



INGENIERÍA AMBIENTAL

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO DE LA CÁSCARA DE NARANJA MEDIANTE PROCESOS DE DIGESTIÓN ANAEROBIA EMPLEANDO PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO

NATALIA CHARRY LONDOÑO



Universidad[®]
Católica
de Manizales

VIGILADA MINEDUCACIÓN

*Obra de Iglesia
de la Congregación*



Hermanas de la Caridad
Dominicas de La Presentación
de la Santísima Virgen

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO DE LA CÁSCARA
DE NARANJA MEDIANTE PROCESOS DE DIGESTIÓN ANAEROBIA EMPLEANDO
PRETRATAMIENTO HIDROTÉRMICO**

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Ingeniería

Ambiental

Trabajo de grado en modalidad:

**Proyecto de investigación articulado al semillero Técnicas Avanzadas de Saneamiento
Ambiental**

Tutores

Juan Sebastián Arcila Henao¹

Santiago Osorio Piedrahita²

Autor

Natalia Charry Londoño¹

**Universidad Católica de Manizales
Facultad de Ingeniería y Arquitectura
Ingeniería Ambiental
Manizales**

2023

1.Orcid:0000-002-8890-472X

TABLA DE CONTENIDO

1. AGRADECIMIENTOS	5
2. RESUMEN	6
3. INTRODUCCIÓN	7
4. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA	11
5. PREGUNTA PROBLEMA	12
6. OBJETIVOS	13
6.1 OBJETIVO GENERAL	13
6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
7. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	14
8. ANTECEDENTES	15
9. MARCO TEÓRICO	17
10. METODOLOGÍA	23
11. ANÁLISIS DE RESULTADOS	27
12. CONCLUSIONES	32
13. RECOMENDACIONES	33
14. ANEXOS	34
15. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Esquema del modo de acción del pretratamiento en los materiales Lignocelulósicos.	20
Ilustración 2. Mufla de laboratorio para secado de biomasa	21
Ilustración 3. Molino de cuchillas	21
Ilustración 4. Equipo de generación de ultrasonido	22
Ilustración 5. Evidencia de triturado de la cáscara de naranja	23
Ilustración 6. Evidencia de secado de la cáscara de naranja a 30, 50, 70°C y Raw	24
Ilustración 7. Evidencia de hidrólisis térmica de la cáscara de naranja a 30, 50, 70°C y Raw	24
Ilustración 8. Evidencia de bioensayos de 30, 50, 70°C y Raw	25
Ilustración 9. Evidencia de la separación de fase sólida y fase soluble de las muestras con pretratamiento hidrotérmico de 30, 50, 70°C y Raw	26
Ilustración 10. Evidencia de empaque de las muestras con pretratamiento hidrotérmico de 30, 50, 70°C y Raw, para ser llevadas a análisis elementales como de toxicidad	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos de pruebas fisicoquímicas de la piel de naranja con diferentes temperaturas de secado	28
Tabla 2. Tipo de reactivo y su rango para pruebas de DQO soluble	38
Tabla 3. Preparación de complejo para determinación de prueba de proteínas	41

ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama 1. Fases del proceso de digestión anaerobia	18
Diagrama 2. Etapas de la metodología experimental	25

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Fase sólida en producción de biogás (Nml CH ₄ / gr DQO)	27
Gráfico 2. Fase líquida en producción de biogás (Nml CH ₄ / gr DQO)	27
Gráfica 3. Curva de Calibración de Compuestos Fenólicos	34
Gráfica 4. Curva de Calibración de Carbohidratos	34
Gráfica 5. Curva de Calibración de Azucares Reductores	35
Gráfica 6. Fosfatos con Tratamiento Hidrotérmico	35
Gráfica 7. Amonio con Tratamiento Hidrotérmico.	36

1.AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, dar agradecimiento a mi madre, me ha apoyado en todo mi proceso de formación profesional, en donde me motivo en cada momento para seguir adelante mis estudios, seguir en la búsqueda de conocimiento y cumplir con los propósitos planteados a nivel académico como personal; sin el apoyo de ella, no hubiera sido posible la concretización del proyecto de grado, por esta razón, agradezco infinitamente a mi madre por estar presente y apoyarme en cada paso que realice para culminar el proyecto de grado.

En segundo lugar, dar agradecimiento a la Universidad Católica de Manizales, durante los años de formación académica fueron esenciales para mi formación profesional, mediante su colaboración, dedicación y compromiso con los estudiantes, en donde se involucran en brinda una educación de alta calidad y con énfasis en formación integral humana, estas características de la Universidad Católica de Manizales ayudan a formar profesionales con un gran compromiso social, ambiental y espiritual.

En tercer lugar, doy agradecimientos al profesor Juan Sebastián Arcila y Santiago Osorio, que fueron mis mentores, por medio del conocimiento, recomendaciones, ideas y herramientas brindadas por ellos me ayudo a reforzar y mejorar conocimientos adquiridos en mi formación académica, además, resalto su gran compromiso y dedicación en el desarrollo del presente proyecto y en especial a Santiago Osorio, que fue clave en el desarrollo practico y teórico, sin la ayuda de él no hubiera sido posible el desarrollo completo del proyecto, y también, recalco que ambos son grandes profesionales con una gran vocación por lo que hacen, no solo en lo académico que son excelentes, sino también en la calidad humana, gracias por permitirme hacer parte de este proyecto.

2.RESUMEN

Los rellenos sanitarios son la técnica más utilizada para la disposición final de los residuos sólidos, en donde se compacta los residuos sólidos con suelo, y esto ocasiona efectos adversos en el medio ambiente como en la salud pública, por esta razón, es importante incluir técnicas alternativas para el tratamiento, aprovechamiento y valorización de los residuos sólidos.

Por otro lado, la aplicabilidad de la digestión anaerobia en residuos sólidos, ayuda a lograr la estabilización de los residuos sólidos; esta técnica disminuye la producción de sólidos volátiles y transforma la materia orgánica contenida en los residuos sólidos en gas (biometano).

En el presente estudio se evaluó el potencial bioquímico de metano de la cáscara de naranja mediante digestión anaerobia con tratamiento hidrotérmico para mejorar la producción de biometano en el sistema. Además, en la metodología se desarrolló el triturado, secado y ultrasonido (pretratamientos físicos) a la cáscara naranja antes de ser sometido a la hidrólisis térmica para generar aumento en la producción de biogás.

Y también, se realizaron 10 pruebas y son: DQO, fosfatos, amonio, alcalinidad, fenoles, producción de biogás, carbohidratos, azúcares reductores y ácidos grasos volátiles, además, las variables que se consideraron fueron las de DQO de la fase soluble y se ejecutó el diseño de biorreactores para la aclimatación de los lodos y biodigestores de control.

Se demuestra que los pretratamientos realizados son eficientes, ya que, la producción de biogás en la fase soluble con un secado de la muestra de la cáscara de naranja a 70°C fue de 505 mlCH₄/g SV y se presenta una disminución de compuestos furánicos (compuestos inhibitorios), permitiendo un funcionamiento eficiente en el sistema anaerobio.

3.INTRODUCCIÓN

A nivel Mundial

Los cítricos representan casi el 98% del total de cultivos industrializados, representando la naranja alrededor del 82% del total de cítricos producidos. Consecuentemente, la producción mundial total de cítricos fue de alrededor de 158,49 millones de TM en 2020, y Asia representó la mayor producción total de cítricos (47,7 %), seguida de África (43,7 %), América (8,1 %), Europa (0,4 %) y Oceanía. (0,1%). Entre los países productores de cítricos, China lidera con una producción de cítricos de 44,63 millones de TM, lo que representa el 28,16 % de la producción mundial total de cítricos en 2020 (Brasil, India y México son otros países importantes), cada uno de los cuales produce más del 5 % del total. A nivel mundial, alrededor de 10,07 millones de hectáreas de tierra están ocupadas para la producción de cítricos. China, India, Nigeria, Brasil y México son los principales países productores de cítricos del mundo (FAOSTAT, 2020).

La importación mundial de cítricos se estima en 14,57 millones de TM en 2015, con naranjas que contribuyen con alrededor del 47 %, seguidas de mandarinas (29 %), limón/lima (17 %) y pomelo (7 %). La Federación de Rusia es el principal importador mundial de cítricos y contribuye con el 10,63 % de la importación mundial. Por otro lado, Alemania (7,54 %), Francia (7,19 %), los Países Bajos (6,72 %) y los Estados Unidos de América (6,44 %) son otros importantes importadores de cítricos. En el contexto de la exportación mundial de cítricos, España ocupa la 1ª posición con una exportación anual de 3,64 millones de TM, lo que supuso el 24,06% de la exportación mundial total de cítricos en 2015 (FAO, 2017).

La exportación mundial de cítricos se estima en 15,62 millones de TM con naranjas que representan el 44,00 %, mandarinas casi el 30,50 %, seguidas de limón/lima (18,50 %) y pomelo (7,00 %). España es uno de los principales exportadores de naranjas (1,58 millones de TM), mandarinas (1,48 millones de TM) y limón y lima (0,52 millones de TM). Y en España, Sudáfrica, Turquía, Egipto, China y los Estados Unidos de América realizan el 5% de la exportación mundial total de cítricos (FAO, 2017).

A Nivel Nacional

La demanda mundial de energía, que aumentó casi un 150 % entre 1971 y 2015, se basa en más del 80 % en combustibles fósiles (IEA, 2015). Los combustibles fósiles son, con mucho, la mayor fuente de emisiones de Gases de Efecto Invernadero (GEI) y sus reservas son escasas, variables y desigualmente distribuidas (Harsono et al, 2015). Todos los esfuerzos para reducir las emisiones de GEI se centran actualmente en una transición del uso de la energía. En este sentido, las políticas de mitigación sugieren que la gestión de residuos podría ofrecer una importante fuente de energía limpia y alternativa que resultaría en una economía baja en carbono en general (Parlamento Europeo, 2009).

Los residuos lignocelulósicos parecen ser una materia prima prometedora en un escenario de suministro de energía renovable (Bentsen et al., 2014). Recientemente, los investigadores mostraron un mayor interés en la valorización de residuos agroindustriales para obtener materiales de valor agregado como aceites esenciales, pectina, alimentos para animales, carbones activados, adsorbentes de contaminantes, combustibles y energía (Batuecas et al., 2019 ; Mahato et al. al, 2018).

El jugo de naranja es un importante sector económico agroindustrial, que en consecuencia maneja una gran cantidad de residuos de cáscara de naranja y presenta un potencial muy alto para su valorización mediante su composición en aceites esenciales para la industria química (Domingos et al., 2019). Además, la explotación de OPW a partir de Digestión Anaeróbica (DA) (Calabrò y Panzera, 2018 ; Paone y Komilis, 2018) y en instalaciones de biorrefinería son procesos bien conocidos (Martín et al., 2010).

En el mercado cítrico internacional, Colombia no es un actor relevante. Sin embargo, el país cuenta con 71.338 ha de superficie sembrada con un rendimiento de 539.916 ton año⁻¹. En el caso específico de la naranja, ocupa el segundo lugar en producción nacional con 456.301 ton (DANE, 2017). El principal consumo es como fruta fresca y en jugo de naranja industrial.

Durante la producción de jugo de naranja, solo alrededor de la mitad del peso fresco de la naranja se transforma en jugo. El 50% restante consiste en pulpa, cáscara y semillas (Rezzadori et al, 2012). Cerca del 95% de estos residuos son cáscaras, y las cuales son un gran problema de disposición para esta industria ya que su manejo requiere recursos económicos y energéticos con el riesgo de contaminación del aire, agua y suelo.

Residuos de los cítricos y digestión anaerobia

El proceso de digestión anaeróbica (AD) se presenta como una de las mejores tecnologías ambientalmente sostenibles para reciclar CW y convertir varios productos valiosos como hidrógeno, ácidos grasos volátiles (AGV) y biogás . En el proceso AD, un grupo de consorcio microbiano autóctono o transformado utiliza desechos orgánicos como CW y convierte metabolitos secundarios a través de reacciones bioquímicas graves . Sin embargo, CW es un sustrato orgánico desafiante para los procesos de DA y los metanógenos , ya que el aceite de cáscara que domina el D-limoneno inhibe la existencia de microorganismos metanogénicos y sus actividades.

Sin embargo, la CP (calor específico) es esencial, porque al tener una mayor CP permite que se desarrolle una aclimatación y un control en la DA (digestión anaerobia), así mismo, produciendo AGV(ácidos grasos volátiles), que tienen el potencial de transformarse en bioplásticos, biobutanol y productos farmacéuticos, y luego usarse para cosméticos o alimentos para animales (Kumar et al, 2022).

Aunque CW es un material orgánico vital para DA, la evidencia científica aún señala varios desafíos con este proceso biológico y la necesidad de mejorar el proceso de fermentación y comprender el mecanismo asociado, como las tasas de carga orgánica (OLR), las características

de CW, los parámetros operativos, microbiano dinámica y vías metabólicas. Algunos estudios han informado que la dinámica bacteriana asociada con la DA es más importante para aclarar el rendimiento general de una DA dentro de una condición operativa distintiva. Además, un grupo particular de bacterias influye en las rutas metabólicas y aún es necesario articular una mayor conversión a otros metabolitos, mientras que la mayoría de las publicaciones anteriores se basan principalmente en la modificación de parámetros o reactores físico-químicos (Kumar et al, 2022).

Además de esto, en trabajos de investigación anteriores, se informó la optimización de OLR (que es OLR) para proporcionar una concentración adecuada de moléculas orgánicas biodisponibles para la utilización de células microbianas. Posteriormente, la sobrecarga de los biorreactores AD puede reducir el pH y inhibir la comunidad bacteriana metanogénica, que se conecta principalmente para la producción de biogás a través de acidogénesis. Por lo tanto, un OLR mayor podría ser beneficioso para suprimir el crecimiento de bacterias metanogénicas y conducir aún más a inhibir la generación de CH₄ durante la EA (Que es EA), pero mejoró la producción de AGV y su acumulación (Kumar et al, 2022).

Por otro lado, OLR (Tasa de carga orgánica) desempeña una acción vital durante la variación de la taxonomía de microorganismos durante el proceso DA en biorreactores. Por lo tanto, variaciones en el OLR puede usarse como herramientas esenciales que no solo cambian la población microbiana durante el proceso de DA, sino que también controlan significativamente la degradación de la materia orgánica, la producción de biogás y la acumulación de AGV. Sin embargo, la dinámica bacteriana también cambia la conversión de los productos finales durante el proceso de DA y aumenta la susceptibilidad de los microorganismos autóctonos a los metabolitos producidos (Kumar et al, 2022).

Hidrólisis Térmica

Por acción de la temperatura, la estructura física de los sólidos se transforma mediante reacciones químicas. Como en otros procesos químicos, este mecanismo está controlado por los valores de temperatura y tiempo de reacción (Fernández et al, 2015).

Y trabajando a temperaturas moderadas (100°C) es preciso mantener la reacción durante tiempos elevados (> 1 h), mientras que a temperaturas que superen un cierto límite (> 180°C) aparecen reacciones secundarias de degradación (reacciones de Maillard), que conducen a la formación de compuestos recalcitrantes no biodegradables e incluso tóxicos que disminuyen la biodegradabilidad global de los sólidos (Fernández et al, 2015).

Cuando un líquido a presión y temperatura elevada se descomprime rápidamente, se produce el fenómeno de ebullición súbita o de flash. A nuestros efectos, para mantener el balance de entalpía, una parte del líquido se vaporiza de forma instantánea, produciéndose la escisión de la corriente inicial de líquido presurizado en una corriente de líquido y otra de vapor, en las condiciones de temperatura correspondientes al equilibrio termodinámico a la nueva presión alcanzada tras la descompresión (Fernández et al, 2015).

En el caso de los lodos, mediante este mecanismo, el agua contenida en la estructura polimérica externa y en el interior de las células se vaporiza parcialmente, produciendo la rotura de la estructura celular tanto externa como interna. De acuerdo con Donoso-Bravo et al. (2011), hidrolizando lodo secundario a escala laboratorio y piloto, a temperatura constante de 170 °C lograda mediante inyección de vapor, el efecto de la explosión de vapor hasta presión atmosférica es mucho más significativo que el efecto térmico, observado en tiempos que fluctuaron entre 0 y 30 min (Fernández et al, 2015).

En el presente proyecto tiene como objetivo determinar qué condiciones de DQO son las óptimas después de desarrollar el pretratamiento hidrotérmico de la cáscara de naranja secada a diferentes temperaturas e identificar que secado de la cáscara de naranja secada presenta una mejor producción de biometano.

4.PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

Se estima que la industria de cítricos a nivel mundial genera 20 millones de toneladas de residuos orgánicos (Peñaranda et al, 2017) y en la industria colombiana desecha de 15 a 25 toneladas semanales de cáscara de naranja (Benítez, 2016).

Y la disposición final de los residuos orgánicos generados en la industria cítrica, es llevarlos o pagar a una empresa prestadora de servicio de aseo, para que lo depositen en un relleno sanitario (Alvarado et al, 2022), que es procedimiento frecuentemente utilizado para la gestión de los residuos sólidos en Colombia.

Al no ser aprovechados los residuos orgánicos y al estar contacto con diversos compuestos orgánicos e inorgánicos en el relleno sanitario, lo que ocasiona es la generación de emisiones de efecto invernadero, como: dióxido de carbono, biogás, entre otros; por el proceso de descomposición de la materia orgánica, mediante la DA (Digestión anaerobia) y también, se genera la producción de digestato que es un residuo líquido generado por la descomposición del material orgánico, afectando fuentes hídricas superficiales o subterráneas.

Por otro lado, la gestión de residuos de los cítricos es ineficiente, debido a los diversos compuestos que contiene, que son: valenceno, flavonoides, naringenina y β -caroteno (Solís et al, 2022); y los cuales su descomposición es muy lenta, por causa efecto, se genera la formación de compuestos tóxicos que desnaturalizan la composición de microorganismos beneficios que se encuentran en el ambiente como la generación gases como dióxido de carbono y metano, que son los causantes de los cambios climáticos.

Y también, por su porcentaje alto de humedad es complejo gestionar su aprovechamiento, además, si las personas están al contacto de los residuos de la piel de naranja en descomposición pueden contraer cáncer como una de las enfermedades no transmisibles más comunes por contaminación y aumentando los casos de enfermedades crónicas y poniendo en emergencia los centros hospitalarios.

5.PREGUNTA PROBLEMA

¿Al desarrollar la producción de metano de residuos cítricos, esto puede ser aumentado mediante tratamiento hidrotérmicos de baja severidad antes de ser vinculado a procesos de digestión anaerobia?

6.OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Evaluar el potencial bioquímico de metano de la fase soluble obtenida del pretratamiento hidrotérmico de la cáscara de naranja secada previamente a diferentes temperaturas.

6.2 Objetivos específicos

1. Evaluar diferentes condiciones de severidad del pretratamiento hidrotérmico para la solubilización de DQO (Demanda química de oxígeno) de la cáscara de naranja secada a diferentes temperaturas.
2. Determinar el potencial bioquímico de metano de los residuos solubles del proceso de hidrolisis térmica bajo las mejores condiciones de solubilización de DQO.

7. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Al ejecutar el presente proyecto, se desarrolla la identificación de oportunidades para fortalecer la gestión en residuos cítrico con relación a las estrategias de economía circular, en donde contribuye en la investigación y desarrollo de procesos alternativos para el aprovechamiento, reutilización, reducción y prevención.

Y así mismo, permitiendo la amplificación de la productividad y competitividad en el mercado nacional de los residuos CF (semillas, piel descompuesta, pulpa, hoja o lixiviado), mediante la creación de nuevos productos o servicios de alta calidad.

Además, favorece a un desarrollo óptimo de la cadena de producción de manera efectiva, eficiente y ayuda a mejorar la calidad de los recursos naturales y fauna, consecuentemente, aporta al cumplimiento del ODS 9 (Industria, innovación e infraestructura), ODS 12 (Producción y consumo responsable), ODS 13 (Acción por el clima), ODS 14 (Vida submarina) y ODS 15 (Vida de ecosistemas terrestres).

Finalmente, el proyecto es clave para la formación de un desarrollo sostenible, respecto al aprovechamiento y preservación de los residuos de origen de cítricos (piel de naranja) de modo seguro y eficiente con la finalidad de afianzar un producto de alta calidad que ayude al progreso y posicionamiento en el mercado nacional para llegar a un mercado global con sentido ambiental y social, y también, afianzar con otras asociaciones agroindustriales metodologías que permitan el mejoramiento del patrimonio natural caldense, fortalecer el desarrollo ambiental en Caldas y generar competitividad sistemática.

8. ANTECEDENTES

A Nivel Internacional

Los subproductos que se generan en la industria de cítricos son: semilla, orujo, cáscara y aguas residuales, los cuales tienen un porcentaje de 60% de peso de la fruta sin procesar, no obstante, el manejo de residuos orgánicos es ineficiente por parte de las industrias agro, por causa y efecto, genera impactos adversos al medio ambiente, salud pública y economía (Panwar et al, 2021).

Como consecuencia se ha integrado modelos sobre la reducción de residuos cítricos por las directrices de la Unión europea(UE), con el objetivo de formular políticas renovables a largo plazo en recursos que se pueden aprovechar, sean ambientales y benéficos en el ámbito socioeconómico. De esta manera, permitir una mejor gestión de residuos generados por la industria de los cítricos e integrar los conceptos de: economía circular (transformación de la economía en un sistema cerrado) y bioeconomía (reciclaje y valorización de los residuos agroindustriales) (Panwar et al, 2021).

Por consiguiente, los subproductos generados en el procesamiento de cítricos contienen fuentes ricas en vitaminas, polifenoles, pectina, fibras dietéticas y aceites esenciales, a partir de esto los subproductos se puede reutilizar en sectores industriales y de salud, como: sanitario, farmacéutico, textil, alimentario y cosmético. Se resalta, que los beneficios en la farmacéutica empleando compuestos orgánicos, en este caso cítricos contrae efectos positivos en la salud como: antimicrobiano, antiinflamatorio, antidiabético, entre otros. Se evidencia que la valorización de los residuos de los cítricos es eficiente y aplicable en tecnologías tradicionales, industriales y ecológicas (Panwar et al, 2021).

Por lo tanto, los residuos de cítricos presentan un compuesto, llamado: limoneno y es antimicrobiano en el aceite esencial, lo que conlleva, a generar desafíos para su uso en CPW o suplemento alimenticio para animales y no es eficiente para ser utilizado para la producción de energía renovable debido a su componente antimicrobiano (Teigiserova et al.2020).

Entonces, para realizar un tratamiento biológico es importante efectuar una degradación o eliminación de este componente, ya que, está constituido por mono terpenos cíclicos y hace parte del contenido de aceites esenciales, el cual se puede implementar como un solvente verde, agente quimiopreventivo, insecticida natural y biorrefinerías sostenibles, en donde se incluya temáticas químicas verdes. (Teigiserova et al.2020).

A Nivel Nacional

El contenido de lignocelulosa de la piel de la naranja es fundamental para la generación de fuentes de energía renovables, ellos están en gran cantidad y esto permite que la materia prima(biomasa) sea menos costoso, con lleva a dar un valor agregado mediante los diversos métodos que se utiliza para la formación de productos o bienes (Pooja et al, 2021).

Esto es debido, por los azúcares que contiene el material vegetal, en donde se genera una transformación fisicoquímica, física y biológica para convertirla en productos de alta calidad, por causa y efecto, al implementar energías renovables disminuye el uso de fuentes no renovables para así satisfacer la demanda energética de una zona y mejorar la calidad de los recursos naturales (Pooja et al, 2021).

9.MARCO TEÓRICO

En los últimos años se han desarrollado multitud de estudios científicos que tienen como objetivo revalorizar los desechos industriales y de esta forma incrementar los ingresos de las empresas al tiempo que se reduce la cantidad de residuos generados. Concretamente en el sector de las frutas y hortalizas se están desarrollando estudios en los que se intentan emplear los restos de las frutas y vegetales como materia prima para otros procesos, tanto de tipo fermentativo como fisicoquímico. Los residuos orgánicos pueden tener una composición muy variable. En cuanto al contenido de carbohidratos los podemos clasificar en tres grupos:

a) Material azucarado: son ricos en carbohidratos simples, por lo que no se necesita una hidrólisis previa para su fermentación. Ejemplos de este tipo de material son los residuos de caña de azúcar, remolacha o frutas.

b) Material amiláceo: tienen un contenido importante en almidón, un carbohidrato con una composición más compleja, por lo que resulta necesario aplicar una hidrólisis previa que rompa la molécula en carbohidratos más simples, con el objetivo de facilitar la fermentación por parte de los microorganismos. Ejemplos son residuos de tubérculos (como la patata) y cereales (como el trigo, maíz, cebada, centeno etc.).

c) Material lignocelulósico: son aquellos con un alto contenido en celulosa, hemicelulosa y lignina. Al igual que en el caso del almidón son carbohidratos complejos que no pueden fermentarse directamente, por lo que tienen que sufrir un proceso de hidrólisis. En este grupo se encuentran, por ejemplo, los residuos agrícolas y forestales como el papel, la madera etc.

En la actualidad, los materiales azucarados y amiláceos son los más empleados en las industrias para su revalorización, ya que son los más sencillos de utilizar y los más estudiados. En cambio, la complejidad en la composición de los materiales lignocelulósicos hace que se encuentren todavía en fase de estudio como una potencial fuente de obtención de productos de valor añadido, como pueden ser los biocombustibles.

(Rodríguez,2016).

Digestión Anaerobia y Potencial de Biogás

La digestión anaerobia es un proceso natural en el cual la materia orgánica residual, en ausencia de oxígeno, se descompone por la acción de microorganismos específicos que cooperan para obtener una fermentación estable y auto regulada.

La transformación bacteriana del material orgánico biodegradable, en un rango de temperatura que va desde temperaturas ambiente a 65H, da lugar a un gas de alto contenido energético al que se le denomina biogás. La materia orgánica en cuestión también produce otros productos que conforman la parte mineral de la materia y compuestos de difícil degradación.

Este desecho es el denominado digestato, y también “lodo anaerobio” cuando incluye la biomasa microbiana generada en exceso. El biogás obtenido, no es más que una mezcla de metano, dióxido de carbono y otras impurezas. Según Ayala-Mendivil & Sandoval (2018), al purificarlo, normalmente, se obtiene un gas con un 97 % de metano o más (Porteiro,2021).

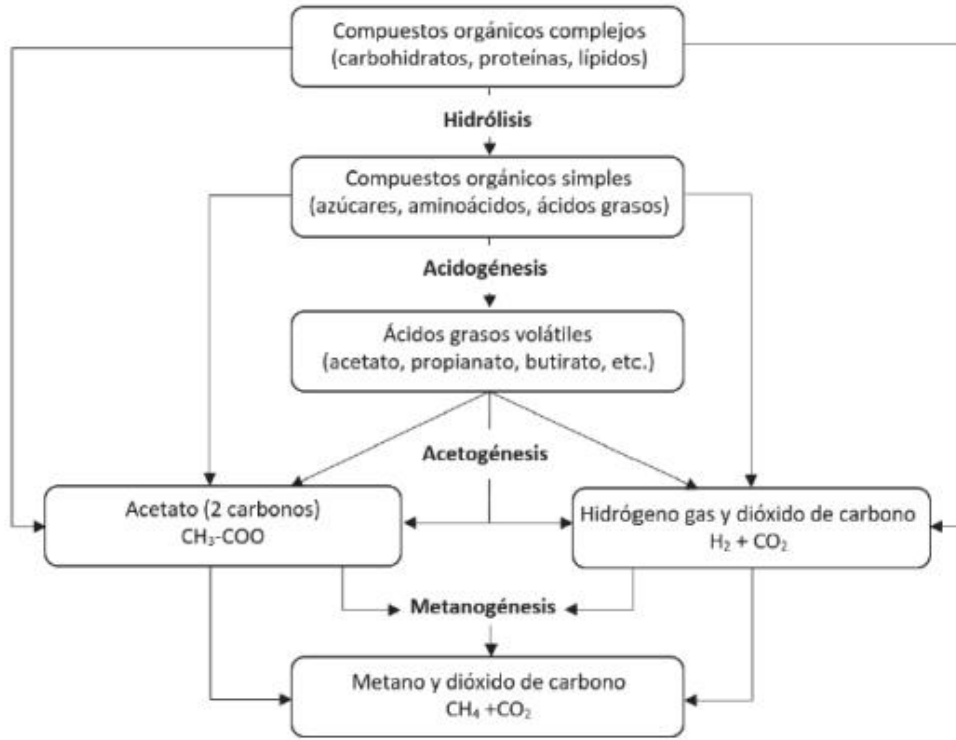


Diagrama 1. Fases del proceso de digestión anaerobia (González et al,2019).

Generalmente, el proceso de digestión anaerobia consiste en cuatro etapas diferenciadas (reflejadas en la Diagrama 1) en las que intervienen diferentes microorganismos responsables de la degradación del sustrato orgánico. La primera etapa es la hidrólisis, que consiste en la transformación de la materia orgánica compleja del sustrato (proteínas, carbohidratos y lípidos). Los microorganismos no pueden utilizar estas moléculas orgánicas directamente por ello las descomponen en productos solubles y simples, tales como: azúcares de cadena larga, ácidos grasos y aminoácidos tal y como podemos observar en la Diagrama 1.

Esta primera degradación, es posible gracias a las enzimas extracelulares producidas por las bacterias. Los aminoácidos derivados de la hidrólisis de proteínas, en un medio anaerobio, son degradados a dióxido de carbono, hidrógeno y ácidos volátiles además de poseer un elevado valor nutricional para la síntesis de material celular (González Pérez & Coira, 2019). Los ácidos grasos se forman por la ruptura de las grasas en la degradación de los lípidos, proteínas y carbohidratos. La lignina presente en la madera es importante en la formación de sus paredes celulares y cortezas. Además, es muy resistente a la degradación por microorganismos, y debido a esto, la degradación de los carbohidratos sucede de forma lenta cuando aparecen mezclados con la lignina. Como

consecuencia, la hidrólisis suele ser la etapa limitante del proceso con residuos de origen forestal. Esto se cumple para carbohidratos que forman parte de estructuras que contienen lignina (residuos lignocelulósicos, por ejemplo).

Por lo contrario, en carbohidratos aislados, como es el caso de la celulosa (una vez deslignificada) o del almidón, la degradación es más rápida. En la hidrólisis de carbohidratos se producen glucosa y ácidos uránicos entre otros productos de degradación. En esta etapa del proceso anaerobio las principales variables a tener en cuenta son: la temperatura, la composición del sustrato, el tamaño de las partículas, el pH y el tiempo de retención hidráulico y celular (González Pérez & Coira, 2019).

En la segunda etapa del proceso anaerobio, denominada acidogénesis o etapa ácido génica, es donde se produce la fermentación de los compuestos orgánicos simples, dando lugar a ácidos grasos volátiles (AGV) y compuestos más reducidos (acético, hidrógeno y dióxido de carbono) que serán utilizados directamente por las bacterias metanogénicas. En la acidogénesis se elimina el posible oxígeno que pueda quedar presente. Además, se produce alimento para las bacterias acetogénicas que intervendrán en la siguiente y tercera etapa del proceso, la acetogénesis.

En esta, los ácidos grasos volátiles son transformados en productos más sencillos (acetato e hidrógeno). La metanogénesis, es la última etapa de descomposición anaeróbica. Las bacterias que intervienen en esta etapa pueden ser contempladas, dentro del grupo de microorganismos anaerobios, como las más relevantes por su gran capacidad de generar metano utilizando diferentes sustratos mono-carbonados o en su defecto, átomos de carbono unidos por un enlace covalente (acetato, $H_2 + CO_2$, ácido fórmico, metanol y algunas metilaminas) como materia prima para su crecimiento (Corrales et al, 2015).

Podemos designar diferentes vías metanogénicas en relación con los grupos metanógenos que intervienen según el sustrato utilizado. Generalmente, se habla de dos grupos: hidrogeno tróficos (que consumen hidrógeno y dióxido de carbono; en ocasiones el ácido fórmico actúa también como sustrato para este tipo de bacterias por ser fuente tanto de H_2 como de CO_2) y acetoclásticos (consumidores de acetato). No obstante, cuando el metanol o cualquier compuesto metilado es el sustrato en cuestión, se puede hablar de metanógenos metilotróficos (Ferrer, 2010).

Se ha demostrado que el 70 % de metano producido en los digestores se forma por la descarboxilación de ácido acético y el resto proviene mayormente de la reducción de dióxido de carbono (González Pérez & Coira, 2019). Debido a esto, se considera que, la metanogénesis acetotrófica es el paso que limita la velocidad en los procesos anaerobios metanogénicos.

El biogás obtenido mediante este proceso puede ser, una vez purificado, un buen sustituto del gas natural por su alto contenido en metano. Desde el punto de vista del tratamiento de los residuos y la depuración, la gran ventaja del proceso anaerobio frente al aerobio es que, en el primero se genera energía. Sin embargo, en el proceso aerobio se necesita mucha energía para una aireación constante. Debido a esto, sería preferible la tecnología anaerobia como alternativa para la gestión de residuos, por ejemplo, utilizando aguas residuales de MDF como fuente de sustrato para la obtención de energía de bajo coste.

(Porteiro,2021).

Pretratamientos de los residuos

Esta etapa tiene como objetivo preparar la materia prima para alcanzar el máximo rendimiento en la etapa de producción y eliminar cualquier sustancia que pueda interferir en el proceso. Según las características del producto del que se parta el pretratamiento puede variar, pero las características principales que debe cumplir este pretratamiento son las siguientes:

o Aumentar el área superficial del material. o Disminuir la presencia de sustancias que dificulten las etapas de hidrólisis y de fermentación.

o Reducir el grado de cristalización de la celulosa y disociar el complejo ligninacelulosa evitando, en la medida de lo posible, la degradación de los carbohidratos.

o Empleo de reactivos económicos y reutilizables.

o Aplicable a diversos tipos de productos.

o Consumo energético bajo.

Por su naturaleza, los pretratamientos se pueden dividir en cuatro grupos: **físicos, físicoquímicos, químicos y biológicos.**

(Rodríguez,2016).

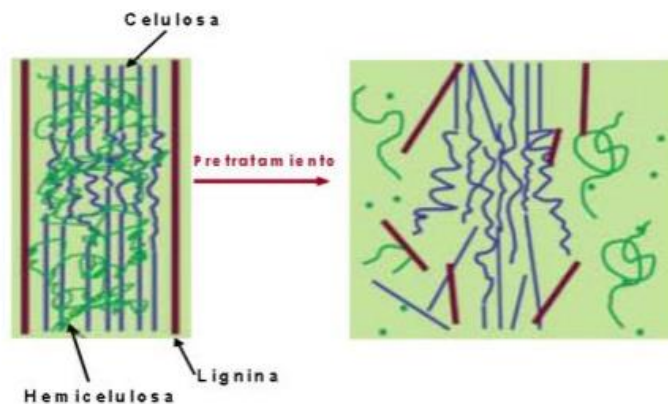


Ilustración 1. Esquema del modo de acción del pretratamiento en los materiales lignocelulósicos (Porteiro,2021).

Pretratamiento Físico

Secado

En esta primera etapa se elimina la mayor cantidad posible de agua, normalmente con aire caliente, aunque hay otros métodos, como la liofilización, pero son más costosos. Lo que se busca es preparar la materia para facilitar los procesos posteriores.



Referencia: <https://www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/horno-mufla.html>

Ilustración 2. Mufla de laboratorio para secado de biomasa.

Trituración mecánica

Consiste en una combinación de astillado y molienda, lo que reduce el grado de cristalización de la celulosa, aumenta la superficie específica y la densidad aparente, facilitando el proceso de hidrólisis posterior. Existen diferentes tipos de molinos (molino de bolas, de martillo, cuchillas, rodillos) y también se emplean extrusores que calientan, mezclan y cortan el material, provocando cambios físicos y químicos en el material lignocelulósico. El principal inconveniente de esta etapa es su elevado consumo energético, lo que depende del tamaño final de partícula y del tipo de material



Referencia: <https://slideplayer.es/slide/5620040/>

Ilustración 3. Molino de cuchillas

Ultrasonidos

Es una técnica empleada para extraer la lignina y la celulosa. Se lleva a cabo a temperatura ambiente y en periodos de tiempo variables, entre los 10 y 60 min. El principal inconveniente es que su efecto sobre la biomasa es muy superficial.

(Rodríguez,2016).



Ilustración 4. Equipo de generación de ultrasonido (Rodríguez,2016).

Pretratamientos Biológicos

Hidrólisis hidrotérmica

Este tipo de hidrólisis consiste en mezclar la biomasa con agua y someterla a unas elevadas condiciones de presión y temperatura. Las condiciones de presión y temperatura, así como la relación entre la masa de material y el volumen de agua empleado, cambian el grado de degradación final de la materia. A nivel industrial, se emplea como pretratamiento una hidrólisis, normalmente enzimática. Algunas cualidades del proceso de autohidrólisis frente a los procesos de hidrólisis empleando compuestos químicos son:

- Disminución del impacto ambiental por la ausencia de reactivos químicos distintos del agua y materiales vegetales.
- Obtención de bajas concentraciones de subproductos inhibidores de la fermentación, así como una menor cantidad de precipitados de lignina.
- Uso de pH moderados, lo que produce menores daños en los equipos y costes de neutralización y no se necesita un proceso de recuperación de ácidos. - Buen rendimiento del proceso.
- Aprovechamiento fraccionado de los componentes, como la hemicelulosa, lignina, azúcares, celulosa etc.

Por el contrario, para alcanzar los niveles de hidrólisis deseados, se requieren unas condiciones de presión y temperatura muy elevadas, lo que encarece el tratamiento desde el punto de vista industrial. Además, con este tratamiento, al igual que en el caso de la hidrólisis ácida, se pueden obtener compuestos furánicos, como el furfural y el HMF, capaces de inhibir la fermentación llevada a cabo por las levaduras.

(Rodríguez,2016).

10.METODOLOGÍA

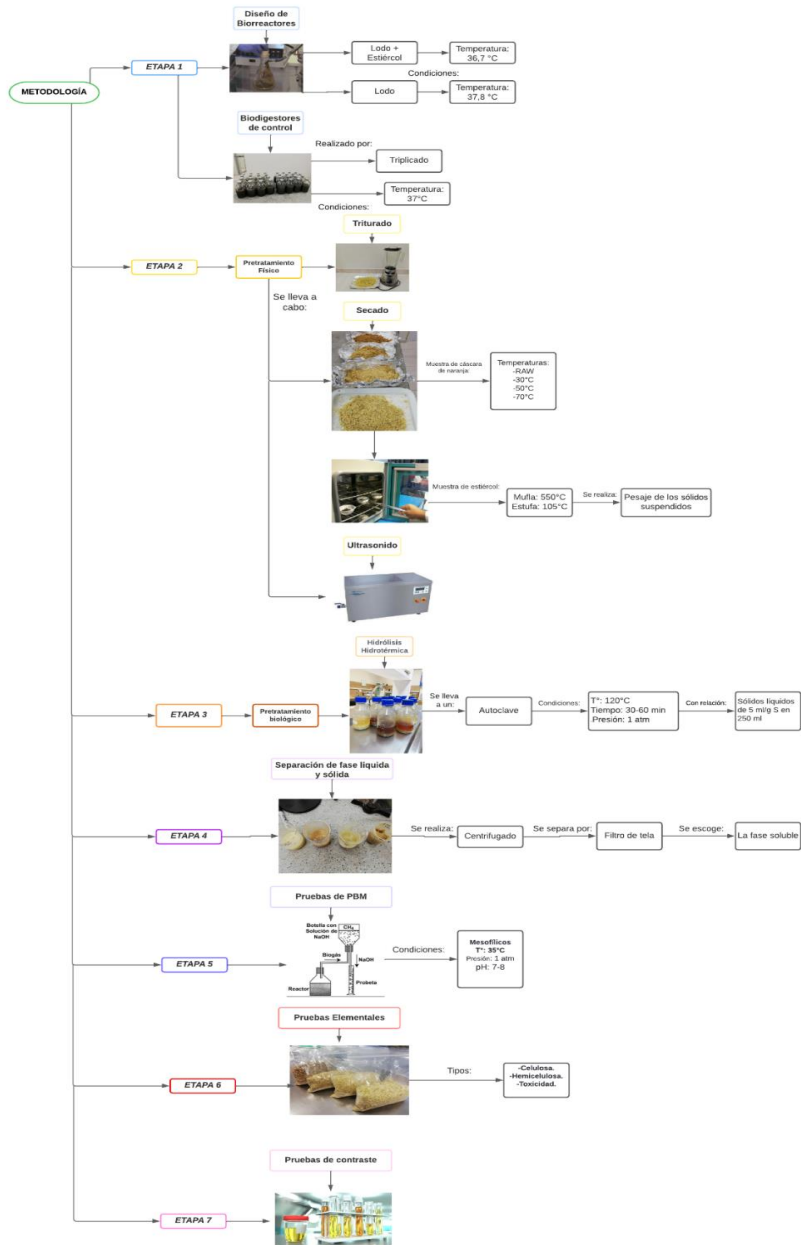


Diagrama 2. Etapas de la metodología experimental

Fase 1: Diseño de Biorreactores.

Se realiza un diseño con 2 Erlenmeyer de los lodos de los embalses San Francisco y Cameguadua, uno tendrá el lodo+ estiércol con una temperatura de 36,7°C y el lodo solo con una temperatura de 37,8°C, en donde se calientan con unas planchas en laboratorio.

Y adicionalmente, se le realiza medición de metano con una probeta con agua cada día, adicional, se tuvo en cuenta los parámetros de PH y temperatura, que son cruciales para aclimatar los lodos y que los microorganismos que están contenidos en los lodos tengan buenas condiciones para la degradación de compuestos y así mismo, lograr una buena producción de metano.

Fase 2: Pre-tratamiento físico de la cáscara de naranja

Tritura

Se realiza un triturado de la cáscara de naranja, mediante una licuadora de vidrio, para tener un tamaño de 10 mm.



Ilustración 5. Evidencia de triturado de la cáscara de naranja.

Secado

Después, de a ver triturado la cáscara de naranja, se somete a un pre-tratamiento térmico, en donde se divide las muestras por diferentes temperaturas de secado, que son 30,50,70 °C y Raw (sin pre-tratamiento), y por último, se lleva un desecado durante 5 o 10 min, para que las muestras secadas no adhieran la humedad del medio y disminuya su temperatura para poder realizar el pesaje del sustrato, para poder calcular el % de humedad de la muestra



Ilustración 6. Evidencia de secado de la cáscara de naranja a 30, 50, 70°C y Raw.

Además, a los lodos de los embalses San Francisco y Cameguadua, en donde se somete a la mufla a 550°C y para que el choque térmico no afecte la cerámica de los crisoles, pasa a la estufa a 105°C durante 10 o 15 min, y por último, se lleva un desecado durante 5 o 10 min, para que las muestras secadas no adhieran la humedad del medio y disminuya su temperatura para poder realizar el pesaje del sustrato, y poder realizar los pesajes de los sólidos totales, volátiles y fijos de los lodos.

Ultrasonido

Es una técnica empleada para extraer la lignina y la celulosa. Se lleva a cabo a temperatura ambiente y en periodos de tiempo variables, entre los 10 y 60 min. El principal inconveniente es que su efecto sobre la biomasa es muy superficial (Rodríguez,2016).

Hidrólisis térmica

La hidrólisis térmica es un pre-tratamiento de residuos biológicos, que consiste en aplicar alta presión y temperatura durante un cierto periodo de tiempo. Una vez conseguido la hidrolización,el proceso continúa con la digestión anaerobia mesofílica de los mismos. (Gurieff et al, 2010).

Para la preparación de las muestras con pre tratamientos de secado de RAW, 30,50 7 70 °C, se pesa 100 g de cada muestra y se disponen dentro de uno envases de vidrio (por triplicado), después de esto, se afora con agua y son rotulados con marcador, por último, se llevan a una autoclave a 120 °C con una presión de 1 bar a 3 tiempos diferentes 30,60 y 90.



Ilustración 7. Evidencia de la hidrólisis térmica de la cáscara de naranja a 30, 50, 70°C y Raw.

Fase 3: Bioensayos

Se realiza bioensayos de los lodos con sus respectivos negativos y positivos con sus respectivos triplicados de 30,50, 70 °C y Raw, en donde, se les saco el aire a cada biorreactor, para que estuviera en condiciones anaerobias, además; se realiza medición de metano de cada uno con hidróxido de sodio.



Ilustración 8. Evidencia de bioensayos de 30, 50, 70°C y Raw.

Fase 4: Separación de fase soluble y fase sólida

Para la separación de ambas fases se utiliza como filtro un pedazo de tela, para filtrar la fase soluble con mayor facilidad de las diferentes muestras de piel de naranja con pretratamiento térmico, en donde se depositaron en Erlenmeyer rotulados. Consecuentemente, para la fase sólida se le realiza un licuado a cada muestra, hasta que tenga una consistencia parecida a la de un puré.

No obstante, para este proyecto se utilizó la fase soluble para evaluar su potencial bioquímico de metano (BPM).



Ilustración 9. Evidencia de la separación de fase sólida y fase soluble de las muestras con pretratamiento hidrotérmico de 30, 50, 70°C y Raw.

Fase 5: Pruebas de potencial bioquímico de metano (BPM)

Se le desarrolla una medición cada día de la semana de BPM a cada muestra con diferente secado a los bioensayos, algunos de ellos explotaron o se desajustaron la tapa por el crecimiento de ácidos grasos volátiles y al a ver una gran producción de ellos como biometano, se explotan por la presión que ejerce el gas, además, se escogieron las DQO soluble con mejores condiciones, para desarrollar las pruebas de biometano.

Fase 6: Pruebas elementales

Se envía muestras de las diferentes muestras de piel de naranja a instituciones educativas como empresas privadas, para obtener, como: cuanta hemicelulosa tiene la piel de naranja, pruebas de toxicidad, entre otros.



Ilustración 10. Evidencia de empaque de las muestras con pretratamiento hidrotérmico de 30, 50, 70°C y Raw, para ser llevadas a análisis elementales como de toxicidad.

Fase 7: Análisis de Contraste

Por medio de los datos obtenidos en las pruebas de laboratorio, utilizando un espectrómetro se analiza la producción de metano después de ser sometido a pretratamientos físicos y biológicos, en casa una de las muestras de cáscara de naranja con diferentes secados, con la finalidad de

comprender que pretratamiento de secado de la cáscara de naranja tiene una mayor producción de metano.

11. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Digestión Anaerobia:

Fase sólida de biogás (DQO).

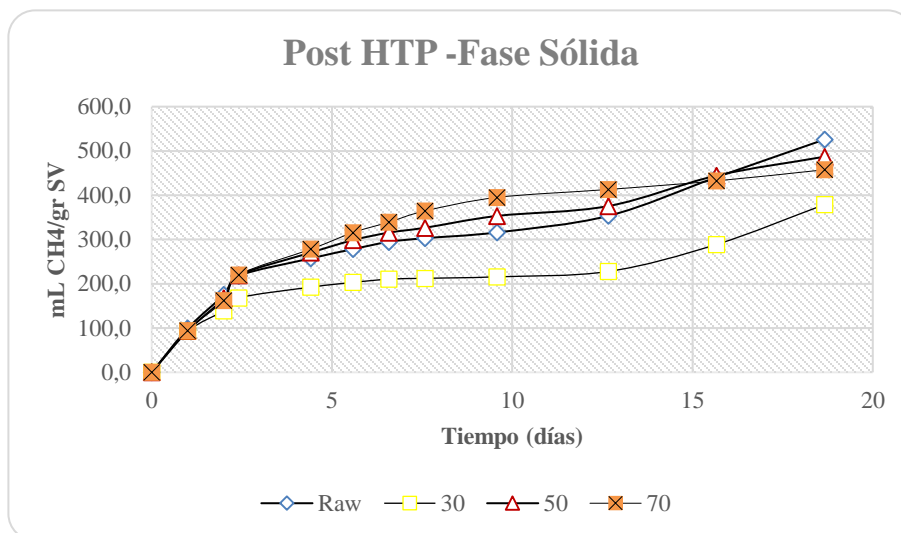


Gráfico 1. en producción (Nml CH4/ gr

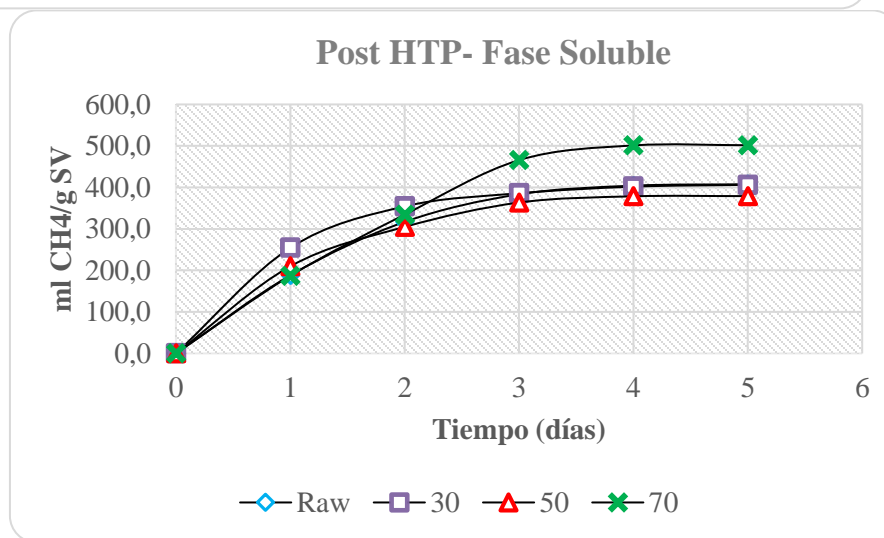


Gráfico 2. Fase líquida en producción de biogás (Nml CH4/ gr DQO).

En las **gráficas 1 y 2**, se desarrolló un cálculo de corrección a condiciones estándares en el volumen normalizado de metano, mediante la ecuación de gases ideales ($PV=nRT$). Consecuentemente, en la **gráfica 1**, se observa que hay un incremento significativo de metano, durante los primeros 8 días en las muestras de cáscara de naranja con un pretratamiento físico de 50°C y 70°C, y la muestra Raw (sin pretratamiento físico), en donde, las concentraciones van desde los 300 y 400 mlCH4/g SV.

En el caso de la muestra de cáscara de naranja con un pretratamiento físico 30°C tiene un aumento no tan significativo, el cual es de 200 mlCH4/g SV, además, en el día 9 hasta el 16 la producción de metano se estabilizó en los sistemas con diferentes secados o sin secado previo.

Cabe resaltar, que la muestra de cáscara de naranja con un secado de 70°C se estabiliza rápidamente y las concentraciones de mlCH₄/g SV van incrementando paulatinamente hasta el día 18, esto quiere decir, que es eficiente utilizar un pre tratamiento de secado del sustrato a 70°C.

Consecuentemente, la muestra Raw de cáscara de naranja presenta un pico de tendencia mayor que el de 70°C, que fue de 505 mlCH₄/g SV, al aplicar un cambio térmico tan abrupto, ocasiona cambios en el pH. Por esta razón, es importante tener tasas de carga orgánica (OLR) eficientes y saber la composición del sustrato a utilizar, para no perturbar los procesos metabólicos de los microorganismos.

Además, el suministro de nutrientes en el sistema de AD, con una tasa de carga orgánica con temperaturas demasiado bajas favorecen la disponibilidad de fósforo, pero si cuenta con una tasa de carga orgánica con altas temperaturas ayudan al almacenamiento e intercambio de fósforo, donde se precipita en el digestato (fase sólida) (Lia et al, 2022).

Por otro lado, en la **gráfica 2**, se observa que las muestras con secado de 50°C, 30°C y Raw tienen un crecimiento similar desde el día 2 con unas concentraciones de 300 y 370 mlCH₄/g SV, también, se estabilizan los sistemas hasta el día 5, pero se ilustra que la muestra con secado de 70°C tiende a incrementar en el día 2 con 350 mlCH₄/g SV y empieza a incrementar el día 3 a 500 mlCH₄/g SV, en donde se estabiliza el sistema.

Según Asla (Asla,2022), Los compuestos fenólicos y la producción de metano siguen una evolución diferente a la de los azúcares tanto totales como reductores, ya que, estos se degradan parcialmente y de forma menos acusada después de solubilizarse, Teniendo en cuenta los anteriormente mencionado, se analiza que la generación de compuestos fenólicos y de metano siempre estará presente en el sistema anaerobio independientemente la temperatura.

Por causa y efecto, desciende la producción de metano, pero consigo contrae la formación de compuestos fenólicos, los cuales son inhibitorios en la digestión anaerobia, por esta razón, se tiene que aumentar la temperatura del proceso de hidrólisis térmica, para poder romper compuestos complejos y simples que se encuentra en la fase soluble, por esta razón, la producción de biogás es eficiente, pero no lo suficiente como en la fase sólida, porque en la fase soluble se encuentra compuestos orgánicos e inorgánicos, pero al estar en un medio de calentamiento, esto permite el rompimiento de algunos carbohidratos complejos o simple.

Por lo tanto, deja átomos disueltos que se pueden adherir a otros compuestos y permite la formación de compuestos inhibidores, en donde el crecimiento de metano es rápido, pero se incrementa la formación de azúcares reductores, que permite la formación de compuestos como furfural que es inhibitorio , afectando la producción y siendo mínima su significancia de generación, en donde la metalogénesis se acelera y así mismo, propiciando la muerte de los microorganismos, perdiendo metano como microorganismos en el sistema.

Hidrólisis térmica:

		Código de muestra			
		RAW	30	50	70
DQO	Concentración (mg/L)	6129	699	3834	5754
Azúcares Reductores		227,5	82,5	307,5	214,166667
Fenoles		72,87	83,9	38,02	86,21
Proteínas		6087,69	21789,74	617,44	27661,54
Carbohidratos		16450	17450	6116,67	657.833.333
Fosfatos		104,5	136,7	135,7	170
Amonio		4,555	6,56	4,385	4,195
AGV		-	599,33	-	-

Tabla 1. Datos de pruebas fisicoquímicas de la piel de naranja con diferentes temperaturas de secado de fase soluble.

Se presenta en la **Tabla 1**, los valores de las pruebas fisicoquímicas de laboratorio del sustrato (piel de naranja) con pretratamiento térmico de 30,50 y 70°C y también, sin pretratamiento (Raw), se evidencia que la cáscara de naranja con secado de 70°C tiene una mayor concentración de DQO, fenoles, proteínas y fosfatos, porque al disminuir la humedad del sustrato y al someterse a un proceso hidrotérmico en un medio anaerobio, las bacterias del medio se les facilita degradar los compuestos complejos como hemicelulosa y lignina, pero a su vez incrementa la producción de compuestos fenólicos, azúcares reductores, proteínas y fosfatos, debido a incrementos de temperatura, en donde se acelera la formación de los compuestos anteriormente nombrados, los cuales incrementan su concentración en un tiempo menor y se estabiliza la producción de los compuestos nombrados anteriormente como la producción de biogás.

Y esto se debe a los **hidroxicinámicos (HCA)**, se sintetizan a partir de los aminoácidos fenilalanina y tirosina por la acción de la fenilalanina amonio-liasa (PAL) y tirosina amonio-liasa (TAL), respectivamente, que dan lugar al ácido cinámico, precursor de los ácidos cumárico, cafeico y ferúlico. La conjugación de estos ácidos con aminas biógenas produce la síntesis de las amidas derivas de ácidos hidroxicinámicos (HCAA).

Y según Lia (Lia et al, 2022), En el proceso de AD (Digestión Anaerobia), la temperatura puede afectar las actividades metabólicas microbianas y las reacciones químicas ([Strømme, 1994](#) ; [Li et al., 2010](#)). La mayoría de las plantas de biogás industrializadas operan en condiciones mesófilas (30–42 °C) o termófilas (50–60 °C) ([Yu et al., 2014](#) ; [Westerholm et al., 2018](#)), lo que teóricamente afecta la especiación de P (Fósforo) debido a la diferente fuerza impulsora termodinámica a diferentes temperaturas([Rahman et al., 2018](#) ; [Song et al., 2002a](#)).

Con lo citado anteriormente, se analiza que la temperatura utilizada en el estudio en condición mesófilica fue 35 °C, esto indica que se utilizó una temperatura entre los rangos industriales de plantas de biogás, en donde la especiación de fósforo en la AD (Digestión Anaerobia) se verá afectada por cambios térmicos ocasionando cambios en el pH. Por esta razón, es importante tener tasas de carga orgánica (OLR) eficientes y saber la composición del sustrato a utilizar, para no perturbar los procesos metabólicos de los microorganismos.

No obstante, al tener concentraciones de DQO tan altas limitan la degradación de compuestos inhibitorios, a partir de esto, se genera una gran dificultad para los microorganismos para asimilar o degradar los compuestos complejos contenidos en la piel de naranja. Consecuentemente, al tener un incremento de proteínas no permite que se desarrolle la fase de la acidogénesis, rápidamente, esto es ocasionado por que no se degrada eficientemente los productos generados por los lípidos, también, se tiene en cuenta que la biodegradabilidad es menor por causa de los pretratamientos térmicos, y así mismo, la biodegradabilidad de los aminoácidos será menor.

Por otro lado, la cáscara de naranja con secado de 30°C, tiene un incremento significativo de carbohidratos, amonio y AGV.

Se cree que el amoníaco es el principal compuesto que causa la inhibición de las bacterias metanogénicas debido a que dicho compuesto puede penetrar la membrana de las bacterias. Experimentalmente se ha comprobado que el efecto inhibitorio del amoníaco libre aumenta a pH alcalinos. Además del pH, la cantidad de amoníaco libre depende de la concentración del sustrato, de la relación C/N, de la capacidad tampón del medio y de la temperatura del digestor (Chen et al, 2008).

Con lo anteriormente nombrado, los residuos utilizados en la cogeneración en nuestro caso de estudio que fueron estiércol de vaca y residuo de piel de naranja ejecutando un pretratamiento hidrotérmico, se obtuvo una concentración de 6,56 mg/l, en donde, estas concentraciones son benéficas en los procesos biológicos que se desarrollan en el AD (Digestión Anaerobia). De modo que, el procedimiento de hidrólisis térmica disminuye las concentraciones mayores a 200 o sorbe 3000 mg/l de amoníaco en el AD, las cuales ocasionan efectos inhibitorias y tóxicos en los procesos biológicos de los microorganismos independientemente el pH (Flotats et al, 2016).

Y según Rodríguez (Rodríguez, 2016), realizaron un proceso hidrotérmico mediante autoclave a diferentes temperaturas (120, 128 y 135 °C) durante 5 minutos y obtuvieron unos datos de concentración de carbohidratos entre 70 y 80 mg/l con temperaturas de 128°C y 135°C, por causa y efecto, los datos de concentración de carbohidratos son diferente entre el estudio realizado por la Universidad de Oviedo y el realizado en laboratorio, debido a diferencias de ejecución del proceso hidrotérmico.

Por lo tanto, se analiza que hay una mayor concentración de carbohidratos en la fase soluble en nuestro proyecto de estudio que el realizado en la Universidad de Oviedo, esto es debido a las elevadas condiciones de temperatura a la que se sometió la biomasa con agua del estudio de la Universidad de Oviedo, efectuando un cambio de grado de degradación final de la biomasa y así, obteniendo concentraciones bajas de carbohidratos como subproductos inhibidores y precipitados de lignina (Rodríguez, 2016).

De modo que, la condición de temperatura del pretratamiento de hidrólisis térmica planteada en nuestro proyecto no es el óptimo para el rompimiento de carbohidratos complejos y tener el riesgo de obtener compuestos inhibidores como: furánicos, que es capaz de inhibir la fermentación llevada a cabo por bacterias (Rodríguez, 2016).

No obstante, los compuestos fenólicos generados en un sistema anaerobio, según Arhoun (Arhoun,2017), Los residuos pobres en celulosa generan los ácidos grasos volátiles rápidamente y un aumento de su concentración provoca una rápida acidificación del sistema. En el caso particular de la digestión anaerobia de extrusionado de fresa, aparece la desventaja adicional de una alta concentración de lignina, que se concentra principalmente en los gránulos. Debe indicarse que la lignina libera compuestos fenólicos en condiciones anaeróbicas, que son bien conocidos como inhibidores de la propia digestión.

Con lo anteriormente nombrado, aunque es un tipo de especie vegetal diferente al caso de estudio, se evidencia que ambas frutas (fresa y naranja) bajo condiciones anaerobias producen compuestos fenólicos, esto es debido a una alta concentración de carga orgánica en el sistema, en donde permite la formación tanto de ácidos grasos volátiles y así mismo, la generación de compuestos fenólicos, que afectan la condición de ph, en donde el medio inicialmente es ácido y para controlar estos valores, se debe realizar una alimentación o agregar hidróxido de sodio al medio para tener un medio neutral, para que no afecte la digestión anaerobia y se produzca cantidades favorables de biogás.

Entonces, según Corona (Corona, 2017), al incrementar la temperatura, el rendimiento de AR también se incrementa. Sin embargo, no hay diferencia significativa entre 160 °C y 180 °C. Desde un tiempo 0 se obtiene un rendimiento de 0.21 g AR/ g CN, esto debido a que la CN en sí contiene azúcares solubles y también, según Rodríguez (Rodríguez, 2016), obtuvo concentraciones de azúcares reductores entre 0 a 1000 mg/l con un proceso hidrotérmico mediante autoclave a diferentes temperaturas (120,128 y 135 °C) durante 5 minutos.

Y se analiza que, en los estudios de la Universidad Autónoma de México y Universidad de Oviedo, tiene una similitud en respuesta a utilizar temperaturas elevadas en el proceso hidrotérmico, ya que, al trabajar con temperaturas mayores a 120°C, ayudan a la degradación de hemicelulosa y celulosa simultáneamente, consecuentemente, hay una transformación acelerada de lignina, celulosa y hemicelulosa.

Y hay un aumento en las concentraciones de fructosa y glucosa en temperaturas menores a 160°C, no obstante, en temperaturas mayores a 160°C contienen una cantidad menor de azúcares reductores, pero si se encuentra contenido de xilosa. De modo que, al utilizar temperaturas superiores a 160°C con un tiempo de 30 min se desarrolla en los azúcares reductores procesos de hidrolizados, sin embargo, se encuentra compuestos de furano, el cual es un compuesto inhibitorio que ocasiona perturbaciones en la actividad enzimática (Corona, 2017).

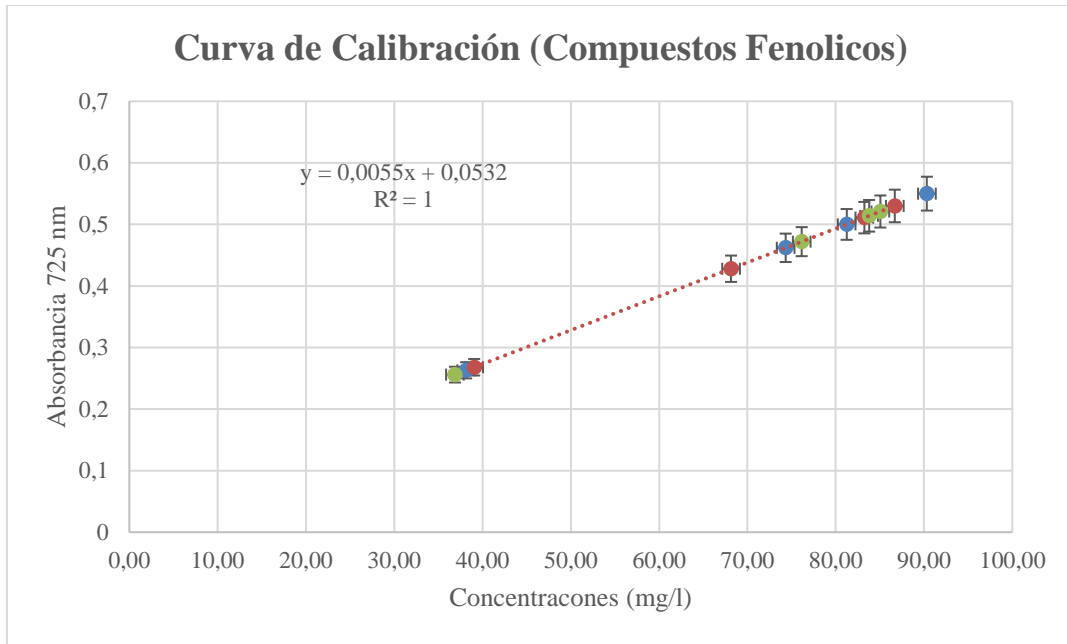
12. CONCLUSIONES

- En conclusión, la cáscara de naranja de la fase soluble con un pretratamiento de secado a 70°C obtuvo una mayor producción de biogás, esto indica que los pretratamientos previos son importantes, ya que, permite un rompimiento de hemicelulosa, celulosa o lignina, así mismo, ayudando a la asimilación de compuesto complejos a los microorganismos que están en un medio anaerobio, logrando una degradación eficiente, y también, obtener un aumento en la producción de biogás en menor tiempo.
- Como se evidencia en el presente proyecto, la producción de compuestos fenólicos no es tan alto, por causa y efecto, los pretratamientos físicos que se llevaron a cabo colaboraron a la degradación y rompimiento de compuestos inhibidores como el furfural que se puede encontrar en el sistema anaerobio del estudio, en donde el sistema de co-digestión se mantuvo estable hasta finalizada la etapa experimental del proyecto.

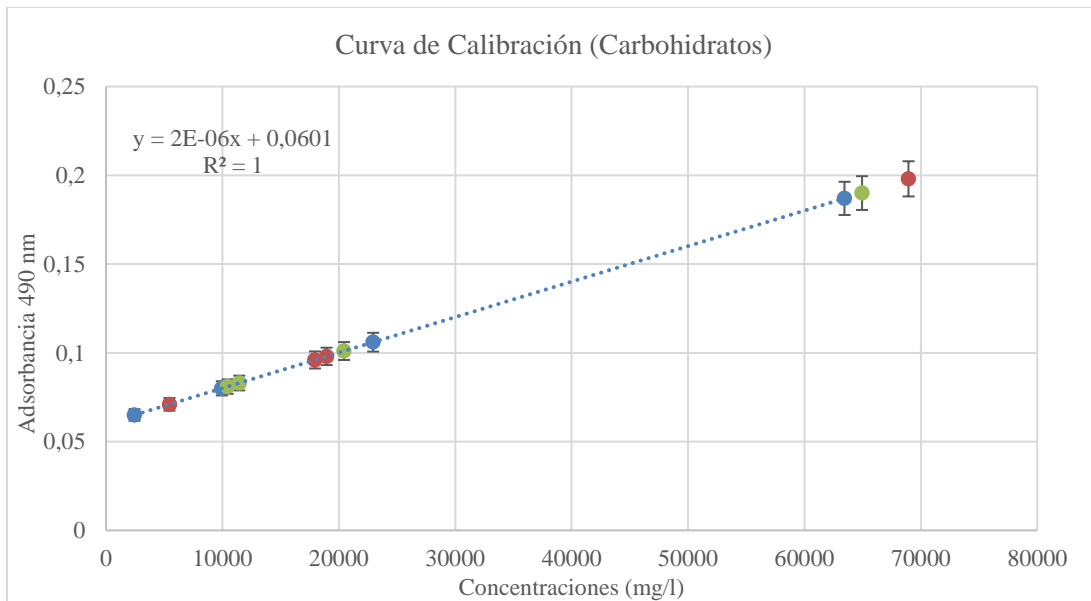
13.RECOMENDACIONES

Desarrollar pruebas de hidrolisis térmica a diferentes temperaturas entre 120,160 y 180 °C, ya que, en diversos estudios se ejecutó con diversas temperaturas, con la finalidad de determinar que temperatura seria la óptima para el tratamiento de sustrato hemiceluloso consigo determinando la eficiencia de remoción o degradación de compuestos complejos en el sustrato y también, obteniendo una buena producción de biogás en el sistema anaerobio.

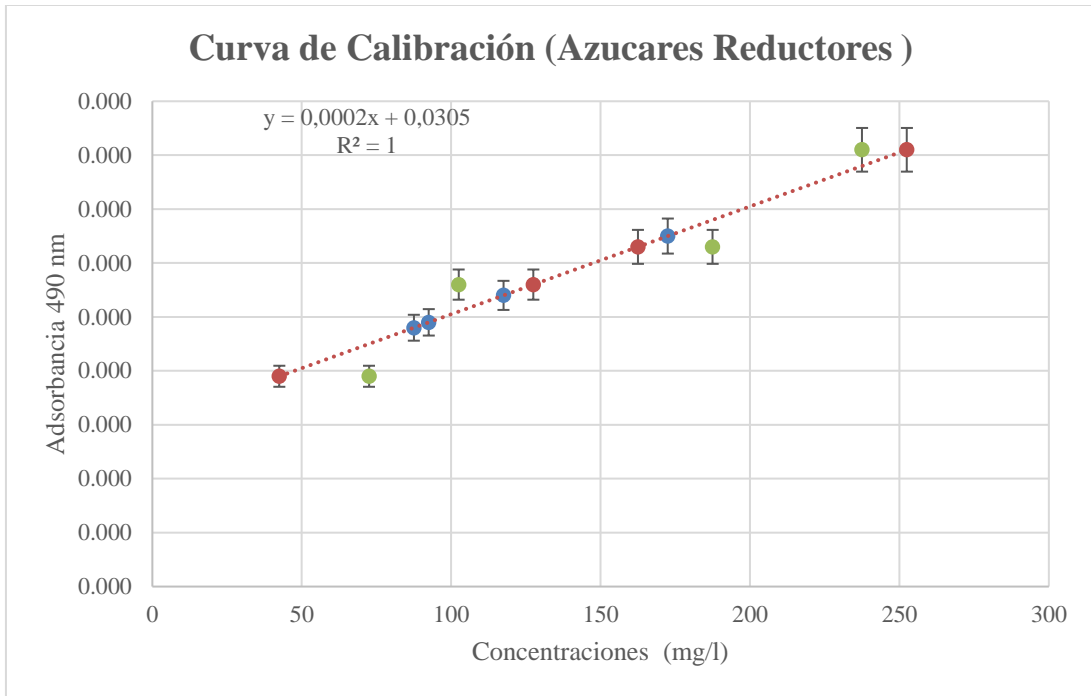
14.ANEXOS



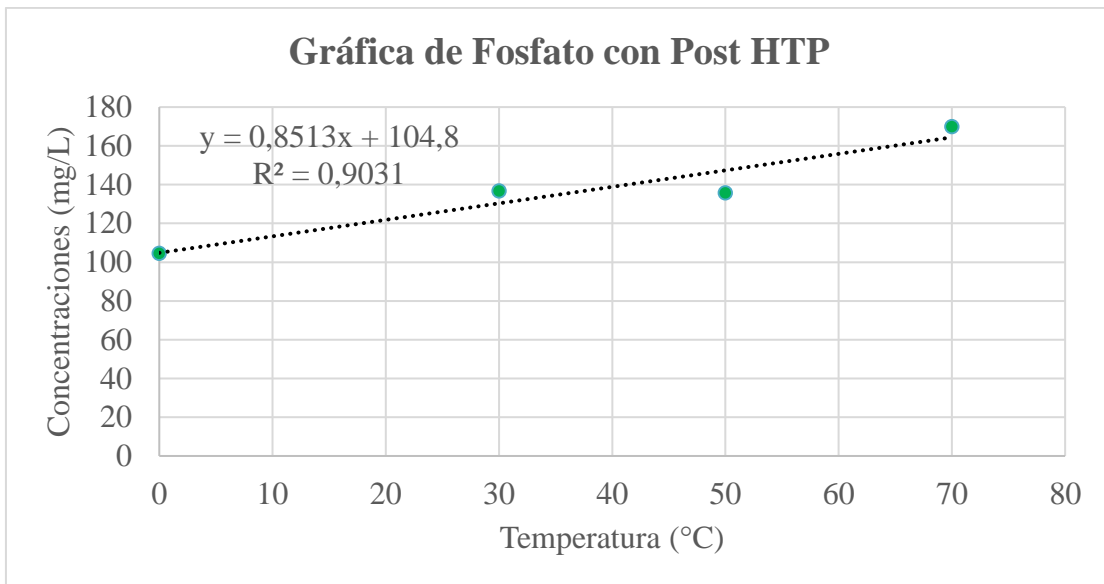
Gráfica 3. Curva de Calibración de Compuestos Fenólicos.



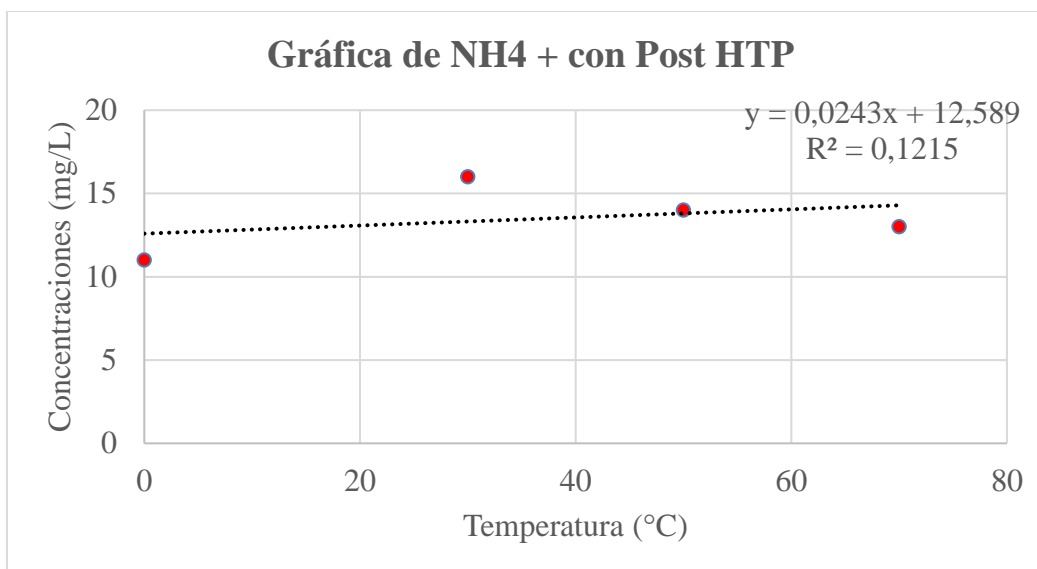
Gráfica 4. Curva de Calibración de Carbohidratos.



Gráfica 5. Curva de Calibración de Azúcares Reductores.



Gráfica 6. Fosfatos con Tratamiento Hidrotérmico.



Gráfica 7. Amonio con Tratamiento Hidrotérmico.

Metodología de Pruebas de Laboratorio

Amonio

Preparación

- Enjuagar el material de vidrio con agua destilada hasta ausencia de amonio.

Importante: No usar detergentes en el lavado

- Analizar las muestras inmediatamente después de la toma de muestras.
- Comprobar el contenido de amonio con el test Amonio MQuant

Importante: Las muestras con más de 150 mg/l de NH₄-N deben de diluirse con agua destilada

- El valor del pH debe encontrarse en el intervalo 4 – 13

Importante: si es necesario, ajustar con solución de hidróxido de sodio o con ácido sulfúrico.

- Filtrar las muestras turbias

Técnica de muestreo y análisis

Para intervalos de medida 2 mg/l – 75 mg/l de NH₄ – N (2,6 – 96,6 mg/l de NH₄⁺)

- Pipetear 5 ml en un tubo de ensayo el **Reactivo NH₄-1** (Temperatura 20 – 30°C)
- Añadir con pipeta 0,2 ml de muestra preparada y mezclar (Temperatura 20 – 30°C)
- Añadir y agitar vigorosamente 1 microcuchara azul rasa del **Reactivo NH₄-2** hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.
- **Dejar en reposo durante 15 minutos (tiempo de reacción)**, luego introducir la muestra de medición en una cubeta de 10 mm y medir en el fotómetro.

Para intervalos de medida 5 mg/l – 150 mg/l de NH₄ – N (6 – 193 mg/l de NH₄⁺)

- Pipetear 5 ml en un tubo de ensayo el **Reactivo NH₄-1** (Temperatura 20 – 30°C)
- Añadir con pipeta 0,1 ml de muestra preparada y mezclar (Temperatura 20 – 30°C)

- Añadir y agitar vigorosamente 1 microcuchara azul rasa del **Reactivo NH₄-2** hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.

Dejar en reposo durante 15 minutos (tiempo de reacción), luego introducir la muestra de medición en una cubeta de 10 mm y medir en el fotómetro.

Notas importantes para la medición:

- **Longitud de onda para la medición 690 nm**
- Se recomienda que los reactivos tengan tener una temperatura de 20 – 30 °C
- **Preparación de la muestra en blanco** con agua destilada para el proceso de medición en el fotómetro.
- Para la medición en el fotómetro las cubetas de 10 mm deben de estar limpias y sin rayones.
- La turbidez después de acabada la reacción da como resultado valores falsamente elevados, por ende, se recomienda filtrar la muestra previa su preparación.

Código espectro: 163

Fosfatos (Orto-Fosfato)

Método

Determinación fotométrica del complejo amarillo ácido fosfórico-molibdato-vanadato en solución ácida

Procedimiento y preparación

Se requiere de matraces o balones aforados de 25 ml, pipetas con puntas purgadas para el uso del R1, R2 y muestra, Verter en los balones aforados de 25 ml:

Muestra

- **20 ml de muestra analizar** (El valor del pH de la muestra debe de estar situado entre 1 y 13 unidades)
- **1 ml de R1**, mezclar
- **1 ml de R2**, mezclar
- **Ajustar el aforo a 25 ml** con agua destilada y mezclar nuevamente. Después de 10 minutos verte en las cubetas de 10mm y medir a una longitud de onda de 436 nm.

Valor en blanco

- **20 ml de** agua destilada
- **1 ml de R1**, mezclar
- **1 ml de R2**, mezclar
- **Ajustar el aforo a 25 ml** con agua destilada y mezclar nuevamente. Después de 10 minutos verte en las cubetas de 10mm y medir a una longitud de onda de 436 nm.

Procedimiento para optimizar uso de reactivos

- **8 ml de muestra a analizar**
- **0,4 ml de R1**
- **0,4 ml de R2**

- Ajustar el aforo a 10 ml

Código espectro: 1014

DQO soluble

Procedimiento

- Homogeneizar 100 ml de muestra durante 30 segundos en una mezcladora
- Conectar el termo reactor de DQO (demanda química de oxígeno). Precalear a 150°C. Colocar el escudo plástico enfrente del reactor
- Extraer la tapa de un tubo de reactivo para digestión de DQO para

Rango de concentración de muestra (mg L ⁻¹)	Tipo de tubo de reactivo para DQO
0 a 150	Rango bajo
0 a 1500	Rango alto
0 a 15000	Rango alto plus

Tabla 2. Tipo de reactivo y su rango para pruebas de DQO soluble.

- Sostener el tubo en un ángulo de 45 grados. Colocar con la pipeta 2,00 ml (0,2 ml para el rango 0 a 15000 mg/l) de muestra en el frasco.

Nota: Para el rango 0-15000 mg/l, colocar con la pipeta sólo 0,20 ml

- Volver a colocar la tapa del tubo bien ajustada. Enjuagar la parte exterior del tubo de DQO con agua desionizada y secarlo con una toalla de papel
- Sostener el tubo por la tapa y colocarlo sobre una tina. Invertir suavemente varias veces para mezclar los contenidos. Colocar el tubo en el Reactor DQO precalentado.
- Preparar un blanco repitiendo los pasos 3 a 6, sustituyendo 2,00 ml (0,2 ml para el rango 0 a 15000 mg/l) de agua desionizada por la muestra.
- Calentar los tubos durante 2 horas.
- Desconectar el reactor. Esperar aproximadamente 20 minutos hasta que los tubos se enfríen a 120°C o menos.
- Invertir cada tubo varias veces mientras están aún calientes. Colocarlos en un estante. Esperar hasta que hayan alcanzado temperatura ambiente.
- Medir en el fotómetro a unas longitudes de onda de 420 nm (rango 0 a 150 mg L⁻¹) y 620 nm (rango 0 a 1500 y 0 a 15000 mg L⁻¹)

Código espectro: 1004 - 2004

DQO para sólidos

Procedimiento

- Primero se preparó un blanco, que pasó por los mismos procedimientos que las muestras, agregando 10 ml de agua al tubo digestor.
- Para la cuantificación de DQO en muestras sólidas, se agregaron al tubo digestor 0.1000 gr de biomasa seca y 10 ml de agua. En cuanto a los hidrolizados obtenidos tras el pretratamiento por auto hidrólisis (pretratamiento térmico), se añadieron al tubo 1,00 ml de la fracción líquida resultante del pretratamiento y 9 ml de agua. El resto del método es común para ambos tipos de muestras.
- Se añadieron lentamente 20 ml de la solución de digestión (0,2 M de K₂Cr₂O₇) y 30 ml de la solución catalítica (10 g L⁻¹ de AgSO₄ en H₂SO₄).
- Después de agregar las soluciones, se unió un condensador de bola al tubo digestor. Los tubos se agregaron al bloque termo reactor, previamente calentado a una temperatura de 151 +/- 2 ° C
- La digestión se realiza durante 2 horas
- Posteriormente, los tubos del digestor se sacaron del bloque del termo reactor y se colocaron en una rejilla para enfriar a temperatura ambiente
- Después de enfriar los tubos, se desacoplaron los condensadores y el contenido digerido se transfirió a un Erlenmeyer de 500 ml, donde se agregaron 440 ml de agua destilada. Además, se agregaron 10 gotas de indicador de ferroína.
- Los Erlenmeyer procedieron a la titulación cuyo titulante fue una solución de sulfato ferroso amoniacal (FAS) previamente normalizado

Normalización del FAS

- La solución de sulfato ferroso amoniacal utilizada como titulante se preparó disolviendo 200 g de Fe (NO₃)₂ (SO₄)₂ · 6H₂O en 500 ml de agua destilada, agregando lentamente un volumen de 40 ml de H₂SO₄ (96%).
- La solución se completó hasta 1 L con agua destilada
- En la normalización del FAS, a un Erlenmeyer de 500 ml se le añadió: 10 ml de solución estándar de K₂Cr₂O₇ (1 N, 0.166 mol L⁻¹), 30 ml de H₂SO₄ (96%) y 460 ml de agua destilada
- La titulación se realizó como se describe para las muestras de digestión y se anotó el volumen de FAS consumido. Así, el cálculo de la normalización se realizó mediante la ecuación:

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

Donde: **C1** es la concentración de la solución estándar de K₂Cr₂O₇ (1N)

V1 es el volumen de la solución estándar utilizada (10 ml)

C2 es la concentración de la solución FAS (N)

V2 es el volumen de Fas gastado en la titulación (10 ml)

- El procedimiento de titulación, que se realizó con la ayuda de una lámpara blanca para facilitar la observación del giro. Así, los Erlenmeyer estaban sometidos a una agitación

magnética moderada y se añadió el FAS hasta el punto de inflexión, caracterizado por un tono marrón. Se anotó el volumen de titulante gastado

Conociendo la normalización de la solución FAS, la demanda química de oxígeno ($\text{mgO}_2 \text{ g}^{-1}$); de las muestras sólidas está dada por la ecuación:

$$\text{DQO} = (\text{V}_b - \text{V}_a) \cdot 8 \cdot \text{N} / \text{M}_{bs}$$

V_b es el volumen de FAS gastado en la titulación en blanco (ml)

V_a es el volumen de FAS gastado en la titulación de la muestra (ml)

N es la normalidad de la solución FAS (N)

M_{bs} es la masa de bagazo en base seca (g)

8 representa el factor de conversión de oxígeno expresado en mg.

La demanda química de oxígeno (DQO) de las muestras líquidas viene dada por la ecuación:

$$\text{DQO} = (\text{V}_b - \text{V}_a) \cdot 8000 \cdot \text{N} / \text{V}_h$$

Donde: DQO es la demanda química de oxígeno de la muestra ($\text{mgO}_2 \text{ g}^{-1}$)

8000 representa el factor de conversión de oxígeno expresado en mg.

V_b es el volumen de FAS gastado en la titulación en blanco (ml)

V_a es el volumen de FAS gastado en la titulación de la muestra (ml)

N es la normalidad de la solución FAS (N)

V_h es el volumen de muestra líquida (hidrolizada) utilizada (ml)

Ácidos grasos volátiles (AGV)

Procedimiento

- Tomar entre 10 y 20 ml de muestra y mezclar, luego llevar a agitación moderada en un sistema de agitación magnética
- Preparar una solución de ácido clorhídrico de concentración conocida
- Tomar unidad de pH inicial de la muestra a la que se desea realizar la prueba
- Mientras la muestra se encuentra en agitación se adicionan volúmenes de ácido clorhídrico hasta que el pH de la muestra marque 4,7.
- Anotar el volumen de ácido consumido en esta primera parte del procedimiento; donde V_0 es el volumen de ácido
- Luego, llevar la muestra hasta un pH de 4,2 unidades y tomar nota del volumen de ácido utilizado (V_1) y calcular la diferencia con respecto a V_0 ; entonces $V_1 = V - V_0$

Para el cálculo de la concentración de AGV (mol L^{-1}), se realiza la siguiente formula:

Alcalinidad

Procedimiento

- Tomar entre 10 y 20 ml de muestra y mezclar, luego llevar a agitación moderada en un sistema de agitación magnética
- Preparar una solución de ácido clorhídrico de concentración conocida
- Tomar unidad de pH inicial de la muestra a la que se desea realizar la prueba
- Titular la muestra hasta llevarla a un pH entre 4,2 y 4,7
- Tomar nota del volumen de ácido utilizado
- Solitos totales, fijos y volátiles.

Carbohidratos

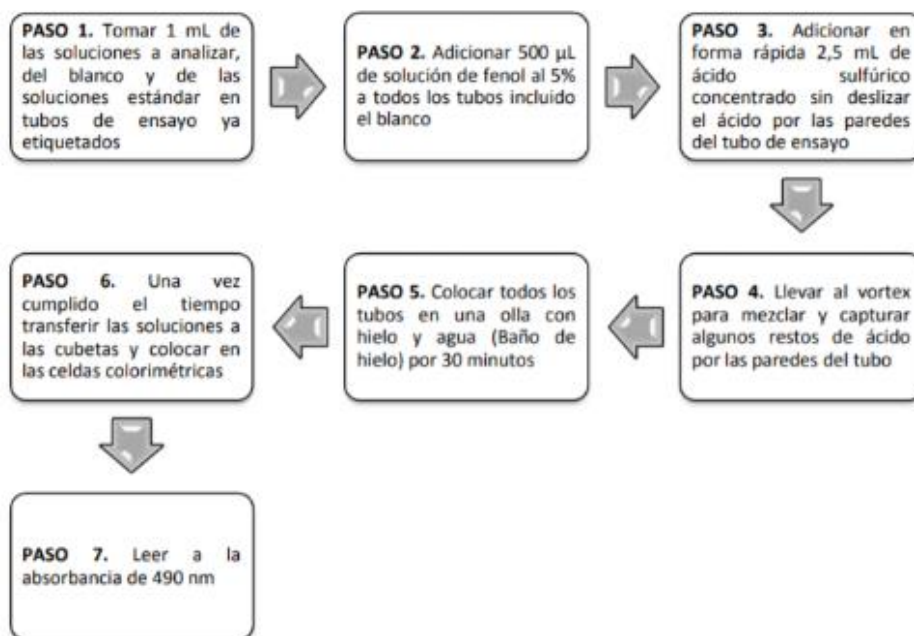


Diagrama 3. Procedimiento para pruebas de carbohidratos.

Pretratamientos hidrotérmicos

Proteínas

Se realiza la preparación del complejo utilizado en este procedimiento en el que el volumen utilizado depende de la cantidad de muestras que se deseen medir. En caso de 5 muestras en un total de una muestra por triplicado y dos blancos:

Volumen utilizado	Letra indicada	Descripción de reactivo
2,6	A	Na ₂ CO ₃ .H ₂ O (45,2 g/L)
0,2	B	CuSO ₄ (20 g/L)
0,2	C	Tartrato de sodio C ₄ H ₄ Na ₂ O ₆ (10g/L)
1	D	NaOH (40g/L)
1	E	Dodecil sulfato sódico SDS (15g/L)

Tabla 3. Preparación de complejo para determinación de prueba de proteínas.

II) Se procede a la mezcla de 1mL de muestra + 1 mL complejo a cada tubo de ensayo. En caso del blanco se adiciona 1 mL de agua destilada en lugar de la muestra y se realiza por duplicado.

III) Agitar y dejar reposar por 10 minutos

IV) Pasados 10 minutos se adiciona 0,5 mL de reactivo folin (0,2N) y se deja reposar en un lugar oscuro por 30 minutos.

V) Se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 750 nm

Nota: Para este resultado es necesario realizar una curva de calibración que nos indica el valor real de proteínas.

Determinación de azúcares reductores totales

Teorías de azúcares reductores no hidrolizados para ciertos métodos ácidos 3,5-dinitrosalicílico (DNS) presentado por Miller (1959).

- Se colocaron 150 uL de hidrolizado de hemicelulosa diluido tres veces en tubos de ensayo.
- Agregue 900 µL de solución DNS y 300 µL de agua destilada.
- Los tubos se insertaron en el agua hirviendo durante 5 min. Luego se retiraron los tubos y se agregaron 6 ml de agua destilada para que sea posible leer en un espectrofotómetro en compresión de Onda de 540 nm.

Curva de Calibración

Para la determinación de azúcares reductores se utiliza una curva analítica. usando una solución de glucosa estándar en un rango de concentración de 0.5 g/L a 12 g/L

Determinación de compuestos fenólicos

- Inicialmente, se realizó el paso de extracción. Con este fin, se insertó en un tubo Falcon de 15 mL, 1 mL de hidrolizado de hemicelulosa y 9 mL de solución acuosa de acetona 70%
- Luego, el tubo falcón que contenía la mezcla se colocó en un vaso de precipitados. que contiene agua helada y se somete a un baño de ultrasonidos durante 20 min.
- Después de este paso el tubo falcón se colocó en una centrifuga a 3000 rpm (250 G) durante 10 min.
- **Para fracciones sólidas utilizada en las pruebas de potencial bioquímico del metano, se utilizó la misma metodología, pero utilizando 1 g de material en seco y 10 ml de solución de acetona al 70%.**
- Para el paso de análisis, se recolectaron 50 µL de extracto del tubo Falcon (sobrenadante después de la centrifugación) y se añade a un tubo de ensayo con tapa junto con 450 µL de agua desionizada.
- Luego, se agregaron 520 µL (0,5N) de reactivo de Folin al tubo de ensayo. Ciocalteau (solución que contiene molibdato, tungstato y ácido fosfórico) y 1,25 ml de Carbonato de sodio al 20 % (m/v).
- Los tubos se agitaron con vórtex durante 5 min y después se dejaron en un lugar protegido de la luz durante 35 min.

- Terminó el tiempo de 35 min, las muestras se analizaron en un espectrofotómetro a una longitud de onda fija de 725 nm.
- **Aplica el mismo procedimiento para la muestra en blanco, solo que en vez de hidrolizado se utilizada agua destilada.**

Curva de Calibración

La cuantificación de los fenoles totales se realizó mediante el método de calibración externa. utilizando soluciones estándar de ácido tánico a diferentes concentraciones. Para la curva analítica fueron añadido a los tubos de ensayo volúmenes crecientes (20, 60, 80, 100, 250 y 500 μL) de solución de ácido tánico 0,1 g L⁻¹ y completado con agua desionizada hasta 500 μL durante los primeros cinco puntos y en el tubo en el que se agregaron 500 μL de la solución de ácido tánico, no fue necesario agregar agua.

- Posteriormente, se agregaron 250 μL (0,5N) de reactivo de Folin a todos los tubos. y 1,25 mL de solución de carbonato de sodio al 20%.
- Luego se agitaron los tubos durante 5 min y tras agitar se dejaron en un lugar protegido de la luz durante 35 min. Tiempo después en reposo, los patrones se analizaron en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 725 nm.
- Una curva analítica relacionada con la absorbancia resultante de la concentración de ácido tánico como fenoles fue elaborada, y se utilizó la ecuación de la línea recta para determinar los fenoles totales en las muestras.

Rossetti; 2007.

La curva patrón se preparó a partir de una solución de ácido tánico a una concentración de 0,1 mg/mL y posteriormente se diluyó a una proporción de 1:10 mL (1 mL de solución de ácido tánico completando el volumen de un balón volumétrico de 10 mL con agua destilada). En tubos de ensayo, se preparó la curva colocando volúmenes crecientes de la solución diluida (20 μL , 40 μL , 60 μL , 80 μL , 100 μL). En el tubo para la medida del blanco no se colocó la solución de ácido tánico. Los volúmenes de los tubos, inclusive las medidas del blanco fueron completadas a 500 μL de agua destilada. Posteriormente se adicionó a todos los tubos 250 μL de agente folin (1N) (diluido 1:1) y 1,25 mL de solución de carbonato de sodio al 20%. Los tubos se agitaron por 40 minutos y fue hecha la lectura en el espectrofotómetro, midiéndose a una absorbancia de 725 nm.

15.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andler, R. V. (2021). *Residuos de frutas como materia prima sostenible para la producción de polihidroxialcanoatos bacterianos*. Talca: Universidad Católica Del Maule.
- Arhoun, B. (2017). *DIGESTIÓN Y CODIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS AGRÍCOLAS, GANADEROS Y LODOS DE DEPURADORA*. Málaga.: Universidad de Málaga. .
- Arroyo, P. (2015). *Tecnologías comerciales de hidrólisis térmica*. VALLADOLID: UNIVERSIDAD DE VALLADOLID.
- Chen, Y. C. (2008). *Inhibition of anaerobic digestion process: a review*. *Bioresource Technology*.
- Corona, B. (2017). *PRODUCCIÓN DE AZÚCARES FERMENTABLES A PARTIR DE RESIDUOS DE NARANJA Citrus spp. PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL*. . México.: Universidad Autónoma del Estado de México.
- Dey, S. B. (2021). *Capacidades características y de biosorción de los biosorbentes de cáscaras de naranja para la eliminación de amoníaco y nitrato de agua contaminada*. Andhra Pradesh : Gudlavalleru Engineering Collage .
- energía, M. (2011). *Manual de biogás*. Chile .
- Espinosa, A. L. (2021). *Pretratamientos aplicados a biomásas lignocelulósicas: una revisión de los principales métodos analíticos utilizados para su evaluación*. Cuba: Revista Cubana de Química.
- Fernandez, D. &. (2015). *Hidrólisis térmica de segunda generación. Proceso tH4+*.
- Fernandez, D. &. (2015). *Hidrólisis térmica de segunda generación. Proceso tH4+*. Tecnoaqua.
- Flotats, X. &. (2016). *ANÁLISIS DE LA DINÁMICA DEL NITRÓGENO EN UN SISTEMA CONTINUO ACOPLADO CONTACTOR DE MEMBRANA HIDROFÓBICA/ REACTOR ANAEROBIO*. Barcelona: UPC.
- Gómez, E. D. (2018). *Polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y hojas de doce cítricos*. Universidad Nacional Trujillo. Perú: Universidad Nacional Trujillo.
- Hamada, S. I. (2021). *Rendimiento del carbón vegetal de cítricos y carbón vegetal de orujo de olivo como sustratos naturales en el tratamiento de aguas residuales municipales mediante humedales artificiales subterráneos de flujo vertical*. Franja de Gaza : Universidad Al Azhar .
- Idárraga, A. (2015). *PRODUCCIÓN DE BIOMOLÉCULAS CON APLICACIONES COSMÉTICAS A PARTIR DE RESIDUOS DE FRUTAS*. . Manizales : Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales .

- Lia, B. D. (2022). *Response of phosphorus speciation to organic loading rates and temperatures during anaerobic co-digestion of animal manures and wheat Straw* . Beijing : Agricultural University .
- Martin, A. (2022). *Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica*.
- Martin, L. (. (2021). *Estudio de la función de Twi1 y THT en la respuesta a herida en plantas de tomate*. Universidad Politecnica de Valencia. Valencia : Universidad Politecnica de Valencia .
- Ortiz, D. B. (2020). *Manejo sustentable de residuos de cáscara en las industrias de jugo de naranja a pequeña escala: un estudio de caso colombiano*. Manizales : Universidad Nacional Sede Manizales .
- Panwar, D. P. (2021). *Desentrañar las perspectivas científicas de la utilización de subproductos cítricos: progreso hacia la economía circular*. India .
- Pooja, G. M. (2021). *Intensificación de deslignificación e hidrólisis enzimática de residuos de cáscara de naranja mediante ultrasonidos para mejorar la producción de azúcar fermentable*. . Matunga: Inatituto de tecnologia quimica .
- Porteiro, L. (. (2021). *Co-digestión anaerobia para la obtención de biogás a partir de residuos forestales*. La Coruña: Univesidad de Coruña .
- Rodríguez, I. (2016). *HIDROTÉRMICA PARA LA DEGRADACIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS COMPLEJOS DE RESIDUOS DE FRUTAS PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL*. . España: Universidad de Oviedo.
- Rodríguez, I. (2016). *HIDROTÉRMICA PARA LA DEGRADACIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS COMPLEJOS DE RESIDUOS DE FRUTAS PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL*. . España: Universidad de Oviedo.
- Rodríguez, I. (2016). *PRETRATAMIENTO DE HIDRÓLISIS HIDROTÉRMICA PARA LA DEGRADACIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS COMPLEJOS DE RESIDUOS DE FRUTAS PARA LA OBTENCIÓN DE BIOETANOL*. Oviedo : MBtA.
- Saadatinavaz, F. k. (2021). *Hydrothermal pretreatment: an efficient process to improve the production of biobutanol, biohydrogen and biogas from orange waste through a biorefinery approach*.
- Salas La, S. B. (2022). *EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA TOXICIDAD DEL ZUMO DE citrus sinensis*. Coahuila : Universidad Autónoma de Coahuila.
- Sawakinome. (2022). *Diferencia entre licopeno y betacaroteno*.
- Teigiserova, D. B. (2021). *Un paso más hacia la bioeconomía circular para los residuos de cáscaras de cítricos: una revisión de los rendimientos y las tecnologías para la gestión sostenible de los aceites esenciales*. Roskilde: Universidad de Aarhus.

Wenhao, C. Y. (2021). *Los impactos ambientales de la gestión de residuos de cítricos en China: un estudio de caso en la región del embalse de las Tres Gargantas*. China: Universidad de Tecnología y Negocios de Chongqing .

Fernández, D. G. (2015). *Hidrolisis termica de segunda generacion. Proceso Th4+*. . Tecnoaqua.

Solís Salas La, S. B. (2022). *EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA TOXICIDAD DEL ZUMO DE citrus sinensis*. Coahuila: Universidad Autónoma de Coahuila.



Universidad[®] Católica de Manizales

VIGILADA MINEDUCACIÓN

*Obra de Iglesia
de la Congregación*



Hermanas de la Caridad
Dominicas de La Presentación
de la Santísima Virgen

Universidad Católica de Manizales
Carrera 23 # 60-63 Av. Santander / Manizales - Colombia
PBX (6)8 93 30 50 - www.ucm.edu.co