

Universidad Católica de Santa María

Escuela de Postgrado

Doctorado en Ciencias Ambientales



“DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA/PRESIÓN, SOBRE EL DESFIBRILADO EN BROZA DE *Capsicum annuum* (PAPRIKA) Y RESIDUOS DE PODA DE *Vitis vinífera* (UVA), PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS EN UN BIODIGESTOR ANAERÓBICO DE ALTA EFICIENCIA.”

Tesis presentada por el Maestro:

Salazar Churata, Irina Elizarova

Para optar el Grado Académico de:

Doctor en Ciencias Ambientales

Asesor: Dr. Ponce Soto, Luis

Arequipa - Perú

2019

Dictamen de Borrador de Tesis

Sr. Dr.

JÓSE VILLANUEVA SALÁS

Director de la Escuela de Postgrado de la Universidad Católica Santa María

Presente.

De mi mayor consideración:

Por intermedio del presente lo saludo y aprovecho la oportunidad para hacerle llegar el dictamen del borrador de tesis titulada: "DETERMINACION DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA/PRESION, SOBRE EL DESFIBRILADO EN BROZA DE PAPRIKA Y RESIDUOS DE PODA UVA, PARA LA PRODUCCION DE BIOGAS EN UN BIODIGESTOR ANAEROBICO DE ALTA EFICIENCIA." Presentado por la Magister: SALAZAR CHURATA, Irina Elizarova.

Habiendo revisado dicho documento y levantado las observaciones pertinentes se encuentra APTO PARA SUSTENTACION.

Arequipa, 03 de diciembre del 2018



Víctor Pacheco Sánchez
Miembro del Jurado Dictaminador

INFORME No. 009-2018-LAPS

A : **Dr. José A. Villanueva Salas**
Director de la Escuela de Post Grado.
Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

DE : *Professor Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.*

ASUNTO : Informe y Opinión sobre el Proyecto de Tesis para obtener el grado Académico de Doctor en Ciencias Ambientales: "Determinación del efecto de la temperatura/presión, sobre el desfibrilado en broza de *Capsicum annum* (papkra) y residuos de poda de *Vitis vinifera* (uva), para la producción de biogás en un Biodigestor anaeróbico de alta eficiencia."

FECHA : Arequipa, 12 de Diciembre del 2018.

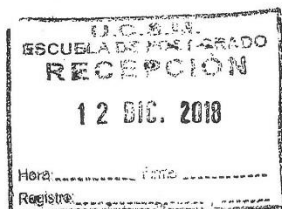
Tengo a bien dirigirme a usted, con la finalidad de informarle sobre el asunto, después de haber recibido, revisado y evaluado el Borrador de Tesis: "Determinación del efecto de la temperatura/presión, sobre el desfibrilado en broza de *Capsicum annum* (papkra) y residuos de poda de *Vitis vinifera* (uva), para la producción de biogás en un Biodigestor anaeróbico de alta eficiencia". Presentando por la Magister: Irina Elizarova Salazar Churata, para optar el grado académico de Doctor en Ciencias Ambientales, en la Escuela de Post-Grado de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

APRUEBO el presente Borrador de Tesis de Doctorado, presentado por la Magíster: Irina Elizarova Salazar Churata.

Atentamente,



Professor Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.
DNI 29546298
Código 9107



**DICTAMEN DE BORRADOR DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR
EN CIENCIAS AMBIENTALES**

Sr. Dr.:
José Villanueva Salas
Director de la Escuela de Postgrado de la UCSM
Presente..

De mi mayor consideración:

En atención al nombramiento como dictaminador del Borrador de Tesis presentado por la Magister Salazar Churata, Irina Elizarova, quien pretende optar el grado académico de Doctor en Ciencias Ambientales, debo informarle que se han hecho las observaciones pertinentes, las cuales han sido subsanadas, por lo que el trabajo cumple con los objetivos propuestos, encontrándose apto para su sustentación, por lo que doy mi dictamen aprobatorio.

Atentamente

Arequipa 12 de diciembre del 2018


Dr. Gonzalo Dávila del Garpio



**DEDICO ESTE LOGRO AL HACEDOR DE MIS
DIAS, ABA-BĀ DIOS PADRE QUIEN HABITA
EN MI CUAL CHISPA DIVINA Y AL ANGEL DE
MI GUARDA EFRAIN QUE DESDE EL CIELO
VELA POR MI.**

**A GODOFREDO MI AMOR Y COMPAÑERO DE VIDA EJEMPLO DE
TENACIDAD Y BRILLANTEZ, QUIEN SIEMPRE ME PONE LA VALLA
ALTA PARA SEGUIR CRECIENDO COMO PROFESIONAL Y SER
HUMANO.**

**A MIS PADRES Y HERMANA POR SU APOYO INCONDICIONAL EN LOS
MOMENTOS MAS IMPORTANTES DE MI VIDA.**

**A MI FAMILIA Y AMIGOS POR ESTAR A MI LADO ANIMANDOME A
PERSERVERAR EN MIS SUEÑOS.**



**“EL BIOGÁS ES LA ÚNICA TECNOLOGIA DE ENERGIA
RENOVABLE QUE CONVIERTE UN PASIVO AMBIENTAL
EN UN ACTIVO AMBIENTAL”**

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

Esta investigación fue parcialmente apoyada por una subvención del Instituto Nacional de Innovación Agraria del Perú; financiado por Proyectos de Investigación Estratégica Agraria Fondo Concursable PNIA, contrato N° 026-2015-IE: **“Producción y Uso de Biometano presurizado como sustituto de Combustibles Fósiles en el Sector Agrícola”**; conducido a través del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa Perú.

INTRODUCCIÓN

La bioenergía es una de las fuentes de producción energética renovables más atractivas para remplazar en parte el uso de combustibles fósiles.

A partir de la biomasa vegetal se puede obtener energía utilizando sistemas anaerobios de alta eficiencia, sin embargo, pese que el material lignoceluloso es uno de los más abundantes (en Arequipa se dispone de aproximadamente 1 600 000 TM/año), su utilidad es aún limitada debido a la falta de tecnología barata para degradar la fracción recalcitrante de la biomasa, este es el caso de la lignina responsable del soporte estructural y la impermeabilidad de las plantas que es altamente resistente a la degradación química y biológica.

En la región Arequipa se producen más de 1 600 000 TM/año de residuos agrícolas fibrosos (paja de trigo, paja de arroz, rastrojo de papa, rastrojo de páprika, plumas de pollo, residuos de poda de uva, etc.). Más del 80% de estos residuos agrícolas son quemados, perdiéndose una valiosa fuente de nutrientes y energía. Los biodigestores húmedos no utilizan esta biomasa porque es difícil de manipular, tiende a flotar y formar natas y su constituyente principal, la celulosa (o queratinina), es difícil de descomponer.

Existen muchos tipos de tratamiento de residuos lignocelulosas que van desde los químicos, biológicos mecánicos, de los cuales este último es el más factible para ser llevado a gran escala, dentro de los más importantes tenemos a la torrefacción, la termohidrólisis, y el tratamiento por prensas, sin embargo, estos difieren en sus resultados debido principalmente al tipo y contenido de lignina como al costo efectividad.

Dentro de las principales ventajas del método de pretratamiento físico de explosión de vapor esta el bajo impacto ambiental. (Cara et al. 2006; Ballesteros et al. 2002), indica que es uno de los procesos menos peligrosos, ya que demanda el reciclaje y la no adición de productos químicos

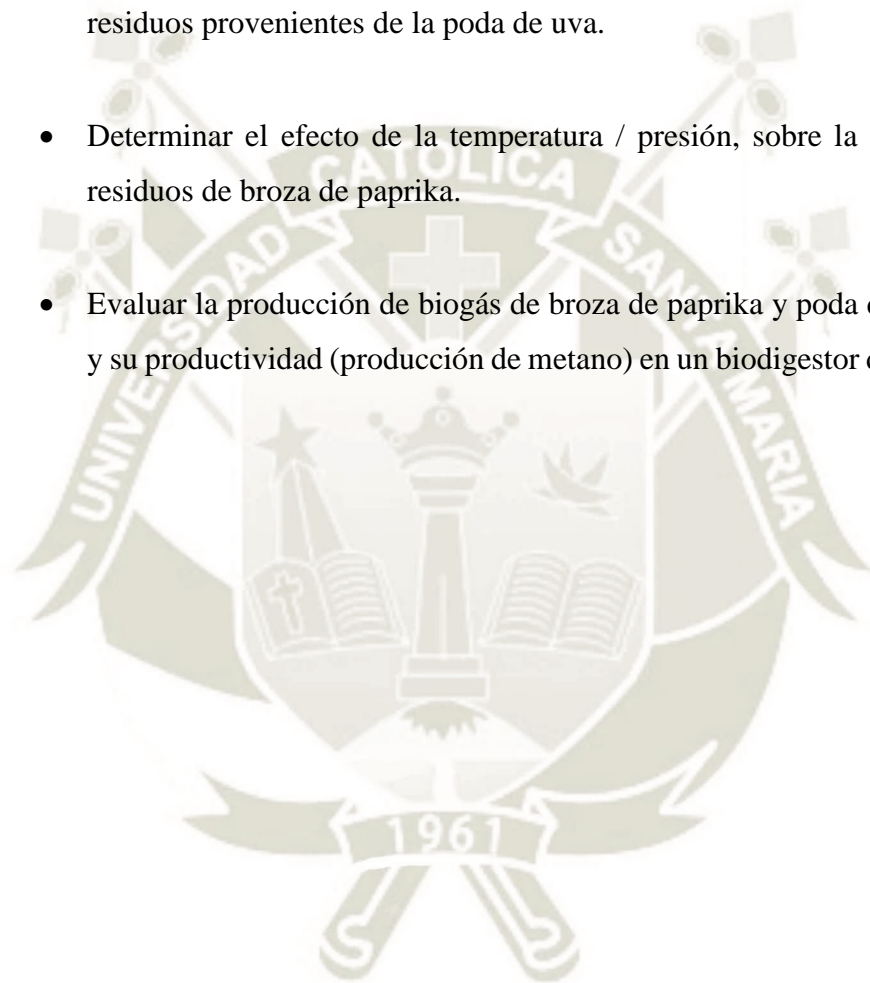
El pretratamiento térmico-mecánico de estos residuos, puede permitir aprovecharlos en digestores anaerobios de alta eficiencia, bajando los costos de las plantas de biodigestión al incrementar su eficiencia, aprovechando residuos con alto contenido de lignina pretratados.

1.1. HIPÓTESIS

Dado que el efecto de la presión y temperatura influyen sobre el desfibrilado de los residuos agrícolas, es posible que la Temperatura y Presión influyan en la productividad de biogás en un digestor de alta eficiencia

1.2. OBJETIVOS:

- Determinar el efecto de la temperatura / presión, sobre la desfibrilación de residuos provenientes de la poda de uva.
- Determinar el efecto de la temperatura / presión, sobre la desfibrilación de residuos de broza de paprika.
- Evaluar la producción de biogás de broza de paprika y poda de uva pretratada y su productividad (producción de metano) en un biodigestor de alta eficiencia.



RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó entre los meses de Setiembre 2017 a mayo del 2018 en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa, departamento de Arequipa.

El Objetivo de la investigación fue determinar el efecto de la temperatura /presión, sobre el desfibrilado en broza de páprika y residuos de poda de uva, para la producción de biogás en un biodigestor anaerobio de alta eficiencia.

Para la obtención de la información se realizaron ensayos de laboratorio en un termohidrolizador a fin de determinar el efecto de la temperatura / presión, sobre la desfibrilación de residuos provenientes de la poda de uva, y sobre residuos de broza de paprika; luego se evaluó la producción de biogás de broza de paprika y poda de uva pre tratada y su productividad (producción de metano) en reactores de alta eficiencia de 500ml, según la norma alemana.

Entre los resultados encontrados se ha determinado el efecto de la temperatura/ presión sobre el desfibrilado (ruptura celular), en residuos provenientes de poda de uva, y broza de paprika siendo los mejores valores hallados con temperaturas de 100 ° C, para ambas brozas y presiones de 2 atmosferas en broza de paprika y 3 atmosferas en broza de uva. Respecto a la producción de biogás, se ha tenido una producción de 340 ml para broza de paprika pre tratada y de 210 ml en broza de uva en una concentración de SV al 10% en un reactor de 400ml.

Palabras claves: Termohidrólisis, lignina, paprika, vid, digestión anaerobia

ABSTRACT

The present research work was carried out between the months of September 2017 and May 2018 in the laboratories of the Catholic University of Santa María de Arequipa, Department of Arequipa.

The objective of the research was to determine the effect of temperature / pressure, on the defibrillation in paprika brush and grape pruning residues, for the production of biogas in a highly efficient anaerobic biodigester.

To obtain the information, laboratory tests were carried out on a thermohydrolyzer in order to determine the effect of temperature / pressure, on the defibrillation of residues from grape pruning, and on residues of paprika. then the production of biogas from paprika and pre-treated grape pruning and its productivity (methane production) in high efficiency reactors of 500ml, according to the German norm, was evaluated.

Among the results found, the effect of temperature / pressure on the defibrillation (cellular rupture), in residues from grape pruning, and paprika brush was determined, being the best values found with temperatures of 100 ° C, for both brushwood and pressures of 2 atmospheres in paprika brush and 3 atmospheres in grape brush. Regarding the production of biogas, there has been a production of 340 ml for pre-treated paprika brush and 210 ml in grape husk at a concentration of 10% SV in a 400 ml reactor.

Keywords: Thermohydrolysis, lignin, paprika, vine, anaerobic digestion

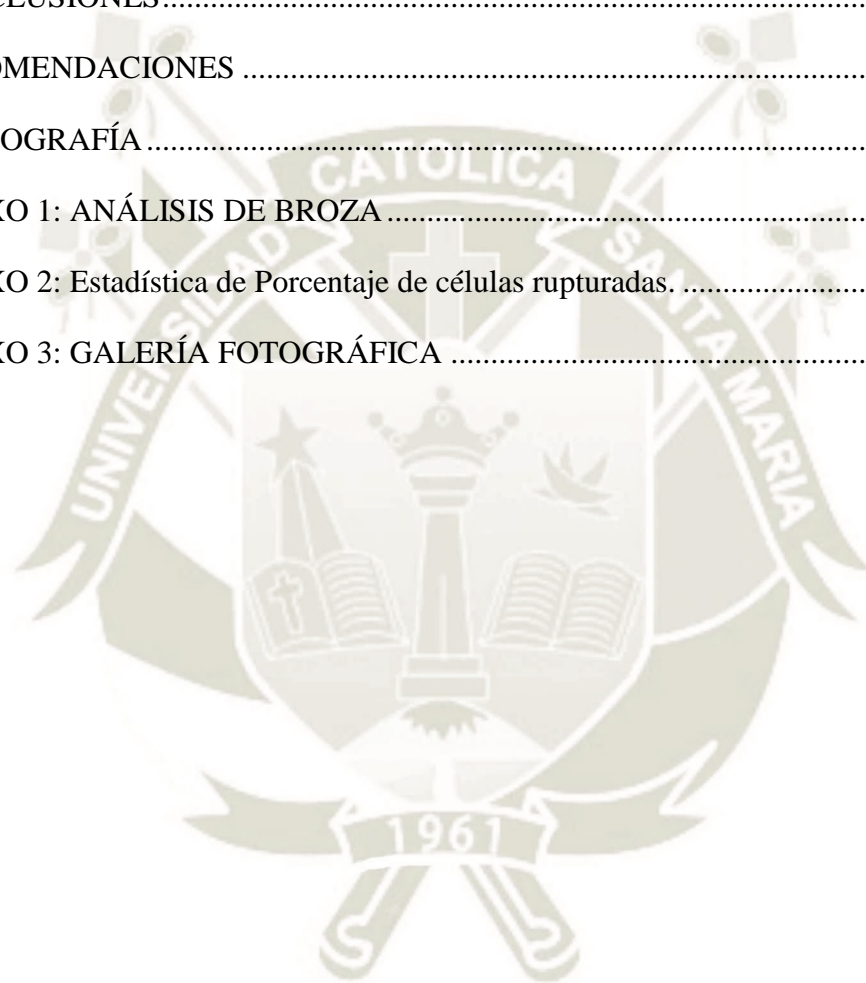
ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	
RESUMEN	
ABSTRACT	
CAPÍTULO I.....	1
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. TERMOHIDRÓLISIS	1
1.1.1. COMPOSICIÓN DEL MATERIAL LIGNOCELULÓSICO.....	1
1.2. DEGRADACIÓN DE LA CELULOSA.....	3
1.2.1. Organismos degradadores de la celulosa.....	3
1.2.2. Degradación del material lignocelulósico: Pretratamientos.....	4
1.3. DIGESTIÓN ANAEROBIA:	8
1.3.1. TIPOS DE DIGESTIÓN ANAEROBIA.....	11
1.3.2. SISTEMAS DE DIGESTIÓN ANAEROBIA DE ALTA EFICIENCIA	11
1.4. SUSTRATOS Y SU CAPACIDAD DE PRODUCIR BIOGÁS	13
1.5. PARÁMETROS BÁSICOS DE PRODUCCIÓN	13
1.5.1. Temperatura.....	13
1.5.2. Carga volumétrica en el digestor.....	14
1.5.3. Tasa de degradación y velocidad de transformación biológica.....	14
1.5.4. Tiempo de permanencia en el digestor	15
1.6. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	15
CAPÍTULO II.....	17
METODOLOGÍA.....	17
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17

2.1.	CAMPO DE VERIFICACIÓN.....	17
2.1.1.	Lugar de ejecución.....	17
2.1.2.	Ubicación temporal.....	17
2.2.	MATERIALES	17
2.2.1.	Material biológico	17
2.2.2.	Material de laboratorio	18
2.3.	MÉTODOS	18
2.3.1.	Pretratamiento de broza de uva	18
2.3.2.	Pretratamiento de broza de paprika	19
2.3.3.	Digestión anaerobia de brozas	19
2.4.	Diseño Experimental.....	21
CAPITULO III		24
3.	RESULTADOS	24
3.1.	Evaluación de la Termohidrólisis de vid (<i>Vitis vinifera</i>) respecto a número de células rupturadas	24
3.2.	Resultados obtenidos de termohidrolisis de vid (<i>Vitis vinifera</i>):.....	24
3.3.	Diagrama de Pareto respecto a resultados de termohidrolisis de vid vid (<i>Vitis vinifera</i>)	26
3.4.	Efectos principales sobre el número de células rupturadas por termohidrolisis de vid (<i>Vitis vinifera</i>).....	26
3.5.	Interacción de temperatura y presión de la termohidrolisis de Vid (<i>Vitis vinifera</i>)	27
3.6.	Análisis de varianza de la termohidrolisis de vid (<i>Vitis vinifera</i>).....	28
3.7.	Modelo Matemático que simula el comportamiento de la termohidrolisis de vid (<i>Vitis vinifera</i>).....	29
3.8.	Grafico de contornos del modelamiento matemático de la Termohidrolisis de vid (<i>Vitis vinifera</i>).....	30

3.9. Resultado del modelamiento para el óptimo de termohidrolisis de vid (<i>Vitis vinifera</i>)	
31	
3.10. Termohidrolisis de vid respecto a porcentaje de células rupturadas	32
Tratamiento.....	33
3.11. Análisis de varianza para el % de células rupturadas por termohidrolisis en vid (<i>Vitis vinifera</i>)	33
3.12. Resultados obtenidos de termohidrólisis de páprika (<i>Capsicum annuum</i>)	34
3.13. Diagrama de Pareto respecto a resultados de termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>).....	36
3.14. Efectos principales sobre el número de células rupturadas po termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>).....	36
3.15. Interacción de temperatura y Presión de la termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>)	37
3.16. Análisis de varianza de la termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>)	38
3.17. Termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>) respecto a porcentaje de células rupturadas	39
3.18. Efectos principales sobre el % de células rupturadas por termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>).....	39
3.19. Interacción de temperatura y Presión del % de células rupturadas por termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>).....	40
3.20. Análisis de varianza de la termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>), para % de células rupturadas observadas	41
3.21. Modelo Matemático que simula el comportamiento de la termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>).....	42
3.22. Gráfico de contornos del modelamiento matemático de la Termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>).....	43
3.23. Resultado del modelamiento para el óptimo de termohidrolisis de paprika (<i>Capsicum annuum</i>).....	44
3.24. PRODUCCIÓN DE METANO	44

CAPITULO IV	48
4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	48
4.1. Respecto a la termohidrolisis de Uva	48
4.2. Respecto a la termohidrolisis de paprika	51
4.3. Respecto a la producción de Biogás.	53
CONCLUSIONES.....	58
RECOMENDACIONES	59
BIBLIOGRAFÍA	60
ANEXO 1: ANÁLISIS DE BROZA	66
ANEXO 2: Estadística de Porcentaje de células rupturadas.	67
ANEXO 3: GALERÍA FOTOGRÁFICA	70



INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina de residuos agrícolas y desechos ...	3
Tabla 2 Solubilización de los componentes lignocelulósicos después de pretratamientos físicoquímicos.....	7
Tabla 3 Comparación de las necesidades de hábitat de bacterias de hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis.....	13
Tabla 4 Producción de biogás de algunos sustratos, en planta rottaler ar.	13
Tabla 5 Unidades de estudio en el termohidrolizador	22
Tabla 6 Efecto de la T/P sobre el desfibrilado de residuos de podas de uva y paprika y su productividad en un biodigestor de alta eficiencia	23
Tabla 7 Variables y niveles para la evaluación del efecto de la termohidrólisis sobre células del tallo de la vid (<i>Vitis vinifera</i>)	24
Tabla 8 Resultados obtenidos para el proceso de termo hidrolizado de residuos de la vid.	25
Tabla 9 Análisis de varianza para número de células observadas en el proceso de termohidrólisis de la VID	29
Tabla 10 Optimización para número de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis de la VID	32
Tabla 11 Estadísticos descriptivos para % de células observadas en el proceso de termohidrólisis de la VID	33
Tabla 12 Análisis de varianza para % de celulas.observadas en el proceso de termohidrólisis de la VID	34
Tabla 13 Resultados obtenidos para el proceso de termo hidrolizado de residuos de la páprika.	35
Tabla 14 Análisis de varianza para número de células observadas en el proceso de termohidrólisis de la páprika	38
Tabla 15 Análisis de varianza para porcentaje de células observadas en el proceso de termohidrólisis de la páprika	41
Tabla 16 Optimización para % de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis de páprika	44

Tabla 17 Promedio de porcentaje de metano evaluado en biogás de residuos de uva y páprika

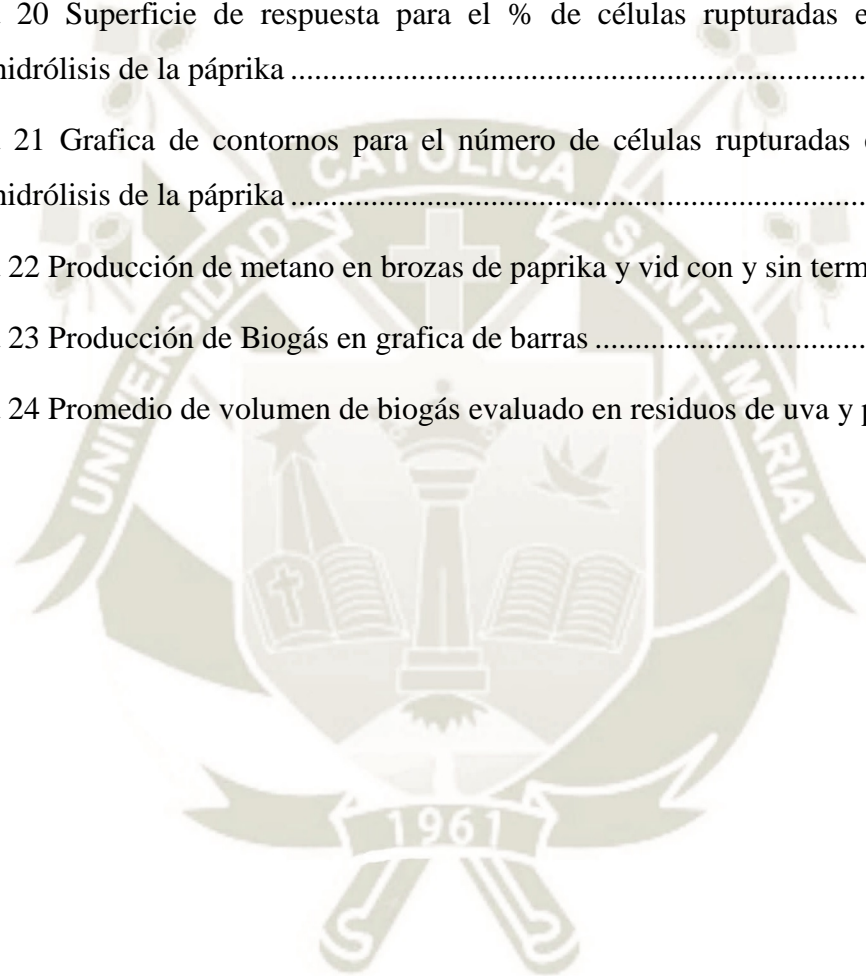
..... 45



INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura de la lignocelulosa. La celulosa, la hemicelulosa y la lignina forman estructuras llamadas microfibrillas, organizadas en microfibras que regulan la estabilidad de la pared celular de las plantas	2
Figura 2 Representación esquemática de la hidrólisis de la celulosa amorfa y cristalina en el sistema de celulasas complejo (A) y no complejo (B).	4
Figura 3 Etapas de la digestión anaerobia	8
Figura 4 Participación de bacterias en el proceso de Digestión anaerobia.....	10
Figura 5 Participación de enzimas en el proceso de Digestión anaerobia.....	10
Figura 6 Reacciones de hidrolisis.....	11
Figura 7 Procesos Biologicos en un Sistema Anaerobio.....	12
Figura 8 Esquema de ensayos.....	21
Figura 9. Diagrama de Pareto para efectos en el número de células en el proceso de termohidrólisis de la vid	26
Figura 10 Efectos principales para efectos en el número de células en el proceso de termohidrólisis de la vid	27
Figura 11. Interacciones de temperatura y presión sobre el número de células en el proceso de termohidrólisis de la vid	28
Figura 12 Superficie de respuesta para el número de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis.....	30
Figura 13 Gráfica de contornos para el número de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis. En A) Contornos de líneas continuas y en B) Contorno por regiones coloreadas	31
Figura 14 Diagrama de Pareto para número de células en la termohidrólisis de residuos de páprika	36
Figura 15 Efectos principales para el número de células en el proceso de termohidrólisis de la páprika	37
Figura 16 Interacciones de temperatura y presión sobre el número de células en el proceso de termohidrólisis de la páprika	38

Figura 17 Diagrama de Pareto para % de células en la termohidrólisis de residuos de páprika	39
Figura 18 Efectos principales para el % de células en el proceso de termohidrólisis de la páprika	40
Figura 19 Interacciones de temperatura y presión sobre el % de células en el proceso de termohidrólisis de la páprika	41
Figura 20 Superficie de respuesta para el % de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis de la páprika	42
Figura 21 Grafica de contornos para el número de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis de la páprika	43
Figura 22 Producción de metano en brozas de paprika y vid con y sin termohidrolizar.....	45
Figura 23 Producción de Biogás en grafica de barras	46
Figura 24 Promedio de volumen de biogás evaluado en residuos de uva y páprika	47



CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. TERMOHIDRÓLISIS

La termohidrólisis está compuesta por dos procesos: exposición al vapor y explosión. Durante la exposición al vapor, la humedad penetra las estructuras lignocelulósicas y permite que los grupos acetilo y hemicelulosas puedan hidrolizarse completamente. Se forman ácidos orgánicos que acidifican el medio e hidrolizan las hemicelulosas a azúcares (glucosa, galactosa). El pH ácido inicia reacciones que llevan a la repolimerización, que hace a la lignina menos degradable. Pretratamientos físicos y químicos como microondas, vapor, explosión, ácido, álcali, o procesos combinados podrían destruir la estructura lignocelulósica en poco tiempo, aumentando así la degradabilidad biológica. Sin embargo, estos métodos hacen que el proceso más caro y posiblemente generen toxicidad ambiental. (Zheng et al. 2014).

1.1.1. COMPOSICIÓN DEL MATERIAL LIGNOCELULÓSICO

La lignocelulosa (celulosa, hemicelulosa y lignina) es el principal y más abundante componente de la biomasa producida por la fotosíntesis, anualmente se forman 200,000 millones de toneladas en el mundo (Ragauskas *et al.*, 2006). La pared celular de las plantas está formada por lignocelulosa, la composición y porcentajes de los polímeros varían entre las especies de plantas, incluso entre la edad y la etapa de crecimiento (Jeffries, 1994).

La celulosa es un polímero de D-glucosa unida por enlaces glucosídicos β -1,4 que se estructuran en largas cadenas lineales (microfibrillas) unidas por puentes de hidrógeno y fuerzas de van der Waals intramoleculares, formando una estructura cristalina resistente a la hidrólisis y regiones amorfas susceptibles a la degradación enzimática (Ovando & Waliszewski, 2005; Béguin & Aubert, 1994).

La celulosa es sintetizada, en menores proporciones, por bacterias del género *Acetobacter* y los tunicados (Czaja *et al.*, 2007; Sasakura *et al.*, 2005). La hemicelulosa es un polímero complejo de heteropolisacáridos formado por pentosas (D-xilosa y L-arabinosa) y hexosas (D-glucosa, D-manosa y D-galactosa) que forman cadenas ramificadas y los ácidos 4- O-metilglucurónico,

D-galacturónico y Dglucurónico, los azúcares están unidos por enlaces β -1,4 y ocasionalmente por enlaces β -1,3 (Pérez, *et al.*, 2002). (Fig.1).

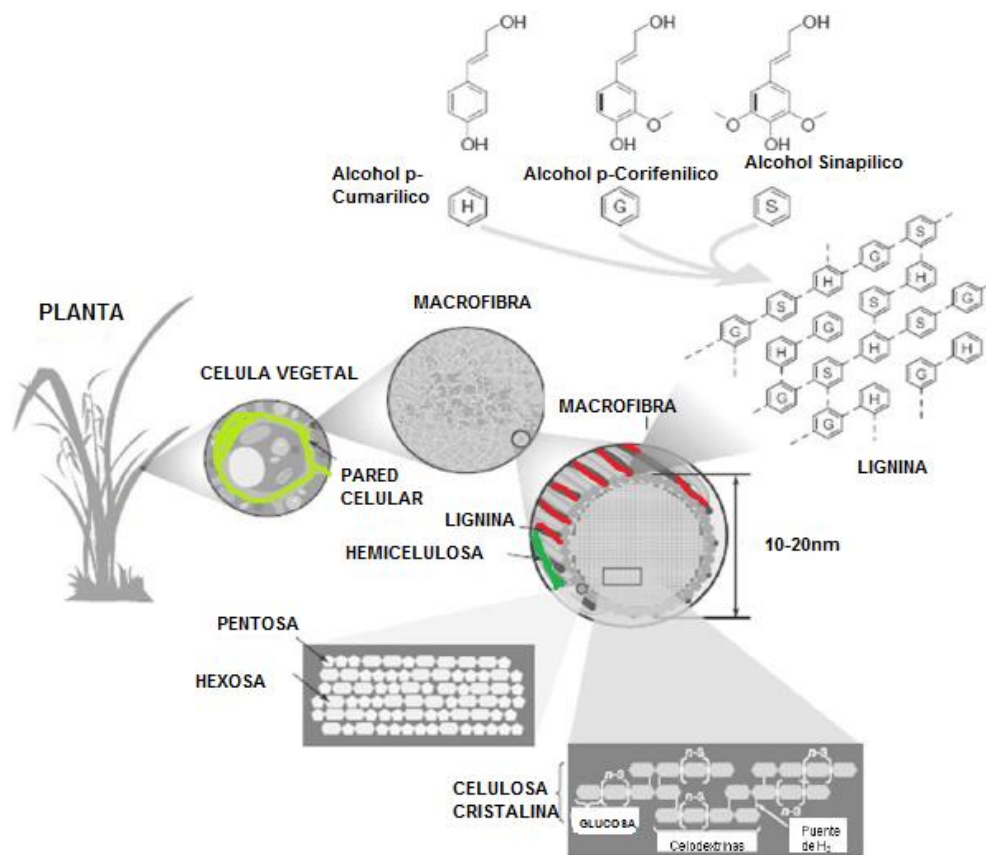


Figura 1: Estructura de la lignocelulosa. La celulosa, la hemicelulosa y la lignina forman estructuras llamadas microfibrillas, organizadas en microfibras que regulan la estabilidad de la pared celular de las plantas

Fuente: Tomada de Rubín, 2008.

La lignina es un heteropolímero amorfo, tridimensional y ramificado formado por alcoholes aromáticos que da soporte estructural, rigidez, impermeabilidad y protección a los polisacáridos estructurales (celulosa y hemicelulosa), es altamente resistente a la degradación química y biológica (Aro *et al.*, 2005).

Existen dos tipos de sistemas enzimáticos extracelulares: los que producen hidrolasas que degradan la celulosa (celulasas) y la hemicelulosa (hemicelulasas) y los que despolimerizan la lignina por reacciones de oxidación (peroxidasas y lacasas) (Pérez *et al.*, 2002). En los residuos lignocelulósicos existe una variación en el contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1 Contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina de residuos agrícolas y desechos

Material lignocelulósico	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Madera dura	40-55	24-40	18-25
Madera suave	45-50	25-35	25-35
Cáscara de nuez	25-30	25-30	30-40
Desechos de pastos	25-40	35-40	18-30
Paja de trigo	30	50	15
Hojas	15-20	80-85	0
Algodón	80-95	0	0
Desechos sólidos de aguas residuales	8-15	ND	24-29
Desechos animales (cerdos)	6	28	ND
Desechos sólidos de ganado	1.6-4-7	1.4-3.3	2.7-5.7
Hierba Bermuda	25	35.7	64
Pastos de crecimiento rápido	45	64	12

Fuente: Sung & Chen, 2002; ND= no disponible

1.2. DEGRADACIÓN DE LA CELULOSA

1.2.1. Organismos degradadores de la celulosa

Los hongos basidiomicetos y las bacterias aerobias degradan el material celulósico a través de la producción de celulasas extracelulares (Lynd et al., 2002). Entre este grupo se encuentran las bacterias del género *Cellulomonas* (Elberson et al., 2000) y *Streptomyces* (Alani et al., 2008), así como los hongos basidiomicetos responsables de la pudrición de la madera (Baldrian & Valaskova, 2008), que son los organismos más estudiados en esta área porque producen celulasas y actualmente dominan las aplicaciones industriales. Entre estos últimos se encuentran *Sclerotium rolfsii*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Volvariella volvacea*, *Schizophyllum commune*, *Pycnoporus sanguineus*, *Bjerkandera adusta*, y algunos ascomicetos como *Trichoderma reesei*, y especies de *Aspergillus*, y *Penicillium* (Sternberg, 1976; Duff & Murray, 1996; Ding et al., 2006; Quiroz-Castañeda et al., 2009). Los hongos y bacterias anaerobias degradan la celulosa a través de **celulosomas**, habitan en aguas residuales y en el rumen y el tracto intestinal de los animales herbívoros e insectos como escarabajos y termitas (Cazemier et al., 2003; Warnecke et al., 2003).

Los microorganismos aerobios producen celulasas con diferentes especificidades y modos de acción, actuando en sinergismo para hidrolizar la celulosa (Henrissat, 1991).

Hay tres tipos de celulasas (Fig.2): las **endoglucanasas** (EGs) (EC 3.2.1.4), que cortan azarosamente en regiones amorfas de la celulosa generando oligosacáridos, esto causa la disminución en el largo de las cadenas y un incremento de los azúcares reductores; las **exoglucanasas o celobiohidrolasas** (CBHs) (EC 3.2.1.74), que actúan sobre los extremos reductor y no reductor de las cadenas de celulosa liberando glucosa o celobiosa y las β - **glucosidasas** (EC 3.2.1.21) que hidrolizan la celobiosa y las celodextrinas para liberar dos moléculas de glucosa (Lynd *et al.*, 2002).

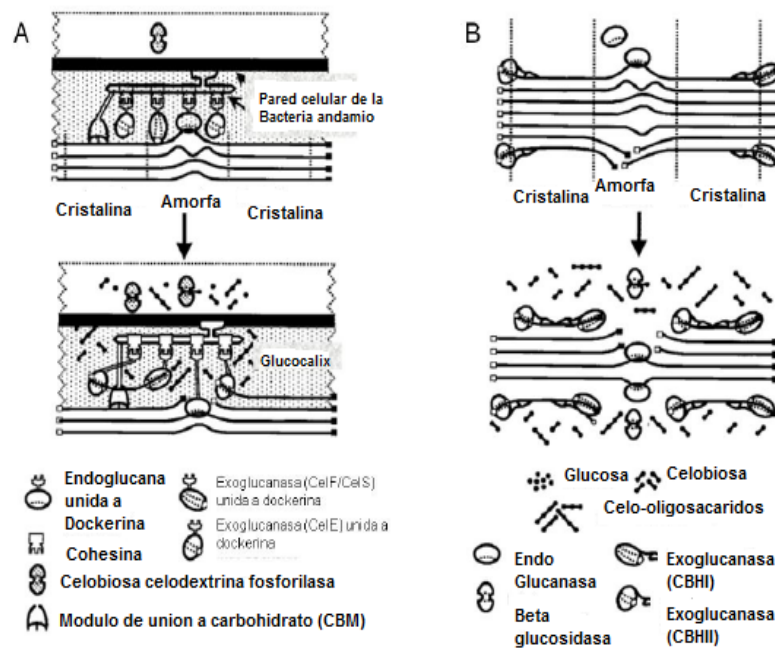


Figura 2 Representación esquemática de la hidrólisis de la celulosa amorfa y cristalina en el sistema de celulasas complejo (A) y no complejo (B).

Fuente: Modificado de Lynd *et al.*, 2002

1.2.2. Degradación del material lignocelulósico: Pretratamientos.

La finalidad del pretratamiento es remover la lignina y la hemicelulosa, reducir la cristalinidad de la celulosa e incrementar la porosidad del material, mejorando la liberación de azúcares y evitando la degradación o pérdida de carbohidratos así como la formación de compuestos inhibitorios para la posterior fermentación.

Existen diversos procesos para el pretratamiento de materiales lignocelulósicos (Sun & Cheng, 2002).

Existen tres pasos principales en el proceso de conversión de la lignocelulosa

- 1) **Pretratamiento:** mejora el acceso de las enzimas a la celulosa.
- 2) **Sacarificación enzimática:** uso de celulasas y ocasionalmente hemicelulasas.
- 3) **Fermentación:** de los azúcares liberados.

Métodos Físicos

Fragmentación mecánica y pirólisis

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

Métodos Fisicoquímicos

Explosión por vapor

Es uno de los pretratamientos más efectivos para las maderas duras y desechos agrícolas, pero menos eficiente para maderas suaves (Clark & Mackie, 1987). La biomasa es tratada con vapor saturado a una temperatura de 160–260°C (0.69–4.83 MPa) durante cierto tiempo causando reacciones de autohidrólisis, donde la hemicelulosa y lignina son convertidos en oligómeros solubles.

Explosión de fibra de amoníaco (AFEX)

Este pretratamiento mejora significativamente la tasa de sacarificación de diversos sustratos lignocelulósicos (Mes- Hartree *et al.*, 1988; Vlasenko *et al.*, 1997; Reshamwala *et al.*, 1995) los cuales son tratados con amoníaco a alta temperatura y presión. Es eficiente para sustratos con poca lignina, logrando hasta el 90% de la hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa (Holtzapple *et al.*, 1991) y no se producen inhibidores ni se requiere que el material lignocelulósico sea triturado.

El efecto de los métodos fisicoquímicos varía de acuerdo al material lignocelulósico, como se observa en la Tabla 2.

Métodos Químicos

Ozonólisis

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

Hidrólisis ácida

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

Hidrólisis alcalina

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

Deslignificación oxidativa

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

Proceso organosolvente

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

Tabla 2 Solubilización de los componentes lignocelulósicos después de pretratamientos fisicoquímicos

Proceso	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina
Explosión de vapor	Despolimerización	80-100% de	Poca o nula
Hidrólisis ácida	Despolimerización	Solubilización a	Poca o nula
Solventes orgánicos		Solubilización	Solubilización
Termólisis	Poca	80-100% de	
AFEX	Descristalización	0-60% de	Solubilización
Hidrólisis alcalina	Relajamiento	>50% de	Solubilización

Fuente: Lynd et al,2002

Métodos Biológicos

Los tratamientos biológicos son amigables con el ambiente e incrementan la accesibilidad al material celulósico favoreciendo una subsecuente hidrólisis y fermentación, sin embargo, es un proceso lento que limita su aplicación a nivel industrial (Hatakka, 1983). Se han llevado a cabo búsquedas de organismos con capacidades celulolíticas, como en el trabajo de Li *et al.* (2008) que evaluaron la capacidad de *Fusarium concolor* para deslignificar la paja de trigo en 5 días, y proponen que podría utilizarse en pretratamientos de materiales lignocelulósicos usados en la industria del biopulpeo y la bioconversión a etanol. Zhang *et al.* (2007) utilizaron *Coriolus versicolor* en el pretratamiento del bambú, observando una disminución en la cantidad de lignina y hemicelulosa y un aumento hasta del 37% en la tasa de sacarificación después del tratamiento. Schilling *et al.* (2009)

trataron restos de pino y abeto con hongos de podredumbre parda, *Gloeophyllum trabeum* y *Fomitopsis pinicola*, logrando un incremento en el proceso de sacarificación. Algunas bacterias celulolíticas utilizadas en pretratamientos biológicos son *Sphingomonas paucimobilis* y *Bacillus circulans* que incrementan la liberación de azúcares hasta en un 94% a partir de papel de oficina (Kurakake *et al.*, 2007). El descubrimiento de enzimas con propiedades importantes resulta muy valioso, Quiroz- Castañeda *et al.* (2009) reportaron la caracterización de la actividad celulolítica de los hongos *P. sanguineus* y *B. adusta* en paja de trigo, cuyas enzimas son capaces de tolerar condiciones elevadas de temperatura y funcionan en un amplio rango de pH, lo que los hace potenciales candidatos para ser utilizados en procesos industriales que requieren la hidrólisis de la celulosa.

1.3. DIGESTIÓN ANAEROBIA:

La digestión anaerobia es un proceso en el cual las bacterias convierten la materia orgánica en compuestos como el metano, dióxido de carbono, y nuevas células bacterianas. Estos eventos son comúnmente considerados como un proceso de tres etapas.

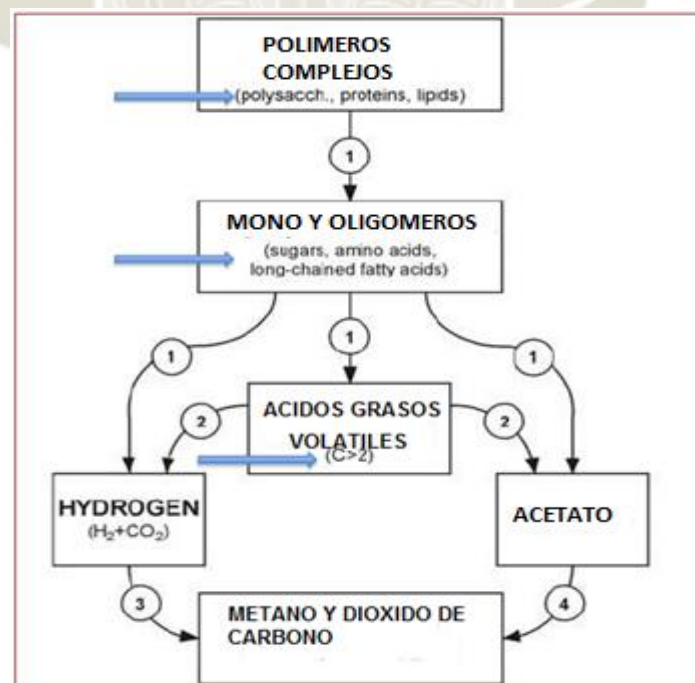


Figura 3 Etapas de la digestión anaerobia

Fuente: Ahring, 2003

Se necesitan diferentes consorcios de microorganismos con diferentes funciones en el proceso de digestión anaerobia.

Se han identificado tres grupos principales de microorganismos con diferentes funciones en el proceso global de degradación:

- Los microorganismos hidrolizantes y fermentadores
- Las bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno obligadas
- Dos grupos de Archaea metanogénica

Los microorganismos hidrolizantes y fermentadores:

Son responsables del ataque inicial a los polímeros y monómeros encontrados en el material de desecho y producen principalmente acetato e hidrógeno, pero también cantidades variables de ácidos grasos volátiles (VFA) tales como propionato y butirato, así como algunos alcoholes.

Las bacterias acetogénicas son productoras de hidrogeno y butirato en acetato e hidrógeno

Durante el proceso de la digestión anaerobia, existen diferentes procesos disruptivos que pueden detener el proceso, la velocidad de todo el proceso va a depender del proceso inicial, si este es lento todo el proceso será lento.

Durante el proceso de la Digestión anaerobia intervienen distintos tipos de bacterias, en la figura 5, se puede apreciar en qué etapa participa cada tipo, considerando que:

- 1 Bacterias hidrolíticas
- 2 Bacterias fermentativas
- 3 Bacterias acetogenicas
- 4 Bacterias metanogenicas del género Archaea
- 5 Bacterias reductoras del sulfato

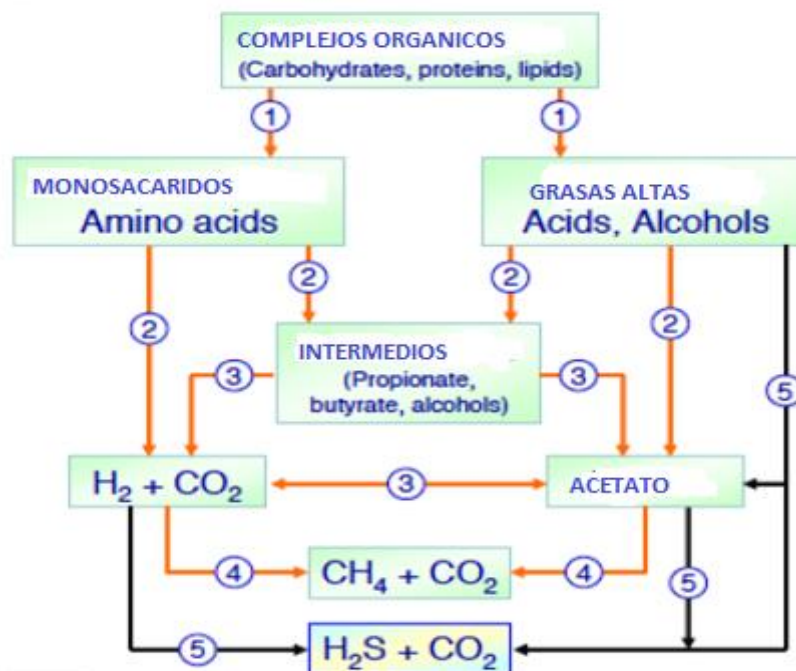


Figura 4 Participación de bacterias en el proceso de Digestión anaerobia

Fuente: Ahring, 2003

Con respecto a la participación de las enzimas en la digestión anaerobia:

- En la hidrólisis se tiene la presencia de exoenzimas que van a solubilizar las partículas y colides de los residuos orgánicos a nivel de la pared celular.
- En la acidogénesis actual las enzimas de tipo endoenzimas convirtiendo los compuestos orgánicos en alcoholes, acetato y dióxido de carbono.
- En la metanogénesis participan enzimas de tipo endoenzimas para la producción de metano y dióxido de carbono.

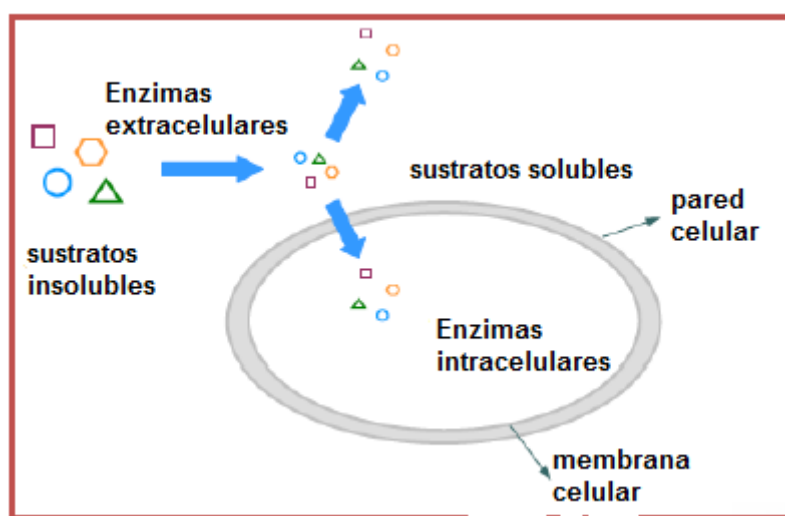


Figura 5 Participación de enzimas en el proceso de Digestión anaerobia

Fuente: Ahring, 2003

Los organismos hidrolíticos se adhieren a los sustratos secretando enzimas extracelulares que van a romper los enlaces de sustancias poliméricas para producir compuestos de cadena más corta, no obstante, la hidrolisis se puede ver limitada por la presencia de sustancias con alto contenido celulósico.

La hidrolisis es un proceso rápido, las reacciones biológicas pueden ser a nivel extracelular y a nivel intracelular.

Las reacciones que se dan son:



Figura 6 Reacciones de hidrolisis

Fuente: elaboración propia

1.3.1. TIPOS DE DIGESTIÓN ANAEROBIA

Existen dos tipos de digestión anaerobia:

- La digestión anaeróbica húmeda utiliza concentraciones de sólidos de hasta 15%.
- La digestión anaeróbica seca donde se puede trabajar con concentraciones de sólidos de hasta 40%.

1.3.2. SISTEMAS DE DIGESTIÓN ANAEROBIA DE ALTA EFICIENCIA

Los sistemas de digestión anaerobia de alta eficiencia pueden producir 3 veces más biogás que un biodigestor convencional, además de poder tratar residuos orgánicos difíciles de tratar en un biodigestor de una sola cámara o convencional, esto gracias a la separación del digestor en dos etapas, hidrolítica y metanogénica.

Tradicionalmente, las plantas de biogás cuentan con solo un digestor donde se realizan todos los procesos biológicos (figura 6). La mezcla de todos ellos en un solo depósito ocasiona que las distintas poblaciones bacterianas no se puedan desarrollar óptimamente.

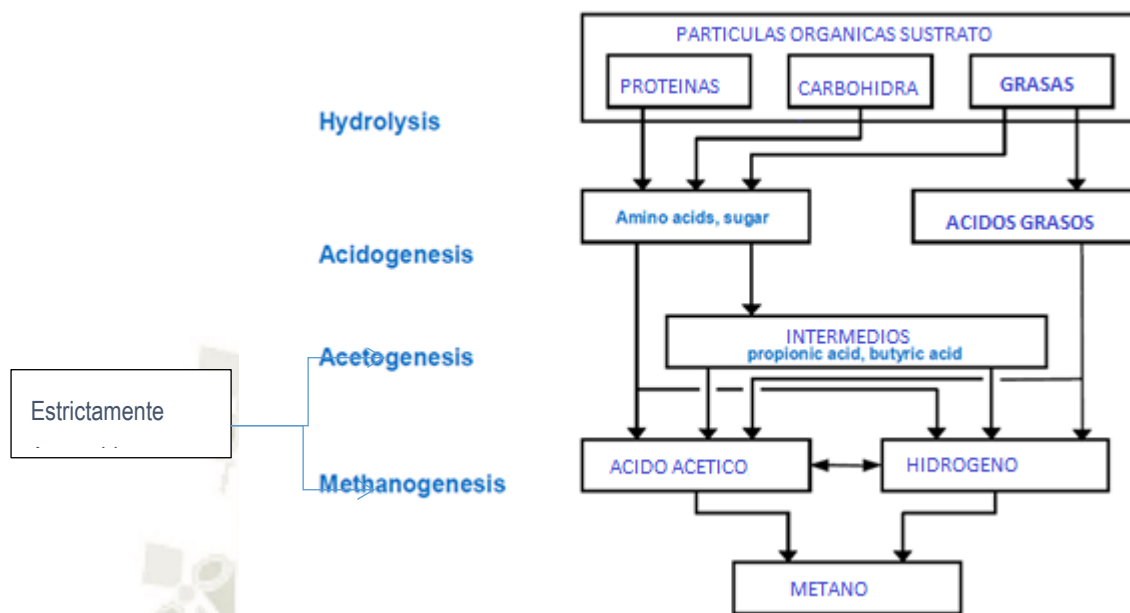


Figura 7 Procesos Biologicos en un Sistema Anaerobio

Fuente:Kepler Ingenieria 2014

La hidrólisis puede ser considerada como la etapa crítica del proceso de digestión. Las bacterias acidogénicas y acetogénicas requieren condiciones ambientales (temperatura, pH, etc.) distintas a las metanogénicas.

El Rottaler Modell es un sistema de digestión anaerobia donde se realiza la hidrólisis de forma separada y en un digestor independiente, que permite controlar esta etapa y mantenerla en las condiciones óptimas requeridas durante la misma, lo cual aumentará la eficiencia.

La tecnología Rotaller transforma los residuos orgánicos y biomasa en el biogás, electricidad, calor y abono orgánico, se adapta a diferentes necesidades de producción y disponibilidad de residuos orgánicos, y permite recuperara la inversión realizada en menos de un año de operación. (Danner 2014)

La siguiente (tabla 4) recoge las condiciones ambientales óptimas para los principales grupos bacterianos que participan en el proceso de formación de biogás. Aquí se puede ver cómo los requisitos ambientales de las bacterias de hidrólisis y acidogénesis por un lado, y de las bacterias metanogénicas por el otro, son completamente distintos. Con la mezcla en un solo reactor no se consiguen condiciones ideales para ninguna de las dos poblaciones bacterianas.

Tabla 3 Comparación de las necesidades de hábitat de bacterias de hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis

	Bacterias hidrolíticas y acidogénicas	Bacterias metanogénicas
Tiempo de reproducción	De 3 horas a 3 días	6 a 14 días
Temperatura óptima	30 a 65 oC, variable	37 oC ó 55 oC. ¡Completamente constante!
Valor pH	Mínimo hasta 3.5, máximo 7.8	Cerca de 7 a 8
Vitalidad	Robusta, resisten perturbaciones en la temperatura y el valor pH	Muy sensibles frente a cualquier perturbación en el valor pH y temperatura
Sensibilidad aerobia	Trabajan también ante la introducción de oxígeno cuando se produce en la carga del depósito de hidrólisis	Mueren con el contacto con el oxígeno
Producción de biogás	Poca, cantidad de metano 0 a 30%	Alta, cantidad de metano > 50%

Fuente: Danner 2014

1.4. SUSTRATOS Y SU CAPACIDAD DE PRODUCIR BIOGÁS

La capacidad de producir biogás difiere entre sustratos orgánicos. Por ello, la tasa de alimentación al biodigestor debe de ajustarse según la disponibilidad de sustratos.

Tabla 4 Producción de biogás de algunos sustratos, en planta rottaler ar.

SUSTRATO	TASA ALIMENTACION (kg/día)	MATERIA SECA (%)	SOLIDOS VOLATILES (%)	BIOGAS (m3/kg SV)	PRODUCCION BIOGAS (m3/día)
Purín de vacunos	1,030	8	80	0.91	60
Estiércol sólido vacunos	330	25	80	0.91	60
Pasto	470	21	91	0.67	60
Resíduos de mercado	400	25	90	0.67	60
Resíduos de hortalizas	400	25	90	0.67	60
Resíduos de pesquerías	270	30	90	0.82	60
Resíduos de restaurantes	185	40	98	0.83	60
Resíduos de parques y jardines	175	42	97	0.84	60
Resíduos de cocina	90	75	90	0.99	60
Torta de semillas aceite	65	92	97	1.03	60

Fuente: Peña, Salazar 2013

1.5. PARÁMETROS BÁSICOS DE PRODUCCIÓN

1.5.1. Temperatura

Una temperatura constante es crucial para muchos procesos biológicos. Las bacterias del biogás provienen del estómago del ganado, que son mamíferos y requieren una temperatura corporal constante de 37 °C.

1.5.2. Carga volumétrica en el digestor

La carga volumétrica indica la cantidad de sustancias orgánicas con las que el proceso biológico es alimentado. Mientras que para una instalación de biogás de un solo paso se estima una carga volumétrica óptima de 1,5 a 3,5 kg MOS/m³ día, la carga volumétrica soportada en el sistema RM es de más de 6 kg MOS/m³ día. El cálculo de la misma se realiza en base a la cantidad de “Materia prima en TM x Contenido de MS x Contenido MOS”. Con ello se determina la MOS en TM. Para obtener la carga volumétrica se divide la cantidad de MOS por el volumen del digestor.

Según Danner 2014 *¿Por qué puede el sistema RM funcionar con una carga volumétrica tan alta?* Las bacterias metanogénicas pueden metabolizar los ácidos grasos generados durante la hidrólisis sin ser molestadas por las bacterias hidrolíticas. Otra interrogante importante según Danner 2014 es: *¿Puede la biología funcionar de forma estable - con una carga volumétrica tan alta - durante un largo período de tiempo?* El factor determinante para la estabilidad de la microbiología del proceso es la relación existente entre los ácidos acéticos y propiónicos. Cuando se inhibe la metabolización de los ácidos acéticos a biogás, se retrasa la transformación de los ácidos propiónicos en ácido acético aumentando, por tanto, la concentración de ácidos grasos volátiles en el digestor. Es decir, hay más alimento para las bacterias de metano disponible que lo que pueden digerir. Para conseguir que la microbiología del proceso permanezca estable es necesario mantener una relación entre ácido propiónico y acético de 1:3. Si es menor - o incluso el contenido de ácido propiónico es mayor que el de ácido acético en el digestor- pueden producirse fenómenos de acidificación del reactor pudiendo provocar, incluso, la parada total del proceso. Si la relación es mayor que 1:3, entonces se podrá seguir con la alimentación.

Aunque la carga volumétrica es superior a 6 kg MOS/m³*día, la relación entre ácido propiónico y acético se encuentra cerca de 1:10. De esta forma se evita una sobrealimentación a las bacterias metanogénicas, a pesar de introducir una carga volumétrica tan alta.

1.5.3. Tasa de degradación y velocidad de transformación biológica

La velocidad de los procesos biológicos es, en la práctica, difícil de determinar.

Con ello se demuestra claramente el alto rendimiento de la biología de digestión.

1.5.4. Tiempo de permanencia en el digestor

Debido a la alta tasa de degradación en el digestor, el tiempo de permanencia de los substratos en el digestor se reduce. El tiempo de permanencia es un valor de cálculo, que nos indica el tiempo medio de permanencia de los substratos en el sistema. Las plantas de biogás de una sola etapa, presentan tiempos de permanencia de 40 a 100 días, necesarios para optimizar la tasa de degradación y de producción de gas. En el sistema de producción de biogás de alto rendimiento RM se calcula con un tiempo de permanencia de unos 10 días.

1.6. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

El problema es el reducido conocimiento en pretratamiento termomecánico de residuos agrícolas fibrosos, para ser empleados en digestión anaeróbica y su producción en biogás, En Arequipa disponemos de abundantes residuos agrícolas (1 600 000 TM/año), los cuales se emplean muy poco en biodigestores húmedos debido a que son difíciles de manipular, forman natas y la descomposición de su principal componente, la celulosa, es difícil. El preprocesamiento termo-mecánico, permite biodigerir sustratos sólidos como rastrojo de cultivos, plumas de pollo, residuos de poda, pajas, etc.

En termohidrolisis las temperaturas pueden llegar a 240°C, incrementando el grado de cristalinidad de la celulosa. Se ha probado que la digestibilidad es inversamente proporcional a la cristalinidad en paja de trigo (Fan et al., 1980). Si la temperatura o presión son muy altas, las condiciones ácidas pueden catalizar una reacción donde la xilosa es degradada a glucosa, la cual luego puede ser degradada a furfural o hydroxymethylfurfural, inhibidores de la digestión anaerobia. En consecuencia, la temperatura necesita ser alta para liberar la celulosa de la lignina, pero no muy alta. El vapor penetra la lignocelulosa por difusión causada por la alta presión. Esta agua se evapora instantáneamente cuando la presión se reduce en forma rápida. Al evaporarse, se expande y presiona contra las paredes celulares creando una fuerza de corte en las estructuras lignocelulósicas, rotura de las paredes celulares y apertura de la célula a las bacterias. El tiempo de retención está relacionado con la hidrolización de la hemicelulosa por ácidos orgánicos. Temperaturas de 180-200°C y tiempos de 10-15 minutos son óptimos para incrementar la productividad de biogás en la

mayoría de pajas (Bauer et al. 2009, 2010; Chen et al. ,2005). Otro tratamiento es la extrusión que aplasta el sustrato ocasionando una desfibrilación de la lignocelulosa, que incrementa el área accesible del sustrato. El área accesible está directamente correlacionada a la hidrólisis enzimática (Grethlein, 1985).



CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1.1. Lugar de ejecución

El proyecto se realizó en las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María y en los laboratorios del Instituto de Investigación y Desarrollo para el Sur.

2.1.2. Ubicación temporal

La investigación se llevó a cabo en laboratorio durante los meses de abril a agosto del 2017, y el procesamiento de datos y redacción del primer borrador de agosto 2017 a setiembre 2018.

2.2. MATERIALES

2.2.1. Material biológico

Materia Prima

Para evaluar la termohidrolisis por explosión al vapor se usó biomasa residual de broza de paprika de la Irrigación el Pedregal Majes y para la broza de uva se utilizó biomasa del Fundo de la Universidad Católica de la Irrigación.

Para la fermentación anaerobia

Se utilizó un inóculo proveniente de la planta HPTC-RM de doble cámara de la Universidad Católica de Santa María ubicada en el Fundo de la Irrigación el Pedregal, este funcionara como la fuente de microorganismos (hidrolíticos, acidogénico, acetogénicos y metanogénicos).

2.2.2. Material de laboratorio

Material de vidrio y otros

- Frascos graduados de tapa rosca (500ml)
- Placas Petri
- Accesorios de bronce
- Beakert de 500ml
- Bisturi
- Porta y cubreobjetos
- Tecnoport
- Fenoltaleina
- Glicerina

Equipos

- Termohidrolizador (prototipo)
- Compresora
- Microscopio óptico 100 X inmersión.
- Sistema Medpost 2015
- Baño María

2.3. MÉTODOS

2.3.1. Pretratamiento de broza de uva

Para determinar el efecto de la temperatura y presión de termohidrolisis, sobre la desfibrilación de residuos de poda de uva, se utilizó un prototipo de termohidrolizador diseñado con un proyecto de la Universidad Católica de Santa María, de 10 litros de capacidad, con control de temperatura en el rango 0 a 200 °C y de presión en el rango 0 a 5 MPa.

Se termohidrolizo la biomasa de rastrojo de uva. Para ello se cargó el reactor con 200gr de material seco cortados en un tamaño de 10mm aproximadamente, los tratamientos a aplicar son 3 temperaturas en el sustrato: 60, 80 y 100 °C, combinados (experimento factorial) con 3 presiones: 1.0, 2.0 y 3.0 MPa, por un tiempo de 15 minutos.

Luego de la termohidrolización, se determinó el grado de desfibrilación del material a través de la ruptura de las paredes celulares de las células fibrosas. Esta rotura se debe al cambio brusco de temperatura (fenómeno conocido como “explosión de vapor húmedo”). Para la medición, se realizó el método de tinción de cultivo en monocapa, en una muestra al azar de 100 células. También se tomó el porcentaje de células por campo total. Se utilizará la NTP 611: Agentes biológicos: análisis de las muestras por recuento en microscopia óptica.

2.3.2. Pretratamiento de broza de paprika

Para determinar el efecto de la temperatura y presión de termohidrolisis, sobre la desfibrilación de residuos de poda de paprika, se utilizó un prototipo de termohidrolizador diseñado con un proyecto de la Universidad Católica de Santa María, de 10 litros de capacidad, con control de temperatura en el rango 0 a 200 °C y de presión en el rango 0 a 5 MPa.

Se termohidrolizo rastrojo de paprika. Para ello se cargará el reactor con 200gr de material seco, cortados en un tamaño de 10mm aproximadamente los tratamientos a aplicar son 3 temperaturas en el sustrato: 60, 80 y 100 °C, combinados (experimento factorial) con 3 presiones: 1.0, 2.0 y 3.0 MPa, por un tiempo de 15 minutos. Luego de la termohidrolización, se determinará el grado de desfibrilación del material a través de la ruptura de las paredes celulares de las células fibrosas. Esta rotura se debe al cambio brusco de temperatura (fenómeno conocido como “explosión de vapor húmedo”). Para la medición, se realizó el método de tinción de cultivo en monocapa, en una muestra al azar de 100 células. También se tomó el porcentaje de células por campo total. Se utilizará la NTP 611: Agentes biológicos: análisis de las muestras por recuento en microscopia óptica.

2.3.3. Digestión anaerobia de brozas

Para la evaluación de la digestión anaerobia se tomaron en cuenta los mejores valores de termohidrolizado del ensayo anterior, seleccionando los valores óptimos de temperatura y presión de termohidrólisis determinados, para cada uno de los 2 residuos agrícolas fibrosos.

Los pasos a seguir fueron:

Obtención del lodo de siembra (LS) y efluente recirculante (ER)

Se utilizó bidones de agua de 7 litros para la recolección del lodo procedente de la planta experimental de biogás HPTC-RM de la UCSM el LS y el ER, teniendo cuidado especial de no permitir el ingreso de oxígeno a fin de evitar la mortandad microbiana. en bidones de 8 litros, durante su recolección se evitó el contacto con el oxígeno del aire.

Se transportó el LS obtenido de la planta RM-HPTC de la UCSM al laboratorio de investigación 403 Pabellon F, allí se procedió a un proceso de homogenización y vertidos en frascos de 500ml adaptados para la fermentación Batch (Batch Lab), propuesto por la norma técnica alemana VDI 4630, se mantuvo a una temperatura de 37 °C para reactivar la actividad metanogénica en un baño María digital, cada 3 días se eliminó el biogás producido hasta expulsarlo por completo, esto nos indicó que el material orgánico aún presente fue completamente degradado, y estaba listo para ser usado en los ensayos con la broza pretratada.

Carga de Reactores en sistema Batch Lab

Se utilizó el contenido de sustrato al 10% el cual es recomendado por el manual PVDI-4630 (2006), para ello se hizo la caracterización físico química de las brozas para determinar los parámetros de Sólidos Totales (ST) en base a porcentaje de Masa Fresca (%MF), Sólidos Volátiles (SV) en base a porcentaje de Sólidos Totales (%ST), SV en base a porcentaje %MF, Humedad (H) en %MF, cenizas en base a porcentaje de Sólidos Totales (%ST), también se caracterizó los compuestos elementales tales como Nitrógeno (N) y Carbono (C) ambos en base a %ST para determinar la relación entre el C:N, y Ph.

Se realizó el armado del sistema en Bach lab donde el contenido volumétrico fue de 400ml a los cuales se les agregó una carga volumétrica de sustrato hidrolizado diferenciadamente por cada broza con 3 repeticiones a una temperatura controlada de 35 °C en frascos de 500mml, cargando 400mml de lodo activado

El tiempo de residencia hidráulica fue de 21 días, realizando mediciones cada 7 días de la producción de biogás y metano para ello se utilizó el analizador de gases electroquímico Severin Multitec 540, con capacidad de analizar CH₄, CO₂ y H₂S.

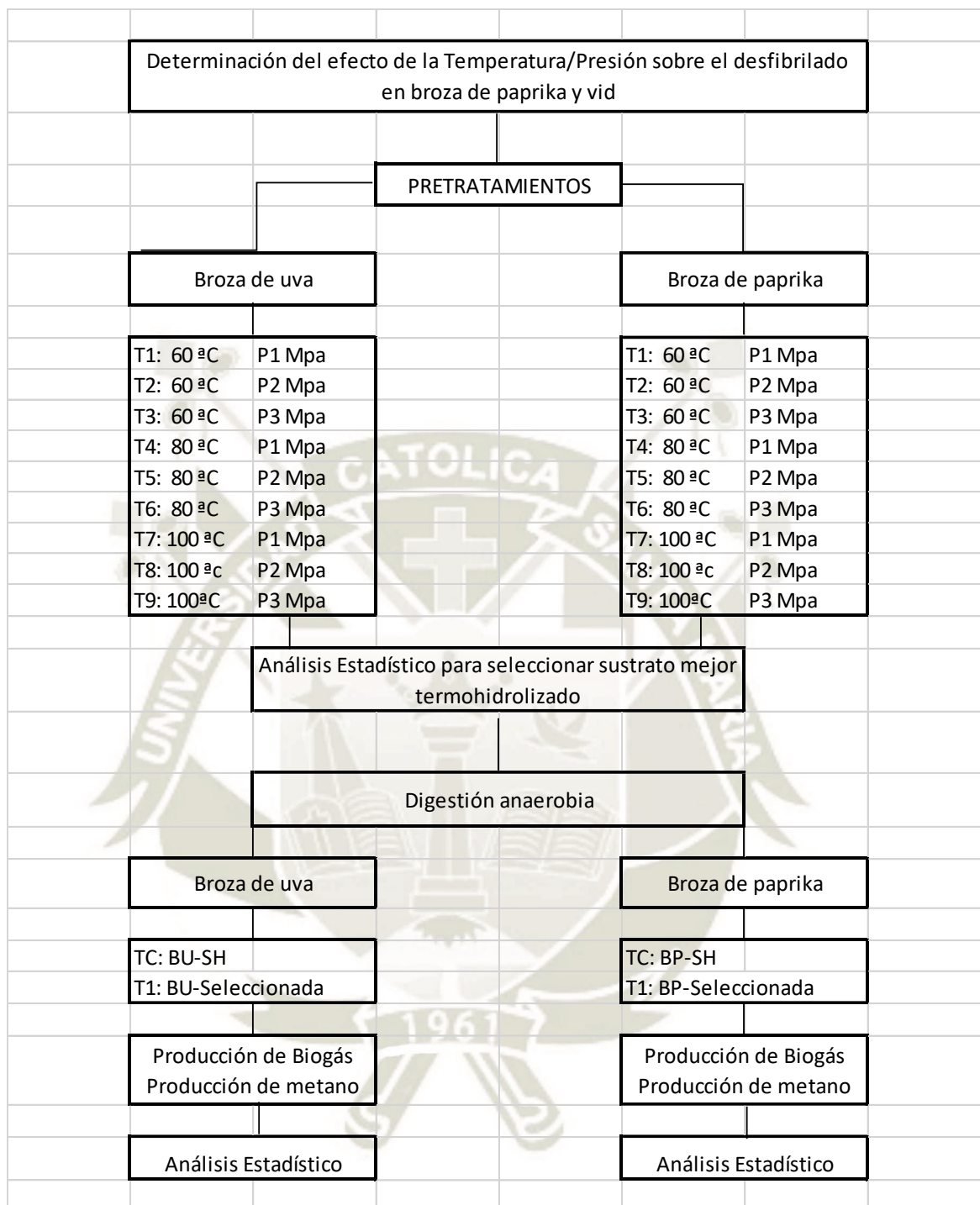


Figura 8 Esquema de ensayos

Fuente: elaboración propia

2.4. Diseño Experimental

Unidades de estudio:

Las Unidades de estudio se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 5 Unidades de estudio en el termohidrolizador

Uva	T1= 60°C- P1MPa	T4 = 80°C- P1MPa	T7 =100°C- P1MPa
	T2= 60°C- P2MPa	T5 = 80°C- P2MPa	T8 =100°C- P2MPa
	T3= 60°C- P3MPa	T6 = 80°C- P3MPa	T9= 100°C- P3MPa
Paprika	T1= 60°C- P1MPa	T4 = 80°C- P1MPa	T7 =100°C- P1MPa
	T2= 60°C- P2MPa	T5 = 80°C- P2MPa	T8 =100°C- P2MPa
	T3= 60°C- P3MPa	T6 = 80°C- P3MPa	T9= 100°C- P3MPa

En el sistema de biodigestor de alta eficiencia:

Factor	Tratamiento
Pretratamiento	Broza de paprika= T1
	Residuo de poda de uva =T2
	Control de paprika
	Control de broza de uva

Fuente: elaboración propia

Tabla 6 Efecto de la T/P sobre el desfibrilado de residuos de podas de uva y paprika y su productividad en un biodigestor de alta eficiencia

EFECTO DE LA T°/P SOBRE EL DESFIBRILADO DE RESIDUOS DE PODAS DE UVA Y PAPRIKA Y SU PRODUCTIVIDAD EN UN BIODIGESTOR DE ALTA EFICIENCIA.					
TIPO DE VARIABLE	VARIABLE	INDICADOR	SUB INDICADOR	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Independiente	T°	Desfibrilado de paprika	60°C	Termohidrolisis	Termohidrolizador
			80°C		
			100°C		
		Desfibrilado de broza de uva	60°C		
			80°C		
			100°C		
	Presión	Desfibrilado de paprika	1MPa		
			2MPa		
			3 Mpa		
Desfibrilado de broza de uva		1MPa			
		2MPa			
		3 Mpa			
Dependiente		Producción de biogás de broza de uva pretratada	%metano	Medición directa	Medidor de gases electroquímico Severin Multitec 540
		Productividad de biogás de broza depaprika pretratada			
		Productividad de Uva pretratada			

Fuente: elaboración propia

CAPITULO III

3. RESULTADOS

3.1. Evaluación de la Termohidrólisis de vid (*Vitis vinifera*) respecto a número de células rupturadas

La siguiente tabla se muestra las variables independientes, temperatura y presión, empleadas para la evaluación de la termohidrolisis por efecto de la explosión de vapor sobre la ruptura de la pared celular de células de tallo en vid, contabilizadas por el método de tinción de cultivo por monocapa. Los niveles ensayados fueron para temperatura: 60, 80 y 100 °C, y para presión; 2, 4 y 6 bares.

Tabla 7 Variables y niveles para la evaluación del efecto de la termohidrólisis sobre células del tallo de la vid (*Vitis vinifera*)

VARIABLE	Niveles de la variable		
	-1	0	1
Temperatura (A)	60	80	100
Presión (B)	1	2	3

Donde: A: Temperatura en °C y B: Presión en Bar

3.2. Resultados obtenidos de termohidrolisis de vid (*Vitis vinifera*):

En la Tabla N°8, se muestra el arreglo factorial n los resultados obtenidos en el proceso de termohidrolisis con un mínimo de células rupturadas en número de 10 y un máximo de 68, sobre un total de 100 por campo, así mismo para efecto de la estadística se ha codificado los valores tanto de presión como temperatura, siendo el valor -1 equivalente a 60 °C, 0 equivalente a 80 °C y 1 es equivalente a 100 °C, de igual modo respecto a Presión -1 equivalente a 1 bar, 0 equivalente a 2 bar y 1 equivalente a 3 bar.

Tabla 8 Resultados obtenidos para el proceso de termo hidrolizado de residuos de la vid.

REPETIC IÓN	VARIABLES REALES		VARIABLES CODIFICADAS		RESPUESTAS	
	Temperatur a	Presión	A	B	Número de células	%
1	60	1	-1	-1	25	15
1	80	1	0	-1	18	5
1	100	1	1	-1	70	40
1	60	2	-1	0	40	25
1	80	2	0	0	37	25
1	100	2	1	0	60	28
1	60	3	-1	1	34	17
1	80	3	0	1	38	26
1	100	3	1	1	39	25
2	60	1	-1	-1	10	10
2	80	1	0	-1	24	10
2	100	1	1	-1	55	26
2	60	2	-1	0	50	30
2	80	2	0	0	28	15
2	100	2	1	0	68	30
2	60	3	-1	1	36	17
2	80	3	0	1	35	25
2	100	3	1	1	28	16
3	60	1	-1	-1	15	20
3	80	1	0	-1	35	15
3	100	1	1	-1	60	28
3	60	2	-1	0	36	23
3	80	2	0	0	15	10
3	100	2	1	0	41	27
3	60	3	-1	1	42	25
3	80	3	0	1	30	15
3	100	3	1	1	45	23

Donde: A: Temperatura en °C y B: Presión en Bar

Fuente: elaboración propia

3.3. Diagrama de Pareto respecto a resultados de termohidrolisis de vid vid (*Vitis vinifera*)

En la Figura N°9 correspondiente al diagrama de Pareto se puede observar en orden decreciente los efectos de los factores estudiados sobre el número de células rupturadas en el proceso de la termohidrólisis de la vid, teniendo un efecto positivo (Mayor ruptura celular) el factor temperatura y existiendo una interacción temperatura-presión con efecto negativo (menor número de células rupturadas). Sin embargo, para poder comprobar dichos comportamientos fue necesario realizar un análisis de varianza factorial mostrada en la Tabla N°2.

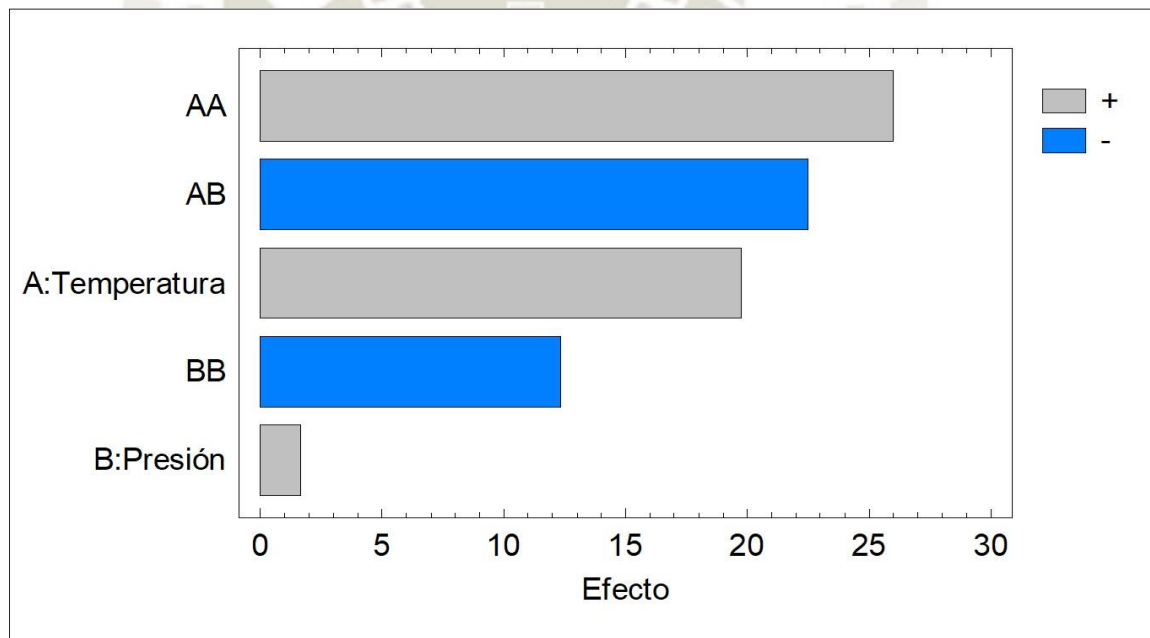


Figura 9. Diagrama de Pareto para efectos en el número de células en el proceso de termohidrólisis de la vid
Donde: AA: Relación Temperatura con Temperatura en °C y BB: Relación Presión con Presión en Bar
AB: Relación temperatura presión A: Temperatura en °C y B: Presión en Bar

Fuente: elaboración propia

3.4. Efectos principales sobre el número de células rupturadas por termohidrolisis de vid (*Vitis vinifera*)

Por otra parte, para continuar el entendimiento de la influencia de los factores temperatura y presión sobre la ruptura celular de la vid, se muestra la gráfica de efectos principales de los factores temperatura y presión (Figura 10), en la cual se puede observar que el factor temperatura (A) presenta un comportamiento de tipo

cuadrático y con un mayor cambio en la respuesta, es así, que cuando se trabaja con temperaturas de 60 °C se obtiene un aproximado de 36 celular rupturadas y cuando la temperatura es elevada a 100°C las células rupturadas oscilan en un número de 55 células. El factor presión por el contrario no genera un cambio apreciable en el número de células rupturadas cuando se trabaja a 60 y 100 °C , obteniéndose 26 y 28 células respectivamente; cabe resaltar que a 80°C el número es de 33 células rupturadas aproximadamente.

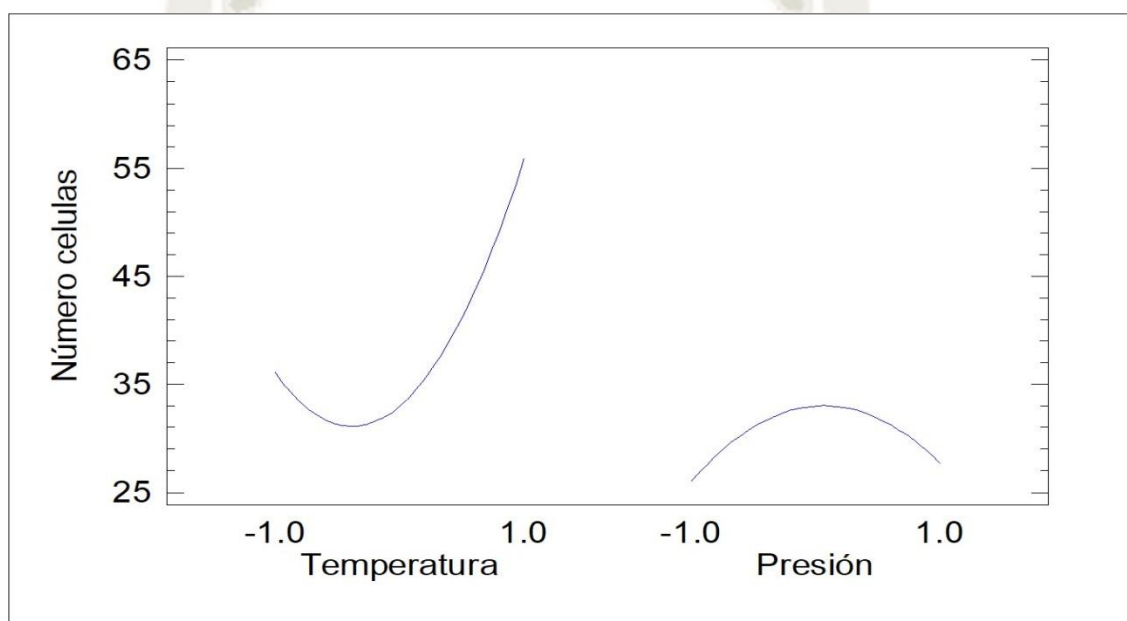


Figura 10 Efectos principales para efectos en el número de células en el proceso de termohidrólisis de la vid
Donde: Eje X referido al número de células rupturadas, Eje Y: referido a Temperatura y Presión

Fuente: elaboración propia

3.5. Interacción de temperatura y presión de la termohidrólisis de Vid (*Vitis vinifera*)

Así mismo, la Figura 11 evidencia la interacción temperatura presión puesto que cuando se trabaja a presión de 2 bares y la temperatura es variada de 60 hasta 100 °C se obtiene valores de 18 y 60 células rupturadas aproximadamente; variando este comportamiento cuando se trabaja a presión de 3 bares en la cual el número de células rupturadas obtenidas es de 42, 28 y 39 a las temperaturas de 60, 80 y 100 °C respectivamente.

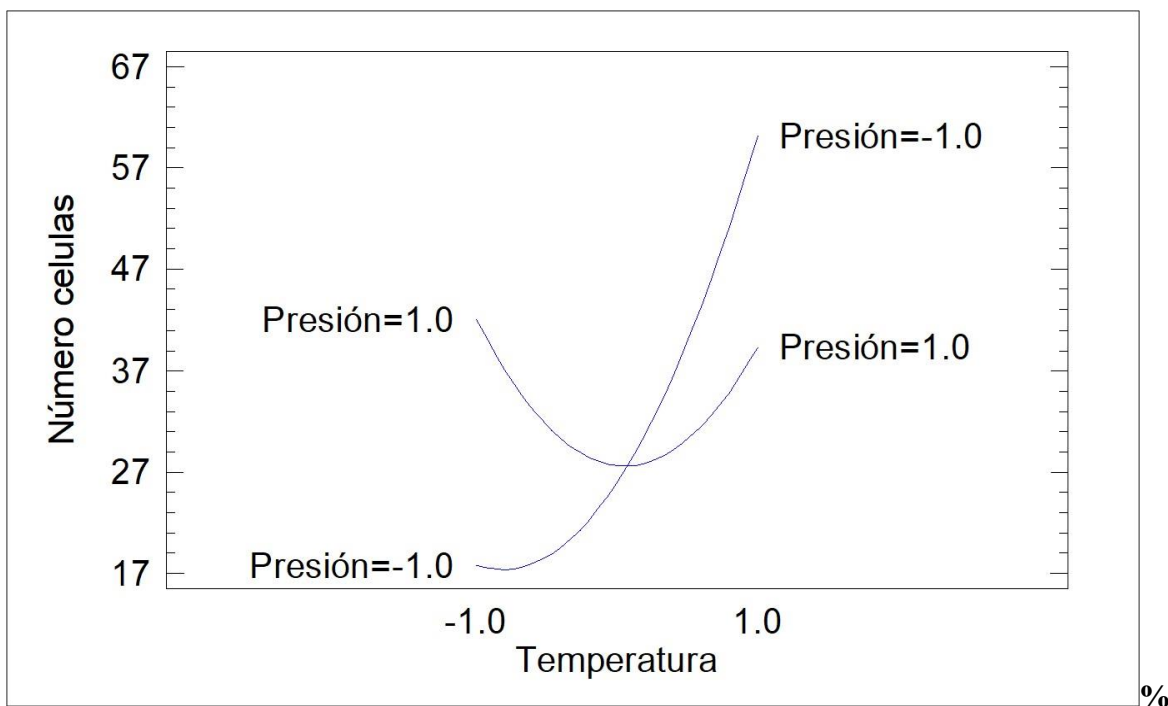


Figura 11. Interacciones de temperatura y presión sobre el número de células en el proceso de termohidrólisis de la vid

Donde: Eje X referido al número de células rupturadas, Eje Y: referido a Temperatura y Presión

Fuente: elaboración propia

3.6. Análisis de varianza de la termohidrólisis de vid (*Vitis vinifera*)

Para poder identificar cuál de los factores estudiados fue estadísticamente significativo sobre el número de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis de la vid, se procedió a realizar un análisis de varianza de tipo factorial (Tabla N°3) en el cual se identificó que el factor temperatura fue estadísticamente significativo con un 95% de confianza, así como también su efecto cuadrático y la interacción de temperatura–presión por mostrar valores-p menores a 0.05. El efecto de la presión, sin embargo, presentó un valor-p de 0.7110 con lo cual se puede concluir que tiene un efecto no significativo sobre el número de células rupturadas, es decir su variación entre 1, 2 y 3 bares no generan un cambio significativo en la ruptura celular pudiendo ser fijado en 2 bares por consideraciones técnico-económicas.

Con los datos reportados se generó una ecuación de regresión (Ecuación 1), la cual presenta un valor de R^2 de 73.41% y un error estándar de 9.39867, dicha ecuación permite generar un modelo matemático que permita ajustar y modelar el comportamiento de la termohidrólisis (**Ecuación 1**)

Tabla 9 Análisis de varianza para número de células observadas en el proceso de termohidrólisis de la VID

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	1760.22	1	1760.22	19.93	0.0003
B:Presión	12.5	1	12.5	0.14	0.7110
AA	1014.0	1	1014.0	11.48	0.0031
AB	1518.75	1	1518.75	17.19	0.0005
BB	228.167	1	228.167	2.58	0.1245
bloques	100.667	2	50.3333	0.57	0.5750
Error total	1678.36	19	88.3348		

Donde: AA: *Interacción entre temperaturas*, BB: *Interacción entre presiones*

Fuente: elaboración propia

$$\text{Número células} = 33.0 + 9.88889 * \text{Temperatura} + 0.833333 * \text{Presión} + 13.0 * \text{Temperatura}^2 - 11.25 * \text{Temperatura} * \text{Presión} - 6.16667 * \text{Presión}^2 \quad (\text{Ecuación 1})$$

3.7. Modelo Matemático que simula el comportamiento de la termohidrólisis de vid (*Vitis vinifera*)

En la Figura 12, se muestra la superficie de respuesta construida a partir del modelo matemático generado para el número de células de vid rupturadas mediante termohidrólisis, observando el comportamiento de cada variable en forma tridimensional. En el eje x se encuentra la variable temperatura, en el eje y la presión y en el eje z la respuesta evaluada como número de células rupturadas en porcentaje. La gráfica evidencia un plegamiento por efectos de la interacción temperatura-presión. Así mismo, se muestra una escala de colores que va desde una tonalidad azul hasta un rojo la cual evidencia el máximo encontrado, sin embargo, en la gráfica construida solo se identifican hasta regiones verdes. Dicha gráfica nos permitirá realizar predicciones y ploteos en valores de temperatura y presión comprendidos dentro del rango estudiado.

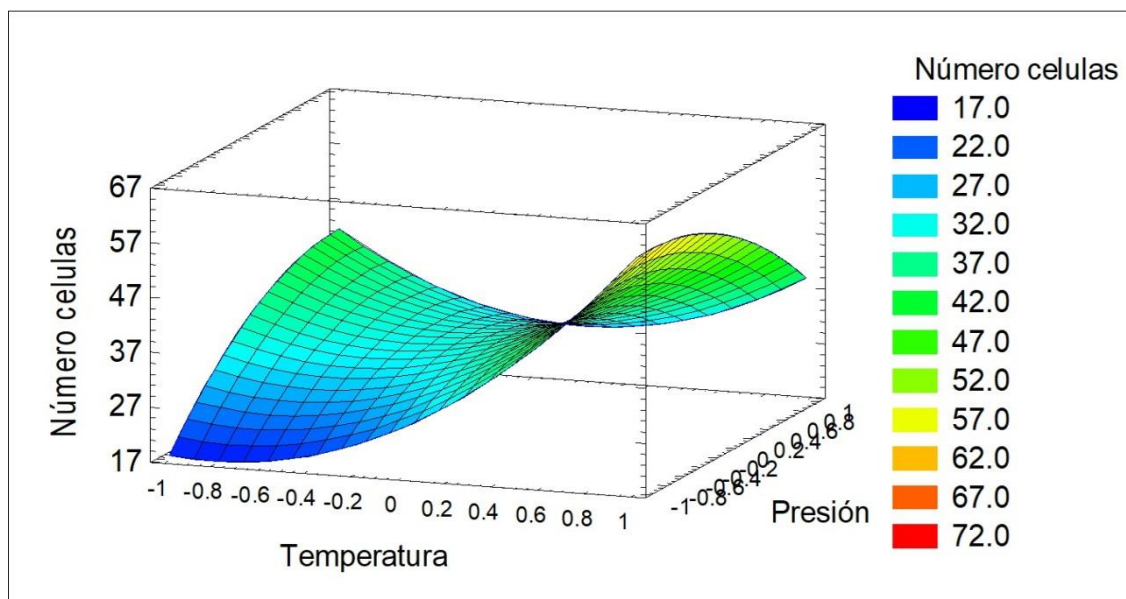


Figura 12 Superficie de respuesta para el número de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis

Donde: Eje X: es Temperatura, Y: es Presión.

Fuente: elaboración propia

3.8. Grafico de contornos del modelamiento matemático de la Termohidrolisis de vid (*Vitis vinifera*)

La Figura 13 muestra la gráfica de contornos de la superficie de respuesta mostrada anteriormente, y no es más que la vista superior de la misma. Como se observa se muestra en dos presentaciones en A) la correspondiente a regiones continuas y coloreadas que es exactamente la vista superior de la Figura N°4, y en B) se muestran los contornos pero marcados por regiones coloreadas dentro de las cuales se puede encontrar el mismo comportamiento de la respuesta número de células a diferentes combinaciones de temperatura y presión.

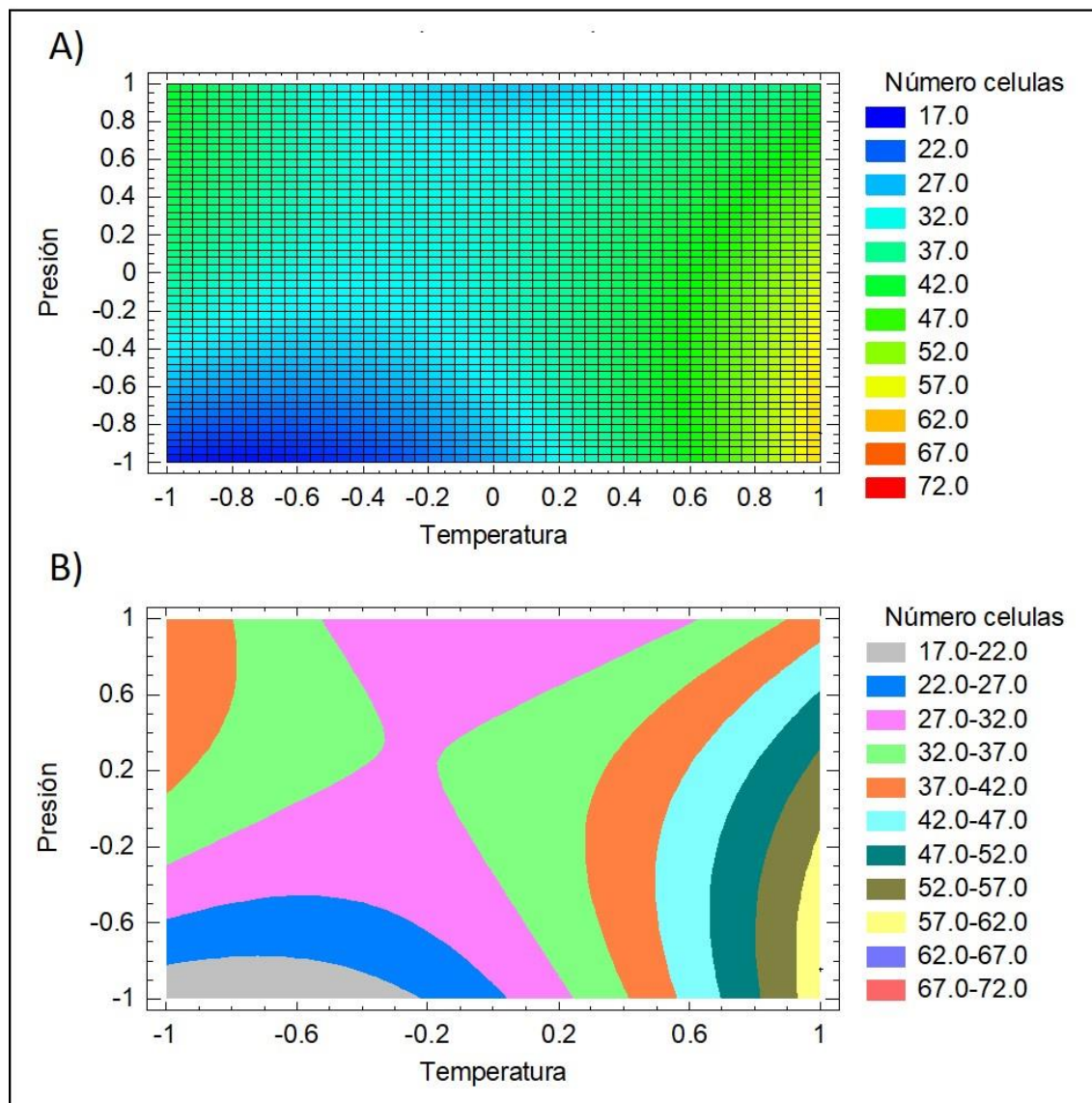


Figura 13 Gráfica de contornos para el número de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis. En A) Contornos de líneas continuas y en B) Contorno por regiones coloreadas

Donde: *Eje X: es Temperatura, Y: es Presión.*

Fuente: elaboración propia

3.9. Resultado del modelamiento para el óptimo de termohidrólisis de vid *Vitis vinifera*)

Finalmente, la optimización realizada (Tabla N°14) indicaría que es probable encontrar un valor máximo de 60 células rupturadas trabajando a temperaturas de 100°C y presiones de 2.3 bares.

Tabla 10 Optimización para número de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis de la VID

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo Codificado</i>	<i>Óptimo real</i>	<i>Número de células rupturadas</i>
Temperatura	-1.0	1.0	1.0	100 °C	60
Presión	-1.0	1.0	-0.844637	2.3 bar	

Donde: Eje -1 representa la menor temperatura y la menor presión, y 1 representa la mayor Temperatura y la mayor presión.

Fuente: elaboración propia

3.10. Termohidrolisis de vid respecto a porcentaje de células rupturadas

Dado que cómo el ajuste del modelo sale con 52.44% no se empleó para tomar decisiones, el resultado y la tabla se ven en anexo 2. Ahora según la tabla 5 los valores de sesgo estandarizado se encuentran dentro del rango de -2 a +2 lo cual es indicativo de una distribución normal de los datos. Así mismo para verificar la igualdad de varianzas se realizó la prueba de Levene's la cual presentó un valor-p de 0.9679 indicando con ello que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar con un 95% de confianza.

Para identificar la diferencia en el % de número de células rupturadas con los tratamientos realizados se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA) obteniendo un valor-p < 0.05 ($p < 0.001$) lo cual indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los promedios obtenidos para el % de células rupturadas De la termohidrólisis de la vid. (Tabla N° 10)

Tabla 11 Estadísticos descriptivos para % de células observadas en el proceso de termohidrólisis de la VID

Tratamiento	N	Promedio	Desviación Estándar	Sesgo Estandarizado
T1	3	16.67+/-7.17 ^b	2.8868	1.22474
T2	3	27.67+/-6.25 ^{ef}	2.5166	-0.41407
T3	3	18.00+/-4.30 ^{bc}	1.7321	1.22474
T4	3	10.67+/-2.87 ^a	1.1547	1.22474
T5	3	16.67+/-7.17 ^b	2.8868	1.22474
T6	3	23.67+/-7.99 ^{de}	3.2146	-1.09276
T7	3	29.67+/-11.74 ^f	4.7258	0.982621
T8	3	28.33+/-3.79 ^{ef}	1.5275	0.6613
T9	3	22.67+/-6.25 ^{cd}	2.5166	-0.41407

Donde: *T* está referido al número de tratamientos y *N* es el número de repeticiones

Fuente: elaboración propia

Según la tabla 11 los valores de sesgo estandarizado se encuentran dentro del rango de -2 a +2 lo cual es indicativo de una distribución normal de los datos. Así mismo para verificar la igualdad de varianzas se realizó la prueba de Levene's la cual presentó un valor-p de 0.9679 indicando con ello que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar con un 95% de confianza.

Para identificar la diferencia en el % de numero de células rupturadas con los tratamientos realizados se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA) obteniendo un valor-p < 0.05 (p<0.001) lo cual indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los promedios obtenidos para el % de células rupturadas De la termohidrólisis de la vid. (Tabla N° 12)

3.11. Análisis de varianza para el % de células rupturadas por termohidrólisis en vid (Vitis vinifera)

EL análisis de LSD Fisher mostró que el tratamiento T7 100°C. y 2 atmosferas, fue el que presento mayor % de células rupturadas con un promedio de 29.67 + - 11.74

Tabla 12 Análisis de varianza para % de células observadas en el proceso de termohidrólisis de la VID

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1001.33	8	125.167	16.41	0.0000
Intra grupos	137.333	18	7.62963		
Total (Corr.)	1138.67	26			

Donde: *Gl*: son los grados de libertad.

Fuente: elaboración propia

3.12. Resultados obtenidos de termohidrólisis de páprika (*Capsicum annuum*)

En la Tabla N^o 13, se muestra el arreglo factorial y los resultados obtenidos en el proceso de termohidrólisis con un mínimo de células rupturadas en número de 26 y un máximo de 86, sobre un total de 100 contadas por campo, así mismo para efecto de la estadística se ha codificado los valores tanto de presión como temperatura, siendo el valor -1 equivalente a 60  C, 0 equivalente a 80  C y 1 Equivalente a 100  C, de igual modo respecto a Presión -1 equivalente a 1 bar, 0 equivalente a 2 bar y 1 equivalente a 3 bar.

Tabla 13 Resultados obtenidos para el proceso de termo hidrolizado de residuos de la páprika.

REPETICIÓN	VARIABLES REALES		VARIABLES CODIFICADAS		RESPUESTAS	
	Temperatura	Presión	A	B	Número de células	%
1	60	1	-1	-1	30	28
1	80	1	0	-1	55	40
1	100	1	1	-1	60	41
1	60	2	-1	0	26	30
1	80	2	0	0	58	54
1	100	2	1	0	50	51
1	60	3	-1	1	30	28
1	80	3	0	1	55	36
1	100	3	1	1	80	70
2	60	1	-1	-1	32	30
2	80	1	0	-1	50	40
2	100	1	1	-1	40	36
2	60	2	-1	0	40	35
2	80	2	0	0	61	39
2	100	2	1	0	40	35
2	60	3	-1	1	48	36
2	80	3	0	1	65	46
2	100	3	1	1	78	69
3	60	1	-1	-1	35	31
3	80	1	0	-1	70	50
3	100	1	1	-1	77	40
3	60	2	-1	0	36	29
3	80	2	0	0	57	42
3	100	2	1	0	60	41
3	60	3	-1	1	45	38
3	80	3	0	1	68	47
3	100	3	1	1	86	75

Donde: A: Temperatura en C y B: Presión en Bar

Fuente: elaboración propia

3.13. Diagrama de Pareto respecto a resultados de termohidrólisis de paprika (*Capsicum annuum*)

En la Figura 6 correspondiente al diagrama de Pareto se puede observar en orden decreciente los efectos de los factores estudiados sobre el número de células observadas en el proceso de la termohidrólisis de la páprika.

Se puede observar que hay un efecto positivo el factor temperatura, la presión y la interacción de ambas, así mismo se observa que el comportamiento cuadrático de la temperatura es predominante sobre el número de células, dicho comportamiento se puede evidenciar con mayor claridad en la gráfica de efectos principales (Figura 14).

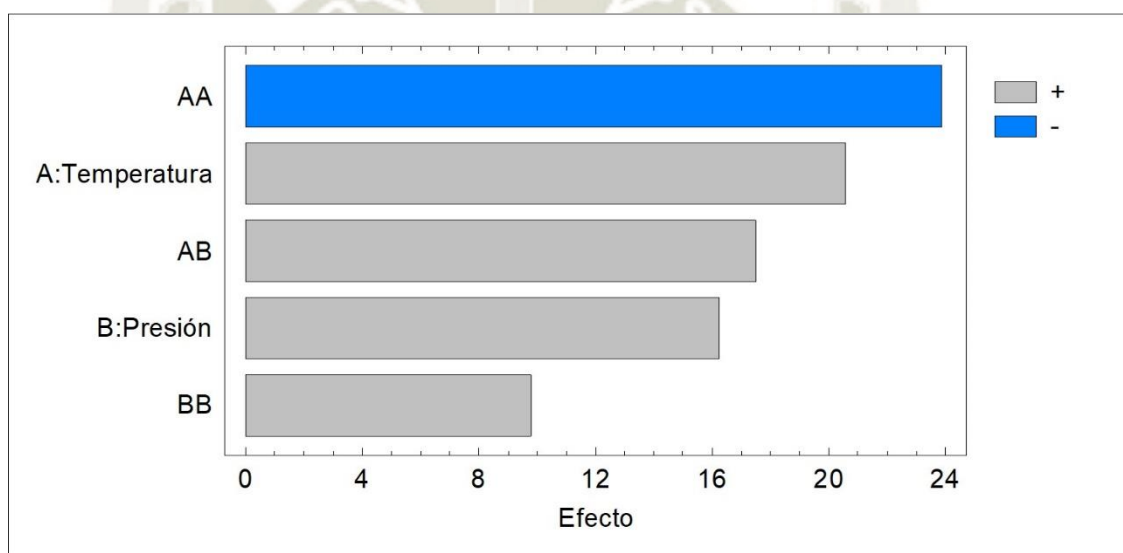


Figura 14 Diagrama de Pareto para número de células en la termohidrólisis de residuos de páprika
Donde: AA: Relación Temperatura con Temperatura en C y BB: Relación Presión con Presión en Bar
AB: Relación temperatura presión A: Temperatura en C y B: Presión en Bar

Fuente: elaboración propia

3.14. Efectos principales sobre el número de células rupturadas po termohidrólisis de paprika (*Capsicum annuum*)

En la Figura 15, se puede observar el efecto cuadrático de la variable temperatura, la cual permite alcanzar un máximo de 59 células a una temperatura aproximada de 80 C, número que después decae al pasar a una temperatura de 100 C. Este comportamiento es ideal para poder determinar valores óptimos de la variable en el proceso de termohidrólisis de la páprika. Por su parte el factor presión muestra una

ligera curvatura, sin embargo predomina el efecto lineal, mostrando que a mayor presión (3 Bares) obtiene un número de células de hasta 69.

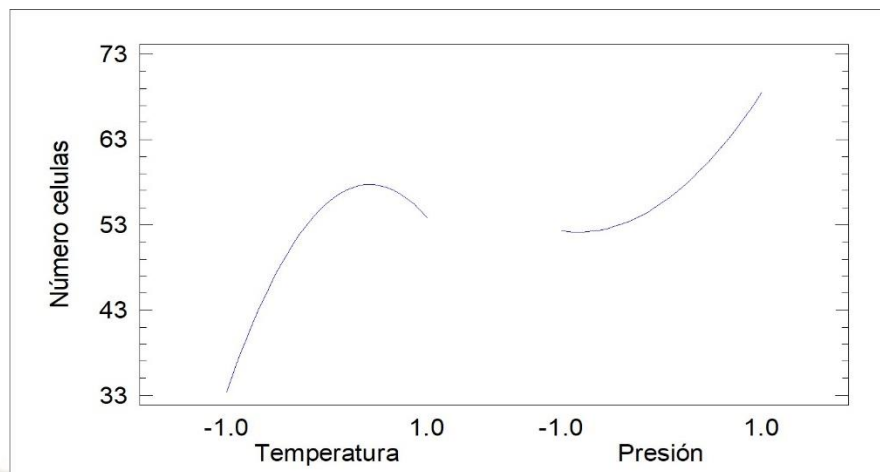


Figura 15 Efectos principales para el número de células en el proceso de termohidrólisis de la páprika
Donde: Eje X referido al número de células rupturadas, Eje Y: referido a Temperatura y Presión

Fuente: elaboración propia

3.15. Interacción de temperatura y Presión de la termohidrolisis de paprika (*Capsicum annuum*)

En la figura N 16 se muestra la interacción que existe entre las variables temperatura y presión, puesto que cuando se trabaja con presión de 1 atmosferas y a una temperatura de 60 C el número de células obtenido es de aproximadamente 40 células, cuando se mantiene la presión pero la temperatura se varía a 100 C el número de células obtenido es de aproximadamente 75. Por el contrario cuando se trabaja con presión de a temperatura 60 C ,se obtiene 38 células aproximadamente , muy cercano a las 50 células observadas con presión 2 y aun aumento de temperatura a 100 C. Por ello se puede observar que existe la interacción temperatura-presión, puesto que el número células varía según sea los niveles fijados para estas dos variables.

Por lo tanto, para ensayos de termohidrólisis de la páprika se recomienda más presión y más temperatura

Con el análisis de varianza respectivo, se puede confirmar lo observado en las figuras anteriormente mostradas, puesto que temperatura, presión, el efecto cuadrático de la temperatura y la interacción temperatura presión, fueron estadísticamente significativos con un 95 % de confianza.

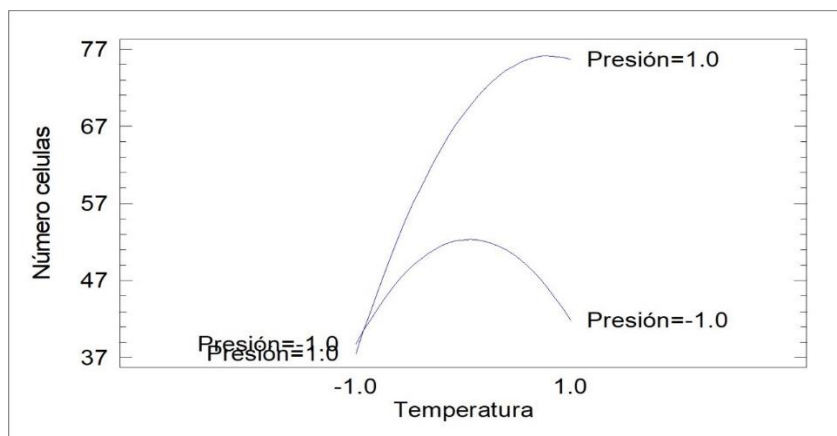


Figura 16 Interacciones de temperatura y presión sobre el número de células en el proceso de termohidrólisis de la páprika

Donde: Eje X referido al número de células rupturadas, Eje Y: referido a Temperatura y Presión

Fuente: elaboración propia

3.16. Análisis de varianza de la termohidrolisis de paprika (*Capsicum annuum*)

R-cuadrada = 66.6966 porciento, Error estándar del est. = 11.6343

Nota: Cómo no tenemos mucho ajuste en el modelo matemático no lo vamos a usar para predecir, solo usaremos el análisis factorial realizado en términos de efectos principales, interacciones y ANOVA para seleccionar las mejores condiciones del mayor número de células de páprika rupturadas. Conclusión más presión y más temperatura

Tabla 14 Análisis de varianza para número de células observadas en el proceso de termohidrólisis de la páprika

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	1752.96	1	1752.96	12.95	0.0021
B:Presión	1091.73	1	1091.73	8.07	0.0109
AA	832.457	1	832.457	6.15	0.0233
AB	815.609	1	815.609	6.03	0.0245
BB	139.523	1	139.523	1.03	0.3234
bloques	69.3033	2	34.6517	0.26	0.7769
Error total	2436.44	18	135.358		

R-cuadrada = 66.6966 porciento, Error estándar del est. = 11.6343

Fuente: elaboración propia

3.17. Termohidrolisis de paprika (*Capsicum annuum*) respecto a porcentaje de células rupturadas

En el diagrama de Pareto se observa que tanta temperatura, presión y la interacción de ambos factores presentan un efecto positivo sobre el % de células en la termohidrólisis de residuos de la páprika

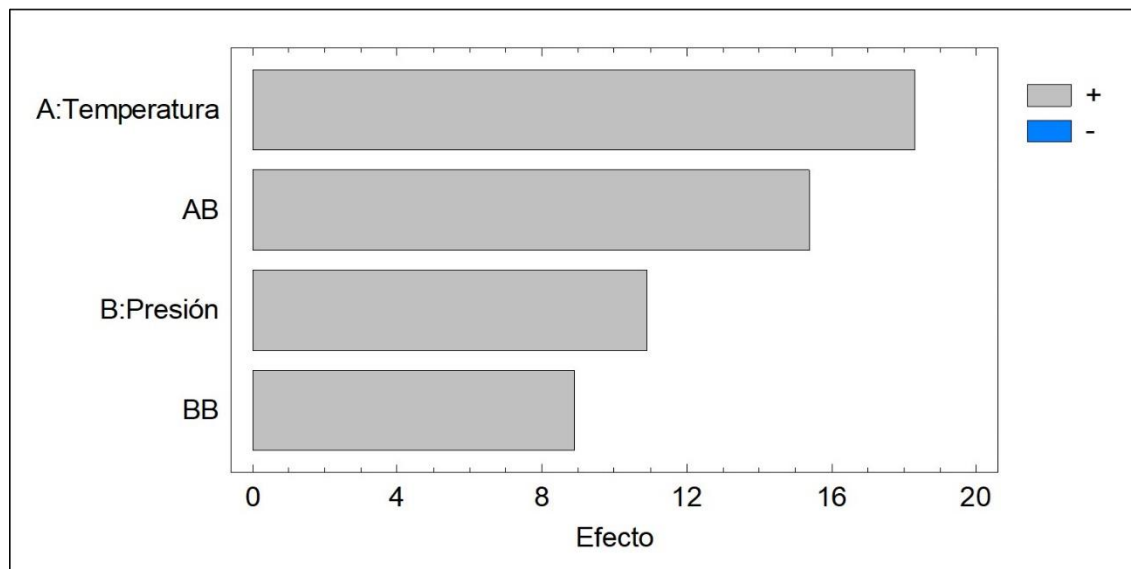


Figura 17 Diagrama de Pareto para % de células en la termohidrólisis de residuos de páprika
Donde: AA: Relación Temperatura con Temperatura en C y BB: Relación Presión con Presión en Bar
AB: Relación temperatura presión A: Temperatura en C y B: Presión en Bar

Fuente: elaboración propia

3.18. Efectos principales sobre el % de células rupturadas por termohidrolisis de paprika (*Capsicum annuum*)

Se observa que temperatura presenta un efecto lineal con un 30% de células al trabajar con 60 C y un máximo de 49% de células a 100 C. la presión presenta una curvatura, el % encontrado a 3 atmosferas. fue de 49%.

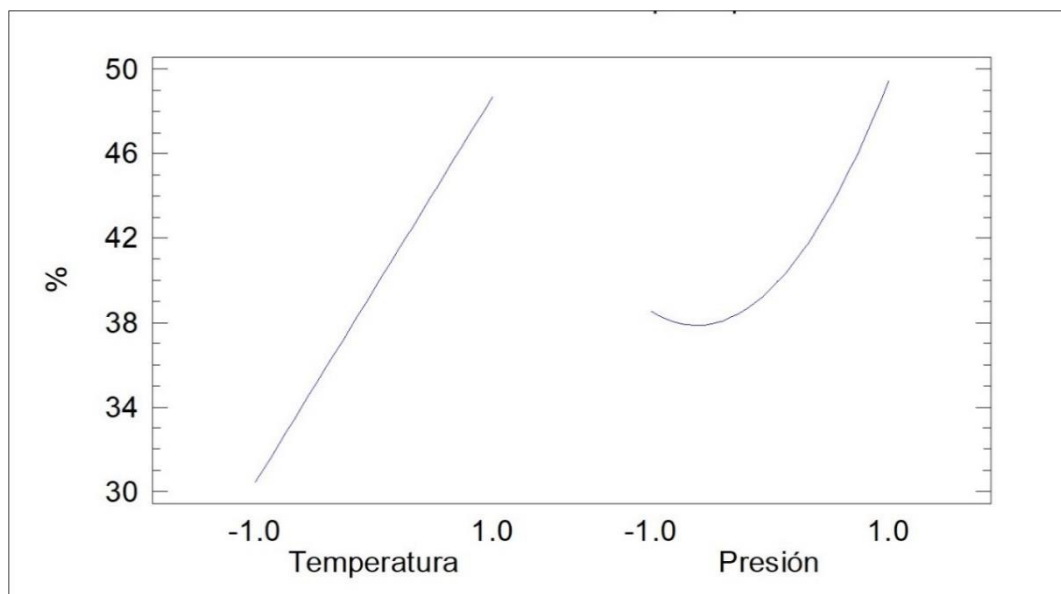


Figura 18 Efectos principales para el % de células en el proceso de termohidrólisis de la páprika
Donde: Eje X referido al número de células rupturadas, Eje Y: referido a Temperatura y Presión

Fuente: elaboración propia

3.19. Interacción de temperatura y Presión del % de células rupturadas por termohidrolisis de paprika (*Capsicum annuum*)

Se observa que existe una interacción entre las variables presión y temperatura, puesto que cuando se trabaja a presión de 2 atmosferas y 100  C se obtiene 40% de células, si embargo cuando se trabaja a 3 atmosferas. y 100  C el porcentaje obtenido es de 66 %. Por ello se recomendaria trabajar con mayor presión y mayor temperatura (si se quiere tener mayor % de células)

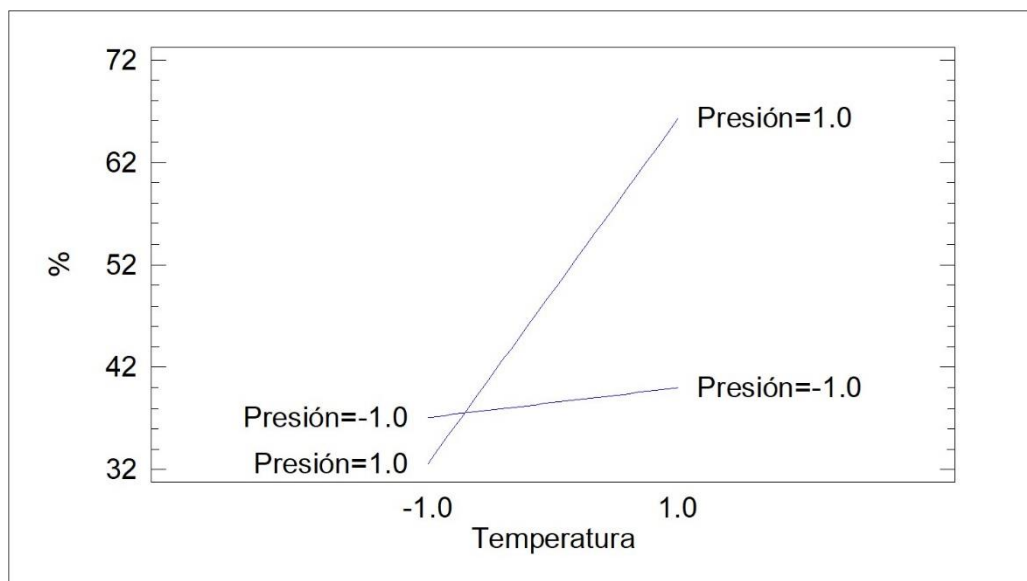


Figura 19 Interacciones de temperatura y presión sobre el % de células en el proceso de termohidrólisis de la páprika

Donde: Eje X referido al número de células rupturadas, Eje Y: referido a Temperatura y Presión

Fuente: elaboración propia

3.20. Análisis de varianza de la termohidrolisis de paprika (*Capsicum annuum*), para % de células rupturadas observadas

El Análisis de varianza generado, confirma que los factores temperatura, presión, el efecto cuadrático de presión y la interacción temperatura-presión, son estadísticamente significativas sobre el % de células rupturadas en la temrohidrlisis de la páprika

Tabla 15 Análisis de varianza para porcentaje de células observadas en el proceso de termohidrólisis de la páprika

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	1274.17	1	1274.17	22.03	0.0002
B:Presión	464.435	1	464.435	8.03	0.0110
AB	558.58	1	558.58	9.66	0.0061
BB	112.734	1	112.734	1.95	0.1797
bloques	46.0739	2	23.0369	0.40	0.6773
Error total	1041.27	18	57.8485		
Total (corr.)	3932.56	24			

Donde: AA: Interacción entre temperaturas, BB: Interacción entre presiones

Fuente: elaboración propia

El Análisis de varianza generado, confirma que los factores temperatura, presión, el efecto cuadrático de presión y la interacción temperatura-presión, son estadísticamente significativas sobre el % de células rupturadas en la termohidrólisis de la páprika

$$\% = 39.5556 + 9.14646 * \text{Temperatura} + 5.44722 * \text{Presi3n} + 7.69697 * \text{Temperatura} * \text{Presi3n} + 4.44167 * \text{Presi3n}^2$$

Ecuaci3n 2

3.21. Modelo Matemático que simula el comportamiento de la termohidrolisis de paprika (*Capsicum annuum*)

Así mismo se construy3 un modelo matemático (Ecuaci3n 2) para poder predecir el % de células obtenidas, el modelo presento un ajuste de 73.52% . Con dicha ecuaci3n se gener3 la gráfica de superficie de respuesta (Figura N 20) en la cual se observa una malla con intensidades de colores correspondientes al % de células encontradas según la combinaci3n deseada de temperatura presi3n.

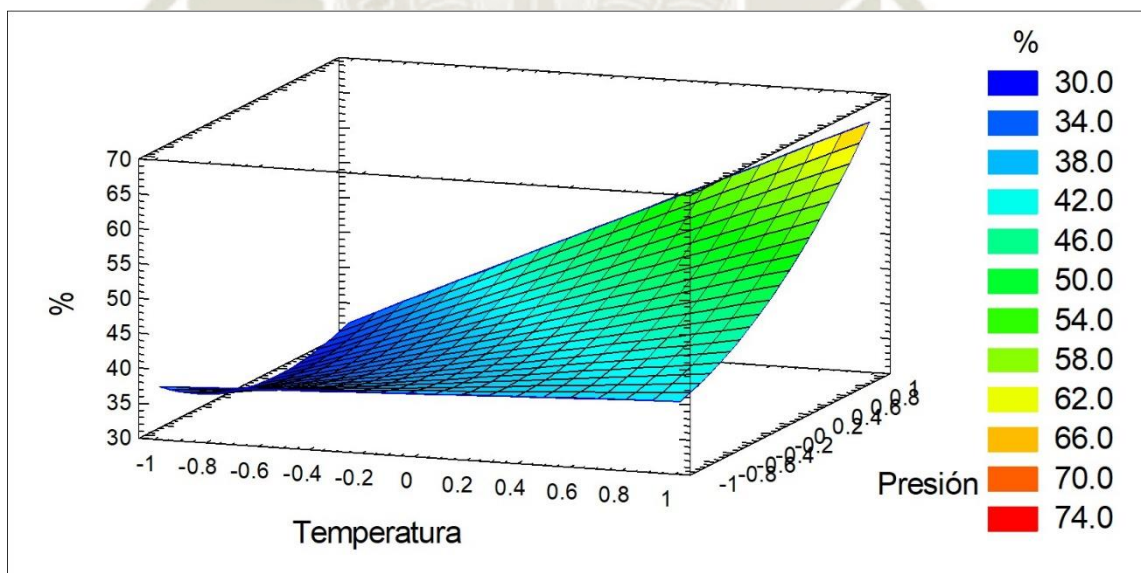


Figura 20 Superficie de respuesta para el % de células rupturadas en el proceso de termohidr3lisis de la páprika

Donde: Eje X: es Temperatura, Y: es Presi3n.

Fuente: elaboraci3n propia

3.2.2. Gráfico de contornos del modelamiento matemático de la Termohidrólisis de paprika (*Capsicum annuum*)

En la Figura N°21 se muestra la gráfica de contornos de forma continua y en regiones coloreadas para la superficie de respuesta construida del % de células. Con ello es más sencillo situar el % de células que se podría obtener si se trabajase a una combinación definida de valores de temperatura y presión. Se puede observar que en la región superior derecha correspondiente a color amarillo es donde podemos tener un % de células de entre el 62 al 66%.

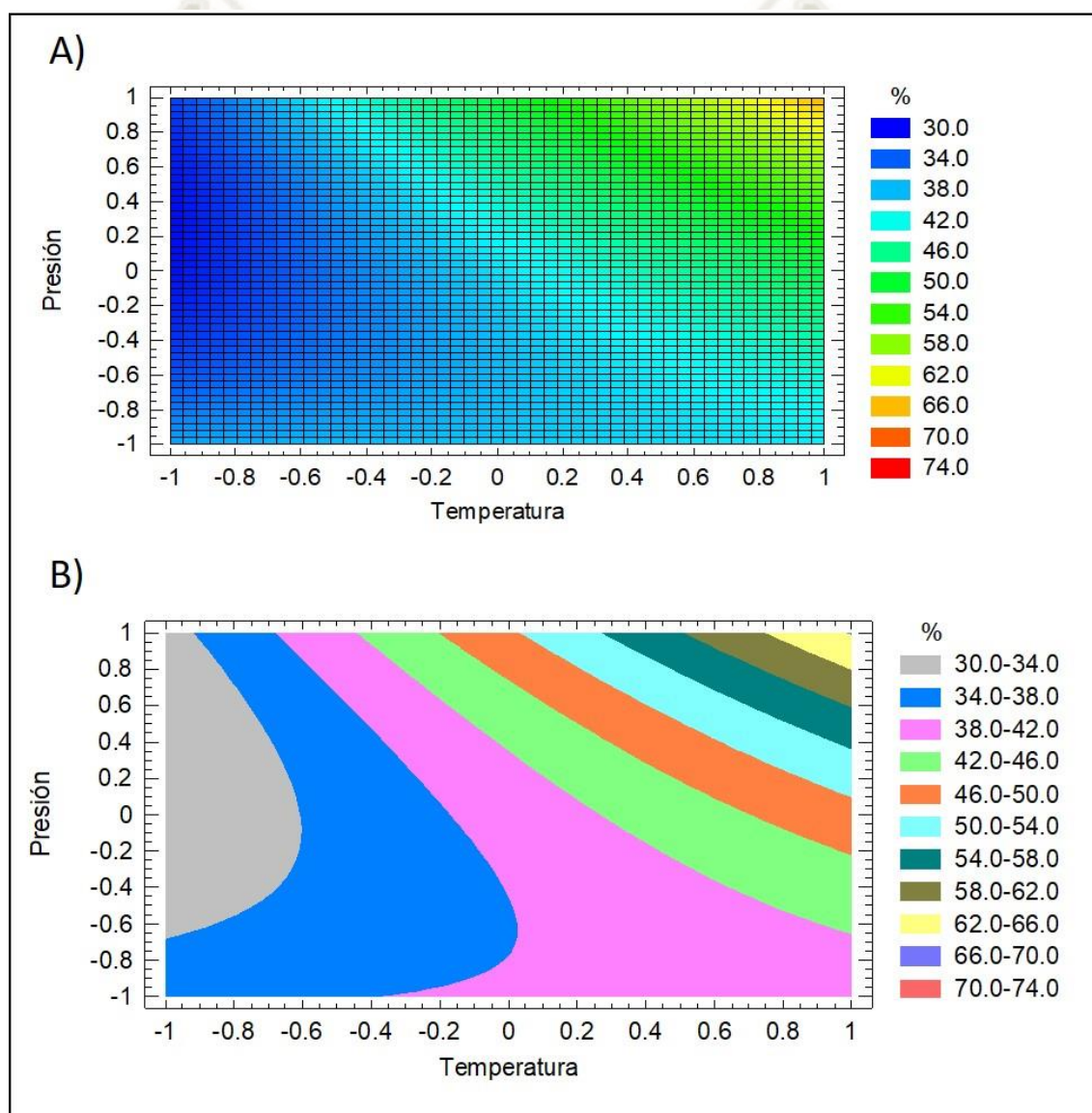


Figura 21 Grafica de contornos para el número de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis de la páprika

Donde: Eje X: es Temperatura, Y: es Presi3n.

Fuente: elaboraci3n propia

3.23. Resultado del modelamiento para el óptimo de termohidrolisis de paprika (Capsicum annuum)

Finalmente se realizó una optimización para el porcentaje de células rupturadas en la termohidrólisis de páprika, identificándose que con una temperatura de 100 C y 6 bar es posible obtener hasta 66.28% de células rupturadas.

Tabla 16 Optimización para % de células rupturadas en el proceso de termohidrólisis de páprika

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>ptimo Codificado</i>	<i>ptimo real</i>	<i>Número de células rupturadas</i>
Temperatura	-1.0	1.0	1.0	100 C	66.28
Presión	-1.0	1.0	1.00	6 bar	

Donde: Eje -1 representa la menor temperatura y la menor presión, y 1 representa la mayor Temperatura y la mayor presión

Fuente: elaboración propia

3.24. PRODUCCIÓN DE METANO

El siguiente grafico muestra los resultados obtenidos de la medición de porcentaje de metano producido por la digestión anaerobia de broza de paprika termohidrolizada, comparada con la producción de broza de paprika sin termohidrolizar, así como de la producción de broza de uva termohidrolizada, comparada con la broza de uva sin termohidrolizar, con tres diferentes tiempos de residencia hidráulica(7, 14 y 21 días), a una concentración de 10% de solidos totales, la cual fue hecha con el analizador de gases con sensores electromagnéticos IR.

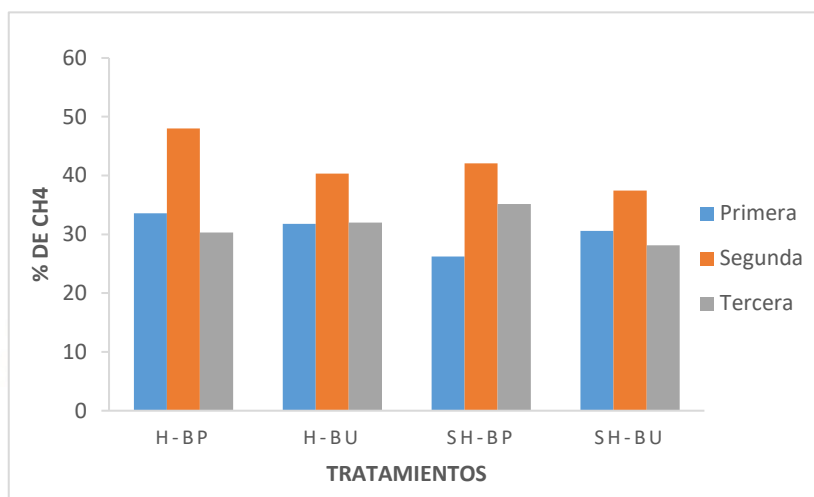


Figura 22 Producción de metano en brozas de paprika y vid con y sin termohidrolizar
Grafico de barras

Donde: *H-BP* es broza de paprika Hidrolizada, *H-BU*: es broza de uva hidrolizada, *SH-BU*: broza de uva sin hidrolizar, *SH-BP* :Broza de uva sin hidrolizar

Fuente: elaboración propia

3.3.1 Promedio de la producción de metano evaluado y su nivel de significancia

La tabla 17 nos muestra los resultados obtenidos en la producción de metano en los diferentes tiempos de residencia hidráulica y su diferencia significativa según el ANOVA colocada en anexos, se puede entonces observar que existe una diferencia significativa respecto a la producción de gas metano respecto al segundo tiempo de residencia hidráulica entre la broza termohidrolizada de uva y sin termohidrolizar, igualmente respecto a la broza de paprika termohidrolizada y sin termohidrolizar.

Tabla 17 Promedio de porcentaje de metano evaluado en biogás de residuos de uva y páprika

Medición	H-BP	H-BU	SH-BP	SH-BU
Primera	33.60 ^a	31.80 ^a	26.25 ^a	30.567 ^a
Segunda	48.00 ^b	40.35 ^{ab}	42.10 ^{ab}	37.45 ^a
Tercera	35.15 ^a	32.00 ^a	30.30 ^a	28.15 ^a

Las comparaciones son en horizontal según días.

Donde: *H-BP* es broza de paprika Hidrolizada, *H-BU*: es broza de uva hidrolizada, *SH-BU*: broza de uva sin hidrolizar, *SH-BP* :Broza de uva sin hidrolizar

Fuente: elaboración propia

3.3.2 PRODUCCION DE BIOGAS EN BROZA TERMOHIDROLIZADA DE VID Y PAPIKA.

Las siguientes graficas muestran la producción de biogás respecto a la broza tanto termohidrolizada como sin termohidrolizar de las brozas de paprika y vid durante los tiempos de residencia hidráulica, tanto en la gráfica de barras como en la de curvas se puede apreciar una mayor producción de biogás en broza termohidrolizada, para ambos casos, la cual va de manera creciente durante los tres periodos.

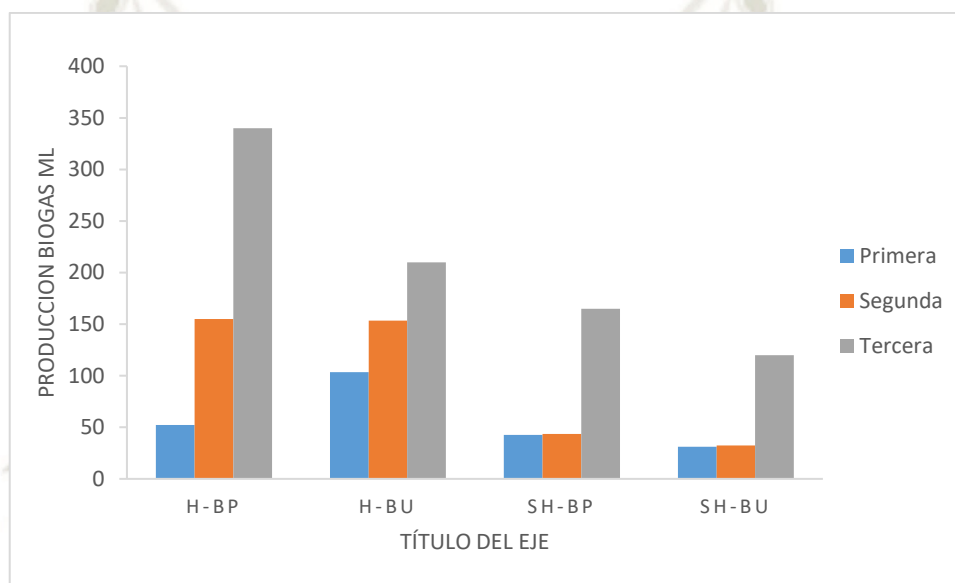


Figura 23 Producción de Biogás en grafica de barras

Fuente: elaboración propia

3.3.4. PRODUCCIÓN DE VOLUMEN DE BIOGÁS

La tabla 24 indica el promedio de la producción de Biogás en residuos de uva y paprika durante los tres tiempos de residencia hidráulica, la medición se hizo por el método de desplazamiento de Arquimedes, y los resultados se hallan en ml, se puede observar que existe una diferencia significativa respecto a la producción de biogás respecto a la broza termohidrolizada y sin termohidrolizar de paprika y vid.

Figura 24 Promedio de volumen de biogás evaluado en residuos de uva y páprika

Medición	H-BP	H-BU	SH-BP	SH-BU
Primera	52.50 ^a	103.33 ^b	42.5 ^a	31.00 ^a
Segunda	155.00 ^b	153.5 ^{ab}	43.50 ^{ab}	32.50 ^a
Tercera	340.00 ^c	210.00 ^b	165.00 ^{ab}	120.00 ^a

Donde: *H-BP* es broza de paprika Hidrolizada, *H-BU*: es broza de uva hidrolizada, *SH-BU*: broza de uva sin hidrolizar, *SH-BP* :Broza de uva sin hidrolizar

Fuente: elaboración propia

Las comparaciones son en horizontal según días.



CAPITULO IV

4. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. Respecto a la termohidrolisis de Uva

Zhang et al. (2016). Refiere que el valor del índice de cristalinidad de las fibras de kenaf sin procesar fue del 65,3%. Cuando la presión era menor A 3 MPa, el índice de cristalinidad aumentó hasta el 78,16% en función de la presión de vapor.

El índice de cristalinidad disminuyó a 3 MPa, lo que indica daños en la pared celular, como se señala en el análisis de la composición química, y demostró además la degradación de la celulosa. Los resultados aquí estuvieron en buen acuerdo con los de Abraham et al. (2011).

Theuretzbacher et al.(2014), indica en su trabajo con explosión de vapor de paja de 140 ° C a 178 ° C durante 30, 60, 120 min que el tratamiento causó una hidrólisis de la hemicelulosa y la formación de pseudo lignina, indica además el proceso de degradación de la biomasa durante la digestión anaeróbica con una mayor severidad por el tratamiento previo que dio como resultado una degradación más rápida de la biomasa, ya que el contenido de pseudo-lignina disminuyó durante el experimento de degradación anaeróbica.

Por otro lado, Baeta et al 2017 en su trabajo con la cáscara de café que pre trato previamente mediante explosión de vapor para producir CH₄ mediante digestión anaeróbica, obtuvo una mayor solubilización de los componentes de la biomasa al trabajar a 210 ° C y 15 min. Refiere además que la solubilización de polisacáridos y la producción de biogás no se correlacionaron, mientras que el tratamiento previo con severidades superiores a 4 dio como resultado una solubilización más alta de celulosa, hemicelulosas y lignina; sin embargo, la concentración de furanos en esos casos dificultó la biodegradación de la biomasa. La mejor condición fue de 120 ° C durante 60 minutos, en la que una severidad de 2.37 mostró el mayor rendimiento de metano (144.96NmLCH₄gCOD-1) y la producción de electricidad (0.59kWhkgCH-1). Sin embargo, incluso se podrían lograr mejores resultados utilizando 120 ° C durante solo 5 minutos.

Según los resultados obtenidos se tiene una diferencia significativa respecto al efecto de la temperatura más que a la presión, sin embargo, esto no implica que no exista

una interacción entre ambas en la ruptura celular, esto a partir de 60 °C, esto es semejante a lo que reporta (Talebnia et al. 2010), que indica que dentro de las variables que afecta la eficiencia de la ruptura celular está el contenido de humedad, el tamaño de partícula, tiempo de residencia y temperatura. Durante la exposición al vapor se pudo observar que la humedad penetra las estructuras lignocelulósicas rompiendo las paredes celulares lo que permite que los grupos acetilo y hemicelulosas puedan hidrolizarse completamente, formándose los ácidos orgánicos que acidifican el medio e hidrolizan las hemicelulosas a azúcares lo que coincide con lo reportado por. (Xu et al, 2018).

Por otro lado, a temperaturas mayores a 60 °C en nuestros resultados se obtiene una mayor ruptura celular esto debido a como dice Yano et al, 1976 que la celulosa amorfa forma enlaces de hidrógeno y a temperaturas mayores a 150 °C recrystalizaría coincidiendo con lo reportado en su investigación donde en termohidrolisis las temperaturas pueden llegar a 240 °C, incrementando posiblemente el grado de cristalinidad de la celulosa.

De acuerdo al contenido de lignina según análisis preliminar de la broza de uva esta contiene un 14.7 % de lignina lo cual es muy similar al contenido de lignina en paja de trigo, por lo que es posible inferir que la “digestibilidad es inversamente proporcional a la cristalinidad en paja de trigo como lo reporta (Fan et al., 1980)”. Es probable que si la temperatura o presión son muy altas, las condiciones ácidas pueden catalizar una reacción donde la xilosa es degradada a glucosa, la cual luego puede ser degradada a furfural o hydroxymethylfurfural, quienes son inhibidores de la digestión anaerobia. (Duff y Murrayh 1996), reporta que el pH ácido inicia reacciones que llevan a la repolimerización, que hace a la lignina menos degradable.

López 2018 , reporta que la explosión al vapor ha sido aplicada a varios tipos de biomasa lignocelulósica para incrementar su rendimiento de metano, como paja y bagazo de caña de azúcar, paja de trigo, biofibras digeridas (separadas de la excreta de vaca digerida), residuos de tubos de papel retoños de sauce (*Salixviminalis christina*).

No obstante, indica que, la temperatura necesita ser alta para liberar la celulosa de la lignina, pero no demasiado alta, es por ello que probablemente sea el aspecto de mayor relevancia como se muestra en los resultados obtenidos. Para el caso de la paja

de trigo se alcanzó un incremento de un 64 % a bajas temperaturas (90 °C y 120 °C) (Menardo et.al,2012), coincidiendo esto con lo hallado en nuestros resultados, obteniendo un mayor porcentaje a una temperatura de 100°C.

Viola et al. (2008) informaron que el pretratamiento por explosión de vapor de la paja de trigo mejoró la digestibilidad en un 25% en comparación con la paja de trigo no tratada. En particular, el aumento de la temperatura podría aumentar la eliminación de hemicelulosa, pero aumenta la degradación de los azúcares, resultando en una disminución en el rendimiento total de azúcar (Ruiz et al. 2008).

Según nuestros resultados cuando hacemos la simulación del incremento de la temperatura y la presión tenemos que si la temperatura es mayor, mayor será la cantidad de células rupturadas, por lo que podemos inferir que, si se incrementa la temperatura como en los trabajos con pretratamientos de pirolisis, se podrán obtener mejores resultados.

Por otro lado según lo reportado por (Duff y Murrayh 1996), la hidrólisis y la solubilización de hemicelulosa pueden ser cumplidas ya sea por baja temperatura y larga residencia tiempo (190 ° C, 10 min) o alta temperatura y tiempo de residencia corto (270 ° C, 1 min), no siendo en este caso el factor de presión demasiado relevante como se muestra en los resultados obtenidos. Sin embargo la selección final de los parámetros, como el tiempo de residencia y temperatura, se verán influenciados a su vez por la accesibilidad física y el tipo de materia prima, según lo reportado por López 2018, esto es lo que explicaría los resultados obtenidos en el desfibrilado de broza de uva en comparación con la broza de paprika, ya que de acuerdo al análisis preliminar el primero tiene casi el doble de lignina, sin embargo el efecto de la presión es más importante en paprika que tiene menos contenido de lignina y la temperatura tiene un mayor efecto en broza de uva, que puede ser considerado como anteriormente se mencionó como madera dura.

Probablemente si bien es cierto existe un incremento de células rupturadas a una mayor temperatura, esto no se evidencia en la disposición de la celulosa en el proceso de la hidrólisis en la digestión anaerobia, esto debido quizás a que los principales inhibidores son los derivados de furano, ácidos débiles, y compuestos fenólicos. Los derivados del furano como el furfural y HMF (5-hidroximetilfurfural) se han reportado como inhibidor por prolongación de la fase de retraso durante el lote

Fermentación (Palmqvist y Hahn-Hägerdal 2000). La existencia de ácidos débiles, como el ácido acético, fórmico y levulínico, pueden inhibir crecimiento celular debido a la entrada de ácido no disociado en el citosol (Palmqvist y Hahn-Hägerdal 2000). Finalmente, los compuestos fenólicos derivados de la descomposición de la lignina, se sugiere que inhiben la fermentación de hidrolizados lignocelulósicos. Sin embargo, el mecanismo del efecto inhibitorio que se tiene aún no se ha dilucidado.

4.2. **Respecto a la termohidrolisis de paprika**

Zheng et al. (2016) indica también que se utilizó microscopía electrónica de barrido para evaluar la Estructura superficial del kenaf crudo y tratado al vapor.

El tratamiento con vapor a 1 MPa eliminó los residuos sobresalientes y los parches poligonales efectivamente, mostrando una superficie relativamente lisa, pero no se observó desfibrilación. La precipitación en la superficie de la fibra mostró que la hemicelulosa y la lignina conectaban Las fibrillas de celulosa se disolvieron parcialmente con vapor de 2 MPa.

Fang et al. 2016 reporta que aplicó un pretratamiento termoquímico para mejorar la producción de biogás a partir de residuos de maíz. Los restos de maíz fueron termoquímicamente pretratados en un reactor de pirólisis de lecho fluidizado a 180 °C, 200 °C y 220 °C, respectivamente. Degradaciones de lignina durante los pretratamientos fueron 15,07%, 32,57% y 33,31%, respectivamente. Las imágenes fueron vistas en un microscopio electrónico de barrido (SEM) y (Fourier), los espectros de espectroscopia infrarroja por transformación (FTIR) confirman que el tratamiento previo termoquímico puede cambiar la estructura de la pared celular, los resultados indicaron que el tratamiento termoquímico mejoro la degradabilidad incrementando la producción de biogás de 23 319 mL durante 20 d, que fue 10.0% más alta que la de restos de maíz sin tratar

De acuerdo a (Zheng, 2014) la termohidrólisis está compuesta por dos procesos: exposición al vapor y explosión. El vapor penetra la lignocelulosa por difusión causada por la alta presión. Esta agua se evapora instantáneamente cuando la presión se reduce en forma rápida.

Al evaporarse, se expande y presiona contra las paredes celulares creando una fuerza de corte en las estructuras lignocelulósicas, rotura de las paredes celulares y apertura

de la célula a las bacterias, esto explicaría el por qué en el caso de broza de paprika según los resultados encontrados la ruptura celular tiene una mayor relevancia del factor no solo temperatura sino también de presión ya que se ha observado que cuando se trabaja en 100°C a una presión de 2 atmosferas se tiene 40 células defibriladas mientras que cuando se trabaja a la misma temperatura (100°C) pero a una presión de 3 atm se tiene un incremento de 76 células defibriladas, lo mismo ocurre respecto al porcentaje observándose que a mayores presiones y temperaturas existe mayor porcentaje de ruptura celular. cuando se trabaja a presión de 2 atmosferas y 100°C se obtiene 40% de células, sin embargo, cuando se trabaja a 3 atmosferas. y 100°C el porcentaje obtenido es de 66 %.

Según lo reportado por (Zheng, 2014) el pre-tratamiento por agua caliente presurizada cuyas siglas en ingles son LHW (liquid hot water), utiliza agua a elevada temperatura (120 °C - 230 °C) como único solvente y según (Nitsos et.al.2013) en este pre-tratamiento la alta presión aplicada (0,1-2,8 MPa) mantiene el agua en estado líquido, evitando de esta forma pérdidas por volatilización como ocurre durante la explosión con vapor. El agua a alta presión y temperatura penetra la biomasa, hidrata la celulosa, hidroliza entre un 80-100 % la hemicelulosa y solubiliza parcialmente la lignina. LHW, lo cual es coincidente con los resultados hallados ya que al trabajar temperatura con presión se tiene un incremento efectivo en el área de superficie accesible de la celulosa y, por tanto su degradabilidad enzimática, esto corroborado también por (Zheng, 2014)

(Lopez, 2018) dice que durante el pre-tratamiento LHW la separación del grupo O-acetil, y la sustitución de los ácidos urónicos, encontrados en la hemicelulosa, se genera ácido acético y otros ácidos orgánicos, los cuales catalizan la hidrólisis de los polisacáridos, tales como la hemicelulosa en oligosacáridos solubles, y luego en azúcares mono-disacáridos

En un estudio más reciente (Lopez et.al,2014) investigó la aplicación del LHW para mejorar la biodegradabilidad de la cachaza de caña de azúcar. La mejor condición se obtuvo para 150 °C durante 20 min (LHW) con un 63 % de incremento en el potencial de metano respecto a la cachaza sin pretratar. Para una temperatura de 200 °C el rendimiento fue severamente afectado, esto es coincidente con lo hallado en broza de paprika ya que se ha tenido 66% de células rupturadas a la temperatura mayor que fue de 100 °C en 30 minutos, sin embargo este valor optimo se halla por debajo de

los parámetros óptimos utilizados para tratar pajas probablemente por que las temperaturas de tratamiento para las mismas van desde 120 a 170 °C) con tiempos entre 5 y 30 minutos, en el caso de arroz y residuos de aceite de palma según lo reportado por Chen et al. ,2005).se necesitaron (200-230 °C) con tiempos entre 10 y 15 min, para alcanzar elevados rendimientos de metano.

Duff y Murrayh 1996, indican que la hidrólisis y la solubilización de hemicelulosa pueden ser cumplido ya sea por baja temperatura y un tiempo de residencia mayor (190 ° C, 10 min) o alta temperatura y tiempo de residencia corto (270 °C, 1 min), dependiendo de la concentración de lignina, esto coincide con los resultados hallados ya que se tuvo una mejor respuesta a una temperatura mayor, aunque con tiempo de residencia mayores, esto quizá a que la temperatura era menor a la usada en los ensayos de arroz y trigo marcadas como óptimas.

Se infiere, por tanto, que la composición química y las propiedades estructurales de la biomasa determinan la efectividad del pre-tratamiento LHW. Así tratamientos beneficiosos para un sustrato no lo serán para otro, por lo que cada sustrato debe estudiarse de forma independiente.

4.3. Respecto a la producción de Biogás.

Theuretzbacher 2014 nos dice que el potencial de metano biológico de la paja de trigo molido no explotada con vapor (276lNkgVS-1) no difirió significativamente de la mejor muestra tratada con explosión de vapor (286lNkgVS-1) que se logró a una temperatura de pretratamiento de 140 ° C y Un tiempo de retención de 60min. Sin embargo, la velocidad de degradación fue mejorada por el tratamiento previo. Además, se observó que los compuestos resultantes de reacciones químicas durante el pretratamiento y clasificados como pseudo-lignina también se degradaron durante los experimentos por lotes anaeróbicos. Basado en la técnica de simulación del rumen, se desarrolló un modelo para caracterizar el proceso de degradación.

Por otro lado, Baeta et al 2017 dice que la ganancia de energía neta más alta de sustratos de café pre tratado fue de 0.59kWhkgCH-1 en un sistema combinado de calor y energía

Los rendimientos de biogás fueron mayores en los residuos pre tratados, tanto para broza de uva como para broza de paprika frente a los sustratos no pre tratados igualmente se ha podido observar con la producción de metano, sin embargo el

análisis estadístico nos muestra también una diferencia respecto al tiempo de residencia hidráulica siendo mayor la producción a los 14 días, esto es corroborado por Bauer et al., 2009, 2010; Chen et al., 200 que dice que el tiempo de retención está relacionado con la hidrolización de la hemicelulosa por ácidos orgánicos. Temperaturas de 180-200 °C y tiempos de 10-15 minutos son óptimos para incrementar la productividad de biogás en la mayoría de pajas.

Teóricamente, se realiza menos del 20% de hidrólisis de celulosa. en ausencia de pre-tratamiento (directamente con enzimas), mientras que es aproximadamente el 90% cuando se realiza el tratamiento previo (Zhang et al. 2013).

Igualmente (Martin-Sampedro et al. 2011). Indican que el ácido acético se libera al igual que los componentes de madera expuesto a vapor de alta temperatura, que cataliza aún más las reacciones hidrolíticas de los polímeros constituyentes. La pérdida de celulosa amorfa y hemicelulosas se produce como una consecuencia de estas reacciones. La formación de ácidos fórmico y levulínico se produce. y puede desempeñar un papel importante en la eficiencia del tratamiento previo (Ramos 2003).

Dado que la lignina es una fuente de compuestos aromáticos, la degradación de la misma liberará compuestos fenólicos y derivados de furano como el furfural y 5-hidroximetil-2-furaldehído (HMF), que han demostrado tener un efecto inhibitorio sobre la producción de biogás (Schroyen et al. 2015). Hernandez y edyvean (2008) confirmaron que la producción de biogás a partir de la digestión de la glucosa, el extracto de levadura y el caldo nutritivo podrían reducirse con 20% por 25 mg de compuestos fenólicos por gramo volátil de Sólidos suspendidos. Sin embargo, la cantidad de inhibidores liberados de la destrucción de la lignina varía entre diferentes materias primas debido a los diferentes contenidos de lignina. Schroyen et al. (2014, 2015) compararon los efectos del tratamiento previo con enzimas ligninolíticas sobre la producción de compuestos fenólicos y el potencial biometano de diversos sustratos lignocelulósicos. sus resultados mostraron que los compuestos fenólicos individuales no alcanzaron los niveles de inhibición reportados a pesar de que la concentración inicial de compuestos fenólicos totales fue mayor en los sustratos que contienen más

lignina. A pesar de esto, la digestión anaeróbica de los sustratos que contienen más lignina tiene una producción de biometano significativamente menor.

Aunque algunos tipos de hongos podrían digerir compuestos fenólicos liberados de la descomposición de la lignina y reducir la producción de biogás por una posible inhibición (Wan y Li 2012), las concentraciones más altas de lignina siguen siendo desventajoso para la digestión anaerobia, debido a que los compuestos inhibidores, actúan como toxinas, junto con el resto de lignina sellado alrededor de la estructura de celulosa (Kudahettige et al. 2016).

Mulat et al 2018 en su trabajo sobre los efectos de la termohidrolisis en abedul por explosión de vapor asociada con la bacteria *Caldicellulosiruptor bescii*, reporta un incremento en el rendimiento del metano hasta de un 140% en comparación con abedul sin tratar, mientras que solo la SE (explosión de vapor) contribuyó a la mayor parte del aumento de metano en un 118%. La mejor cantidad de metano incrementado se observó a los 50 días del ensayo con una producción del 140% la cual fue alimentada con abedul pretratado y bioaumentación con dosis inferiores de *C. bescii* (2 y 5% del volumen de inóculo). La tasa máxima de producción de metano también aumentó de 4 ml CH₄ / g VS (sólidos volátiles) / día para abedul no tratado a 9–14 ml CH₄ / g VS / día para abedul con explosión de vapor, demostrando que el incremento de la bacteria es importante para incrementar la producción de metano desde 21 a 44%, no obstante, refieren a demás que ambos pretratamientos juntos son más efectivos.

De acuerdo a lo reportado por Fang, et al. a su vez referenciado por Baeta et.al 2017 La producción de biogás de maíz pre tratado termoquímicamente mediante el método con pirólisis se concentró en los días 2 y 11, luego comenzó a disminuir gradualmente al 12 vo día, pudiendo observar que la producción de biogás en el maíz pre tratado fue mayor que los no pre tratados a 220 ° C 2vo día. La producción diaria de biogás de maíz pre tratado se concentró en los días 2-11 y disminuyó gradualmente después de 12 día. Se puede observar Que la producción diaria de biogás del maíz pre tratado fue mayor que el rastrojo no pre tratado durante los 10 primeros días

Por lo tanto, cuando se utiliza material que contiene lignina para la producción de biogás, el contenido de lignina, así como el método de tratamiento previo es muy importante.

El rendimiento de biogás es mayor en broza de paprika que en broza de uva, esto pudiera deberse a que quizás la broza de uva se puede considerar como madera dura y según lo explicado por (Overend y Chornet 1987). La explosión de vapor es efectiva para el tratamiento previo de Residuos agrícolas y maderas duras, pero menos eficaces para maderas blandas, donde el uso de un catalizador ácido se vuelve significativo. Los contras del tratamiento incluyen la destrucción incompleta de la matriz de lignina-carbohidrato que conduce a la precipitación y condensación de componentes solubles de lignina. Esto destruye un fragmento del xilano en hemicelulosa y genera inhibidores de la fermentación a temperaturas más altas, Haciendo así que la biomasa sea menos digestible.

No obstante pese a que los valores de producción de metano son mayores en el caso de broza de uva pre tratada este no es un valor significativo, ya que representa solo un incremento del 4% , sin embargo si es significativo respecto a la producción de biogás, esto se puede deber esencialmente a que la digestibilidad de la pared celular depende principalmente del contenido total de lignina según lo reportado por (Adler, 1977; Liu y Wyman, 2003). Diferencias pequeñas en el contenido de lignina influye mucho en la velocidad de la hidrólisis a azúcares solubles (Chen F., 2007). El tamaño de partícula utilizado fue de 5mm para cada temohidrolizado, esto probablemente ha influenciado también en la producción de biogás. Así mismo es importante resaltar que probablemente la producción de metano se ve influenciada por la correlación que existe entre la abundancia de las comunidades clave de bacterias y arqueas, especialmente las hidrolíticas.

Probablemente el pretratamiento por explosión de vapor de residuos lignocelulosos como reporta (Zheng et al. 2009) tales como madera dura y bosques deciduos se encuentran ya en marcha por grandes compañías como de Iogen Corporation en Canada, sin embargo los resultados obtenidos en el ensayo si bien demuestran una diferencia significativa respecto a la ruptura celular esto no se corrobora significativamente en la producción de metano esto quizás se deba a los parámetros de temperatura fueron muy bajos comparados con los reportados por ensayos realizados con doble pretratamiento como adición de enzimas o microorganismos.

(Shafiei et al. 2013). Reporta que se simuló el proceso explosión de vapor para estudiar la economía y la viabilidad del proceso para la producción de biogás a partir de paja de trigo cuya inversión para una planta de producción de biogás con 200,000 toneladas / año de paja de trigo como materia prima, fue calculado en 61,8 millones de euros. Por otro lado, los costos totales del proyecto para una planta sin una unidad de pretratamiento de explosión de vapor fueron menor: 56,4 millones de euros. Sin embargo, el promedio anual para la producción de biogás a partir de paja de trigo aumentó de 36.8 a 70,5 millones de Nm³ / año si se utiliza la unidad de tratamiento previo. Además, la etapa de hidrólisis es facilitada por el agua que actúa como un ácido a alta temperatura (Weil et al. 1997) y por medio de compuestos orgánicos ácidos, como el ácido acético, generado a alta temperatura a partir de

Auto-hidrólisis de acetilo u otros grupos funcionales asociados con hemicelulosa.

Según los ensayos bach lab utilizados para la producción anaerobia de biogás con broza de paprika pre tratada mecánicamente como pulverizado en el trabajo de experimentación de Medina 2017, se tiene una producción de 70% de biogás en un TRH de 7 días a diferencia del 48% de biogás en un TRH de 14 días que se obtuvo en este ensayo, esto debido a que el tamaño de partícula y la composición del material de partida determina la relación. Entre la temperatura y el tiempo (Viola et al. 2008). Sin embargo, el costo del proceso global puede ser grandemente reducido mediante el uso de partículas grandes. Para disminuir las partículas se requiere una trituración mecánica intensa, lo que aumenta el costo de producción sin significativo en el rendimiento del azúcar. Según López 2018 la reducción de tamaño no es viable económicamente ya que representa entre 11-13% de incremento de metano frente a un 18-89% de incremento de metano que se podría lograr si se incrementa un poco más la temperatura.

Podemos deducir que la composición química y las propiedades estructurales de cada sustrato al ser diferentes infieren en la efectividad del pretratamiento, por lo que la bimesa de cada sustrato reacciona diferente en la producción de metano. La cantidad de metano presente en la digestión anaerobia de las brozas pre tratadas frente a las no pre tratadas tienen una diferencia significativa al especialmente la broza de paprika, esto debido quizás a su menor contenido de lignina frente a la broza de uva, sin embargo, es posible que estos valores se incrementen si se trabaja a temperaturas mayores a 100 °C y menores a 220°C.

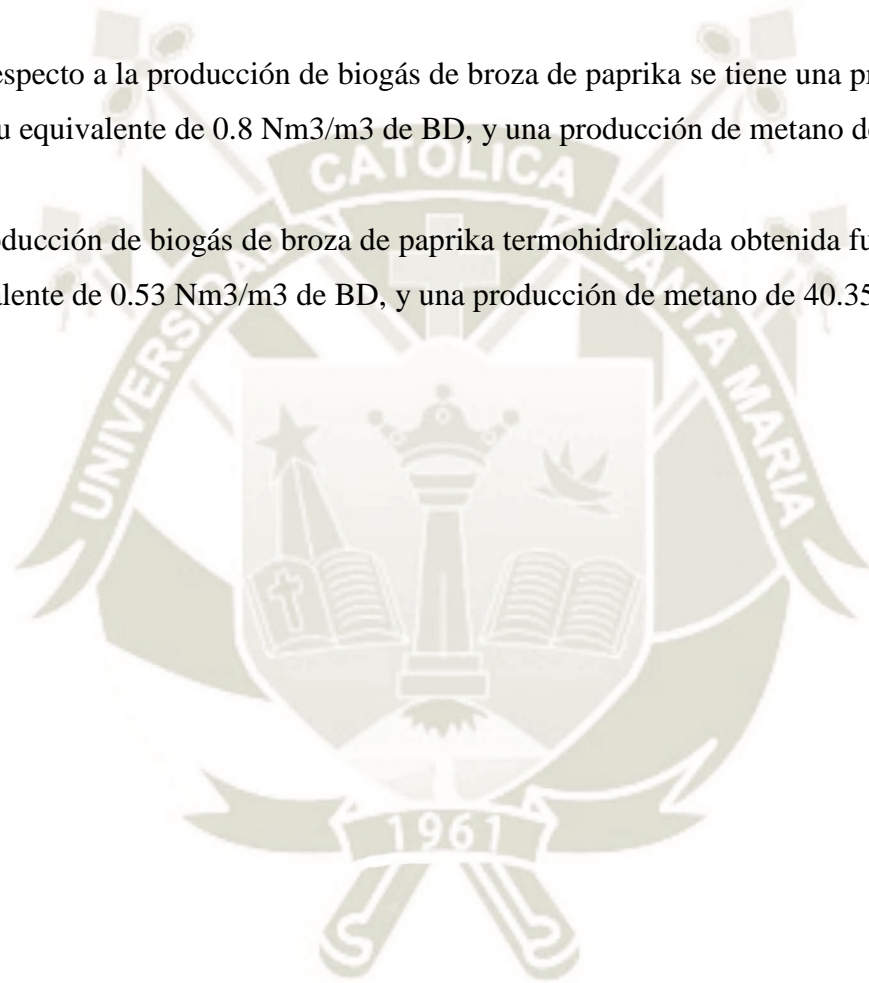
CONCLUSIONES

La mejor respuesta de la termohidrolisis de residuos de broza de vid se obtuvo una temperatura de 80 °C, no siendo la presión significativa entre 2 y 3 atmosferas.

La mejor respuesta de la termohidrolisis de residuos de broza de paprika, fue a una temperatura de 100 °C a una presión de 3 atmosferas.

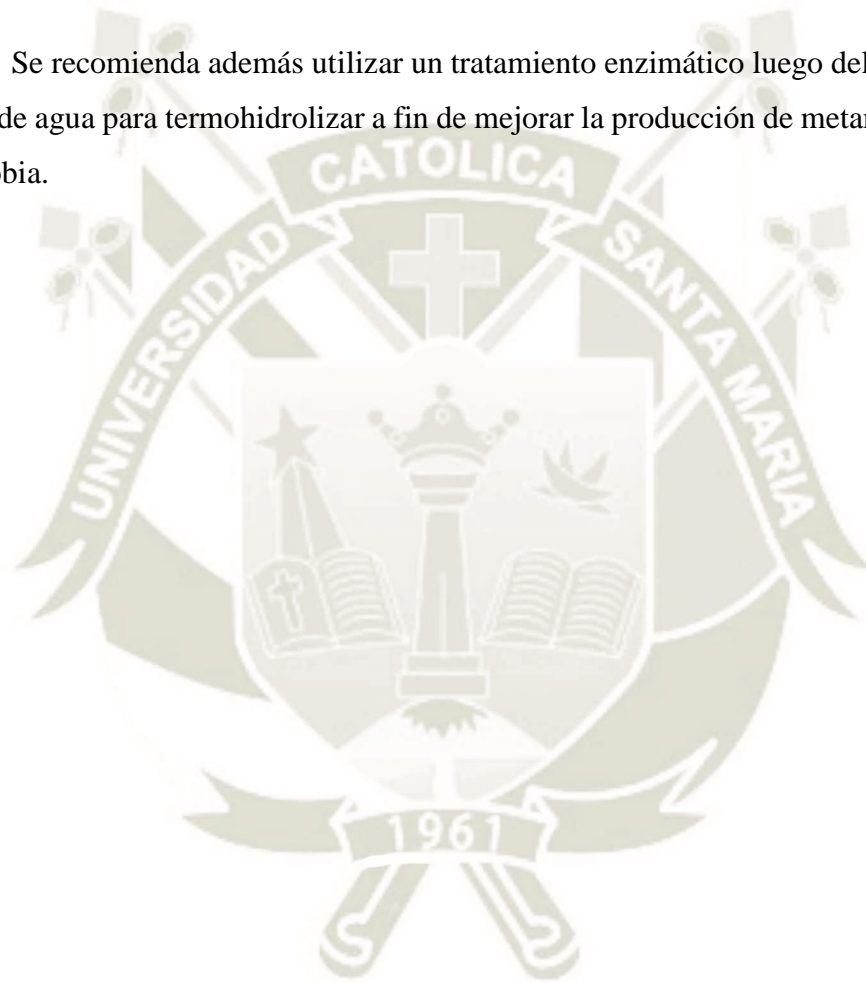
Con respecto a la producción de biogás de broza de paprika se tiene una producción de 340 ml o su equivalente de 0.8 Nm³/m³ de BD, y una producción de metano de 48%

La producción de biogás de broza de paprika termohidrolizada obtenida fue de 210 ml o su equivalente de 0.53 Nm³/m³ de BD, y una producción de metano de 40.35%



RECOMENDACIONES

- El pretratamiento de termohidrolisis utilizando presión y temperatura mejora la disposición de los residuos orgánicos con contenido de lignina, sin embargo, es recomendable tener conocimiento previo de dicho contenido, así como de su demás componentes a fin de poder establecer los parámetros óptimos de su pretratamiento como son temperatura, TRH.
- Se recomienda además utilizar un tratamiento enzimático luego del pretratamiento de vapor de agua para termohidrolizar a fin de mejorar la producción de metano en la digestión anaerobia.



BIBLIOGRAFÍA

- Alani F, Anderson WA & Moo-Young M (2008) New isolate of *Streptomyces* sp. with novel thermoalkalotolerant cellulases *Biotechnol. Lett.* 30: 123-126.
- Aro N, Pakula T & Penttila M (2005) Transcriptional regulation of plant cell Wall degradation by filamentous fungi. *FEMS Microbiol. Rev.* 29: 719–739.
- Azzam AM (1989) Pretreatment of cane bagasse with alkaline hydrogen peroxide for enzymatic hydrolysis of cellulose and ethanol fermentation. *J. Environ. Sci. Health.* 24: 421–433.
- Baêta, (2017), Investigation of the degradation kinetics of structural compounds during anaerobic digestion, *Bioresource Technology* December. 245 Part A:66-72.
- Balan V, da Costa Sousa L, Chundawat SP, Vismeh R, Jones AD & Dale BE (2008) Mushroom spent straw: a potential substrate for an ethanol-based biorefinery. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*
- Baldrian P & Valaskova V (2008). Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS Microbiol. Rev.*
- Baldrian P & Valaskova V (2008). Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS Microbiol. Rev.* 32: 501–521
- Barnett JA (1992). The taxonomy of genus *Saccharomyces* Meyen ex Reess: a short review for non-taxonomist. *Yeast*, 8: 1-23.
- Becker J & Boles E (2003) A modified *Saccharomyces cerevisiae* strain that consumes L-arabinose and produces ethanol. *Appl. Environ. Microbiol.*
- Béguin P & Aubert JP (1994). The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiol.Rev.*
- Ben-Ghedalia D & Miron J (1981). The effect of combined chemical and enzyme treatment on the saccharification and in vitro digestion rate of wheat straw.
- Ben-Ghedalia D & Miron J (1981). The effect of combined chemical and enzyme treatment on the saccharification and in vitro digestion rate of wheat straw. *Biotechnol. Bioeng.* 23: 823–831
- Biofuel Technology Handbook (2014). This handbook is published by:WIP Renewable energies Sylvesterstr. 2 81369 München Germany
- Biomass Energy. (1993). Profiles. Food and Agricultural Organization of United Nations. Rome. *Biotechnol.* 2009 (En prensa). *Biotechnol. Bioeng.* 23: 823–831.
- Botero, Raúl. (2000). El Biodigestor: Tecnología sencilla y amigable con el ambiente, al alcance de todos. EARTH. Costa Rica.

- Cara C, Ruiz E, Ballesteros I, Negro MJ, Castro E (2006) Enhanced enzymatic hydrolysis of olive tree wood by steam explosion and alkaline peroxide delignification. *Process Biochem* 41:423–429. doi:10.1016/j.procbio.2005.07.007
- Cazemier AE, Verdoes JC, Reubsaet FA, Hackstein JH, van der Drift C & Op den Camp HJ (2003). *Promicromonospora pachnodae* sp. nov., a member of the (hemi) cellulolytic hindgut flora of larvae of the scarab beetle *Pachnoda marginata*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 83: 135-48
- Cazemier AE, Verdoes JC, Reubsaet FA, Hackstein JH, van der Drift C & Op den Camp HJ (2003) *Promicromonospora pachnodae* sp. nov., a member of the (hemi) cellulolytic hindgut flora of larvae
- Chandrakant P & Bisaria VS (1998) Simultaneous bioconversion of cellulose and hemicellulose to ethanol. *Crit. Rev. Biotechnol.* 18: 295–331.
- Chen, H. Z., and Liu, L. Y. (2007). “Unpolluted fractionation of wheat straw by steam explosion and ethanol extraction,” *Bioresour. Technol.* 98(13), 666-676. DOI: 10.1016/j.biortech.2006.02.029
- Chen, Y., Sharma-Shivappa, R. R., Keshwani, D., and Chen, C. (2007). “Potential of agricultural residues and hay for bioethanol production,” *Appl. Biochem. & Biotechnol.* 142(3), 276-290. DOI: 10.1007/s12010-007-0026-3
- Clark TA & Mackie KL (1987). Steam explosion of the soft-wood *Pinus radiata* with sulphur dioxide addition. I. Process optimization. *J. Wood Chem. Technol.* 7: 373–403
- Conservación de Energía en la Industria. (1990). Manual de recomendaciones. Sao Pablo. Instituto de Pesquisas Tecnológicas.
- Czaja W. K, Young DJ, Kawecki M & Brown RM (2007). The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications. *Biomacromolecules* 8: 1-12. of the scarab beetle *Pachnoda marginata*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 83: 135-48.
- Czaja WK, Young DJ, Kawecki M & Brown RM (2007). The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications *Biomacromolecules* 8: 1-12.
- Danner 2014, Procesos de biodigestión, snow Leopard.
- Duff SJB, Murray WD (1996) Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: a review. *Bioresour Technol* 55:1– 33. doi:10.1016/0960-8524(95)00122-0
- Eggeman T & Elander R.T (2005). Process and economic analysis of pre-treatment technologies. *Bioresour. Technol.* 96: 2019-2025.
- Elberson MA, Malekzadeh F, Yazdi MT, Kameranpour N, Noori-Dalooi MR, Matte MH, Shahamat M, Colwell RR & Sowers KR (2000). *Cellulomonas persica* sp. nov. And *Cellulomonas iranensis* sp. nov., mesophilic cellulose-degrading bacteria
- Escobedo de León, José. (2011). Biogás como combustible alternativo para una estufa y un motor de un cilindro ciclo OTTO. Univ. San Carlos de Guatemala.

- Fan, X., Cheng, G., Zhang, H., Li, M., Wang, S., Yuan, Q., Effects of acid impregnated steam explosion process on xylose recovery and enzymatic conversion of cellulose in corncob, *Carbohydr. Polym.* 114 (2014) 21.doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.051>
- German (1999). *Appropriate Technology Exchange*. Valencia, España. Disponible en: <http://afexparachicos.tripod.com/biogas.htm>, No. 112.
- Hatakka AI (1983). Pretreatment of wheat straw by white-rot fungi for enzymatic saccharification of cellulose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 18: 350–357
- Hendriks, A. T. W. M., and Zeeman, G. (2009). “Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass,” *Bioresour. Technol.* 100(1), 10-18. DOI: 10.1016/j.biortech.2008.05.027
- Henrissat, B (1991). A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochem. J.* 280: 309–316.
- Henrissat, B (1991). A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochem. J.* 280: 309–316.
- Holtzapfel MT, Humphrey AE & Taylor JD (1989). Energy requirements for the size reduction of poplar and aspen wood. *Biotechnol. Bioeng.* 33: 207–210.
- House, D. (1981). *Biogas handbook*, Edited by Peace Press, Culver City, USA. ISBN: 0-915288-47-0.
- Jeffries T.W (1994). Biodegradation of lignin and hemicelluloses. In: *Biochemistry of microbial degradation*. Ratledge C (ed.) Kluwer, Dordrecht, pp. 233–277
- Jeffries T.W (2006) Engineering yeasts for xylose metabolism. *Curr. Opin. Biotechnol.* 17: 320-326
- Kenney, W.F. (1969). *Energy Conservation in the Process Industries*. W. F. Kenney. Academy Press, p. 329, 1969.
- KEPLER Ingeniería y Ecogestión. (2014). Documental sobre la evolución del proyecto relativo a la tecnología de biogás, llevado a cabo en Arequipa, Perú. Etapas (hidrolítica y metanogénica).
- Kepler. (2012). *Planta de Biogas de Alto Rendimiento RM con Hidrólisis Secuencial*. Burgos.
- Kilzer FJ & Broido A (1965). Speculations on the nature of cellulose pyrolysis. *Pyrodynamics* 2: 151–163.
- Kurakake M, Ide N & Komaki T (2007). Biological pretreatment with two bacterial strains for enzymatic hydrolysis of office paper. *Curr. Microbiol.* 54: 424-428.
- Laura Cuervo BioTecnología, (2009). *Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol*. Vol. 13 No. 3 Centro de Investigación en Biotecnología,

- UAEM. Instituto de Biotecnología, UNAM. Av. Universidad 2001 Col. Chamilpa, Cuernavaca, Mor. 62209, México
- Li L, Li XZ, Tang WZ, Zhao J & Qu YB (2008). Screening of a fungus capable of powerful and selective delignification on wheat straw. *Lett. Appl. Microbiol* . 47: 415-420
- Li, Z. Q., Jiang, Z. H., Fei, B. H., Cai, Z. Y., and Pan, X. J. (2014). “Comparison of bamboo green, timber and yellow in sulfite, sulfuric acid and sodium hydroxide pretreatments for enzymatic saccharification,” *Bioresour. Technol.* 151 (2014), 91-99. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.10.060
- Lynd L, Weimer P, van Zyl W & Pretorius I (2002). *Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology.* *Microbiol. Mol. Biol. Rev* . 3: 506–577
- Medina-Carpio, O. C., Postigo-Collado, J., & Peña-Davila, G. (2017). Determinación de Parámetros para la Biodigestión Anaerobia de Broza de Páprika (*Capsicum annuum*),. *Seminario Internacional de Procesamiento de Residuos Orgánicos.*, 1, 30.
- MENARDO, S., AIROLDI, G., et al.: "The effect of particle size and thermal pre-treatment on the methane yield of four agricultural by-products". *Bioresour Technol*, vol 104, num 0, 2012, p. 708-714.
- Mes-Hartree M, Dale BE & Craig WK (1988). Comparison of steam and ammonia pretreatment for enzymatic hydrolysis of cellulose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 29: 462–468
- Millet MA, Baker AJ & Scatter LD (1976). Physical and chemical pretreatment for enhancing cellulose saccharification. *Biotech. Bioeng. Symp* . 6: 125–153.
- Ovando-Chacón SL & Waliszewski KN (2005). Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. *Universidad y Ciencia*, 21: 111-120.
- Overend and Chornet (1987) Farrukh Raza Amin^{1,2,4}, Habiba Khalid¹ , Han Zhang^{1,2}, Sajid u Rahman¹ , Ruihong Zhang³ , Guangqing Liu¹ and Chang Chen
- Overend RP, Chornet E (1987) Fractionation of lignocellulosics by steam-aqueous pretreatments. *Philos Trans R Soc London A* 321:523–536
- Palmqvist, E., and B. Hahn-Hagerdal. 2000. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification. *Bioresource Technology* 74:17–24.
- Pérez J, Muñoz-Dorado A, De la Rubia T & Martínez, E (2002). Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *Int. Microbiol* . 5: 53–63
- Quiroz-Castañeda RE, Balcázar-López E, Dantán-González E, Martínez A, Folch-Mallol JL & Martínez-Anaya C (2009). Characterization of cellulolytic activities of *Bjerkandera adusta* And *Pycnoporus sanguineus* on solid wheat straw medium. *Electron. J. Biotechnol.* [online]. <http://www.ejbiotechnology.cl/content/vol12/issue4/full/3/index.html>

- Ragauskas AJ, Williams CK, Davison BH, Britovsek G, Cairney J, Eckert CA, Frederick WJ Jr, Hallett JP, Leak DJ, Liotta CL, Mielenz JR, Murphy R, Templer R & Tschaplinski T (2006). The path forward for biofuels and biomaterials. *Science* . 311: 484-489.
- Ramakumar, R. (1981). Renewable Energy Sources and Rural Development in Developing Countries. *IEEE Transactions on Education*, USA E-24, 3, pp. 242-251.
- Ramos LP (2003) The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Quim Nov.* 26:863–871
- Reshamwala S, Shawky BT, & Dale BE (1995). Ethanol production from enzymatic hydrolysates of AFEX-treated coastal Bermuda grass and switchgrass. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 51/52: 43–55
- Rodrigo Señor, A. (2005). Obtención de biogás mediante la fermentación anaerobia de residuos alimenticios. Departamento de Calidad y Medio Ambiente, AINIA, Madrid, España.
- Rubin EM (2008) Genomics of cellulose biofuels. *Nature* 4: 841-845
- Ruiz E, Cara C, Manzanares P, Ballesteros M, Castro E. Evaluation of steam explosion pretreatment for enzymatic hydrolysis of sunflower stalks. *Enzyme Microb Technol.* 2008;42(2): 160-6.
- Schilling JS, Tewalt JP & Duncan SM (2009) Synergy between pretreatment lignocellulose modifications and saccharification efficiency in two Brown rot fungal systems. *Appl. Microbiol.*
- Sternberg D (1976). Production of cellulase by *Trichoderma* . *Biotechnol. Bioeng. Symp. Ser.* 6: 35–53.
- Sun Y & Cheng J (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresour. Technol.* 83: 1–11
- Theuretzbacher, et al (2014) Steam explosion pretreatment of wheat straw to improve methane yields: Elsevier 10.1016/j.biortech.
- Uri Marchaim Migal (1992). Galilee Technological Centre Kiryat Shmona, Israel FAO.
- Vidal PF & Molinier J (1988). Ozonolysis of lignin, improvement of in vitro digestibility of poplar sawdust. *Biomass* 16: 1–17
- Viola E, Cardinale M, Santarcangelo R, Villone A, Zimbardi F. Ethanol from eel grass via steam explosion and enzymatic hydrolysis. *Biomass Bioenergy.* 2008;32(7):613-8.
- Wang, S. J., Ouyang, X. H., Wang, W. Y., Yuan, Q. P., Yan, A. X., Comparison of ultrasound-assisted Fenton reaction and dilute acid-catalysed steam explosion pretreatment of corncobs: Cellulose characteristics and enzymatic saccharification, *RSC Adv.* 6 (2016) 76848. doi: <https://doi.org/10.1039/C6RA13125E>

- Weil JR, Sarikaya A, Rau SL, Goetz J, Ladish CM, Brewer M, Hendrickson R, Ladish MR (1997) Pretreatment of yellow poplar sawdust by pressure cooking in water. *Appl Biochem Biotechnol* 68:21–40. doi:10.1007/bf02785978
- Xing, Y., Ji, L., Liu, Z. P., Zhang, W. M., Jiang, J. X. (2015a). “Effects of Gleditsia saponin on high-solids enzymatic hydrolysis of furfural residues,” *Industr. Crops & Prod.* 64, 209-214. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.09.055
- Xu, W.; Fu, S.; Yang, Z.; Lu, J.; Guo, R. Improved methane production from corn straw by microaerobic pretreatment with a pure bacteria system. *Bioresour. Technol.* 2018, 259, 18–23. [CrossRef] [PubMed]
- Yen, H., & Brune, D. (2007). Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane. *Bioresource Technology*, 98(1), 130-4.
- Zamora González, L.; Cisneros Reina, L.; Macías Socarrás, I.; López Varela, A. (2006). Consideraciones sobre la utilización del biogás - Monografias_com.htm.
- Zhang X, Xu C & Wang H (2007) Pretreatment of bamboo residues with *Coriolus versicolor* for enzymatic hydrolysis. *J. Biosci. Bioeng.* 104: 149-51.
- Zhang, X., Yu, H., Huang, H., and Liu, Y. (2007). “Evaluation of biological pretreatment with white rot fungi for the enzymatic hydrolysis of bamboo culms,” *Internat. Biodeter. & Biodegrad. J.* 60(3), 159-164. DOI: 10.1016/j.ibiod. 2007.02.003
- Zhang, Z., Zhang, G., Li, W., Li, C., & Xu, G. (2016). Enhanced biogas production from sorghum stem by co-digestion with cow manure. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(21), 9153-9158. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.02.042.
- Zhao X, Cheng K & Liu D (2009) Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82: 815–827.
- Zhao X, Cheng K & Liu D (2009). Organosolv pretreatment of lignocellulosic biomass for enzymatic hydrolysis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82: 815–827.
- ZHENG, Y., ZHAO, J. (2015) "Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production". *Prog Energy Combust Sci*, vol 42, num 1, 2014, p. 35-53.

ANEXO 1: ANÁLISIS DE BROZA



Programa Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Sr(ce.)
Universidad Católica de Santa María
Arequipa
Arequipa



INFORME DE ENSAYO LNAA/020/021/2017

Resultados obtenidos de muestras remitidas por el solicitante y corridas en duplicado

Todos los resultados en base seca:

¹CNF estimados según NRC(2001)

²ENL estimada según NRC(2001) Ecuación para forrajes

Parámetros Nutricionales	Muestra	Broza de paprika	Broza de uva
	Código	020-17	021-17
Materia Seca Total (MST)**	(%)	29.98	22.76
Proteína Cruda (PC)	(%MS)	14.86	10.30
Extracto Etéreo (EE)	(%MS)	2.59	0.87
Fibra Det. Neutro (FDN)	(%MS)	31.05	46.53
Fibra Det. Acido (FDA)	(%MS)	25.11	36.91
Lignina Det. Acido (LDA)	(%MS)	8.10	14.07
Hemicelulosa (HCEL)	(%MS)	5.94	9.62
Celulosa (CEL)	(%MS)	17.01	22.84
Prot. Insol. Det Neutro (PIDN)	(%MS)	3.82	4.11
Prot. Insol. Det Acido (PIDA)	(%MS)	1.97	2.03
Cenizas (CZS)	(%MS)	13.61	8.38
Carboh. No Fibrosos (CNF) ¹	(%MS)	41.72	38.04
Energía Neta de Lact. (ENL) ²	(Mcal/kgMS)	1.30	1.04

Arequipa, 28 de agosto del 2017



** Materia seca total obtenida en estufa a 105 °C x 3h

MS, PC, EE, CZS según AOAC, (1990)

FDN, FDA, LDA, según Van Soest y Robertson, (1991), modificado por ANKOM, (2005)

PIDN, PIDA, según Van Soest y Robertson, (1991), modificado por ANKOM, (2005)

LABORATORIO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL - UCSM E.P. MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Telefono: 054-382038 Anexo 1186 Celular: 959670257 RPM: #959670257

lnaavet@ucsm.edu.pe

ANEXO 2:

Estadística de Porcentaje de células rupturadas.

Tabla 1:

Tratamiento	Temperatura °C	Presión (Bar)	R1	R2	R3
1	60	2	15	15	20
2	60	4	25	30	28
3	60	6	17	17	20
4	80	2	10	10	12
5	80	4	20	15	15
6	80	6	26	25	20
7	100	2	35	26	28
8	100	4	28	30	27
9	100	6	25	20	23

R-cuadrada = 52.4395 por ciento

Error estándar del est. = 6.35898

Cómo el ajuste del modelo sale con 52.44% no se empleará para tomar decisiones y no se procesará como análisis factorial solo con un análisis de varianza tradicional.

Tabla 2 ANOVA para porcentaje de metano a Primera medición.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	58.7106	3	19.5702	0.68	0.6013
Intra grupos	143.992	5	28.7983		
Total (Corr.)	202.702	8			

No existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 3 ANOVA para porcentaje de metano a segunda medición.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	111.823	2	55.9117	14.97	0.0275
Intra grupos	11.205	3	3.735		
Total (Corr.)	123.028	5			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 4 ANOVA para porcentaje de metano a tercera medición.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	52.39	3	17.4633	0.89	0.5174
Intra grupos	78.15	4	19.5375		
Total (Corr.)	130.54	7			

No existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 4 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 5 ANOVA para porcentaje de metano a Primera medición.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	7986.56	3	2662.19	22.42	0.0025
Intra grupos	593.667	5	118.733		
Total (Corr.)	8580.22	8			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza

Tabla 6 ANOVA para porcentaje de metano a segunda medición.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	18373.0	2	9186.5	6.78	0.0772
Intra grupos	4067.0	3	1355.67		
Total (Corr.)	22440.0	5			

No existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 7 para porcentaje de metano a tercera medición.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	54037.5	3	18012.5	22.17	0.0059
Intra grupos	3250.0	4	812.5		
Total (Corr.)	57287.5	7			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95.0% de confianza

	Casos	Media	(individual)	Límite Inferior	Límite Superior
H_BP	2	33.6	4.5	-23.5779	90.7779
H_BU	3	30.5667	3.99764	13.3662	47.7671
SH_BP	2	26.25	0.75	16.7203	35.7797
SH_BU	2	31.8	1.8	8.92883	54.6712

ANEXO 3: GALERÍA FOTOGRÁFICA



Figura 1: Termohidrolizando

La figura demuestra el proceso de termohidrolizado

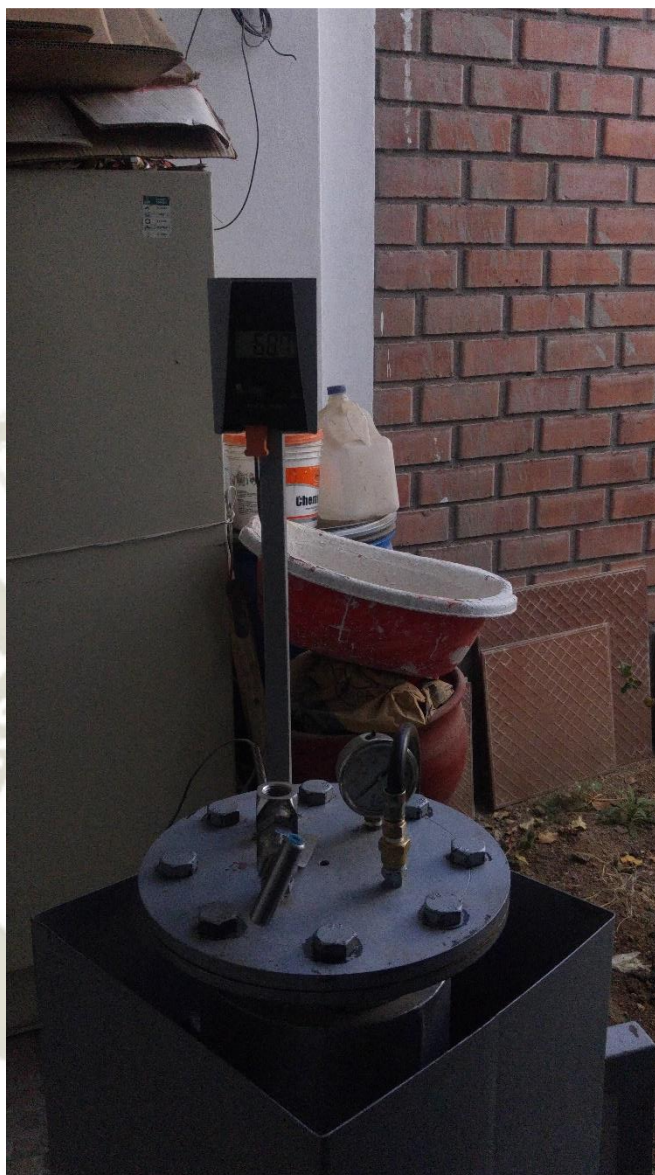


Figura 2: Termohidrolizador

Este equipo es un piloto construido con un proyecto de la UCSM, trabaja hasta 5 atmosferas y 200 grados centigrados



Figura 3: Medidor de biogas



Figura 4: Sistema Bach lab

Este sistema tiene temperatura controlada

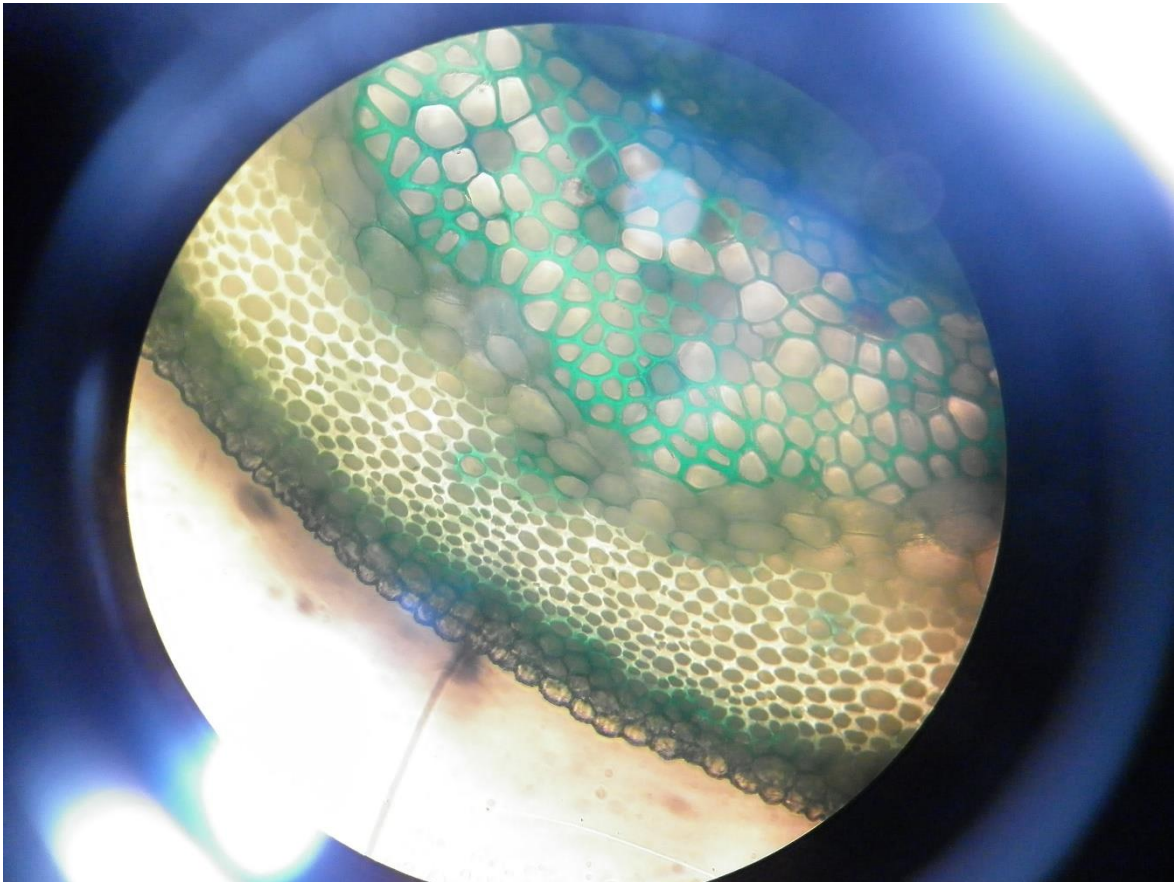


Figura 5: Broza de paprika sin termohidrolizar

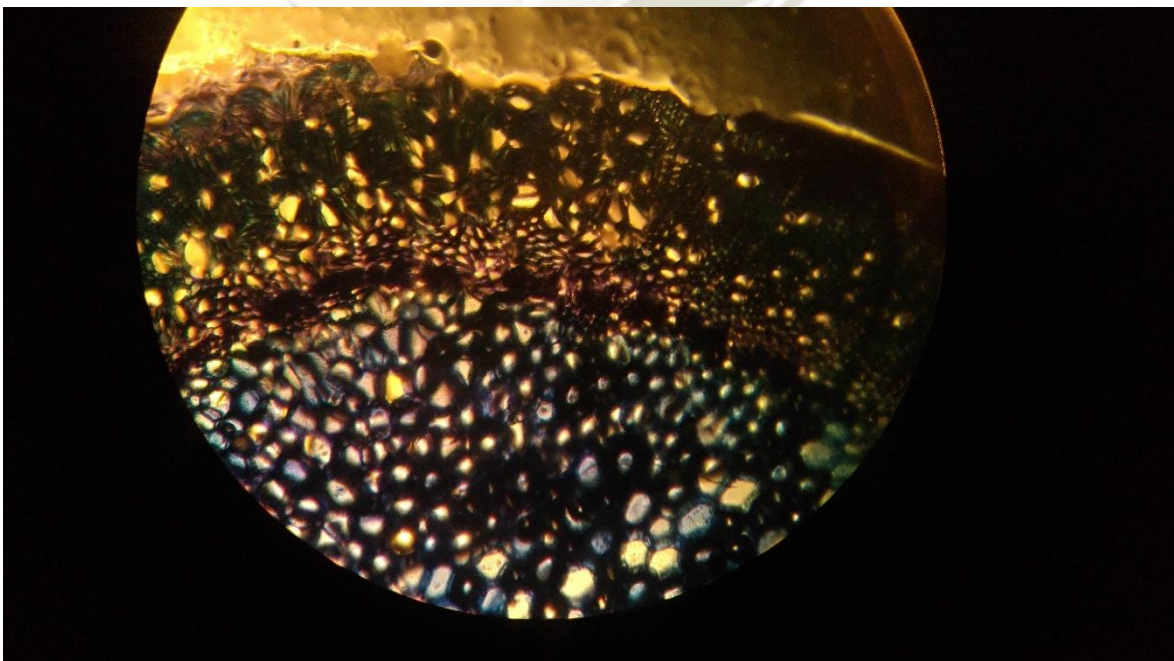


Figura 6: Broza de paprika Hidrolizada

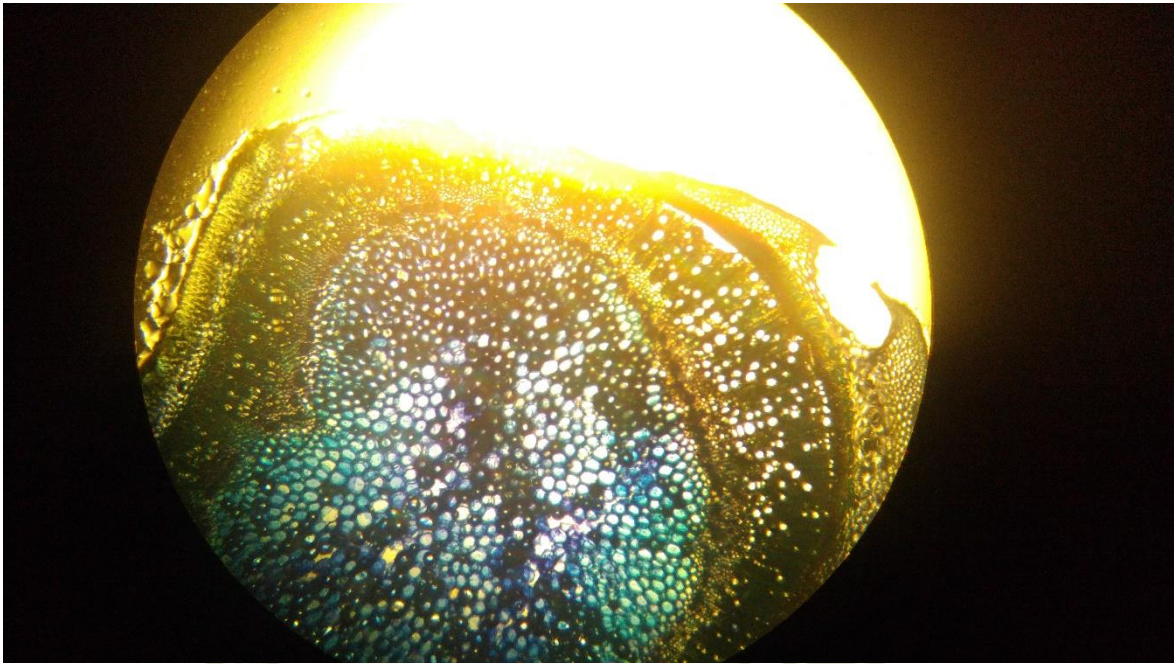


Figura 7: Broza De uva hidrolizada



Figura 8: 100x células rupturadas uva

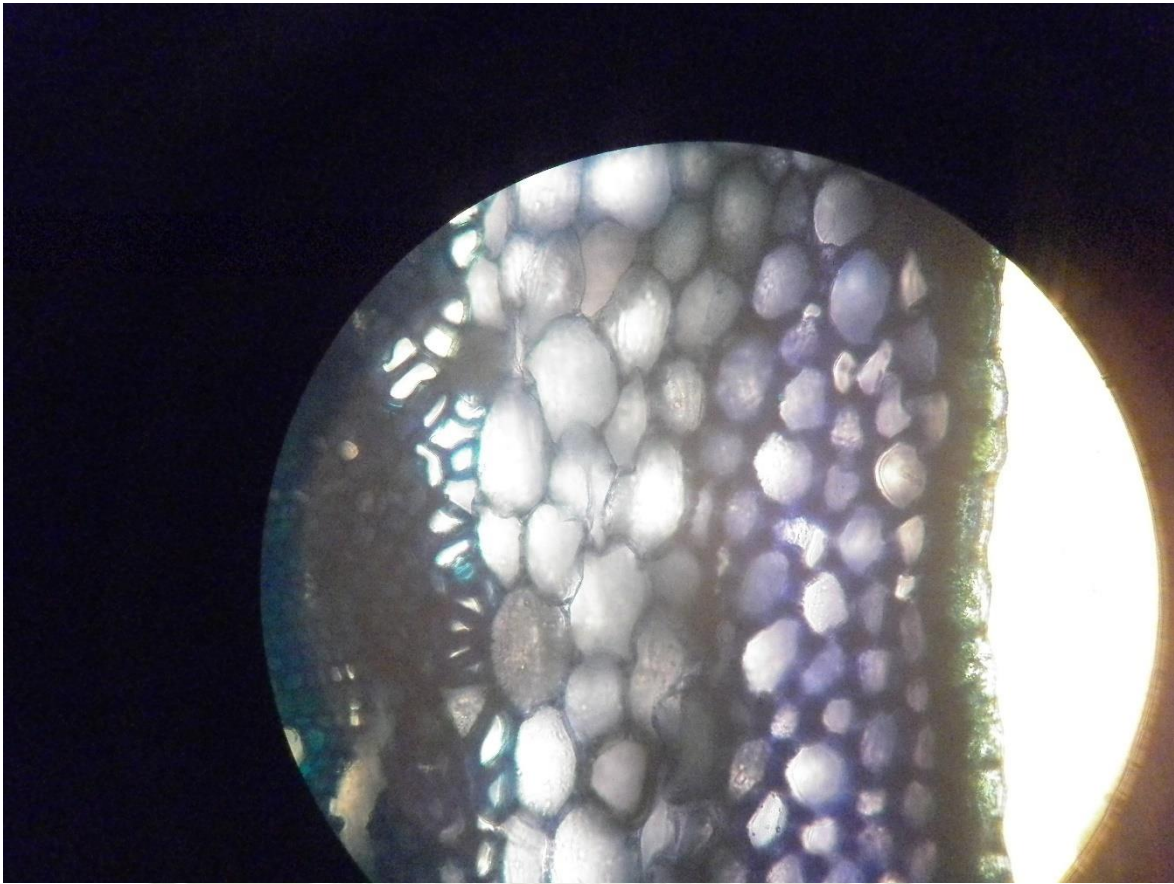
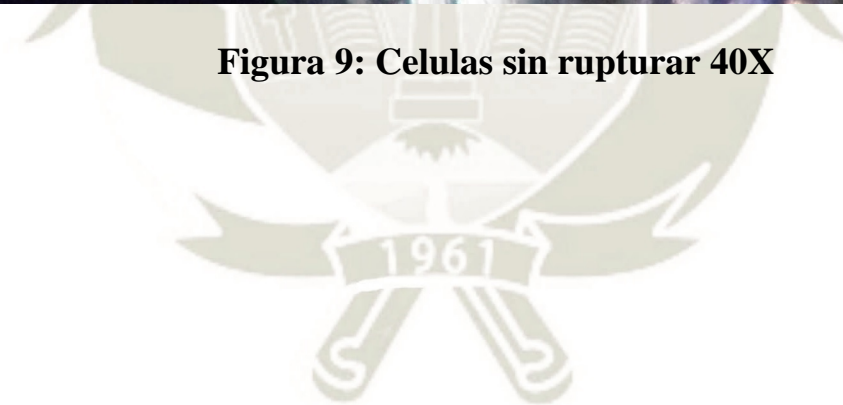


Figura 9: Celulas sin rupturar 40X



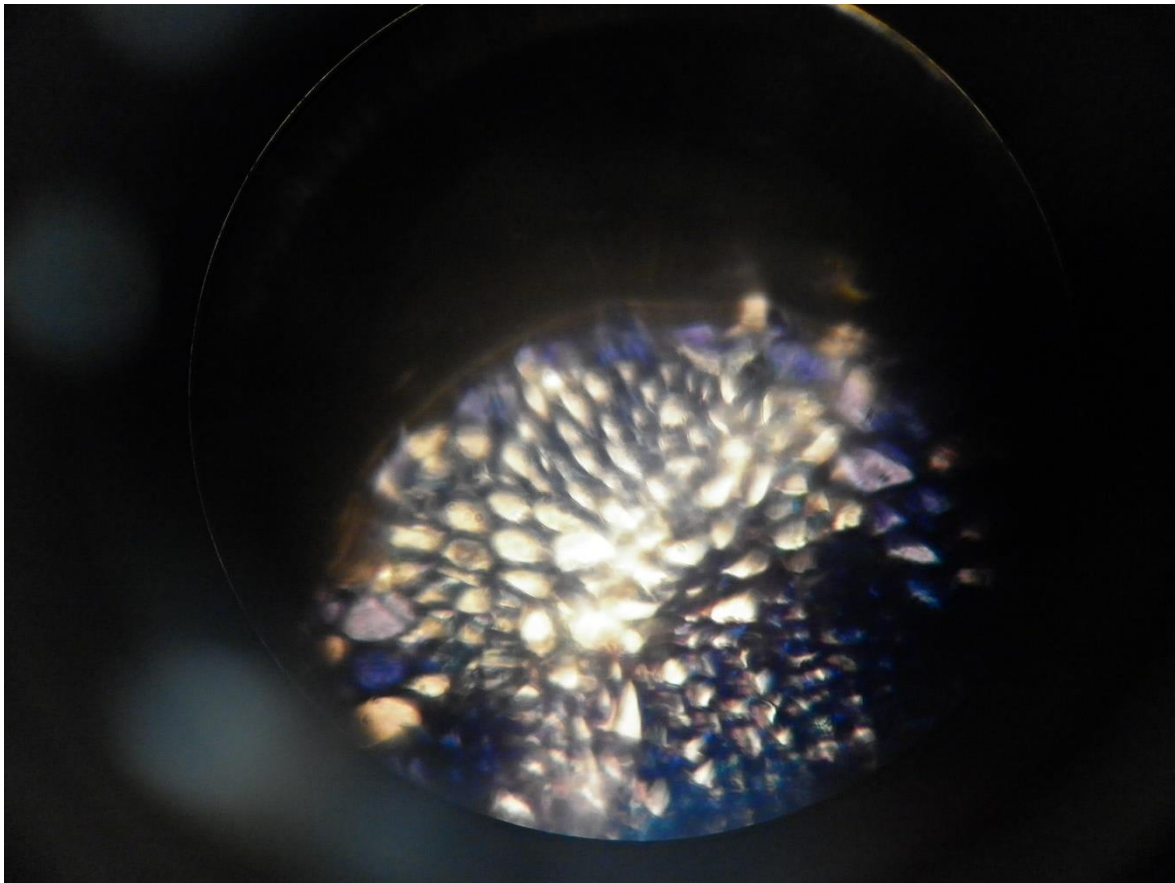


Figura 10: Células rupturadas de uva.

