUNYOTO *et al.*, 2016) muestra que la adición de un residuo de soporte resultado de descomposición térmica de materia lignocelulósica puede aumentar las tasas máximas de producción de hidrógeno en un 32,5% y metano en un 41,6%, es posible indicar un aumento en la producción de AGV en la fase acidogénica y un aumento en la degradación de AGV en el reactor RME lo cual constituye un aumento en la producción de metano en la etapa metanogénica.

5.3. Operación y análisis del sistema

Este trabajo fue desarrollado con la operación de un sistema de biometanización de segunda generación mediante el uso de dos etapas, metanogénica y acidogénica en un biorreactor ASTBR y RME, respectivamente.

La **tabla 6** muestra los parámetros de operación trabajados en cada etapa y a continuación se detalla cada uno con su respectivo análisis.

Tabla 6. Parámetros de operación en el sistema.

Parámetro	ASTBR	ASTBR	RME	RME
	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 1	Etapa 2
TRH (Horas)	8	8	24	24
Temperatura (°C)	35	35	35	35
Concentración de entrada	482,29	1107,79	434.57	775.13

DQO(mg/L)				
pH Efluente	4.42	4.64	6.86	7.83
Caudal (ml/min)	3.85	3.85	1.6	1.6
OLR (kg/m ³ .d)	1.45	3.32	1.01	2.32
Tiempo de operación (Días)	47	53	20	42

5.3.1. pH

El pH es uno de los parámetros de mayor influencia en el desempeño de la digestión anaerobia su seguimiento y control es necesario para evitar inhibición de los microorganismos y fallas en el sistema. El proceso de DA es realizado por un consorcio de microorganismos donde los metanogénicos tienen una alta sensibilidad a las variaciones de pH (CIOABLA *et al.*, 2012).

En la **figura 14** se muestran los pH trabajados en el sistema durante la operación. En la fase 1 el valor de entrada del substrato en el reactor ASTBR (Acidogénesis) fue de 4.2 con una carga de 1.45 kgDQO/m³d, como se muestra en el ítem 5.1 el valor del pH del licor de pentosas fue de 3.55 este aumento al momento de alimentar el biorreactor se debe al efecto tampón de la solución nutriente alimentada junto con el licor de pentosas. El efluente del reactor ASTBR tuvo un pH de 4.42, esto es un ligero aumento con respecto al alimento, se puede inferir que este fenómeno es debido a la baja carga de la primera fase.

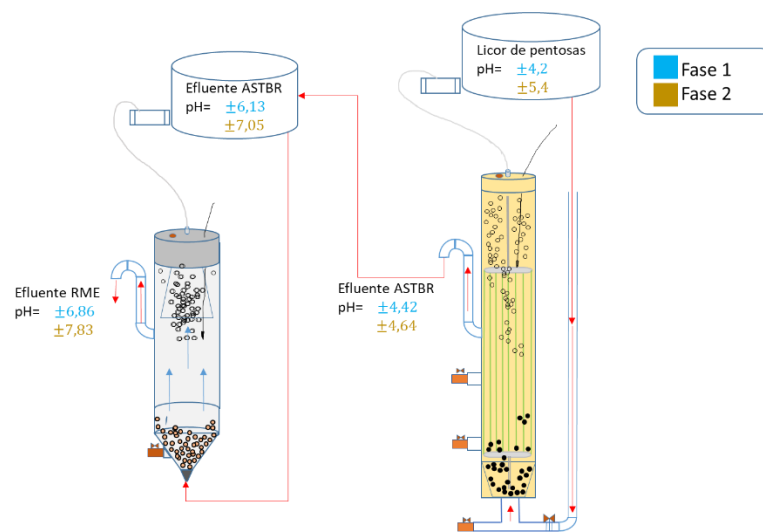
Para la fase 2 donde la carga fue de 3.32 kgDQO/m³.d, el pH del substrato fue de 5.4 y el efluente de la etapa acidogénica fue de 4.64, el valor de alimentación concuerda con lo indicado por (FANG; LIU, 2002) quien hace referencia a los valores cercanos a 5.5 en digestión para una producción óptima de hidrógeno y funcionamiento adecuado de los microorganismos en la producción de AGV's.

En la etapa metanogénica el biorreactor RME fue alimentado con el efluente del reactor ASTBR con previo ajuste del pH a valores alcalinos cercanos a ± 6.13 , ya que según lo

indicado por (CIOABLA *et al.*, 2012; FANG; LIU, 2002; ZHANG *et al.*, 2005) los valores ideales de pH en metanogénesis están en un rango de 6 a 9 esto debido a la fragilidad a variaciones de los microorganismos. El efluente del sistema en el reactor RME fue de 6.86.

En la Fase 2 de la etapa metanogénica el alimento fue ajustado a un valor de ± 7.05 donde se estableció un mejor comportamiento en términos de producción de biogás y el fluente resultante fue de valores de ± 7.83 .

Figura 14. Comportamiento del pH en el sistema por cada etapa operada.



Fuente: Autor

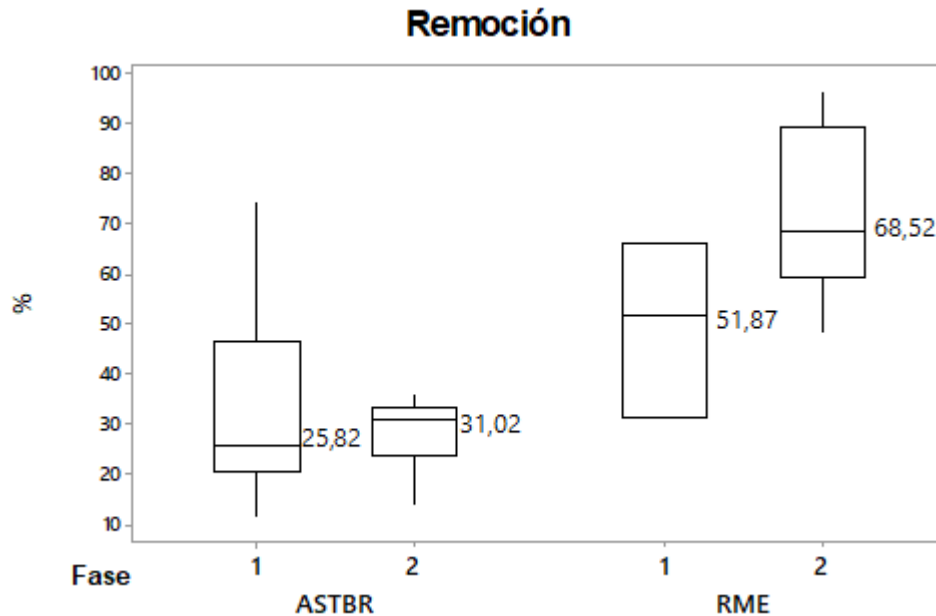
Con base a los análisis mostrados y estudios consultados se evidencia que el fraccionamiento de la biometanización en dos etapas permite un mejor control del sistema, los consorcios de bacterias acidogénicas cuentan con una mayor capacidad de adaptación variaciones de pH para la producción de AGV's donde valores de 4 a 6 son ideales. En etapas metanogénicas las arqueas metanogénicas funcionan adecuadamente entre 6.6 y 7.4 con un aumento notable en la producción de CH_4 (FANG; LIU, 2002; LATIF; MEHTA; BATSTONE, 2017; ZHANG *et al.*, 2005).

Autores como (BEGA, 2014) resaltan la capacidad de las CBCA para aportar micronutrientes y ajustar pH en sistemas ácidos en los que funciona como un medio de neutralización.

5.3.2. Remoción de materia orgánica (DQO)

La **figura 15** muestra los valores de remoción durante el tiempo de operación tanto en la fase 1 como en la fase 2.

Figura 15. % de remoción de DQO

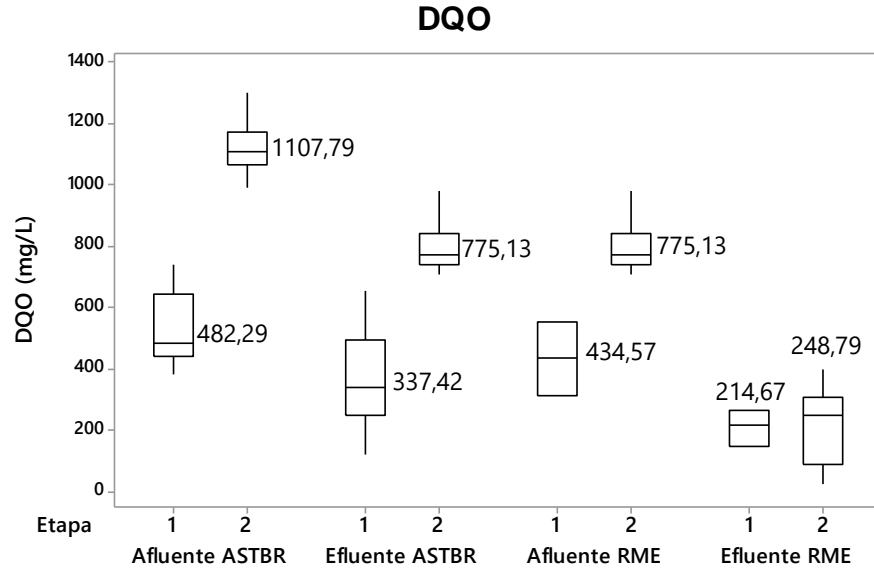


En la fase 1 de la etapa acidogénica se obtuvo una remoción mediana de 25.82% esto se debe al proceso de adaptación de la biomasa, en la etapa metanogénica ocurrida en el reactor RME se alcanzó un valor mediano de 51.87% en remoción en la fase lo que nos indica un correcto comportamiento en la degradación del substrato para conversión en productos de interés.

Como se observa en la **figura 16** el sistema trabajo con valores de DQO alimentada en serie lo cual permitió evaluar el desempeño del sistema de dos etapas.

En la fase 2 de operación donde la carga orgánica aplicada del sistema se incrementó a 3.32 y 2.32 kgDQO/m³d para el ASTBR y RME, respectivamente se alcanzaron valores de remoción mayores. En la etapa 1 el 31.02% de remoción indica una degradación del substrato óptima para procesos acidogénicos teniendo en cuenta que trabajó el sistema con un TRH de 8 h, entre tanto la etapa 2 alcanzó valores de mediana en remoción de 68.52% esto comparado con el nivel de producción del biogás muestra un desempeño óptimo del consorcio de microorganismos metanogénico. Entre tanto (OVIEDO, 2018) quien trabajó con un sistema metanogénico en las cargas de 2.45 y 2.25 Kg/m³d y TRH de \pm 8 h muestra valores de remoción de 59.01% y 48.49%, esto comparado con el valor máximo alcanzado en este trabajo que fue de 68.52% evidencia una mejoría notable debido a la configuración del reactor, aplicación de CBCA y tratamiento de acidogénesis previo.

Figura 16. DQO por biorreactor



5.3.3. Análisis de AGV

Los AGV producidos durante la etapa de operación de los reactores son analizados en esta sección. La caracterización del sustrato para el ASTBR se muestra en la *tabla 7*

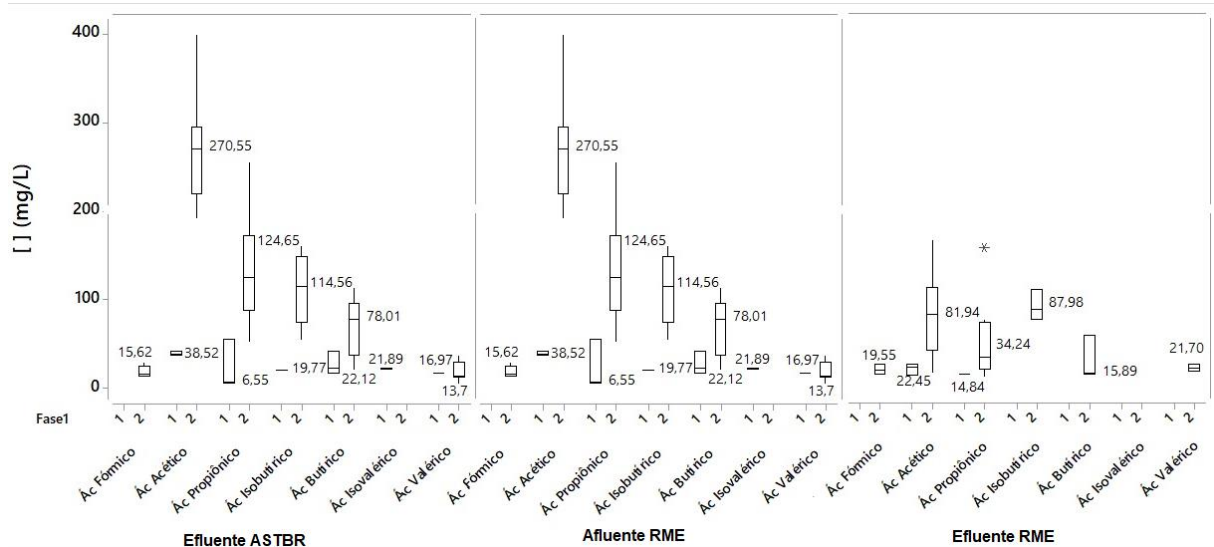
Tabla 7. Composición del sustrato

Fase	Glucosa	Xilosa	Arabinosa	HAc	HPro	HIsob	Furfurales
1	23.12	36.44	16.28	10.12	4.17	0	52.13
2	64.17	187.18	117.17	27.74	23.79	19.57	134.74

La *figura 17* muestra la composición de AGV que se produjeron en la operación del sistema, siendo destacables la etapa 2 de operación donde se obtuvieron mejores rendimientos.

Uno de los principales objetivos de la etapa acidogénica es la obtención de AGV para un posterior uso industrial, en el reactor ASTBR son destacados los AGV producidos como acético, propiónico, isobutírico y butírico con valores de 270.55, 124.55 114.76 y 78.01 mgDQO/L⁻¹, respectivamente en la fase 2 de operación con una carga de 3.32 kg/m³.d

Figura 17. Evaluación de AGV en el sistema



Del mismo modo el afluente del RME era una mezcla con alto contenido en AGV lo cual potencia la conversión de estos en biogás que es el producto de interés. Al analizar el efluente del RME en la fase 2 se encuentra una disminución considerable de AGV con acético, propiónico e isobutírico como los más destacables con valores de 81.94, 34.24 y 87.98 mgDQO.L⁻¹ respectivamente.

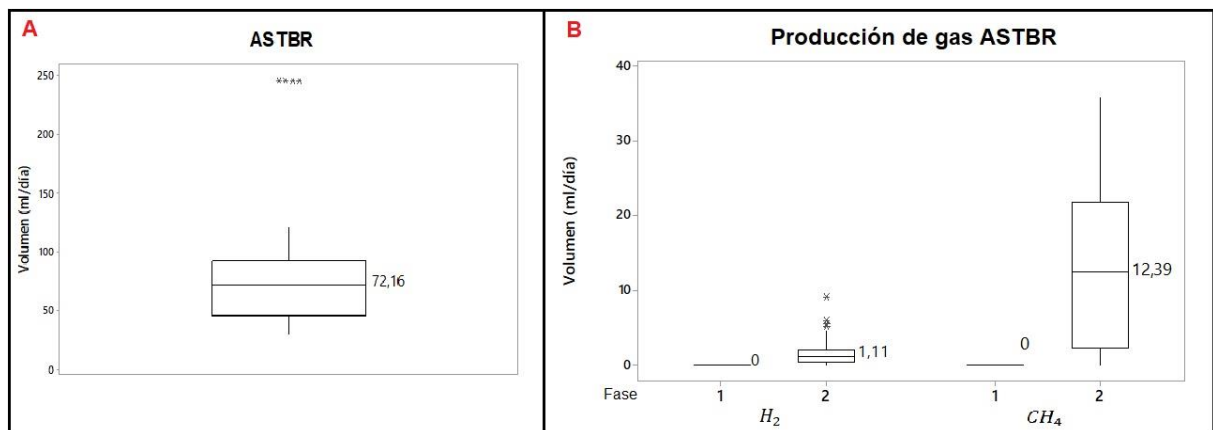
De manera general la mayor cantidad en concentración encontrada fue de HAc, HProp, HIsoB y HBut donde la relación HProp/HAc en el ASTBR fue de 0.46 lo que indica que no hay una inestabilidad operacional en la producción de AGV en concordancia con lo establecido por (Hill & Bolte, 1987) quien hace referencia a que para esta relación valores mayores de 1 muestra desequilibrio en el sistema y valores iguales a 1.4 representan inestabilidad.

Diferentes estudios hacen referencia a las condiciones de mejora operación y de configuración de sistemas de biometanización para la producción de AGV como (BAËTA, et al., 2016; FANG; LIU, 2002; SANTOS et al., 2018) quienes concuerdan en valores de carga superiores a 3 kgDQO/m³d como óptimos para obtener rendimientos adecuados de AGV en acidogénesis. En el sistema operado al cambiar de COA para la segunda fase se observa un incremento de 70% en la producción de HAc lo cual es un indicador de inhibición microbiana por falta de sustrato en la fase 1 de operación.

5.3.4. Producción y composición del Biogás

La **figura 18** muestra el desempeño del biorreactor ASTBR en la producción de biogás, con un valor de producción en la fase 2 de 72.16 ml.d⁻¹. La composición de H₂ y CH₄ fue medida mediante cromatografía gaseosa con un resultado de mediana de 1.11 ml H₂.día⁻¹, 12.39mlCH₄.día⁻¹ y el CO₂ calculado estequiométricamente de 58.66 39mlCO₂.día⁻¹ sabiendo que el biogás contiene también otros compuestos en cantidades que podrían considerarse despreciables. Los valores obtenidos son los esperados en etapas acidogénicas ya que se espera que el consorcio microbiano utilice el sustrato para la producción de AGV y biomasa al interior del biorreactor.

Figura 18. Biogás ASTBR. A. Producción total. B. Valores de producción por componente.



La **figura 19** muestra la producción de biogás en las dos fases operadas para la etapa metanogénica. Mediante cromatografía gaseosa se determinó la composición de H₂ y CH₄ donde para el primer compuesto no se obtuvieron valores a lo largo de la fase operación por lo tanto se infiere que la composición del biogás es una mezcla rica en CH₄ y CO₂, este último fue calculado estequiométricamente.

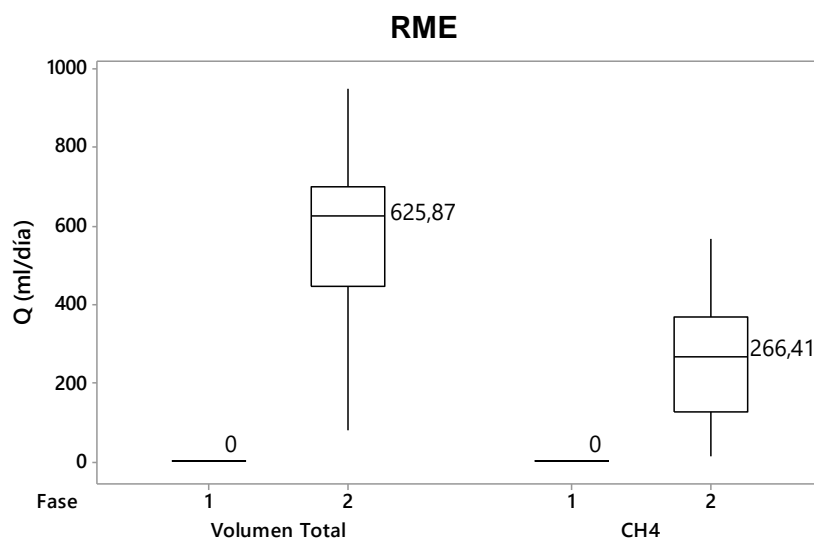
Un valor de mediana de 625.87 ml.día⁻¹ de biogás producido de manera constante durante la segunda fase operacional muestra una respuesta óptima de los microorganismos metanogénicos para degradar AGV y convertirlos generando un biogás con 42.56% CH₄ y 57.44 CO₂.

En el proceso de biometanización una tasa de entre 5 y 20 % de DQO removida es llevada a síntesis celular, mediante la simbiosis efectuada por el consorcio de microorganismos presentes en la etapa metanogénica los cuales también convierten materia orgánica compleja

en biogás y nuevas células bacterianas (RIBEIRO, 2016). El licor de pentosas contiene cantidades considerables de furfurales (HMF y FF) y sustancias fenólicas de difícil biodegradabilidad. Estudios hechos por (AKSU, 2005) concuerdan con los resultados aquí mostrados ya que la investigación en referencia estudió la aplicación de adsorción utilizando biomasa microbiana para la eliminación de contaminantes orgánicos y como resultado mostró que los compuestos fenólicos pueden ser adsorbidos, durante el proceso de adsorción estos elementos se fijan en la pared celular de las células microbianas presentes en el lodo por tanto se disminuyen las variables de respuesta como DQO removida y producción de biogás.

En concordancia con lo anterior en esta investigación se observa una baja producción de biogás en la etapa acidogénica pese a que esta no es diseñada con este fin, estudios como (ADARME *et al.*, 2017; FANG; LIU, 2002; SANTOS *et al.*, 2018) muestran mayores valores de producción de oxígeno en esta fase del proceso de DA, es posible indicar un proceso de inhibición por compuestos como furfurales presentes en el substrato de reactor ASTBR, un compuesto con características de adsorbentes como las CBCA podrían ser utilizadas para captar sustancias inhibitorias y biodisponibilizar a los microorganismos. En la etapa metanogénica del reactor RME con una COA de 2.32 kgDQO/m³.d se evidencia una producción destacable de biogás (**Figura 19**) posiblemente gracias al aporte de micro y macronutrientes de las CBCA y su capacidad adsorbente de compuestos tóxicos.

Figura 19. Producción y composición de biogás en el RME



5.4. Ensayo hidrodinámico

Al finalizar la operación del sistema se realizó el test de trazadores que permitió modelar el comportamiento del biorreactor acidogénico con las configuraciones diseñadas para este sistema como lo son la matriz de espuma que contiene la biomasa inmovilizada, el sistema sifón para la salida del fluente y la alimentación por un tubo de menor diámetro en flujo descendente para llegar al reactor en flujo ascendente.

La *tabla 8* muestra los parámetros evaluados en el análisis estadístico con el perfil de residencia del trazador en el reactor mostrado en la *figura 21*. El tiempo de retención hidráulico calculado teóricamente para la operación del sistema fue de 8 h, la hidrodinámica del sistema muestra que el biorreactor está operando con 8.73 h de TRH esta fluctuación es normal en la operación de sistemas continuos y está dada por la variabilidad en los métodos operaciones principalmente velocidad de la bomba de alimentación, formación de biomasa en los canales de conducción y sedimentación de la biomasa en la parte baja del biorreactor.

En la *figura 21. B.* se observa la comparación entre la curva experimental obtenida en el ensayo y la curva ideal o modelo de dispersión para el reactor ASTBR el cual está compuesto por 3.7 reactores en serie (CSTR), revisando el valor de dispersión axial se pueden asumir 4 reactores CSTR. Se observa un pico de salida en un tiempo de 8 h lo cual corrobora el funcionamiento del reactor para el TRH asignado.

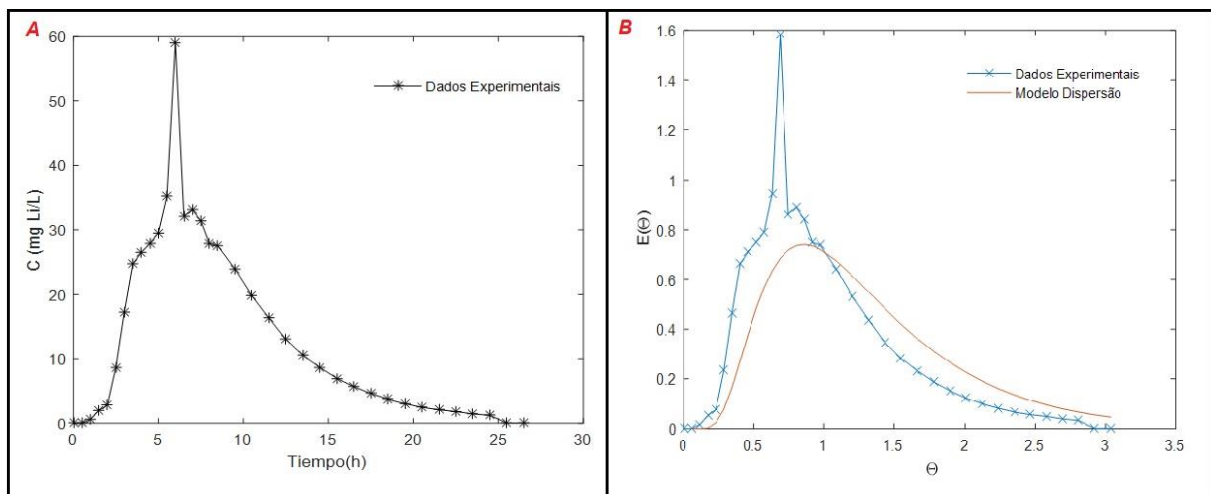
El volumen muerto del biorreactor es un valor próximo a 0 el cual indica que la configuración diseñada está funcionando de una manera óptima en la mezcla del fluido al interior del sistema. El reactor está distribuido con un 18.25 % funcionando como flujo en pistón y un 81.74% como mezcla completa lo cual garantiza un contacto del substrato con los microorganismos tanto en el espacio líquido del reactor como en la matriz sólida suspendida al interior de este.

Tabla 8. Resultados estadísticos del test de trazadores.

Parámetros	Resultados	Unidades
$TDH_{Teórico}$	8	Horas
TDH_{Real}	8.73	Horas

Varianza	20.1785	σ^2
Reactores en serie	3.779	-
Varianza Normalizada	0.2650	σ_θ
Número de dispersión	0.1570	-
Flujo pistón	18.25	%
Mezcla completa	81.74	%
Volumen muerto	1.1×10^{-9}	%

Figura 20. Perfil de curva obtenido por ensayo hidrodinámico en la respuesta de concentración del trazador. A. Curva de salida del trazador en el intervalo del tiempo. B. Perfil de distribución de tiempo de residencia teórico y experimental.



Fuente: Autor

La aplicación de este ensayo permite confirmar la efectividad de este diseño desarrollado en la Universidad Antonio Nariño, el flujo pistón calculado en el 18% del reactor puede estar dando en la línea de alimentación inicial puesto que al ser una tubería de diámetro pequeño y flujo descendente el líquido se desplaza de manera uniforme hasta llegar a la parte inferior del reactor, allí se tiene un sistema de purga con una válvula y la entrada al reactor se da por la fuerza de impulsión generada por la bomba, la velocidad ascensional permite garantizar el tiempo de contacto necesario y la distribución total del sustrato en el biorreactor.

Conclusiones

- El proceso de autohidrólisis se realizó acorde con lo reportado en la literatura donde en la fase líquida predomina la hemicelulosa (xilosa y arabinosa) y en la fase sólida la celulosa. Lo cual permite tener mejores rendimientos comparados con procesos más complejos desde el punto de vista económico, energético y químico.
- Una alternativa para mejorar el rendimiento de la digestión anaerobia fue la utilización de cenizas del bagazo de caña de azúcar como fuente de nutrientes y micronutrientes. Para los ensayos realizados se obtuvo una remoción importante de los compuestos HMF y FF, ya que la CBCA puede ser una matriz de captación de estos compuestos de acuerdo al modelo de Sips, por lo tanto, es posible mejorar el rendimiento tanto en la fase acidogénica como en la fase metanogénica.
- La operación de la digestión anaerobia en dos fases con una configuración de reactor ASTBR para la fase acidogénica y RME para la fase metanogénica, presentó un buen comportamiento para el hidrolizado de caña durante el aumento de la OLR, ya que a mayor OLR el porcentaje de remoción aumentó. Al comparar con otras configuraciones previas de la literatura esta configuración muestra tener mejores rendimientos, es importante aclarar que además de la configuración otro factor que pudo influir en el porcentaje de remoción fue la adición de CBCA como fuente de nutrientes.
- El comportamiento del sistema en dos fases ASTBR y RME concuerda con el análisis en la producción de AGV para el ASTBR, donde al aumentar la OLR presentó una mayor producción de AGV, donde el ácido de mayor composición fue el ácido acético.
- Los resultados indican un aumento en la producción de biogás operando con una carga superior a $3\text{kg}/\text{m}^3\text{día}$ con respecto a la deficiencia en producción con cargas bajas, el 42.5% del gas generado en la etapa metanogénica fue CH_4 lo cual permite concluir que la configuración de parámetros utilizados, tanto físicos, como químicos y biológicos potencia la obtención de biogás en el reactor RME a partir de licor de pentosas.
- En tecnologías ambientales para el tratamiento de biomasa o residuos es indispensable conectar todas las variables de respuesta ya sean físicas, químicas o biológicas para

viabilizar y optimizar los procesos de tratamiento por tanto en este trabajo la hidrodinámica del reactor ASTBR fue el ensayo realizado para evaluar el comportamiento físico este indicó un funcionamiento eficiente en la distribución del afluente al interior del reactor, permitiendo así contacto constante entre la matriz con biomasa adherida y el sustrato a ser degradado. La literatura revisada plantea diferentes modelos estadísticos donde el de mayor certeza es Sips ya que indica parámetros de heterogeneidad con mayor precisión y estadísticamente este modelo fue el ajustado al ensayo hidrodinámico del biorreactor.

6. Recomendaciones

Para futuras investigaciones se recomienda:

- Evaluar la operación del sistema con cargas mayores a las aquí trabajadas.
- Variar los TRH con el fin de comparar eficiencia del sistema entre trabajar con fluctuación de carga orgánica aplicada y fluctuación de tiempo de retención.
- Sustituir la solución nutriente en la etapa acidogénica por cenizas de bagazo de caña.
- Evaluar el sistema con diferentes configuraciones de reactores y aplicar procesos de co-digestión mediante la mezcla de diferentes substratos.
- Aplicar el evaluar tratamiento de tercera generación en el sistema, como microalgas.

7. Referencias

- ADARME, Oscar Fernando Herrera *et al.* Methane and hydrogen production from anaerobic digestion of soluble fraction obtained by sugarcane bagasse ozonation. *Industrial Crops and Products*, v. 109, n. September, p. 288–299, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.040>>.
- AKSU, Zümriye. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: A review. *Process Biochemistry*, v. 40, n. 3–4, p. 997–1026, 2005.
- AQUINO, Sérgio F. METODOLOGIAS PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE METANOGÊNICA ESPECÍFICA (AME) EM LODOS ANAERÓBIOS. v. 12, p. 192–201, 2007.
- BAÊTA, Bruno Eduardo Lobo. Aproveitamento energético a partir da digestão anaeróbia de hidrolisado hemicelulósico gerado pelo pré-tratamento por auto-hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar considerando o contexto da biorrefinaria. p. 1367–1368, 2016. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/7124>>.
- BAÊTA, Bruno Eduardo Lobo *et al.* Evaluation of hydrogen and methane production from sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysates by two-stage anaerobic digestion process. *Bioresource Technology*, v. 218, n. July, p. 436–446, 2016.
- BAÊTA, Bruno Eduardo Lobo. *Tratamento de Efluentes de Indústria Têxtil Utilizando Reatores Anaeróbios de Membranas Submersas (SAMBR) com e sem Carvão Ativado em Pó (CAP)*. 2012. 2012.
- BAÊTA, Bruno Eduardo Lobo *et al.* Optimization of sugarcane bagasse autohydrolysis for methane production from hemicellulose hydrolyzates in a biorefinery concept. *Bioresource Technology*, v. 200, n. November, p. 137–146, 2016.
- BARAKAT, Abdellatif *et al.* Effect of lignin-derived and furan compounds found in lignocellulosic hydrolysates on biomethane production. *Bioresource Technology*, v. 104, p. 90–99, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.10.060>>.
- BEGA, Rodrigo Merighi. Aplicação De Cinza Do Bagaço De Cana-De- Aplicação De Cinza Do Bagaço De Cana-De-. 2014.

BRUNELLI, A. M. M. P.; PISANI, R. Proposta de disposição de resíduo gerado a partir da queima do bagaço de cana em caldeiras como fonte de nutrientes e corretivo do solo. *Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Sección Uruguay. Rescatando antiguos principios para los nuevos desafíos del milenio. Montevideo, AIDIS. Congreso Internamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Punta de Este, 26-30 no, p. 1-8, 2006. Disponível em: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/uruguay30/BR05429_BRUNELLI.pdf>.*

CARVALHO, Karina Querne De *et al.* Avaliação Hidrodinâmica de Reator UASB Submetido a Variação Cíclica de Vazão. *Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 13, n. 2, p. 226–235, 2008.

CIOABLA, Adrian Eugen *et al.* Comparative study on factors affecting anaerobic digestion of agricultural vegetal residues. *Biotechnology for Biofuels*, v. 5, n. ii, p. 1–9, 2012.

CORDEIRO, Paulo Henrique de Miranda. AVALIAÇÃO DA BIOMETANIZAÇÃO DO HIDROLISADO HEMICELULÓSICO OBTIDO PELA AUTO-HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR EM SISTEMAS ANAERÓBIOS DE DUPLO ESTÁGIO E UM ESTÁGIO NA PRESENÇA DE CARVÃO ATIVADO EM PÓ. 2018.

COSTA, David Freire da. GERAÇÃO DE ENERGIA ELÉTRICA A PARTIR DO BIOGÁS DO TRATAMENTO DE ESGOTO. *Motivation and Emotion*, v. 30, n. 3, p. 243–250, 2006.

DA SILVA, AYLÁ SANT. TEIXEIRA, RICARDO. MOUTTA, RONDINELE. FERREIRA, Viridiana. Sugarcane and Woody Biomass Pretreatments for Ethanol Production. *Waste Water - Evaluation and Management*, v. 2, p. 137–164, 2012.

DE OLIVEIRA, FERNANDO MOREIRA VASCONCELOS. Avaliação de diferentes pré-tratamentos e deslignificação alcalina na sacarificação da celulose de palha de cana. p. 98, 2010.

FAGBOHUNGBE, Michael O. *et al.* The challenges of anaerobic digestion and the role of biochar in optimizing anaerobic digestion. *Waste Management*, v. 61, p. 236–249, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2016.11.028>>.

FANG, Herbert H P; LIU, Hong. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. *Bioresource Technology*, v. 82, n. 1, p. 87–93, 2002.

FAO. BIOCOMBUSTIBLES Situación del mercado Aspectos relevantes de la proyección. 2017.

GAVRILESCU, Maria. *Biorefinery Systems: An Overview*. [S.l.: s.n.], 2014. v. 1.

GIM, Juan Bautista *et al.* Estudio del tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas en biorreactores de membranas . 2014.

GOMEZ MILLAN, Gerardo. Desarrollo de biorrefinerías en el mundo (Biorefineries development : a worldwide review). *Ciencia y desarrollo*, v. 1, n. June, p. 13, 2015.

HAHN-HÄGERDAL, BÄRBEL, CARLOS MARTÍN, MATS GALBE, C. FREDRIK WAHLBOM, Leif J. Jönsson. Ethanol production from enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse using recombinant xylose-utilising *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Environmental Engineering*, v. 1, n. 4, p. 432, 2009. Disponível em: <<http://www.inderscience.com/link.php?id=27985>>.

HEITZ, M. *et al.* Fractionation of *Populus tremuloides* at the pilot plant scale: Optimization of steam pretreatment conditions using the STAKE II technology. *Bioresource Technology*, v. 35, n. 1, p. 23–32, 1991.

HENRY, Guy; PAHUN, Jeanne; TRIGO, Eduardo. La Bioeconomía en América Latina: oportunidades de desarrollo e implicaciones de política e investigación. *Facultad de Ciencias Económicas y Sociales*, v. 42, n. 4, p. 125–141, 2014. Disponível em: <http://nulan.mdp.edu.ar/2112/1/FACES_n42-43_125-141.pdf>.

HOLM-NIELSEN, J. B.; AL SEADI, T.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. *Bioresource Technology*, v. 100, n. 22, p. 5478–5484, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.046>>.

JOSÉ, Vega *et al.* Azúcar Residual Para La Síntesis De Espuma Rígidas De Poliuretano (Erp) De Uso Industrial. *Tecnol. Ciencia Ed*, v. 22, n. 2, p. 101–107, 2007.

KAMM, B. Production of platform chemicals and synthesis gas from biomass. *Angewandte Chemie - International Edition*, v. 46, n. 27, p. 5056–5058, 2007.

KAMM, B.; KAMM, M. Principles of biorefineries. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 64, n. 2, p. 137–145, 2004.

LAOPAIBOON, Pattana *et al.* Acid hydrolysis of sugarcane bagasse for lactic acid

production. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 3, p. 1036–1043, 2010.

LATIF, Muhammad A.; MEHTA, Chirag M.; BATSTONE, Damien J. Influence of low pH on continuous anaerobic digestion of waste activated sludge. *Water Research*, v. 113, p. 42–49, 2017.

MARABEZI, Karen. Estudo sistemático das reações envolvidas na determinação dos teores de lignina e holocelulose em amostras de bagaço e palha de cana-de-açúcar. 2009. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75131/tde-07102009-100309/>>.

MARTON, J. M. *et al.* Evaluation of the activated charcoals and adsorption conditions used in the treatment of sugarcane bagasse hydrolysate for xylitol production. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 23, n. 1, p. 9–21, 2006.

MEIGHAN, Brittany Nicole *et al.* Two-stage fractionation of sugarcane bagasse by autohydrolysis and glycerol organosolv delignification in a lignocellulosic biorefinery concept. *Industrial Crops and Products*, v. 108, n. March, p. 431–441, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.049>>.

MONCADA, Jonathan; TAMAYO, Johnny A.; CARDONA, Carlos A. Integrating first, second, and third generation biorefineries: Incorporating microalgae into the sugarcane biorefinery. *Chemical Engineering Science*, v. 118, p. 126–140, 2014.

OLSSON, Lisbeth; HAHN-HÄGERDAL, Bärbel. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 18, n. 5, p. 312–331, 1996.

OVIEDO, JINETH ANDREA ARANGO. EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE METANO EN UN REACTOR ESCALONADO CON CARBÓN ACTIVADO EN POLVO Y EN UN REACTOR DE LECHO FIJO ESTRUCTURADO UTILIZANDO EL HIDROLIZADO DE BAGAZO DE CAÑA COMO SUSTRATO TRABAJO. 2018, Ouro Preto: [s.n.], 2018.

PERMESWARAN, Palani. Chemurgy: Using Science Innovatively to Save American Agriculture from Overproduction. *History Teacher*, v. 44, n. 1, p. 95–125, 2010. Disponível em:

<<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=56552886&site=ehost-live&scope=site>>.

RABELO, Sarita Cândida. Avaliação E Otimização De Pré-Tratamentos E Hidrólise Enzimática Do Bagaço De Cana-De-Açúcar Para a Produção De Etanol De Segunda Geração. *Tese de doutorado*, p. 447, 2010.

RIBEIRO, Fernanda Resende *et al.* Anaerobic digestion of hemicellulose hydrolysate produced after hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse in UASB reactor. *Science of the Total Environment*, v. 584–585, n. February, p. 1108–1113, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.170>>.

RIBEIRO, Fernanda Resende. Produção De Biogás a Partir De Hidrolisados Gerados No Pré-Tratamento Por Auto-Hidrólise Do Bagaço De Cana-De-Açúcar. p. 484, 2016.

SACRAMENTO-RIVERO, J.C; ROMERO, G.; CORTÉS-RODRÍGUEZ, E. a Diagnostic Study on the Development of Biorefineries. *Revista Mexicana de Ingenieria Quimica*, v. 9, n. 3, p. 2010, 2010.

SANTOS, Livia Caroline Dos *et al.* Production of biogas (methane and hydrogen) from anaerobic digestion of hemicellulosic hydrolysate generated in the oxidative pretreatment of coffee husks. *Bioresource Technology*, v. 263, n. May, p. 601–612, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.037>>.

SUNYOTO, Nimas M.S. *et al.* Effect of biochar addition on hydrogen and methane production in two-phase anaerobic digestion of aqueous carbohydrates food waste. *Bioresource Technology*, v. 219, p. 29–36, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.089>>.

YE CHEN, JAY J. CHENG, Kurt S. Creamer; DEPARTMENT. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Ginekologia Polska*, v. 84, n. 2, p. 108–111, 2013.

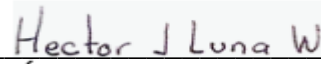
ZHANG, B. *et al.* The Influence of pH on Hydrolysis and Acidogenesis of Kitchen Wastes in Two-phase Anaerobic Digestion. *Environmental Technology*, v. 26, n. 3, p. 329–340, 2005. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593332608618563>>.

Hoja de aprobación

Certifico que el alumno Fabián Camilo Otálora Tapiero, autor del trabajo de conclusión de curso titulado EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS EN SISTEMAS DE DOS ETAPAS USANDO UN REACTOR ANAEROBIO DE LECHO FIJO ESTRUCTURADO (ASTBR) Y REACTOR METANOGÉNICO ESCALONADO (RME) ALIMENTADO CON LICOR DE PENTOSAS, realizó las correcciones sugeridas por la banca examinadora y que estoy de acuerdo con la versión final del trabajo.



Dr. Bruno Eduardo Lobo Baêta
Orientador (UFOP)



Dr Héctor Javier Luna
Orientador (UAN)

Ouro Preto, 18 de diciembre de 2018