

TECNOLÓGICO DE ESTUDIOS SUPERIORES DE TIANGUISTENCO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA AMBIENTAL

OPCIÓN IX
TESIS

Producción de biogás a partir de residuos de frutas y verduras pre-hidrolizados mediante fermentación en régimen mesofílico

Que para obtener el Título de
INGENIERO AMBIENTAL

PRESENTA

Karen Michel López González

DIRECTOR:
Dr. Julio Cesar Gómora Hernández

AGOSTO 2025

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Tecnológico de Estudios Superiores de Tianguistenco, en el laboratorio de Instrumental de la División de Ingeniería Ambiental y en el Departamento de Radiobiología del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, como parte del proyecto “Producción de biogás a partir de residuos de frutas y verduras pre-hidrolizados mediante fermentación en régimen mesofílico” con número de registro ACA-IA/PI-024 bajo la responsabilidad del Dr. Julio César Gómora Hernández.

Este trabajo de investigación fue registrado con el título *"Producción de biogás a partir de residuos de frutas y verduras pre-hidrolizadas mediante fermentación en régimen mesofílico"*, con el número ACA-IA/PI-024 ante la Academia de Ingeniería Ambiental.

El trabajo se inscribe en la línea de investigación: Ingeniería Ambiental y Energías Renovables del Programa de Ingeniería Ambiental del Tecnológico de Estudios Superiores de Tianguistenco

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	v
ABSTRACT.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
JUSTIFICACIÓN.....	5
OBJETIVOS.....	6
OBJETIVO GENERAL.....	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
HIPÓTESIS	6
GENERALIDADES	8
1. Residuos.....	8
1.1 Residuos Sólidos Urbanos	8
1.2 Residuos Orgánicos (RO)	9
1.3 Biopolímeros presentes en los RO.....	10
1.4 Tratamiento de residuos lignocelulósicos	12
2. Digestión Anaerobia	13
2.1 Etapas de la Digestión Anaerobia	14
2.2 Factores que afectan a la fermentación	16
3. Biogás.....	17
3.1 Tecnología de captura y almacenamiento	18
3.2 Aplicaciones potenciales	18
3.3 Impacto ambiental	18
DESARROLLO EXPERIMENTAL	21
2.1 Obtención y caracterización de los RO.....	22
2.1.1 Determinación de SVT	22
2.1.2 Preparación para sustrato libre de extractivos	22
2.1.3 Determinación de holocelulosa	23
2.1.4 Determinación de lignina.....	23
2.2 Extracción de azúcares.....	24
2.3 Construcción y operación de los fermentadores.....	24

2.3.1 Fermentadores de 625 mL	24
2.3.2 Fermentadores de 60 mL	25
2.3.3 Medio de cultivo e inóculo	26
2.3.4 Sustrato	27
2.4 Cuantificación de biogás	27
2.5 Determinación de pH	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
3.1 Caracterización de los RO	30
3.1.1 Caracterización inicial de los RO	31
3.2 Hidrolisis termoquímica de los RO	32
3.2.1 Tratamiento ácido.....	32
3.2.2 Tratamiento con agua destilada	35
3.3 Inoculo	39
3.4 Sustrato utilizado en la fermentación	40
3.5 Producción de biogás.....	41
3.5.1 Fermentadores de 625 mL	41
3.5.2 Fermentadores de 60 mL	42
3.6 Determinación de biogás y pH	43
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES	51
REFERENCIAS.....	53

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1.1 Composición de RSU (Orgánicos e Inorgánicos).....	9
Figura 1.2 Componentes orgánicos de la pared celular	12
Figura 2.1 Metodología para el desarrollo del proyecto	21
Figura 2.2 Sistemas de medición de gas	25
Figura 3.1 Predominancia de las especies presentes en los RO	31
Figura 3.2 Producción de azúcares reductores durante la hidrólisis con ácido fosfórico.....	33
Figura 3.3 Producción de furfural durante la hidrólisis con ácido fosfórico.....	34
Figura 3.4 Comportamiento del pH durante la hidrólisis con ácido fosfórico	35
Figura 3.5 Producción de azúcares reductores durante el tratamiento con agua caliente.....	36
Figura 3.6 Producción de furfural durante la hidrólisis con agua caliente	37
Figura 3.7 Comportamiento del pH durante la hidrólisis con agua caliente.....	38
Figura 3.8 a) Tinción de Gram y b) esporas de las bacterias provenientes del agua residual.....	39
Figura 3.9 Tinción de Gram de las bacterias provenientes del rumen de ganado.	40
Figura 3.10 Residuos sobrantes de la hidrólisis ácida	41
Figura 3.11 Producción de biogás en los fermentadores de 625 mL	42
Figura 3.12 Producción de biogás en los fermentadores de 60 mL	43
Figura 3.13 Biogás producido en los fermentadores de 60 mL	44
Figura 3.14 Producción de biogás utilizando las bacterias provenientes de la excreta de ganado.....	45
Figura 3.15 Producción de biogás utilizando las bacterias provenientes del agua residual.....	46
Figura 3.16 pH del lixiviado obtenido al término de la fermentación en los viales de 60 mL	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Configuración de los fermentadores.....	26
Tabla 3.1 Composición de los RO.....	30
Tabla 3.2 Caracterización de los RO.....	32
Tabla 3.3 Comparación con otros artículos, producción de azúcares.	38

RESUMEN

Este estudio se centra en la producción sostenible de biogás como una alternativa energética que reemplace parcialmente a los combustibles derivados del petróleo. El objetivo de este trabajo fue producir biogás a partir de residuos de frutas y verduras mediante fermentación oscura en condiciones mesofílicas. Para ello, se seleccionó un consorcio mesofílico proveniente de residuos de ganado y de aguas residuales domésticas. Los fermentadores se construyeron en frascos viales de 60 mL y en botellas de 650 mL y se usaron como variables experimentales el tipo de sustrato; residuos de frutas y verduras (con y sin tratamiento) e inóculo. Los residuos de frutas y verduras se trataron con ácido fosfórico y agua destilada a diferentes temperaturas (70, 80 y 90 °C) y tiempos de contacto (15 - 150 minutos) con la finalidad de incrementar su aprovechamiento durante la etapa fermentativa. Los fermentadores se operaron por duplicado a una temperatura de 37 °C durante un tiempo aproximado de 7 días. Los resultados revelaron que el consorcio del agua residual fue más eficiente alcanzando una producción de 160.3 mL de biogás al término del experimento utilizando frutas y verduras sin hidrolizar. La disminución en el pH de los lixiviados sugiere actividad hidrogénica relacionada con la generación de hidrógeno durante la fermentación anaerobia.

ABSTRACT

This study focuses on sustainable biogas production. The aim of this work was to produce biogas from fruit and vegetable waste through dark fermentation under mesophilic conditions. In order to do so, a mesophilic consortium from livestock waste and domestic wastewater was selected. Fermenters were constructed using 60 mL vials and 650 mL bottles, and the experimental variables were the type of substrate (fruit and vegetable waste and inoculum). A chemical treatment was performed, consisting of hydrolysis with phosphoric acid and distilled water at 80 °C for 150 minutes for easy fermentation. The reactors were operated in duplicate in a 37 °C incubator for approximately 7 days. The results revealed that the experiments conducted with 60 mL vials were more efficient, with the experiment inoculated with bacteria from wastewater and operated with unhydrolyzed fruits and vegetables generating 160.3 mL of biogas after 7 days. The decrease in leachate pH suggests hydrogen activity related to hydrogen generated during anaerobic fermentation, which is also suggested by the presence of spore-forming *bacill*.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de este proyecto se enfocó en el impacto ambiental de una gestión inadecuada de los residuos y como por medio de la fermentación oscura reducir su impacto negativo y generar así un biocombustible limpio. La creciente generación de residuos orgánicos en zonas urbanas, particularmente los provenientes de recauderías y mercados, representa una problemática ambiental relevante. Su inadecuada gestión provoca impactos como la emisión de gases de efecto invernadero, malos olores, contaminación de cuerpos de agua y proliferación de patógenos. A esto se suma la dependencia de combustibles fósiles, cuyo uso intensivo contribuye significativamente al cambio climático y a la degradación de la calidad del aire. En este contexto, resulta indispensable el desarrollo de alternativas sostenibles para el aprovechamiento de residuos y la transición hacia fuentes de energía renovable.

La presente investigación propone la producción de biogás a partir de residuos de frutas y verduras, tratados mediante hidrólisis y sometidos a digestión anaerobia en régimen mesofílico. Para ello, se emplean bacterias nativas provenientes de excretas de ganado y aguas residuales domésticas, evaluando su eficiencia en la conversión de materia orgánica en un biocombustible limpio. Este estudio se enmarca en la búsqueda de soluciones que integren la valorización de residuos y la generación de energía con bajo impacto ambiental.

Los residuos son aquellos materiales o productos que el ser humano desecha, estos se dividen en inorgánicos y orgánicos, estos últimos suelen contener carbohidratos, lípidos y proteínas, que pueden ser degradados por microorganismos anaeróbicos para liberar biogás y otros productos finales, para ello y como se aborda en el proyecto se realiza una caracterización de los residuos y posteriormente una hidrólisis para que estos sean fácilmente fermentables por las bacterias provenientes de la excreta de ganado y aguas residuales, finalmente los residuos son puestos en fermentadores previamente inoculados, y al término de su proceso se determina la cantidad de biogás y el pH.

Después de aplicado el tratamiento se analizaron los efectos del tipo de sustrato, tratamiento y consorcio bacteriano sobre la eficiencia del proceso fermentativo. Se interpretan los resultados obtenidos en función de la producción de biogás, donde se concluye que la bacteria más eficiente fue la proveniente de las aguas residuales. A su vez se abren nuevas líneas de investigación futuras que podrían optimizar la generación de biogás a partir de residuos orgánicos.

Planteamiento del problema, Justificación, Hipótesis y Objetivos

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente el crecimiento poblacional y la sobre explotación de recursos ha propiciado una generación excesiva de residuos provenientes de casas habitación, de la ganadería, agricultura e industrias, los cuales son desechados al ambiente, provocando emisiones contaminantes, calentamiento global, lixiviación en mantos acuíferos y erosión del suelo, lo que daña el paisaje, ocasiona malos olores y facilita la proliferación de plagas. Otro problema importante es el uso excesivo de combustibles fósiles ya que durante su combustión se generan gases contaminantes como CO₂, NO_x y algunas partículas finas, que producen problemas respiratorios en la población vulnerable expuesta como los niños, adultos mayores y mujeres embarazadas, además de ser los mayores contribuyentes al cambio climático. Estudios preliminares del Inventario Nacional de Emisiones de Gases y Compuestos de Efecto Invernadero (INEGYCEI) muestran que las emisiones siguen creciendo en nuestro país, siendo el sector de la energía el que más contribuye con el 64% de las emisiones totales.

Recientemente, se han estudiado alternativas energéticas que puedan reemplazar a los combustibles fósiles en aplicaciones cotidianas, una de ellas es el uso de biogás producido a partir de la digestión anaerobia de materia orgánica residual. Si bien es cierto, se han realizado extensos estudios sobre la optimización del proceso fermentativo para la producción de biocombustibles, sin embargo, aún son necesarias más investigaciones para eficientar su producción, almacenamiento y uso. El aprovechamiento de residuos de frutas y verduras como materia prima representa un área de oportunidad interesante, ya que debido a su bajo contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina, la acción metabólica de los microorganismos mejora y en consecuencia incrementa el rendimiento de la fermentación. Una de las partes más importantes durante la revalorización de residuos orgánicos es el pretratamiento del sustrato, el cual es importante para alterar la estructura fisicoquímica de los residuos y mejorar su aprovechamiento durante la etapa de fermentación.

En el presente proyecto se pretende producir biogás a partir de residuos de frutas y verduras pre-hidrolizados utilizando consorcios mesofílicos nativos. Al abordar este estudio se pretende brindar una alternativa para el aprovechamiento y revalorización de los residuos de frutas y verduras generados localmente, promoviendo una adecuada gestión bajo la filosofía de cero residuos. Además, se pretende evaluar la producción de biogás como un combustible alternativo a los fósiles que puede ser utilizado como medio de calentamiento y para cocción de alimentos en estufas.

JUSTIFICACIÓN

Actualmente se ha apostado por nuevas tecnologías y productos con un menor impacto ambiental, como es el caso de los biocombustibles provenientes de la fermentación de materiales orgánicos residuales; dicho proceso busca bajo condiciones controladas producir un combustible con alto poder calorífico y renovable que permita disminuir la dependencia de los combustibles fósiles, propiciando así el uso de recursos sostenibles. Esta técnica protege los ecosistemas, minimiza la liberación de residuos en el suelo y en el agua, contribuyendo así a la mitigación del cambio climático, contaminación de suelos y generación de plagas. La fermentación oscura de la fracción orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos es una técnica prometedora ante el impacto ambiental actual, busca transformar los desechos orgánicos en productos valiosos y se presenta como una alternativa potencial para la gestión adecuada de residuos, además disminuye la contaminación por materia orgánica en el suelo y cuerpos de agua y evita la sobreexplotación de recursos. El proyecto busca transformar los residuos de frutas y verduras en un combustible renovable y verde, que pueda utilizarse como fuente de energía alternativa y sustentable. La propuesta pretende dar solución a dos problemáticas actuales, por una parte, brindar una alternativa para la revalorización y aprovechamiento de los residuos orgánicos que se generan en casa habitación y que son dispuestos a cielo abierto, y por otro lado la producción de un combustible limpio y sostenible.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la producción de biogás a partir de residuos de frutas y verduras hidrolizados y sin hidrolizar mediante fermentación oscura en régimen mesofílico utilizando bacterias nativas, para su posible uso como combustible alternativo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Obtener, acondicionar y caracterizar los residuos orgánicos.
- 2.-Tratar químicamente los residuos orgánicos para extraer azúcares fermentables y para modificar sus características fisicoquímicas.
- 3.- Aislar y cultivar bacterias nativas provenientes de la excreta de ganado y del agua residual doméstica en medio anaerobio.
- 4.- Evaluar el efecto del tipo de bacteria sobre la producción de biogás.
- 5.-Evaluar el efecto del inóculo sobre la producción de biogás.

HIPÓTESIS

Las bacterias aisladas de la excreta de ganado generan mayor cantidad de biogás en comparación con las provenientes del agua residual doméstica.

El uso de frutas y verduras pre hidrolizadas como materia prima incrementa la generación de biogás durante el proceso fermentativo.

Capítulo 1.

Generalidades

GENERALIDADES

1. Residuos

Los residuos se definen según la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR) como aquellos materiales o productos cuyo propietario o poseedor desecha y que se encuentran en estado sólido o semisólido, líquido o gaseoso y que se contienen en recipientes o depósitos; pueden ser susceptibles de ser valorizados o requieren someterse a tratamiento o disposición final conforme a lo dispuesto en la misma Ley [DOF, 2003]. En función de sus características y orígenes, se les clasifica en tres grandes grupos: Residuos Sólidos Urbanos (RSU), Residuos de Manejo Especial (RME) y Residuos Peligrosos (RP). Los RME son aquellos generados en los procesos productivos, que no reúnen las características para ser considerados como peligrosos o como residuos sólidos urbanos, o que son producidos por grandes generadores de RSU: son aquellos que poseen alguna de las características de corrosividad, reactividad, explosividad, toxicidad, inflamabilidad, o que contengan agentes infecciosos que les confieran peligrosidad de acuerdo con el código CRETIB, así como envases, recipientes, embalajes y suelos que hayan sido contaminados cuando se transfieran a otro sitio (DOF, 2003).

1.1 Residuos Sólidos Urbanos

Los RSU son aquellos que se generan en casas habitación como resultado de las actividades domésticas o los que provienen también de cualquier otra actividad que se desarrolla dentro de los establecimientos o en la vía pública, con características domiciliarias, y los resultantes de las vías y lugares públicos siempre que no sean considerados como residuos de otra índole. Estos residuos se dividen en orgánicos e inorgánicos (Figura 1). Según el informe del Banco Mundial titulado “What a Waste” en el mundo se generan anualmente 2010 millones de toneladas de desechos sólidos municipales, Por su parte, en 2020 la SEMARNAT señaló que la generación de residuos en México es de 120,128 toneladas por día, de los cuales se recolectan 100,751 toneladas que corresponden al 83.87% de cobertura. Cabe destacar que, de ese porcentaje recolectado, sólo el 31.56% es susceptible de

aprovechamiento, siendo el 46.42% de ese porcentaje residuo orgánico (Guzman, 2023).

Residuos Inorgánicos



Residuos Orgánicos



Figura 1.1 Composición de RSU (Orgánicos e Inorgánicos)

1.2 Residuos Orgánicos (RO)

Los residuos orgánicos de frutas y verduras son una fuente rica en materia orgánica que puede ser aprovechada para la producción de hidrógeno. Estos residuos suelen contener carbohidratos, lípidos y proteínas, que pueden ser degradados por microorganismos anaeróbicos para liberar hidrógeno y otros productos finales. La generación mundial de RSU, se estima en 2.01 billones de toneladas al año, de las cuales 33 % no son gestionados correctamente. Un hecho a resaltar es que el 32 % de los RSU generados en los países de altos ingresos corresponden a alimentos y desechos verdes, en los países de ingresos medios y bajos, el porcentaje es de 56 %. De continuar esta tendencia, la cifra llegará a 3.4 billones de toneladas para 2050 (Kaza et al. 2018).

1.3 Biopolímeros presentes en los RO

1.3.1 Celulosa

La celulosa es un componente esencial en el reino vegetal formado por glucosa, siendo el polímero más abundante en las paredes celulares de las plantas. Su estructura lineal, proporciona resistencia y rigidez a las células vegetales, además de protegerlas contra agentes externos. La función principal de la celulosa es ofrecer soporte estructural a las plantas, contribuyendo a su integridad y crecimiento. Las plantas generan glucosa a través de un proceso llamado fotosíntesis, que se combina para formar cadenas de celulosa. Este polímero tiene un papel ecológico vital al ser una fuente de energía renovable y biodegradable. A nivel industrial, la celulosa se utiliza en la fabricación de papel y productos textiles, aprovechando sus propiedades versátiles. Su estudio continuo y aplicación sostenible son fundamentales para comprender y maximizar su potencial en diversos campos (Javier, 2021).

1.3.2 Lignina

La lignina es un componente clave en las plantas, fortaleciendo sus estructuras celulares y permitiéndoles resistir enfermedades y condiciones adversas. Su estructura compleja se compone de monómeros fenólicos y desempeña un papel vital en la conducción eficiente del agua y los nutrientes. Aunque su resistencia a la descomposición es conocida, la lignina es crucial para el ciclo del carbono cuando es degradada por hongos, bacterias e insectos. Además, tiene aplicaciones industriales prometedoras, como en la producción de biocombustibles y materiales compuestos. Sin embargo, su manejo eficiente y la exploración de sus usos potenciales plantean desafíos continuos y ofrecen oportunidades en investigación y desarrollo. (Espinoza Acosta et al., 2022).

1.3.3 Hemicelulosa

La hemicelulosa, otro componente crucial en las plantas, es un polímero heterogéneo que forma parte de las paredes celulares. A diferencia de la celulosa,

la hemicelulosa es más compleja en su composición, compuesta por una variedad de azúcares. Su función principal es actuar como un "pegamento" que une las fibras de celulosa, contribuyendo a la flexibilidad y resistencia de las paredes celulares. Está constituida principalmente por azúcares de cinco carbonos como la xilosa y arabinosa de las cuales el 94 % corresponde a xilanos que es el polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa. La hemicelulosa desempeña un papel esencial en la captura y almacenamiento de agua, así como en la regulación de la expansión celular durante el crecimiento de las plantas. Además, su degradación por microorganismos en el suelo es crucial para el ciclo del carbono. A nivel industrial, la hemicelulosa se ha convertido en un recurso valioso en la producción de biocombustibles y materiales biodegradables. Su estudio y aplicación continua son importantes para comprender su complejidad y aprovechar sus propiedades en beneficio de diversas aplicaciones sostenibles (Ramírez, 2021). La Figura 1.2 muestra la distribución de los principales biopolímeros en la pared celular de una planta.

1.3.4 Otros componentes

Dentro de los residuos de frutas y verduras, se encuentran las cáscaras que contienen una variedad de compuestos como pectinas y ácidos grasos de los cuales se puede extraer aceites esenciales y otros compuestos. Además, contienen pigmentos naturales como carotenoides, clorofilas, antocianinas y betalaninas. Por otro lado, algunos carbohidratos, como glucosa, fructuosa y sacarosa, se encuentran en todas las partes de las frutas y verduras y proporcionan energía a los organismos vivos una vez que son metabolizados. En cuanto a la estructura celular, se destacan materiales como celulosa, hemicelulosa y lignina, que contribuyen a la textura y consistencia. (Salcedo, 2021).

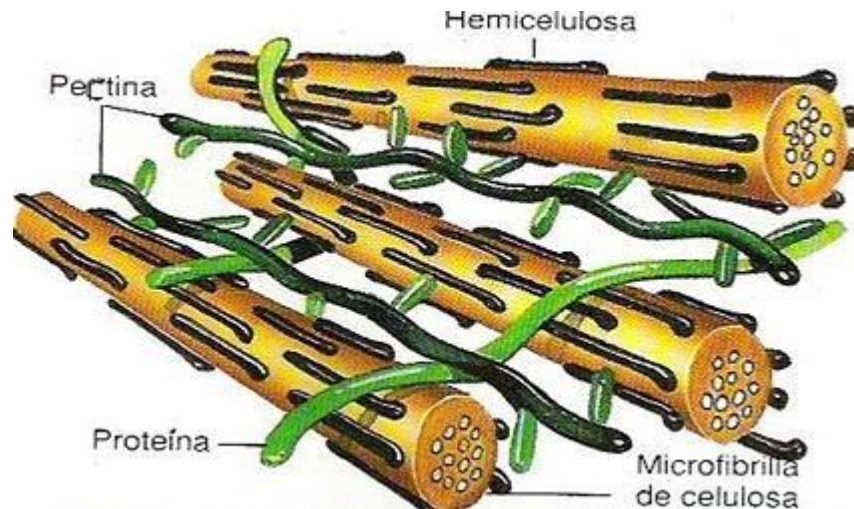


Figura 1.2 Componentes orgánicos de la pared celular

1.4 Tratamiento de residuos lignocelulósicos

El tratamiento de residuos orgánicos es una parte esencial durante la gestión de residuos, destinada a reducir el impacto ambiental y a aprovechar los recursos de manera sostenible. Los residuos orgánicos, pueden someterse a diversos métodos de tratamiento, que pueden involucrar técnicas químicas, físicas y biológicas (Thygesen et al., 2021). El objetivo de tratar los residuos orgánicos es que éstos se puedan procesar más fácilmente bajo la perspectiva de la economía circular, muchos de estos residuos como frutas con sobre maduración, cascara, semillas, tallos y flores, están constituidos por componentes orgánicos como la celulosa, lignina y hemicelulosa que bien aprovechados y con el tratamiento adecuado pueden ser recuperados como compuestos bioactivos con múltiples aplicaciones para la industria farmacéutica, química y alimentaria (Salcedo, 2021).

1.4.1 Tratamiento físico

El tratamiento físico se relaciona al pretratamiento para la revalorización de los residuos orgánicos, consta de la separación y acondicionamiento para facilitar su manejo. Algunos de estos son la deshidratación, trituración y cribado. Según el Diagnóstico Básico para la Gestión Integral de los Residuos (DBGIR) 2020, estas

técnicas son fundamentales para reducir el volumen de residuos y mejorar la eficiencia de los procesos de tratamiento.

1.4.2 Tratamiento químico

Los tratamientos químicos modifican la estructura molecular de los contaminantes presentes en los residuos orgánicos para facilitar su aprovechamiento como la hidrólisis ácida o alcalina, que consisten en la ruptura de moléculas complejas como la lignina y celulosa para producir bioetanol.

1.4.2.1 Hidrolisis acida

La hidrólisis ácida es un proceso químico complejo que emplea ácidos minerales como H_2SO_4 , HCl , HNO_3 en condiciones de presión y temperatura controladas para despolimerizar residuos orgánicos complejos (como lignocelulosa, proteínas o grasas) en compuestos más simples (azúcares, aminoácidos, ácidos grasos) para facilitar su conversión en biocombustibles, o productos que favorecen la economía circular (Kumar 2020).

1.4.3 Tratamiento biológico

Los pretratamientos biológicos de la biomasa lignocelulósica han emergido como una alternativa ecológica y eficiente debido a su bajo costo y gran disponibilidad, este método mejora la conversión de residuos vegetales en biocombustibles y bioproductos. Este pretratamiento emplea microorganismos presentes en el medio ambiente, como hongos y bacterias, para descomponer la estructura compleja de la lignocelulosa, para que este esté disponible para su posterior hidrólisis y fermentación. Algunos microorganismos utilizados en el pretratamiento biológico son: *Bacillus sp*, *Clostridium sp*, *Aspergillus niger*, etc. (Shukla et al., 2023)

2. Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia es una fermentación microbiana en ausencia de oxígeno que da lugar a una mezcla de gases (principalmente metano y dióxido de carbono),

conocida como "biogás" y a una suspensión acuosa o "lodo" que contiene los microorganismos responsables de la degradación de la materia orgánica. (Toledo-Alarcón et al., 2018). La materia prima preferentemente utilizada es cualquier residuo orgánico que posea un alto contenido en humedad, como restos de comida, restos de hojas y hierbas, residuos ganaderos, lodos de plantas tratamiento de aguas residuales urbanas y aguas residuales domésticas e industriales. El producto principal de la digestión anaerobia es el biogás, mezcla gaseosa de CH_4 (50 a 70 %) y CO_2 (30 a 50 %), con pequeñas proporciones de otros componentes (N_2 , O_2 , H_2 , H_2S), cuya composición depende tanto de la materia prima como del proceso. El biogás producido puede quemarse para generar energía, disminuyendo así las emisiones de CH_4 a la atmósfera; estas emisiones son considerables cuando los residuos orgánicos son dispuestos de manera errónea en tiraderos a cielo abierto (Cieciura-Włoch et al., 2020).

2.1 Etapas de la Digestión Anaerobia

Previo a la fermentación, los residuos orgánicos, como los restos de frutas y verduras, son recolectados y acondicionados para su uso como sustrato. Es importante triturar o descomponer estos materiales en pedazos más pequeños para aumentar la accesibilidad de los microorganismos a los componentes orgánicos (López-Hidalgo et al., 2022).

La primera etapa de la fermentación oscura es la hidrólisis, en la que enzimas extracelulares o microorganismos degradan los componentes orgánicos complejos, como la celulosa, la hemicelulosa y la pectina, en azúcares más simples, como glucosa y otros monosacáridos. Esta etapa es esencial para hacer que los sustratos sean más accesibles para los microorganismos posteriores.

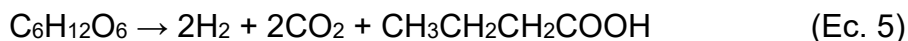
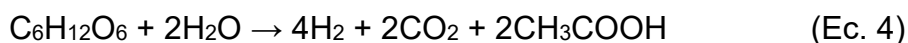
Compuestos orgánicos complejos + Agua $\rightarrow$ Moléculas más simples (Ec. 1)

La acetogénesis es la segunda etapa en la producción de biogás, generalmente ocurre como una etapa adicional después de la acidogénesis. Algunos

microorganismos fermentadores son capaces de producir hidrógeno molecular (H_2) como producto metabólico. Estas bacterias pueden utilizar sustratos orgánicos y producir biohidrógeno en un proceso llamado fermentación de hidrógeno (Lopez-Hidalgo et al., 2022).



En la fase de acidogénesis, los azúcares y otros compuestos orgánicos resultantes de la hidrólisis son fermentados por una variedad de microorganismos anaerobios. Durante la acidogénesis, se producen ácidos orgánicos como el acético, el butírico y el láctico como productos intermedios. La fermentación clostridial es el proceso de fermentación más favorable para producir biohidrógeno; en condiciones mesofílicas, las bacterias formadoras de esporas del género *Clostridium* convierten el sustrato en ácido acético, ácido butírico, H_2 y CO_2 . Las ecuaciones 3 y 4 muestran las relaciones estequiométricas entre el consumo de los azúcares fermentables generados por las bacterias hidrolíticas y los productos de fermentación generados por acidógenos productores de H_2 (Cappai et al., 2018).



La última fase de la digestión anaerobia es la metanogénesis. Durante esta etapa, los microorganismos metanogénicos convierten los productos orgánicos de las etapas anteriores en metano (CH_4).



2.2 Factores que afectan a la fermentación

El principal factor que afecta la eficiencia de la fermentación oscura son las bacterias implicadas en el proceso, ya que consta de 4 pasos en los cuales intervienen diferentes tipos de microorganismos que desempeñan un papel importante en la hidrólisis y fermentación de residuos orgánicos complejos y su conversión en ácidos orgánicos, hidrógeno y CO₂. Es importante destacar que la fermentación oscura es un proceso complejo que involucra una variedad de microorganismos anaeróbicos y su capacidad para degradar los sustratos orgánicos depende de las condiciones específicas del sistema, como la temperatura, el pH, tiempo de retención, la concentración de sustrato y la disponibilidad de nutrientes. La optimización de estas condiciones es fundamental para mejorar la eficiencia y el rendimiento de la fermentación oscura (Pasalari et al., 2021).

2.2.1 Tipo de sustrato

El sustrato es determinante en todo el proceso ya que no toda la materia orgánica se degrada con la misma facilidad, depende de la cantidad de celulosa, lignina y hemicelulosa que contenga la materia orgánica, así como también el contenido de Solidos Volátiles Totales (SVT), que es una medida de la cantidad de la materia orgánica susceptible a digestión, un adecuado contenido de SVT es esencial para una óptima producción de biogás (Orjuela 2015).

2.2.2 Temperatura

La temperatura afecta directamente la actividad microbiana, existen tres rangos principales de temperatura con los que generalmente se trabaja en la digestión anaerobia los cuales son: psicrófilico (5 - 20 °C), mesófilico (20 - 40 °C) y termófilico (45 - 65 °C), siendo estos dos últimos los rangos óptimos para la producción de biogás (Herrera et al., 2024).

2.2.3 pH

Un pH óptimo para la digestión anaerobia es de 6 a 7. Desviaciones de este rango pueden inhibir la actividad de las bacterias productoras de biogás, reduciendo la eficiencia del proceso (Herrera et al., 2024).

2.2.4 Tiempo de retención

El Tiempo de Retención de Lodos (TRL) indica el tiempo promedio que los lodos permanecen en el reactor. En sistemas de mezcla completa, el Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) y el TRL suelen ser iguales, y generalmente se trabaja con tiempos de retención entre 15 a 30 días. Un TRL adecuado asegura que las bacterias tengan suficiente tiempo para descomponer la materia orgánica, estabilizando los lodos y reduciendo su volumen contribuyendo a una mayor producción de biogás (Ochoa 2022).

2.2.5 Nutrientes

Las bacterias en el proceso de fermentación oscura requieren de micronutrientes o soluciones amortiguadoras derivados de nitrógeno, fósforo, sulfuros, potasio, calcio, magnesio, hierro, níquel, cobalto, zinc, manganeso y cobre para el crecimiento óptimo, aunque en caso de nitrógeno de no ser suministrada de manera correcta puede transformarse en amonio el cual podría inhibir el crecimiento de las bacterias, lo mismo ocurre con el resto de los nutrientes (Orjuela 2015).

3. Biogás

El biogás es un combustible que se genera en medios naturales o en dispositivos específicos, por reacciones de biodegradación de la materia orgánica, mediante la acción de microorganismos, en ausencia de oxígeno. Generalmente es una mezcla de gases que incluye: CH_4 , CO_2 , CO , H_2S , vapor de agua, H_2 , NH_3 . El biogás es un combustible renovable producido mediante la digestión anaeróbica de materia orgánica, como residuos agrícolas, estiércol y desechos alimentarios. Se utiliza para generar electricidad, calor y como combustible vehicular, además de ser inyectado

en redes de gas natural. El uso de biogás contribuye a la reducción de residuos, emisiones de gases de efecto invernadero y la gestión sostenible de recursos orgánicos. Aunque presenta desafíos en eficiencia y requerimientos de infraestructura, el biogás destaca como una fuente de energía versátil y sostenible en la transición hacia una matriz energética más limpia (Dawood et al., 2020).

3.1 Tecnología de captura y almacenamiento

El biogás, generado a partir de la digestión anaerobia de residuos orgánicos, es una fuente renovable para la transición energética. La principal opción actual para la valorización del biogás en el futuro próximo es la absorción (introducción de soluciones que eliminan los contaminantes y dejan el metano). Otras menciones destacadas incluyen la separación criogénica, la adsorción por oscilación de presión al vacío (VPSA) y la separación por membranas (FASTECH 2025).

3.2 Aplicaciones potenciales

El biogás, al ser una fuente de energía producida de manera sostenible, puede contribuir a descarbonizar múltiples sectores de la economía. Frega (2023), menciona que el biohidrógeno, un gas obtenido también por medio de la fermentación, también se puede utilizar como componente en muchas industrias químicas el cual es utilizado como estabilizador de reacciones, e incluso en la industria farmacéutica se requiere hidrógeno para medicamentos, destaca como potencial fuente de energía en industrias del transporte y de la minería, donde enriquecer los combustibles fósiles con hidrógeno libre de carbono puede tener un gran valor agregado a las utilidades de la industria, pero también al ambiente sociopolítico y medioambiental.

3.3 Impacto ambiental

Las condiciones ambientales pueden mejorar por el uso del biogás. En zonas donde se consume leña por encima de la capacidad de regeneración del bosque, el biogás reduciría la tala de árboles, por lo que se evitaría la deforestación y se mejoraría el entorno. Un beneficio a nivel global es la reducción de emisiones de gases de efecto

invernadero. Estos gases provienen de la fermentación descontrolada de la materia orgánica en forma de metano o óxidos nitrosos (gases de alto efecto invernadero, 24.5 y 320 veces mayores que el dióxido de carbono respectivamente) o de la quema de recursos fósiles (aumentando la concentración de CO₂ en la atmósfera), al controlar la fermentación se puede aprovechar el biogás producido disminuyendo al mismo tiempo las emisiones de gases de efecto invernadero. Además, el biogás evita la mala disposición de materia orgánica residual, ahorra en combustible fósiles y preserva los sumideros de captación de carbono.

Capítulo 2.

Desarrollo Experimental

DESARROLLO EXPERIMENTAL

La Figura 2.1 muestra el diagrama de la metodología realizada en este proyecto, el que constó de las siguientes partes: obtención de Residuos Orgánicos (RO); caracterización de los RO; hidrólisis de los RO; construcción del fermentador y producción de biogás a diferentes condiciones de inóculo y sustratos.

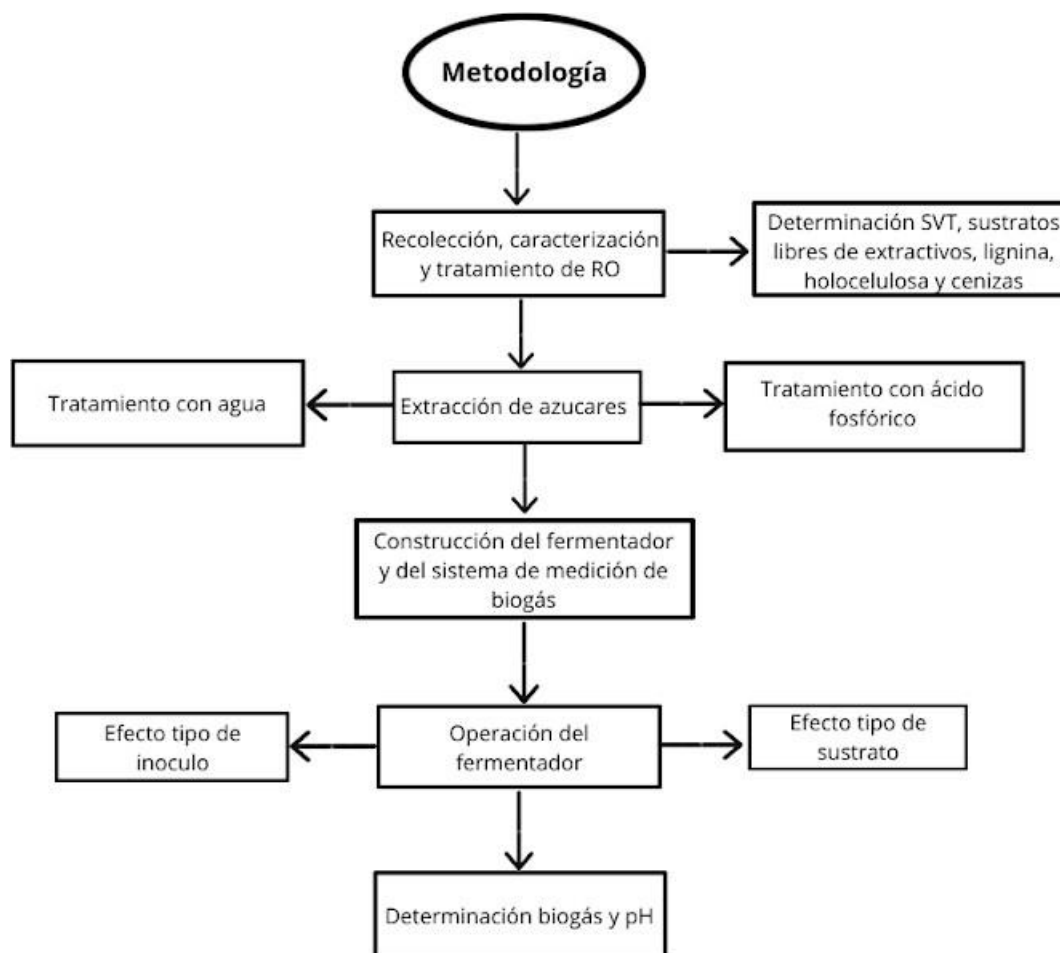


Figura 2.1 Metodología para el desarrollo del proyecto

2.1 Obtención y caracterización de los RO

Se recolectó 1 kg de residuos de frutas y verduras y se separó de acuerdo con lo descrito en el método de cuarteo de la Norma Mexicana NMX-AA-15-1985. Posteriormente, se separó por especies y se pesó para determinar su composición másica. Los residuos se deshidrataron, se trituraron y se caracterizaron para determinar su contenido de lignina, holocelulosa, cenizas y SVT.

2.1.1 Determinación de SVT

Se pesaron 5 gramos de RO previamente secados al sol y triturados y se dispusieron en capsulas de aluminio por cuadruplicado. Estas capsulas se introdujeron en una mufla y se dejaron calcinar a 550 °C durante una hora. Al término de este tiempo se redujo la temperatura de la mufla, lentamente mediante su control automático a 250 °C. Las muestras se transfirieron a una estufa a 50 °C y se les dejó ahí por media hora, finalmente se colocó en un desecador durante 30 minutos y se pesó. El porcentaje de ceniza y SVT se determinó por diferencia de pesos.

2.1.2 Preparación para sustrato libre de extractivos

Se pesaron 10 g de residuos previamente secados al sol y triturados con una licuadora, se dispusieron en un cartucho de extracción en el cuerpo extractor del sistema de reflujo Soxhlet y se puso a reflujo con 120 mL de una mezcla 1:2 de etanol – tolueno (40 – 80 mL) para extraer los aceites esenciales y los compuestos solubles en solventes orgánicos. Una vez que el sifón no mostró coloración, el cartucho se secó a temperatura ambiente durante una noche y se volvió a colocar a reflujo con 120 mL de agua destilada, el reflujo se detuvo cuando el bulbo del sifón no presentó coloración. El cartucho se dejó secar a temperatura ambiente durante una noche, posteriormente la muestra sólida se recuperó de los cartuchos, se colocó en papel aluminio y se secó en el horno a 50 °C durante 24 horas para su posterior trituración y caracterización.

2.1.3 Determinación de holocelulosa

Para la determinación de holocelulosa, se pesó 1 g de la muestra seca en un recipiente y se mezcló con una solución de 0.3 g de clorito de sodio en 32 mL de agua destilada, a la que previamente se le añadieron 2 gotas de ácido acético. Los recipientes preparados se colocaron en un baño de calentamiento a 75 °C durante 4 horas. Cada 30 minutos se agitaron y cada hora se les añadió lentamente 2 gotas de ácido acético y 0.32 g de clorito de sodio. Una vez enfriados los recipientes a temperatura ambiente, las muestras se filtraron utilizando papel filtro previamente pesado. Cada una de las muestras se lavó con 200 mL de agua caliente (hasta tener color pálido) y posteriormente con 100 mL de acetona. Con ayuda de unas pinzas se colocó cada papel filtro con muestra dentro de una cápsula de aluminio previamente pesada y se colocaron en una estufa a 40 °C durante 3 días. Al término del secado, las muestras se colocaron en un desecador por 30 minutos y se pesaron rápidamente para evitar la hidratación de la holocelulosa. El contenido de holocelulosa se determinó por diferencia de pesos.

2.1.4 Determinación de lignina

Para la determinación de lignina, se pesó 1 g de muestra seca en un vaso de precipitado de 500 mL, se adicionó 25 mL de ácido sulfúrico al 72% (v/v) y 2.5 mL de ácido bromhídrico al 40% (v/v) y se dejó reposar por 2 horas agitándose cada 30 minutos. Posteriormente se adicionaron 100 mL de agua destilada y se dejó hervir durante 5 minutos. La muestra contenida en el vaso de precipitado se filtró con papel filtro previamente pesado y se lavó con agua destilada caliente hasta pH neutro. Con ayuda de pinzas se colocó el papel filtro en una cápsula con peso constante y se secó a 70 °C durante 24 horas. Al término del secado, las muestras se colocaron en un desecador por 30 minutos y se pesaron para determinar el contenido de lignina en los RO por diferencia de pesos.

2.2 Extracción de azúcares

El sustrato que se utilizó fueron residuos de frutas y verduras sin tratamiento y con tratamiento químico previamente secados al sol. Este tratamiento tuvo como objetivo aumentar la accesibilidad de las bacterias a los carbohidratos presentes en los RO y producir azúcares fermentables. El tratamiento se llevó a cabo con ácido fosfórico al 1% v/v y agua destilada a una temperatura de 70, 80 y 90 °C con diferentes tiempos de reacción. El tratamiento se realizó en frascos viales de 60 ml pesando 1 g de RO y mezclándolo con 15 mL ácido fosfórico. Los tiempos de reacción fueron: 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos. Al término del tiempo deseado, la fase líquida se separó de la fase sólida con ayuda de papel filtro de poro grueso. La extracción de azúcares se realizó también con agua destilada a la misma temperatura con la finalidad de evaluar el efecto de la adición de ácido.

2.3 Construcción y operación de los fermentadores

Se utilizaron dos tipos de fermentadores; el primero consistió en una botella de plástico de 625 mL acoplada a un sistema de medición de biogás. El segundo fermentador consistió en frascos viales de color ámbar de 60 mL con tapa de goma hermética y sellada con tapón de aluminio para evitar fugas.

2.3.1 Fermentadores de 625 mL

Se ocuparon recipientes de suero de 625 mL con taparrosas de plástico las cuales se perforaron para conectar los sistemas de medición de gas, cada una de las tapas se sellaron con silicón y cinta adhesiva. El sistema de medición de gas consistió de frascos gerber de 110 mL graduados cada 5 mL, la graduación se utilizó para cuantificar el volumen de biogás generado por desplazamiento de líquido a las diferentes alturas. Los frascos gerber se taparon con tapones de hule No. 10 y se interconectaron tubo de vidrio de 8 mm de y manguera látex tal y como se muestra en la Figura 2.2. Uno de los dos frascos se llenó con salmuera sódica ajustada a pH 4, esta solución se usó para medir el desplazamiento del líquido generado por la presión del gas.



Figura 2.2 Sistemas de medición de gas

En cada sistema se mezclaron 30 g de RO y 300 mL de solución buffer, la configuración de sistemas de este experimento es: RO, RO más Residuos de Ganado (RG) y RO más RG más 10 mL de hidrolizado ácido (HID). Los sistemas se colocaron en un tanque de calentamiento a 37 °C a 80 rpm.

2.3.2 Fermentadores de 60 mL

Los experimentos se realizaron en viales de 60 mL considerando como variables de estudio el tipo de bacteria, el tipo de sustrato (hidrolizado o no hidrolizado) y el tiempo de fermentación. El diseño de experimentos se presenta en la Tabla 2.1. Los viales se purgaron con nitrógeno previo a la fermentación para garantizar la atmósfera anaerobia, se sellaron herméticamente y se colocaron en incubación a 37 °C. En estos sistemas, el biogás generado se cuantificó utilizando una jeringa de 1 mL.

Tabla 2.1 Configuración de los fermentadores

Inóculo 1 (excreta de ganado)	Inóculo 2 (Agua residual)
Hidrolizado ácido más frutas y verduras sin tratar	Hidrolizado ácido más frutas y verduras sin tratar
Hidrolizado agua más frutas y verduras sin tratar	Hidrolizado agua más frutas y verduras sin tratar
Frutas y verduras sin tratar	Frutas y verduras sin tratar

2.3.3 Medio de cultivo e inóculo

El medio de cultivo se preparó de la siguiente manera; sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g/L, Fosfato monobásico de potasio KH_2PO_4 4.5 g/L y Fosfato dibásico de potasio K_2HPO_4 10.5 g/L. Las sales se mezclaron en una parrilla de agitación hasta alcanzar la homogeneidad.

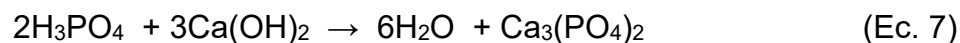
Las bacterias utilizadas se extrajeron de dos fuentes diferentes; residuos de ganado y agua residual doméstica. Las bacterias se sembraron en medio de cultivo a base tioglicolato con resazurina (indicador de oxígeno), para ello se colocaron 10 mL en viales de 20 mL, los cuales se purgaron con nitrógeno y se sellaron con un tapón de goma y una capucha de aluminio para finalmente esterilizarlos en un autoclave a 121 °C y 15 psi de presión. Los viales fueron inoculados con las bacterias nativas de la excreta de ganado (1 g) y del agua residual doméstica (2 mL) y se incubaron a 37 °C durante un día. Posteriormente, los viales se sometieron a un tratamiento térmico a 105 °C durante 2 horas para eliminar los microorganismos con excepción de las esporas *Clostridium* y se inocularon en medio de cultivo nuevo y estéril. La resiembra de bacterias *Clostridium* se realizó de manera periódica.

Las bacterias provenientes de la excreta de ganado y del agua residual se analizaron mediante la tinción de Gram, para ello, se realizó un frotis al cual se añadió cristal violeta usando un gotero hasta que la muestra fija en el portaobjetos se tiñó por completo, después de 1 minuto se enjuagó con agua destilada y se

añadió Lugol, posteriormente se volvió a enjuagar y se lavó con alcohol – acetona durante 30 segundos, se volvió a enjuagar para finalmente colocar safranina durante 1 minuto y volver a enjuagar con agua destilada. Las muestras se secaron y se observaron en un microscopio óptico.

2.3.4 Sustrato

El sustrato utilizado fueron los RO sin tratamiento y el azúcar obtenido después de la hidrólisis con ácido fosfórico y con agua (Sección 2.2) a las condiciones más favorables para la extracción de azúcares. Los RO tratados con H_3PO_4 se enjuagaron con agua destilada hasta pH neutro, mientras que el licor (hidrolizado) se neutralizó con una solución de hidróxido de calcio acorde con la siguiente relación estequiométrica y se esterilizó en autoclave.



Los azúcares extraídos y los residuos de frutas y verduras con y sin tratamiento se utilizaron como fuente de carbono para los microorganismos durante la fermentación anaerobia.

2.4 Cuantificación de biogás

La determinación de biogás en los fermentadores de 625 mL se llevó a cabo por desplazamiento de salmuera utilizando el sistema de medición de biogás previamente descrito (Figura 2.2).

Para los experimentos en viales de 60 mL, el biogás se monitoreó por medio de jeringas de insulina de 1 mL, en donde se iba purgando cada determinado tiempo. En ambos sistemas, el volumen de gas acumulado se midió en intervalos de 24 horas.

2.5 Determinación de pH

El pH se determinó para evaluar el gradiente de acidez al inicio y al final de la fermentación, utilizando un potenciómetro Science MED modelo SM-25CW calibrado previamente con soluciones buffer (pH 4.0, 7.0 y 10.0). Las muestras líquidas fueron recolectadas con ayuda de una jeringa estéril de 5 mL, la medición se realizó inmediatamente después de la apertura de cada uno de los fermentadores.

Capítulo 3.

Resultados y discusión

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de los RO

Los RO se obtuvieron en una recaudería de la comunidad de Yancuictlalpan, Tianguistenco, Estado de México durante el mes de septiembre. Los muestreos se realizaron los días domingo debido a la cantidad y diversidad de los residuos. La composición de los RO se resume en la Tabla 3.1, donde se observa que el más abundante en base húmeda fue la lechuga (16.23 %) tal y como se muestra en la Figura 3.1, el segundo componente más abundante fue la cáscara de plátano (14.10 %). Los residuos de chile y cebolla fueron los menos predominantes con el 3.84 y 7.26 %, respectivamente.

Tabla 3.1 Composición de los RO

Especie	Peso húmedo (Kg)	Porcentaje (%)
Guayaba	0.60	10.25
Plátano	0.825	14.10
Lechuga	0.950	16.23
Cebolla	0.425	7.26
Pepino	0.675	11.54
Tomate	0.650	11.11
Jitomate	0.750	12.82
Chile	0.225	3.84
Zanahoria	0.750	12.82
Total	5.850	99.96

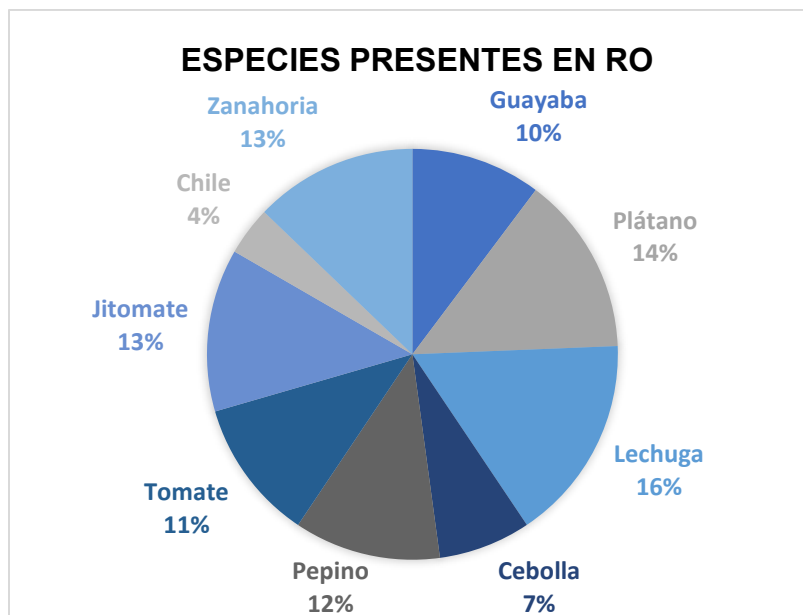


Figura 3.1 Predominancia de las especies presentes en los RO

3.1.1 Caracterización inicial de los RO

La Tabla 3.2 resume la caracterización de los RO. Las especies recolectadas para la realización de los experimentos tienen un contenido alto de compuestos orgánicos, alcanzando un promedio de 90.94 ± 0.005 % de SVT, lo que puede favorecer a la producción de biogás durante el metabolismo de las bacterias utilizadas. El porcentaje de cenizas fue de 9.052 ± 0.003 %.

El contenido de lignina fue de 31 ± 0.007 %, mientras que el contenido de holocelulosa en los RO fue de 59.5 ± 0.075 %. El alto contenido de holocelulosa sugiere que los RO son aptos para su uso en digestores anaerobios.

En términos de aprovechamiento energético, las muestras con mayor contenido de holocelulosa son mejores para la producción de biogás, mientras que el alto porcentaje de lignina podría inhibir la acción metabólica de las bacterias, razón por la cual sería necesario un pretratamiento para mejorar la tasa de biodegradación e hidrólisis de los carbohidratos complejos.

Tabla 3.2 Caracterización de los RO

Componente	Promedio	Desviación
SVT	90.94 %	0.005
Cenizas	9.052 %	0.003
Lignina	31 %	0.007
Holocelulosa	59.5 %	0.075

3.2 Hidrolisis termoquímica de los RO

3.2.1 Tratamiento ácido

La Figura 3.2 presenta la producción de azúcar en función del tiempo durante la hidrolisis con H_3PO_4 al 1% v/v. A 80 °C, se alcanzaron las concentraciones más altas de azúcar, con un pico de 34.4 g / 100 g alrededor de los 45 minutos, seguido de una disminución gradual hasta los 120 minutos. A 90 °C, la concentración se mantuvo relativamente estable siendo la más baja de 20.74 g /100 g a los 15 minutos y la más alta de 27.64 g / 100 g a los 120 minutos. Por otro lado, a 70 °C se registraron valores de producción de azúcares dentro de un rango de 20.93 a 34.26 g / 100 g

Los datos experimentales mostraron fluctuaciones importantes en la producción de azúcar a la temperatura de 80 °C. En contraste, los datos a 90 °C presentan menor dispersión, indicando mayor estabilidad del sistema a esa temperatura. Tal y como se observa en la Figura 3.2, la temperatura óptima para la producción de azúcares fue 80 °C a los 45 minutos de tiempo de reacción (34.4 g / 100 g).

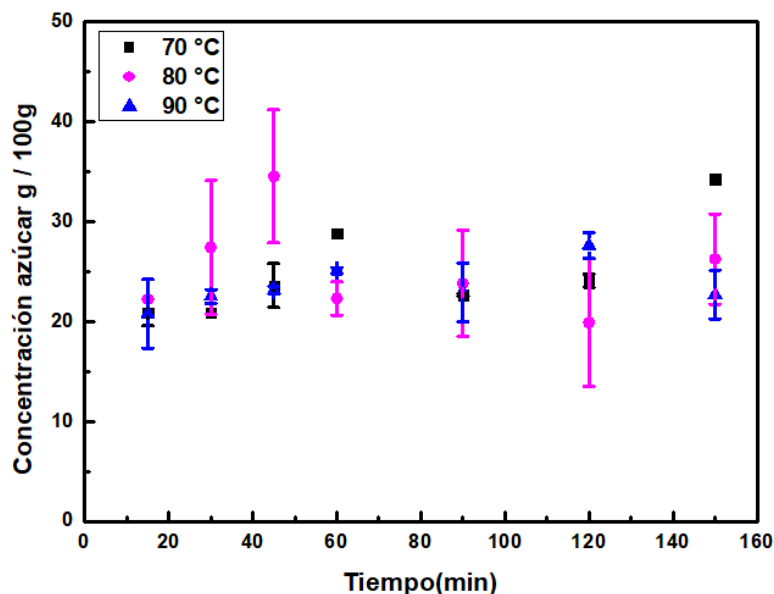


Figura 3.2 Producción de azúcares reductores durante la hidrólisis con ácido fosfórico

La Figura 3.3 muestra el comportamiento del furfural en función del tiempo de reacción durante la hidrólisis con H_3PO_4 al 1% v/v. A 70 °C se registraron las concentraciones más elevadas alcanzando un máximo de 230 mg / 100 g a los 45 minutos. En este experimento se observó concentraciones elevadas durante todos los tiempos; > 200 mg /100 g, lo que sugiere una mayor degradación de los azúcares a estas condiciones. Por el contrario, las temperaturas de 80 °C y 90 °C resultaron en concentraciones significativamente menores, con valores en un rango de 76.50 - 92.00 mg / 100 g y 89.22 - 110.47 mg / 100 g, respectivamente, No se observó un incremento en la concentración de furfural con respecto al tiempo en este experimento.

Los resultados indican que la temperatura de 70 °C favorece la producción de furfural, lo cual es indeseable ya que es un compuesto inhibidor el crecimiento bacteriano capaz de afectar negativamente a la fermentación. Por lo tanto, las temperaturas de 80 °C y 90 °C son las más adecuadas para producir azúcares con una baja generación de furfural, en especial los 80 °C.

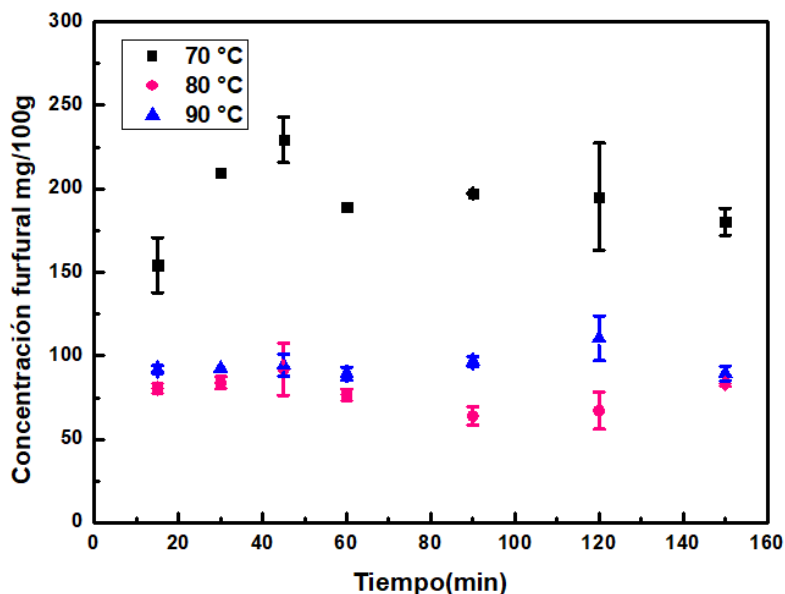


Figura 3.3 Producción de furfural durante la hidrólisis con ácido fosfórico

La Figura 3.4 resume el comportamiento de pH en función del tiempo reacción durante la hidrólisis con H_3PO_4 al 1% v/v. A los 15 minutos se observaron los valores más altos a 80 °C (2.31), posteriormente, al minuto 30 disminuyó hasta un valor de 1.88 y a los 120 minutos volvió a subir hasta 2.30. No se observan diferencias drásticas en los valores de pH a las diferentes temperaturas de operación, aunque se nota una ligera tendencia descendente a mayor temperatura (90 °C) donde el valor más bajo fue de 1.59 a los 15 minutos. La caída en el pH se puede relacionar con la formación de ácidos orgánicos durante la descomposición de los aldehídos generados.

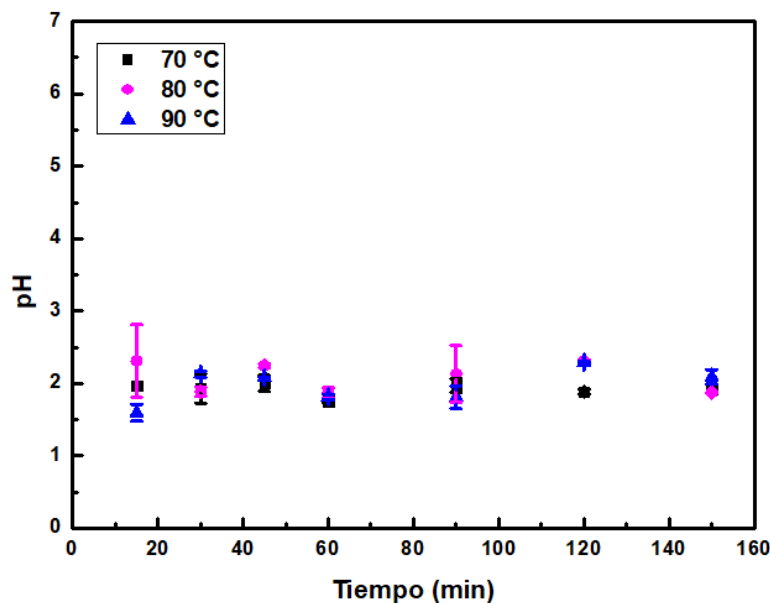


Figura 3.4 Comportamiento del pH durante la hidrólisis con ácido fosfórico

3.2.2 Tratamiento con agua destilada

La Figura 3.5 presenta la producción de azúcar en función del tiempo durante la hidrólisis con agua caliente. A diferencia de lo observado con el ácido fosfórico, el tratamiento con agua caliente mostró concentraciones de azúcar relativamente constantes durante todo el experimento. La temperatura de 80 °C alcanzó las concentraciones más elevadas de azúcar dentro de un rango de 20.98 a 32.97 g / 100 g en los distintos tiempos de reacción, siendo los 80 minutos el tiempo que mostró la concentración más alta.

Por otro lado, a 90 °C se observaron las concentraciones más bajas de azúcar con excepción de los 150 minutos, manteniéndose en un rango de concentraciones; 19.26 a 23.80 g / 100 g. Esta tendencia sugiere una posible degradación acelerada de los azúcares a temperaturas más altas, probablemente por su transformación hacia compuestos secundarios como furfural. Los resultados experimentales indican que las temperaturas de 70 y 80 °C favorecen la extracción de azúcares durante el tratamiento con agua caliente.

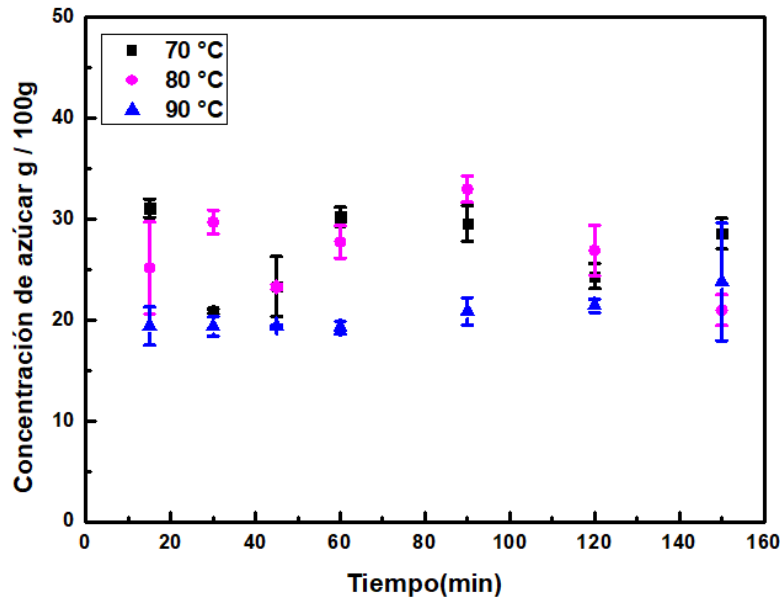


Figura 3.5 Producción de azúcares reductores durante el tratamiento con agua caliente

La Figura 3.6 muestra el comportamiento del furfural en función del tiempo de reacción durante la hidrólisis con agua caliente. La concentración de furfural a 70 °C fue mayor en comparación con las temperaturas de 80 °C y 90 °C durante todo el tiempo de tratamiento. A 70 °C, la concentración aumentó rápidamente en los primeros 45 minutos, alcanzando valores superiores a 250 mg / 100 g, posteriormente la concentración se estabilizó con ligeras fluctuaciones hasta los 150 minutos. En contraste, a temperaturas de 80 °C y 90 °C, la formación de furfural fue considerablemente menor. Ambas curvas mostraron un comportamiento similar entre si en un rango de concentraciones de 75 – 95 mg / 100 g a 80 °C y de 85 – 110 mg / 100 g a 90 °C.

Los resultados sugieren que la temperatura más baja (70 °C) favorece la formación de furfural en comparación con tratamientos a mayor temperatura.

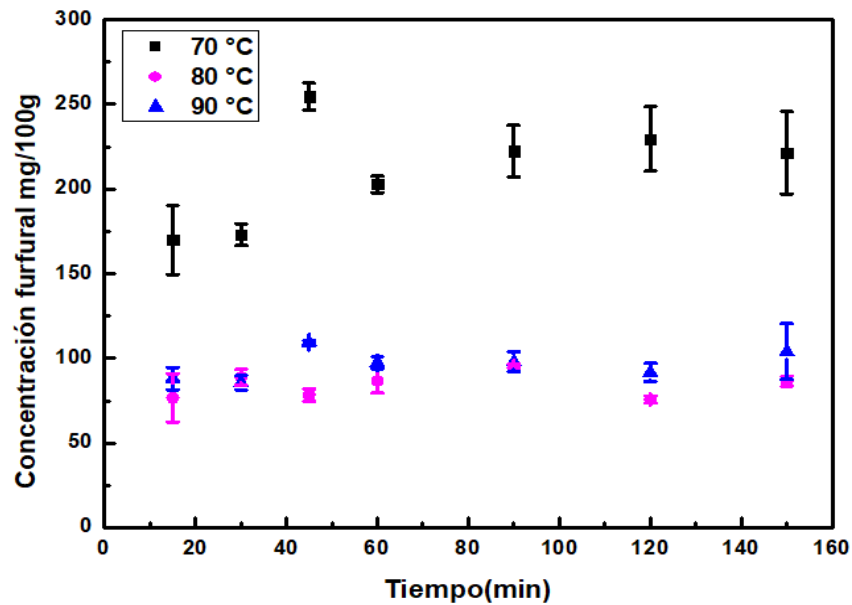


Figura 3.6 Producción de furfural durante la hidrólisis con agua caliente

La Figura 3.7 resume el comportamiento de pH en función del tiempo reacción durante la hidrólisis con agua caliente. El pH descendió ligeramente a partir de los 60 minutos de tiempo de contacto para cada una de las temperaturas. A 70 °C, el pH se mantuvo en un rango entre 4.8 y 5.1 y fue el valor más alto y estable entre todos los experimentos. A 80 °C, el pH inicial fue de 4.3, y descendió ligeramente hasta 4.0 al final del tratamiento. A 90 °C, se presentó el valor de pH más bajo, comenzando alrededor de 4.0 y descendiendo por debajo de 3.8 en los primeros 30 minutos. El pH mostró un ligero descenso a medida que avanzó el tiempo de reacción, sobre todo en los tratamientos a temperaturas altas. Esto sugiere que las temperaturas más altas favorecen la descomposición de los azúcares en compuestos orgánicos ácidos, los cuales podrían tener efectos inhibitorios en los procesos biológicos posteriores, como la digestión anaerobia. La caída en el pH es un factor que considerar para las etapas de producción de biogás.

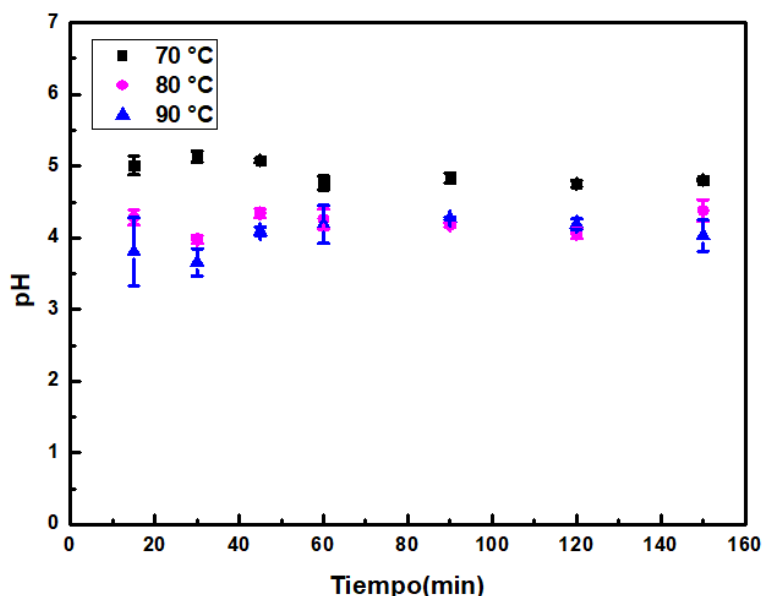


Figura 3.7 Comportamiento del pH durante la hidrólisis con agua caliente

La Tabla 3.3 muestra un comparativo entre la producción de azúcares obtenida en este trabajo y lo citado en la literatura. El rendimiento de azúcar alcanzado en este proyecto fue de 20 a 35 g / 100 g utilizando temperaturas de 70 a 90 °C en tiempos menores a 3 horas. Otros trabajos muestran rendimientos de entre 3 y 32 % en un rango de temperaturas de 80 a 90 °C. Bedzo et al. (2023) reportaron un bajo rendimiento de producción de azúcar (2.79 – 4.79) durante la hidrólisis del bagazo de sorgo con ácido sulfúrico en un tiempo corto; 120 minutos. Además, González et al. (2023) realizó la hidrólisis ácida de cáscara de plátano utilizando HCl al 5 %, 100 °C y 20 minutos, obteniendo un rendimiento de glucosa de 13.02 g/L.

Tabla 3.3 Comparación con otros artículos, producción de azúcares.

Fuente y material	Material	Temp (°C)	Tiempo (min/h)	Rendimiento (g/100 g o %)	Fuente
Frutas y verduras	Agua y H ₃ PO ₄	70 °C, 80 °C, 90 °C	15 - 150 min	20–35 g/100 g	Este trabajo
Cáscara de plátano	HCl	100 °C	0 - 30 min	13.02 g/L	(Gonzalez et al., 2023)
Bagazo de sorgo	H ₂ SO ₄	150-210 °C	5–60 min	4,79 a 2,79 g/100 g	(Bedzo et al., 2023)

Cáscara palma	H ₂ SO ₄	100–130 °C	30–60 min	Glucosa 15.3 %, Xylosa 32.4 %	(Wong et al., 2022)
Pectina de orujo de uva	H ₂ SO ₄ , HCl, HNO ₃	70/80/90 °C	180 min	4.23 a 7.30 %	(Spinei & Oroian, 2022)

3.3 Inoculo

Las bacterias provenientes de los residuos de ganado y del agua residual se analizaron por tinción Gram para identificar su pared celular. Tal y como se muestra en la Figura 3.8 a), las bacterias provenientes del agua residual fueron identificadas como bacilos Gram positivos, presuntamente pertenecientes al género *Clostridium* capaces de producir esporas productoras de hidrógeno. La Figura 3.8 b) muestra la presencia de esporas, ellas aparecen como pequeñas burbujitas dentro de la muestra teñida y pueden ser eficientes para la producción de biogás y en especial de biohidrógeno al pasar a su forma viable.

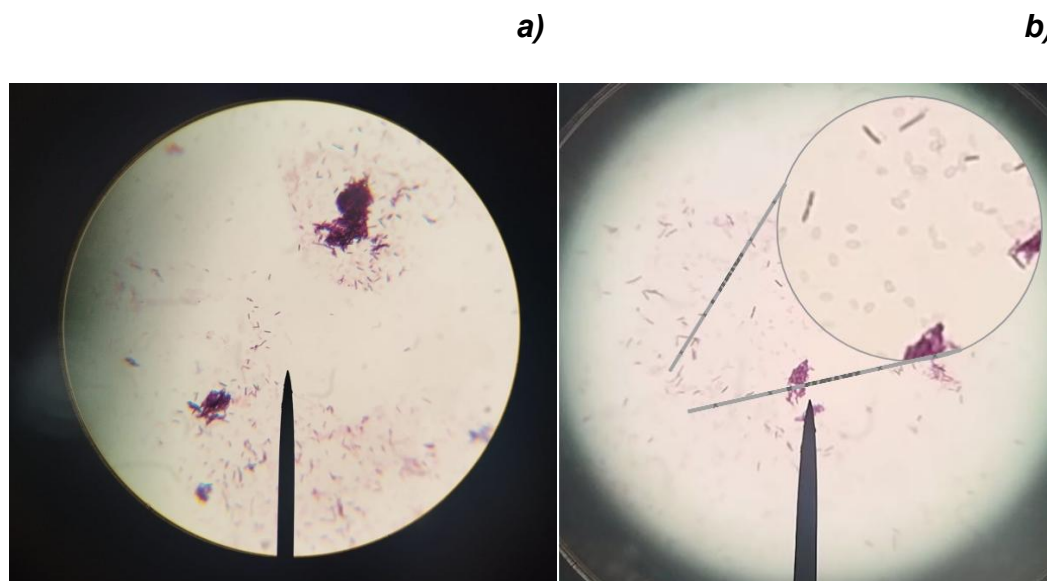


Figura 3.8 a) Tinción de Gram y b) esporas de las bacterias provenientes del agua residual

Por otro lado, las bacterias aisladas del rumen de ganado se muestran en la Figura 3.9, aquí se observa la presencia de bacterias tanto Gram positivas como negativas,

siendo la mayoría de ellas bacilos no esporulados. Dada la naturaleza de la muestra inicial, se sugiere la presencia de bacterias como: *E. coli* y *Enterobacter*,

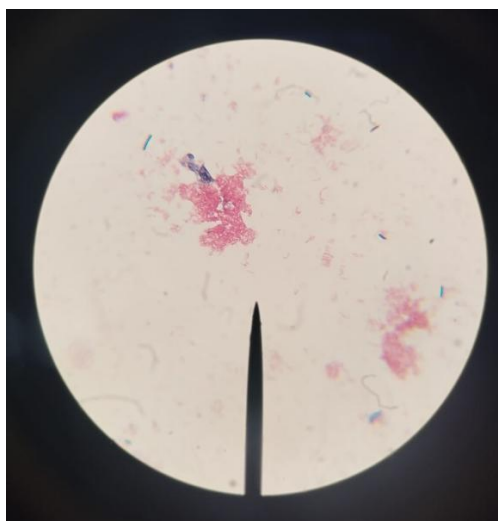


Figura 3.9 Tinción de Gram de las bacterias provenientes del rumen de ganado

3.4 Sustrato utilizado en la fermentación

La producción de biogás depende en gran medida de la composición química del sustrato utilizado para la fermentación, en este caso los residuos recolectados que son una fuente rica en carbohidratos, azúcares y almidón, se trataron químicamente. El proceso de hidrólisis se llevó a cabo empleando dos medios: agua caliente y una solución ácida con ácido fosfórico (H_3PO_4). En ambos casos, la reacción se realizó a una temperatura de 80 °C durante un tiempo total de 150 minutos. Estas condiciones fueron seleccionadas con base a los resultados experimentales previos, que demostraron una alta liberación de azúcares y una baja formación de compuestos inhibidores, como el furfural.

Para el tratamiento ácido, se utilizaron 150 mL de una solución 1 % v/v de ácido fosfórico mezclado con 10 g de RO secos y triturados, mientras que el experimento con agua caliente se llevó a cabo con agua desionizada. La concentración de azúcares obtenida en este experimento fue de 16.53 g / 100 g y de 16.17 g / 100 g para el tratamiento con agua y ácido, respectivamente. Estos valores reflejan un buen rendimiento en la liberación de azúcares fermentables.

Los residuos sobrantes de los tratamientos químicos poseen un alto contenido de humedad y poca lignina, algunos componentes como la lechuga, el pepino y el jitomate, favorecen una rápida hidrólisis inicial, acelerando la fase de acidogénesis. Por otro lado, frutas como el plátano y la guayaba, ricas en azúcares, aportan una fuente energética inmediata para las bacterias productoras de biogás (Gómez, 2022). Los residuos sobrantes del tratamiento con agua caliente tienen una peculiar morfología fibrosa, con un característico color marrón. La Figura 3.10 muestra los residuos sólidos sobrantes del tratamiento con ácido fosfórico los cuales mostraron una estructura gelatinosa y fragmentada, con tonalidades más oscuras, lo que sugiere una mayor disolución de componentes estructurales como la hemicelulosa y la lignina.



Figura 3.10 Residuos sobrantes de la hidrólisis ácida

3.5 Producción de biogás

3.5.1 Fermentadores de 625 mL

En la Figura 3.11 se presentan los fermentadores utilizando botellas de suero de 625 mL y un sistema de medición de gas. Los sistemas operaron durante dos semanas, sin embargo, no se apreció desplazamiento de salmuera en ninguno de los sistemas, lo cual se puede relacionar con la nula generación de biogás o con fugas en el biodigestor o en el sistema de medición de biogás. Transcurridas las dos semanas, los fermentadores se abrieron y con base al color de la fase líquida y al olor se sugiere actividad fermentativa por parte de los microorganismos.



Figura 3.11 Producción de biogás en los fermentadores de 625 mL

3.5.2 Fermentadores de 60 mL

En la Figura 3.12 se presentan los fermentadores de 60 mL, estos sistemas operaron bajo condiciones anaerobias en una incubadora. La adición de nitrógeno a los sistemas ayudó a desplazar el oxígeno residual manteniendo las condiciones necesarias para el metabolismo de las bacterias anaerobias durante toda la fermentación mejorando así su rendimiento, además de acuerdo con lo establecido en la literatura, la fermentación oscura fue favorecida por los viales color ámbar debido a la ausencia de luz. Además, para esta fermentación se utilizaron dos tipos de bacteria las provenientes del rumen de ganado y otras provenientes del agua residual las cuales posterior a ser tratadas fueron inoculadas con una jeringa de insulina con el fin de evitar la introducción de oxígeno en el proceso.



Figura 3.12 Producción de biogás en los fermentadores de 60 mL

3.6 Determinación de biogás y pH

La fermentación en los frascos viales tuvo una duración de 171 horas. El tratamiento con hidrolizado ácido mostró una generación de biogás similar a la observada con el hidrolizado con agua caliente, sin embargo, en ambos casos las bacterias obtenidas del agua residual mostraron mayor producción que las de rumen de ganado independientemente del tratamiento aplicado a los residuos por lo que los sistemas inoculados con agua residual presentaron una mayor producción de biogás que aquellos que fueron inoculados con bacterias provenientes del ganado. La producción de gas muestra que los residuos de frutas y verduras sin tratar tuvieron una mayor eficiencia en comparación con los residuos previamente hidrolizados los cuales tuvieron una caída en su pH. El sistema que contiene agua residual con frutas y verduras tuvo un promedio de producción de 160.3 mL de gas como se muestra en la Figura 3.13, esto puede ser debido a que la mezcla de residuos no es totalmente homogénea, eso también puede variar en la producción de azúcares y furfural como se muestra en los experimentos de hidrolizado a diferentes temperaturas.

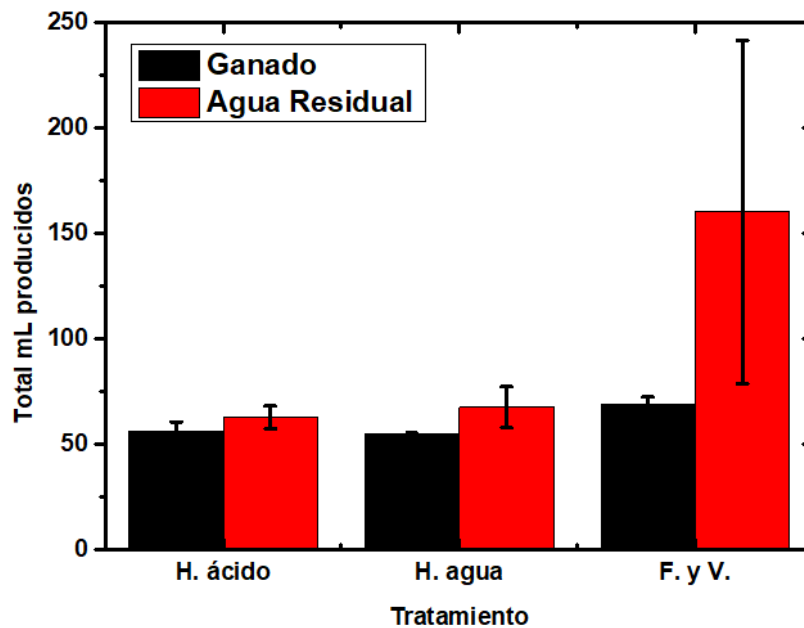


Figura 3.13 Biogás producido en los fermentadores de 60 mL

En la Figura 3.14, la producción acumulada de biogás alcanza valores máximos cercanos a los 70 mL después de aproximadamente 139 horas. El tratamiento con frutas y verduras muestra consistentemente la mayor producción de biogás a lo largo del experimento, superando los 69 mL. El hidrolizado ácido presentó una producción intermedia, con un rendimiento final ligeramente superior al hidrolizado con agua caliente; 56.3. El hidrolizado con agua tuvo la menor producción de biogás en casi todos los tiempos, alcanzando alrededor de 54 mL al final.

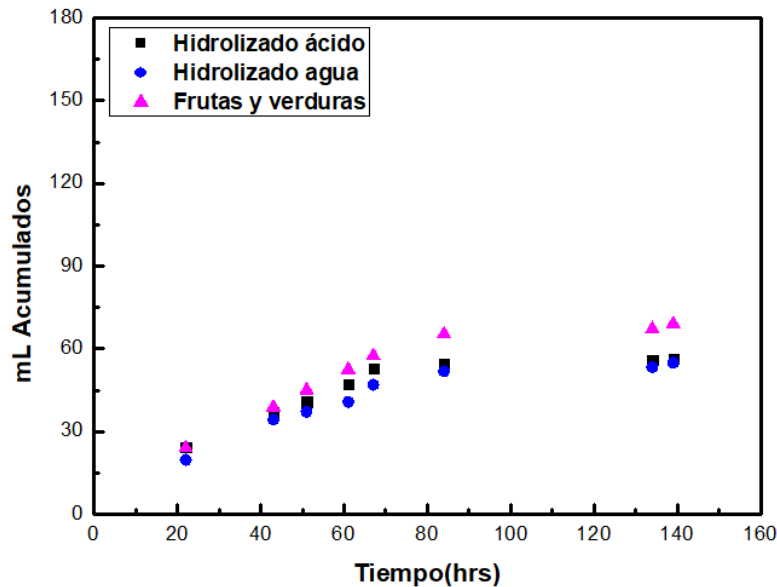


Figura 3.14 Producción de biogás utilizando las bacterias provenientes de la excreta de ganado

En la Figura 3.15, se observa una mayor producción de biogás, utilizando frutas y verduras sin tratamiento alcanzando 160 mL en el mismo tiempo; 139 horas. Al igual que lo observado con las bacterias provenientes del ganado, la fermentación de los residuos de frutas y verduras mostraron el mejor desempeño, con una producción significativamente más alta desde las primeras 48 horas. Las fermentaciones de los hidrolizados ácidos y con agua caliente mostraron comportamientos similares entre sí, con producciones de biogás finales cercanas a los 62.9 y 67.8 mL respectivamente. El hidrolizado con agua caliente mostró un ligero aumento en los tiempos finales, superando al ácido. El comportamiento mostrado en la Figura 3.15 sugiere una mejora sustancial en la producción de biogás al utilizar bacterias provenientes del agua residual.

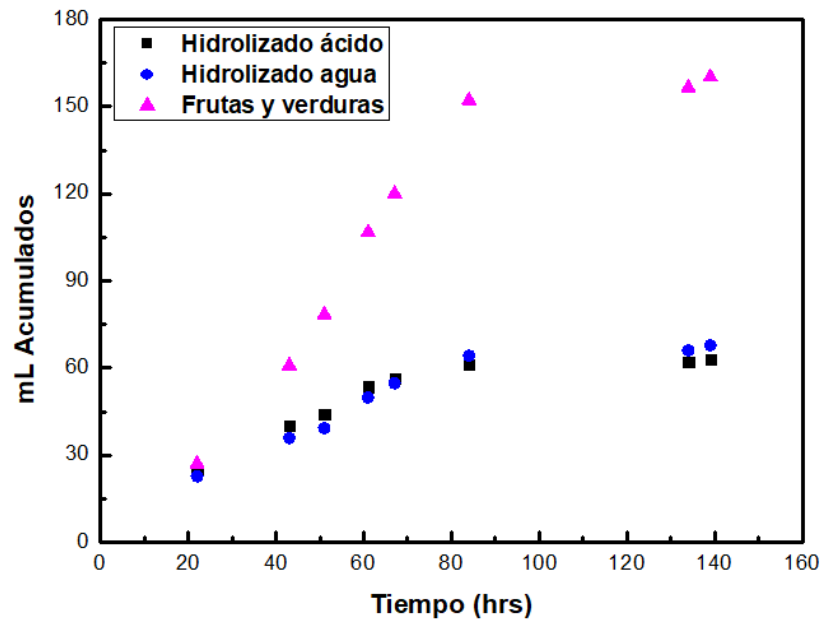


Figura 3.15 Producción de biogás utilizando las bacterias provenientes del agua residual

El pH de los lixiviados se tomó al término de la fermentación. El valor inicial de pH del hidrolizado con ácido y agua antes de la fermentación fue de 5.71 y 4.81 respectivamente. En la Figura 3.16 no se aprecia una variación significativa en el pH, siendo el valor mayor de 5.60 con la bacteria de ganado y de 5.14 con las bacterias del agua residual, ambos determinados en el fermento de frutas y verduras. El valor de pH más bajo se determinó durante la fermentación de hidrolizados ácidos con la bacteria del agua residual 4.49. El cambio en el pH se debe al crecimiento y actividad metabólica de las bacterias acidogénicas y acetogénicas como género *Clostridium* que se encuentran en el RG y convierten los RO en ácido acético, ácido butírico, H_2 y CO_2 .

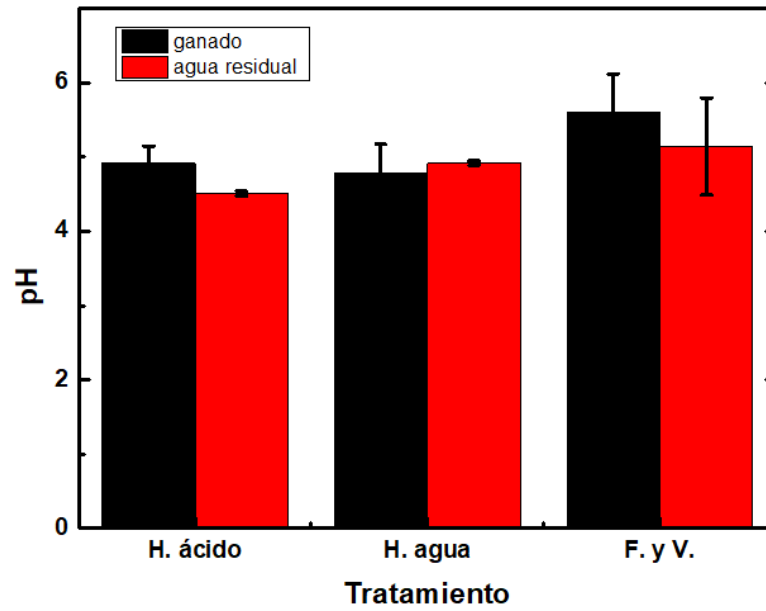


Figura 3.16 pH del lixiviado obtenido al término de la fermentación en los viales de 60 mL

Conclusiones

CONCLUSIONES

El tratamiento con agua caliente y con ácido fosfórico diluido permitió extraer azúcares fermentables de los RO, mostrando eficiencias de producción similares entre sí. La presencia de furfural en los hidrolizados sugiere la descomposición de los azúcares debido a la carga ácida y temperatura.

Los residuos de frutas y verduras sin tratamiento previo mostraron la mayor producción de biogás, lo cual puede deberse a la disponibilidad directa de azúcares fermentables y a la fácil degradación de su materia orgánica.

El tipo de sustrato influye significativamente en la cantidad de biogás producido, y los residuos frescos resultaron ser más efectivos bajo las mismas condiciones de temperatura. Además, las bacterias provenientes del agua residual resultaron más eficientes para producir biogás en comparación con las extraídas de los residuos del ganado.

Recomendaciones

RECOMENDACIONES

Utilizar un cromatógrafo de gases para determinar el contenido de hidrógeno y metano en el biogás.

Aislar e identificar las bacterias presentes en los residuos de ganado y en el agua residual.

Ensamblar los biorreactores dentro de una caja de guantas con atmósfera anaerobia.

Referencias

REFERENCIAS

Cappai, G. S., De Gioannis, G., Muntoni, A., Spiga, D., Boni, M. R., Poletti, A., Pomi, R., & Rossi, A. (2018). Biohydrogen production from food waste: Influence of the Inoculum-To-Substrate Ratio. *Sustainability*, 10(12), 4506.

Cieciura-Włoch, W., Borowski, S., & Otlewska, A. (2020). Biohydrogen production from fruit and vegetable waste, sugar beet pulp and corn silage via dark fermentation. *Renewable Energy*, 153, 1226-1237.

Dawood, F., Anda, M., & Shafiullah, G. (2020). Hydrogen Production for Energy: An Overview. *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(7), 3847-3869.

Espinoza-Acosta, J. L., Montañón-Leyva, B., Valencia, D., Ledesma-Osuna, A. I., & Vega-Rios, A. (2022). Extracción, caracterización y actividad antioxidante de lignina de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) y cáscara de nuez pecanera (*Carya illinoensis*). *Biotecnia*, 24(2), 94-103.

Guzman, J. (2023, 2 Junio). Panorama Mundial de Gemación y Disposición de Residuos Sólidos Urbanos. *El Financiero*
<https://www.elfinanciero.com.mx/monterrey/2023/06/02/>

Herrera, C. A. V., García, A. P., & Castro, A. J. O. (2024). Automatización de un digestor anaerobio con sistema embebido para la producción de biogás a partir de residuo del aceite de palma. *REVISTA COLOMBIANA DE TECNOLOGIAS DE AVANZADA*, 2(44), 65-73. <https://doi.org/10.24054/rcta.v2i44.2992>

Javier, R. (2021). Validación De La Metodología Para La Determinación De Lignina Celulosa Y Hemicelulosa Por Espectroscopia Infrarroja En Árboles [Tesis de Licenciatura para obtener el Título de Bióloga]. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Ciencias

Kaza, S., Yao, L., Bhada-Tata, P., y Van Woerden, F.. (2018). What a Waste 2.0:

A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050.

Lopez-Hidalgo, A. M., Smoliński, A., & Sánchez, A. (2022). A meta-analysis of research trends on hydrogen production via dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 47(27), 13300-13339.

Ochoa C., (2022) Evaluación de una planta piloto de lodos activos y determinación de los parámetros biocinéticos correspondientes a la demanda de oxígeno para el agua residual municipal de una ciudad en la región interandina del Ecuador, Universidad del Azuay

Orjuela G., Villarraga L. (2015) Producción de biogás mediante la fermentación anaerobia de los residuos orgánicos de la cadena de restaurantes wok, Universidad De Los Andes Facultad De Ingeniería Departamento De Ingeniería Química Bogotá D.C.

Pasalari, H., Gholami, M., Rezaee, A., Esrafil, A., & Farzadkia, M. (2021). Perspectives on Microbial community in Anaerobic digestion with emphasis on environmental parameters: A Systematic review. *Chemosphere*, 270, 128618.

Ramírez, Y. N. R., Herrera, T. G., Andrade, E. F., Morales, M. C., & Salazar, R. U. (2021) Aprovechamiento del olote de maíz mediante la extracción de xilanos y su potencial uso como sustrato para la cuantificación de la actividad enzimática xilanasa. *Renewable Energy, Biomass & Sustainability (REB&S)*, Vol. 3, No. 1, 86-94.

Salcedo, L. O. G. (2021). Alternativas de aprovechamiento de los residuos en la agroindustria. Universidad Nacional de Colombia.

Shukla, A., Kumar, D., Girdhar, M., Kumar, A., Goyal, A., Malik, T., & Mohan, A. (2023). Strategies of pretreatment of feedstocks for optimized bioethanol production: distinct and integrated approaches. *Biotechnology For Biofuels And Bioproducts*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-023-02295-2>

Thygesen, A., Tsapekos, P., Alvarado-Morales, M., & Angelidaki, I. (2021). Valorization of municipal organic waste into purified lactic acid. *Bioresource Technology*, 342, 125933.

Toledo-Alarcón, J., Capson-Tojo, G., Marone, A., Paillet, F., Júnior, A. D. N. F., Chatellard, L., Bernet, N., & Trably, E. (2018). Basics of bio-hydrogen production by dark fermentation. En *Green energy and technology* (pp. 199-220).

