División de Ciencias Básicas e Ingeniería

**TESIS DE MAESTRÍA
EN CIENCIAS E INGENIERÍA AMBIENTALES**

***Evaluación del nejayote para la obtención de biohidrógeno
por fermentación en fase oscura***

Presenta

Ing. Ana Angélica Ríos Maravilla

Asesora

Dra. Sylvie Jeanne Turpin Marion

Co-Asesora

Dra. Yaneth Alejandra Bustos Terrones

México, CDMX, 16 de julio de 2020

A mi familia, profesores y amigos;

Resumen

En los últimos 50 años la población mundial se ha duplicado, y con ello, las demandas energéticas y de servicios. El 86% del gasto energético mundial proviene de un recurso natural no renovable (combustibles fósiles). La combustión de estos carburantes provoca la emisión de gases de efecto invernadero, ocasionando una alteración climática generalizada. No sólo la crisis energética merma el bienestar de la vida en el planeta; en las ciudades de los países desarrollados y en vías de desarrollo, se generan diariamente toneladas de residuos sólidos y millones de litros de aguas residuales que no son dispuestos de forma adecuada. En México, existe una descarga de aguas residuales municipales de 228,940.4 L de agua por segundo, solamente el 63% de esta agua recolectada, es tratada.

El nejayote (agua residual del proceso de nixtamalización del maíz), representa una descarga potencial mensual promedio de 600,000 m³ de efluentes residuales, cifra equivalente al 15% de las descargas residuales totales municipales del país. Este gasto, en su mayoría, es vertido a los cuerpos de agua receptores sin previo tratamiento; siendo que, según la NOM-002-SEMARNAT-1996, este efluente no puede ser descargado al sistema de alcantarillado, en términos de su elevada demanda química de oxígeno, y sus altos niveles de temperatura, pH y sólidos suspendidos totales. La producción de biohidrógeno a partir del aprovechamiento bioquímico sucedido durante la fermentación en fase oscura del nejayote en presencia de clostridios, presume ser una técnica alternativa, atractiva, económica y sostenible, que, de forma simultánea, da tratamiento a un desecho potencialmente contaminante al mismo tiempo que genera energía a manera de un combustible renovable (biohidrógeno). Sin embargo, el proceso de producción de bioH₂ por vías fermentativas, aún necesita perfeccionar sus métodos para aumentar la eficiencia de conversión energética, y evitar situaciones como la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV). Factores que limitan la producción bioquímica de biohidrógeno (bioH₂).

Los resultados muestran que la generación de biohidrógeno por medio de la fermentación en fase oscura del nejayote, resulta en una tecnología factible, demostrándose que la mejor relación nejayote/nutrientes para la máxima generación de biohidrógeno es la

fracción (80:20), a la temperatura de 37°C, con una producción de 1056 ppm de biohidrógeno. Con base en los resultados obtenidos para este trabajo de investigación, se concluye que el proceso bioquímico para la generación de biohidrógeno a partir de la fermentación en fase oscura del nejayote es un método viable y sostenible; los niveles más altos obtenidos para la generación de bioH_2 (~1000 ppm), relación (80:20), (37°C)}, muestran ser datos alentadores para seguir profundizando en el proceso.

Tomando en cuenta las aceveraciones y recomendaciones resultantes de la evaluación de los resultados obtenidos de practicar la metodología sugerida, Capítulo VI.; la producción de biohidrógeno resultante a partir de la fermentación en fase oscura de la biomasa contenida en el nejayote, cumple las condiciones suficientes para demostrar que los nutrientes contenidos en el nejayote, pueden transformar su capacidad energética de una manera sostenible, produciendo energía limpia y renovable (biohidrógeno), a la vez que contribuyen de manera significativa, en la reducción de los valores determinantes del grado de contaminación de un agua residual municipal (Nejayote).

Abstract

During the last 50 years population has doubled along with energy and services demand. The 86% of the energy consumption comes from nonrenewable natural resources (fossil fuel). These fuels combustion triggers the greenhouse gases emission resulting in generalized climatic changes. Not only the energy crisis decreases the planet life quality; cities from developed and developing countries generates thousands of solid and no solid waste daily which are not treated in a proper way. In Mexico there is a load of wastewater of 228,940.4 liters per second, only 63% of this wastewater is treated properly.

Nejayote (wastewater obtained from corn nixtamalization) represents a potential monthly load of 600,000 m³ of waste effluents, representing the 15% of wastewater from the entire country. This charge is spilled into receiving waters without a treatment, according to the NOM-002-SEMARNAT-1996 this effluent cannot be spilled into the sewerage due to high CDO, temperature, pH and solids suspended levels.

The biohydrogen production from the biochemical usage obtained from the nejayote fermentation in dark phase in presence of clostridia seems to be an attractive, economic, sustainable technique; at the same time treats a highly pollutant waste and also generates a renewable energy (biohydrogen).

However, this bioH₂ production process through fermentative ways still need to be improved to increase the energetic conversion efficiency and avoid the buildup of volatile fatty acids (VFA). Factors that limit the biochemical production of biohydrogen (bioH₂).

The results show that the biohydrogen generated through nejayote fermentation in a dark phase, turned out in a really feasible technology, proving that the best relation nejayote/nutrients for the maximum biohydrogen creation is the fraction (80:20) at a temperature of 98.6°F, with a biohydrogen production of 1056 ppm.

Based on the results obtained for this research it concludes that the biochemical process to generate biohydrogen through fermentation in a dark phase is a feasible method that worths further investigation since the volumetric performance gathered the right conditions to show that the nutrients contained in nejayote are able to transform the energetic

capacity in processes which are not only productive but also an intriguing alternative for the nejayote bioremediation.

ÍNDICE GENERAL

Resumen	i
Abstract.....	iii
Prefacio	xiii
Capítulo I. Introducción.....	1
Capítulo II. Justificación	3
Capítulo III. Objetivos, hipótesis.....	4
III.1. Objetivo General	4
III.2. Objetivos Específicos	4
III.3. Hipótesis	4
Capítulo IV. Antecedentes.....	5
Capítulo V. Marco Teórico.....	7
V.1. La problemática de la industria de molinos de nixtamal	7
V.2. La nixtamalización y el nejayote	8
V.3. El hidrógeno como combustible	10
V.4. Biorremediación, biocombustibles, biohidrógeno	13
V.5. Digestión anaerobia	16
V.5.1 <i>Hidrólisis</i>	17
V.5.2 <i>Acidogénesis</i>	18
V.5.3 <i>Acetogénesis</i>	19
V.5.4 <i>Metanogénesis</i>	20
V.6. Biohidrógeno (bioH ₂) por Fermentación Oscura.....	20
V.6.1 <i>Reactores usados para el estudio de la digestión anaerobia</i>	20

V.6.2. Cultivo discontinuo (<i>batch</i>).....	21
V.7. Factores limitantes de la Fermentación Oscura	25
V.7.1. Inóculo	26
V.7.2. Sustrato	27
V.7.3. pH del cultivo	28
V.7.4. Temperatura.....	29
V.7.5. Nutrientes	29
V.7.6. Tiempo de retención hidráulico	29
Capítulo VI. Metodología.....	36
VI.1. Fase 1.....	37
VI.1.1. Obtención de los Materiales y Reactivos.....	37
VI.1.2. Obtención del inóculo anaerobio	37
VI.1.3. Activación del inóculo	38
VI.1.4. Obtención del sustrato	39
VI.1.5. Construcción de los biorreactores.....	40
VI.1.6. Baños María	42
VI.1.7. Sistemas de desplazamiento volumétrico.....	43
VI.1.8. Sistemas de almacenamiento de biohidrógeno.	44
VI.1.9. Instrumento electrónico medidor de gases G005R&T	45
VI.1.10. Calibración del Instrumento electrónico medidor de gases G005R&T (Software).	46
VI.2. Fase 2.....	48
VI.2.1. Caracterización del inóculo.....	48
VI.2.2. Caracterización del sustrato.....	49

VI.2.3. Evaluación de la cinética del crecimiento bacteriano del nejayote.	51
VI.3. Fase 3.....	53
VI.3.1. Diseño del método experimental para la producción de biohidrógeno	53
VI.3.2. Caracterizaciones de parámetros.....	55
VI.3.3. Determinación de la velocidad volumétrica de la producción de H_2	57
VI.3.4. Pretratamiento térmico del nejayote	58
Capítulo VII. Resultados	60
VII.1. Fase 1 de la experimentación	60
VII.1.1. Calibración del Instrumento electrónico medidor de gases G005R&T	60
VII.2. Fase 2 de la experimentación	64
VII.2.1. Caracterización del inóculo	64
VII.2.2. Caracterización del nejayote.....	66
VII.2.3. Evaluación de la cinética del crecimiento bacteriano del nejayote	68
VII.3. Fase 3 de la experimentación	69
VII.3.1. Ensayo de la factibilidad de producir biohidrógeno a partir de la fermentación en fase oscura del nejayote.....	69
VII.3.2. Determinación de la velocidad volumétrica de la producción de H_2	83
Capítulo VIII. Conclusiones y recomendaciones	87
Capítulo IX. Referencias bibliográficas	89
Anexos	95

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 5.1.1. Generalidades en las velocidades de producción y rendimientos de producción de bioH ₂ a partir de diversos inóculos y sustratos en cultivos Batch	33
Tabla 5.1.2. Rendimientos de la producción de H ₂ bajo condiciones de operación determinadas, y a partir del aprovechamiento de diversos inóculos y sustratos	34
Tabla 6.2.1. Equipos y métodos para la caracterización del sustrato.	50
Tabla 6.2.2. Tabla de las relaciones nejayote/nutrientes (N/n) para los minirreactores de evaluación para la fase 2.....	52
Tabla 6.3.1. Relaciones nejayote/nutrientes (N/n) para la fase 3.	54
Tabla 6.3.2. Tabla de la producción de biohidrógeno y otros gases (ensayo #2).....	56
Tabla 7.1.1. Tabla de las concentraciones de H ₂ (en ppm) para la curva de calibración por el método electrónico G005R&T.	60
Tabla 7.1.2. Tabla de las concentraciones de H ₂ (en ppm) para la curva de calibración por el método cromatográfico.....	62
Tabla 7.1.3. Tabla de la concentración de H ₂ (en ppm) para la curva de calibración por cromatografía de gases.	63
Tabla 7.1.4. Tabla comparativa del método electrónico G005R&T vs. el método por cromatografía de gases.	63
Tabla 7.2.1. Características de algunas especies de bacterias del género Clostridia [31]. ..	65
Tabla 7.2.2. Resultados de la caracterización de las 11 muestras de nejayote.	66
Tabla 7.3.1. Volumen de gas obtenido a las 96:00 horas de THR. (37 °C).....	70
Tabla 7.3.2. Volumen de gas obtenido a las 96:00 horas de THR. (57 °C).....	72
Tabla 7.3.3. Valores volumétricos generales del biogás producido a las 48:00 y 96:00 hrs.	77
Tabla 7.3.4. Mediciones de CO ₂ , CH ₄ y H ₂ generado a 37° C	79

Tabla 7.3.5. Mediciones de CO ₂ , CH ₄ y H ₂ generado a 57° C	80
Tabla 7.3.6. Rendimiento de la producción de biohidrógeno a 37 y 57° C.....	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 5.2.1. Diagrama del proceso de la nixtamalización del maíz [47].	9
Figura 5.2.2. Taxonomía del maíz [5].	10
Figura 5.3.1. Esquema de la producción de hidrógeno a partir del uso de combustibles fósiles [23].	11
Figura 5.3.2. Esquema de la producción de hidrógeno a partir del uso de combustibles fósiles [31].	12
Figura 5.4.1. Comparación de los diferentes procesos para la producción de biohidrógeno [6].	15
Figura 5.5.1. Diagrama del proceso de la digestión anaerobia [6].	17
Figura 5.6.1. Reactor discontinuo convencional [6].	21
Figura 5.6.2. Curva típica de crecimiento de una población bacteriana en un sistema batch [50].	22
Figura 5.7.1. Factores limitantes de la fermentación oscura [17, 32, 61].	26
Figura 5.7.2. Efecto de la concentración del sustrato sobre la velocidad de crecimiento bacteriano [50].	31
Figura 6.1.1. Diagrama de la metodología seguida.	36
Figura 6.1.2. Materiales y reactivos utilizados.	37
Figura 6.1.3. Inóculo (almacenamiento y apariencia física).	38
Figura 6.1.4. Activación del lodo biológico.	39
Figura 6.1.5. Molino de nixtamal y apariencia del nejayote crudo.	40
Figura 6.1.6. Arreglo de biorreactores para los ensayos fermentativos en fase oscura.	42
Figura 6.1.7. Baños María y equipo de desplazamiento volumétrico.	43
Figura 6.1.8. Sistemas de almacenamiento de biogás.	45

Figura 6.1.9. Construcción del dispositivo G005R&T.....	46
Figura 6.1.10. Algoritmo en LabView del sistema de adquisición.	47
Figura 6.1.11. Técnica de cromatografía de gases.	48
Figura 6.2.1. Muestreo del inóculo.....	49
Figura 6.2.2. Caracterización del nejayote.	50
Figura 6.2.3. Evaluación del crecimiento endémico del nejayote.	53
Figura 6.3.1. Diagrama del método fermentativo en fase oscura y adquisición de datos. ..	55
Figura 6.3.2. Pretratamiento del nejayote.....	59
Figura 7.1.1. Curva de calibración del gas H ₂ por el método cromatográfico.	62
Figura 7.2.1. Imágenes de las tinciones del inóculo anaerobio utilizado vistas por microscopio (fuente propia).....	65
Figura 7.2.3. Análisis de la cuenta microbiológica total en placa y coliformes fecales, para las 11 muestras de Nejayot recolectadas del molino de nixtamal “Bolsena”.	67
Figura 7.3.1. Vista del display de lectura de gases en una muestra (software del dispositivo G005 R&T).....	69
Figura 7.3.2. Comportamiento de la producción de biogás a las 96:00 hrs.	75
Figura 7.3.3. Muestras de gas generado a las 96:00 hrs. para varias relaciones (N:n).....	76
Figura 7.3.4. Comportamiento en las concentraciones en ppm para cada biogás producido a 37°C.....	81
Figura 7.3.5. Comportamiento en las concentraciones en ppm para cada biogás producido a 57°C.....	82
Figura 7.3.6. Muestras de nejayote a las 96:00 hrs. de reacción para la temperatura de 37°C.	83
Figura 7.3.7. Comparativa del rendimiento para la producción de biohidrógeno a 37 y 57 °C	85

Figura 7.3.8. Volumen de biogás producido a las 48:00 y 96:00 horas, para la relación (80:20) a 37 °C.	86
--	----

Prefacio

*“Hoy en el mundo una nueva fuerza ideológica se despliega como un proceso silencioso y profundo.
Son las expresiones, minúsculas pero tangibles, de una nueva ciudadanía planetaria,
los preludios de una civilización cualitativamente diferente,
los esperanzadores cimientos de una modernidad alternativa.” [Toledo]*

El horizonte basado en el desarrollo sostenible, aún se vislumbra accidentado. Entre la preocupación de los trabajadores por la inmediatez del empleo y la democracia entendida en términos procedimentales, las prioridades de las naciones sesgan hacia otras direcciones. En consecuencia, las demandas ambientales permanecen como expresiones fundamentalmente civiles, y las tecnologías sostenibles son temáticas generalmente relegadas de las complicadas discusiones entre los apóstoles del estado y los adoradores del mercado.

En los inicios del desarrollo económico, las sociedades humanas creían haber sido bendecidas con una dote infinita de recursos naturales. Por ende, surgió una administración desordenada del capital natural. Actualmente, los recursos naturales muestran en mayor o menor grado, el descuido (contaminación) al que han sido sometidos. La creciente e inminente crisis energética ocasionada por la excesiva dependencia al uso de combustibles fósiles, y, la contaminación de los acuíferos causada por las excesivas descargas de efluentes residuales, sustancias químicas y compuestos peligrosos; son ejemplos de grandes áreas de oportunidad en cuanto a mitigación de la contaminación ambiental se refiere. A finales de los años sesenta, como respuesta a los movimientos sociales ambientalistas, se proclamó el Día Mundial de la Tierra; acto que tuvo un gran impacto en la mentalidad de los habitantes de muchas naciones.

En 1972 el expresidente Richard Nixon aprobó las primeras reformas para frenar la contaminación de las aguas. En la Cumbre sobre Cambio Climático Global, realizada en Kioto en diciembre de 1997; los representantes de los 160 países participantes acordaron crear el Fondo de Desarrollo Limpio. En agosto de 2002, se llevó a cabo la Cumbre de

Johannesburgo, cumbre donde se excluyó a la energía nuclear como fuente renovable y limpia. Asimismo, se llegó al acuerdo de que todos los países se comprometieran a buscar alternativas energéticas renovables para mitigar la dependencia al uso de los combustibles fósiles. Durante los primeros años del siglo XXI, los combustibles fósiles aún siguen siendo la mayor y más importante fuente de energía a escala global, a pesar de que su disponibilidad cada vez se limita más, y de los efectos adversos al medio ambiente ocasionados por la extracción, transportación, transformación y el excesivo uso de estos.

El manejo sostenible del agua y de los recursos renovables es un factor estratégico y primordial para el desarrollo de los países, y un desafío para los líderes mundiales, ya que, para lograr dicho propósito, se requiere de la participación efectiva de la sociedad en general. Las reservas de petróleo se agotan a un ritmo acelerado, sin embargo, la dependencia a estas fuentes de energía no ha disminuido. Las aguas subterráneas y superficiales están siendo altamente contaminadas por aguas residuales sin tratamiento alguno. Los residuos en forma de biomasa no son aprovechados, y en vez de fungir como un recurso renovable para la generación de energía; se convierten, además de en un grave problema de salud pública, en un núcleo de contaminación significativo, causante del aumento y la generación de nuevas colonias de microorganismos (virus y bacterias), principales responsables de la propagación de enfermedades e infecciones.

Es claro que los esfuerzos para encontrar y desarrollar alternativas eficientes se han agudizado y acelerado con el pasar de los años. Es cuestión de optimizar y estandarizar el uso de ciertas tecnologías para producir y procesar la materia y la energía; para eso se necesita estudiar y encontrar procesos de producción sostenibles y más eficientes. Implementar tecnologías que aprovechen la energía proveniente de la biomasa puede impulsar al desarrollo de importantes progresos económicos, políticos, sociales y ambientales.

Convertir la biomasa en un biocombustible, que, además, tiene un contenido energético tres veces mayor a cualquier otro combustible usado actualmente, resulta en una alternativa realmente competitiva para suplirlos. Varios estudios han demostrado que el costo de producción de biohidrógeno a partir de la biomasa es fuertemente dependiente del costo de la materia prima. Si el biohidrógeno se convirtiese en la fuente principal de abastecimiento

de energía, una revolución tecnológica tendría lugar, y con ello, la posible solución a la problemática de la contaminación ambiental y la demanda energética mundial.

Capítulo I. Introducción

La búsqueda del equilibrio entre los ecosistemas y los organismos vivos ha permitido la evolución de la vida tal y como la conocemos; no obstante, el repentino desbalance de este compromete la permanencia de la vida en la Tierra. La expectativa de una mejor calidad de vida ha resultado en el aumento del consumo de la energía primaria, en particular, de la energía derivada de los combustibles fósiles [51].

Los actuales modelos productivos y la manera de adaptación a éstos no son ni por mínimo sostenibles [49]. Grosso modo, la contaminación se origina como consecuencia del desacertado manejo y aprovechamiento que el ser humano en el proceso de su supervivencia le ha dado al capital natural [2]. Durante las últimas décadas, se han intensificado las acciones para el estudio, la mitigación y el control de los agentes involucrados en alterar el equilibrio ecológico. La preocupación por atenuar el calentamiento global y preservar la vida de los ecosistemas terrestres, ha motivado a profundizar en el estudio de la energía asequible y no contaminante, a optimizar los modelos de saneamiento de aguas residuales, pero, sobre todo, a concientizar a la población sobre la producción y el consumo responsables [1].

De acuerdo con lo planteado en el Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático (IPCC) y la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático (UNFCCC); el hidrógeno no es considerado un gas de efecto invernadero en razón de que sus emisiones aparentemente no tienen efecto directo sobre el clima [10]. El producto de su combustión es simplemente vapor de agua [10]. Por otra parte, el H₂ posee el mayor contenido energético por unidad de peso, 122-142 KJ/g, 2.75 veces superior al de los hidrocarburos convencionales, además de que puede ser usado directamente para producir electricidad mediante celdas de combustible [62]; sin embargo, el H₂ no está disponible en forma natural como los combustibles fósiles, por lo tanto, el mayor interés radica en la forma de obtenerlo, y, especialmente, en encontrar los insumos adecuados para producirlo, tomando en cuenta, que éstos provengan de una fuente renovable; tal es el caso de la biomasa.

El tratamiento de residuos orgánicos (sólidos o líquidos) por procesos bioquímicos, es una manera eficiente para transformarlos en energía útil para la realización de diversas

actividades. Entre los residuos orgánicos estudiados, los que presentan índices elevados de glucosa, celulosa y almidón, en su composición, son considerados los sustratos idóneos, debido a su enorme disponibilidad y a su alto potencial energético.

Dichas aseveraciones reafirman al biohidrógeno (bioH_2) como una alternativa prometedora para reemplazar a los combustibles convencionales, en términos de ser una tecnología sostenible, factible e inagotable. Además, la biomasa representa ser un vector de contaminación importante para las ciudades y centros urbanos de las naciones, por lo que es necesario recurrir a sistemas cíclicos, donde el residuo de un proceso sirva como materia prima para comenzar otro, y así sucesivamente; evitando el desgaste energético innecesario.

Actualmente se trabaja intensamente en encontrar maneras de producir hidrógeno de una manera sostenible. La fermentación en fase oscura de la biomasa presume ser una tecnología factible para lograr dicho propósito. Sin embargo, las técnicas de biorremediación a pesar de ser alternativas tecnológicas menos costosas, su efectiva operación implica una labor de investigación científica e ingenieril aún más profunda y consistente [2].

En el apartado del marco teórico se hace referencia a los conocimientos elementales que le dan sentido a la realización de esta investigación, se abordan tópicos tales como la contaminación atmosférica y de los acuíferos receptores de efluentes residuales, la crisis energética mundial, el calentamiento global, el uso de los biocombustibles como alternativa de mitigación de la contaminación ambiental, los mecanismos de producción de biohidrógeno por fermentación oscura, los factores que afectan la producción del mismo, entre otras cosas.

Capítulo II. Justificación

El nejayote (residuos del proceso de la nixtamalización del maíz) representa el 15% de las descargas residuales municipales del país, sin tratamiento, este efluente representa ser un vector de contaminación importante para los acuíferos receptores, siendo que según la NORMA Oficial Mexicana NOM-002-ECOL-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal; éstos residuos no deben verterse sin ser tratados previamente.

Por otro lado, se sabe que México contribuye significativamente a la aportación de gases de efecto invernadero a la atmósfera, según la Sexta Comunicación Nacional ante la CMNUCC [64], la emisión de gases contaminantes climáticos de vida corta (CCVC), los hidrocarburos, el carbón negro, el metano y el ozono troposférico, impactan al sistema climático global y afectan la salud humana y la de los ecosistemas. Parte de este problema se debe a los distintos mosaicos de diversidad política, económica, de salud, pero, sobre todo, depende de la ubicación geográfica de nuestro país, situación que lo hace sumamente vulnerable ante el cambio climático. Por ende, es importante tomar medidas de adaptación, como lo son la inclusión social equitativa de sus habitantes, en cuestiones relacionadas con el ambiente, así como, la conservación y restauración de los recursos naturales a partir de la biomasa.

El nejayote puede ser un sustrato efectivo para la producción de biohidrógeno por fermentación oscura, se sabe que el hidrógeno usado como combustible, tiene una capacidad calorífica tres veces más alta que cualquier otro combustible convencional. Esta investigación se desarrolla para proponer alternativas de reducción de los niveles de contaminación aportados por las descargas de nejayote y a la vez una forma de aprovechamiento de éste, a través de la obtención de energía. Esta propuesta es una aportación para lograr que los residuos sean incluidos en los procesos de producción, de modo que se logre un funcionamiento integral cuasi circular, limpio y efectivo.

Capítulo III. Objetivos, hipótesis

III.1. Objetivo General

- Evaluar la viabilidad de producir biohidrógeno a partir de la fermentación oscura del nejayote.

III.2. Objetivos Específicos

- Estudiar los parámetros de operación de un reactor tipo “batch” (temperatura del medio y concentración del sustrato), para la generación de biohidrógeno a partir del nejayote como sustrato.
- Comparar la cantidad de biohidrógeno producida a partir del uso de nejayote como sustrato de ensayo, con respecto a la cantidad obtenida a partir del uso de glucosa como sustrato de referencia.

III.3. Hipótesis

- A partir del balance y la correcta gestión de las variables de operación (temperatura del medio y concentración de sustrato), es posible orientar el proceso de la fermentación oscura del nejayote para la óptima generación de biohidrógeno (bioH_2).

Capítulo IV. Antecedentes

Los efectos adversos hacia el bienestar natural, originados a partir del acelerado desarrollo industrial y tecnológico, potenciado significativamente durante los últimos años; han generado la preocupación de las naciones por conservar las fuentes de energía y mantener el equilibrio ecológico en el planeta [2, 23, 49]. Es durante las primeras décadas del siglo XXI, cuando la investigación relacionada con la biorremediación y los biocombustibles incrementó de manera significativa; evolucionando gradualmente hasta convertirse en el fundamento de nuevas tecnologías aceptadas para el tratamiento y control de una gran variedad de eventualidades, donde, la contaminación representa ser una amenaza para el bienestar de los individuos que conforman los sistemas naturales [2].

La obtención de biohidrógeno por fermentación oscura aparenta ser la más favorable, puesto que se puede generar de forma continua y a altas tasas de producción [20, 27], además, si se utiliza biomasa como sustrato, es posible obtener un producto con alto valor agregado a partir del tratamiento de un desecho. La mayoría de los estudios coinciden en que entre los diversos tipos de biocombustibles que existen, el biohidrógeno presume ser la fuente de energía más limpia disponible [11, 38].

La fermentación oscura tiene una aplicación práctica en aumento, incluso a nivel industrial. En México, se han usado los procesos biológicos como una alternativa interesante en el tratamiento de aguas, con las ventajas de que son procesos que generan menos biomasa y presentan una ganancia neta de energía recuperable en forma de biogás. En el país, existen algunos grupos dedicados al estudio de la producción biológica de bioH_2 por vía fermentativa en fase oscura. Destacan los casos de los grupos representados por los Doctores Héctor M. Poggi-Varaldo del CINVESTAV, Germán Buitrón Méndez del II-UNAM y la Doctora Mascha Smith del CICY [37].

Hasta ahora, los estudios donde se analizan y evalúan los procesos para la óptima producción de bioH_2 , se centran en maximizar los rendimientos en la obtención de este, al menor costo. Los esfuerzos para encontrar soluciones viables aún no han arrojado resultados

concluyentes, en virtud de la inmensa cantidad de variables que podrían modificar significativamente el funcionamiento del sistema.

En la actualidad se está trabajando en encontrar lo más pronto posible, una cierta estandarización de los parámetros de control de los determinados procesos de obtención del biohidrógeno. Dicho sea de paso, es necesario enfatizar la importancia de que existan compendios de investigación y/o trabajos especializados, donde se conjunten y se interrelacionen los distintos hallazgos descubiertos al respecto, con el fin de examinar y encontrar patrones y coincidencias en las tendencias y en los datos de incidencia y condiciones de operación, que ayudarían sin duda alguna, a esclarecer los vacíos existentes.

Capítulo V. Marco Teórico

Es menester elemental para el estudio de las Ciencias Ambientales, la comprensión de los ciclos biológicos que tienen lugar durante los procesos de biorremediación. A partir del conocimiento y reconocimiento de la cinética de los diferentes mecanismos biológicos, físicos y químicos, involucrados en los ciclos metabólicos de los organismos; es que se pueden planear, diseñar, ensayar, construir, reproducir, operar y optimizar los factores, las etapas y las operaciones unitarias que conforman a los distintos aparatos de biorremediación, incluidos los biocombustibles y el tratamiento de aguas residuales.

El propósito de este capítulo es proveer los conceptos elementales necesarios para esclarecer los fundamentos de la metodología y del diseño de experimentos que se detallarán en los subsecuentes apartados, algunos de estos temas son: La industria de la nixtamalización del maíz, el hidrógeno como combustible, la biorremediación para producir biohidrógeno, la obtención de biohidrógeno por fermentación oscura, y los conceptos relacionados con los mecanismos metabólicos de la fermentación en fase oscura, así como, los factores limitantes para que se desarrolle la misma.

V.1. La problemática de la industria de molinos de nixtamal

En la actualidad, el maíz es el cultivo agrícola más importante en México, y, junto con sus productos derivados, representa la base alimenticia de la mayor parte de la población [47]. Este cereal generalmente se consume transformado en tortillas, las cuales, son el producto alimenticio que más se comercializa en México [56]. Las tortillas son la base alimenticia del 94% de la población mexicana [47, 56], con un consumo per cápita de 234 gramos por día [47].

Según cifras de la Cámara Nacional del Maíz Industrializado (CNMI), se reportan dentro del territorio nacional, 20 mil molinos de nixtamal, responsables de proveer la harina necesaria para producir el 54% de las tortillas que se consumen en el país [13]. El resto del mercado pertenece a las grandes industrias harineras (Maseca, Minsa, Agroinsa y Hamasa), de las cuales, Maseca asegura tener el 71 por ciento de la producción [12, 52].

La industria de molinos de nixtamal está constituida principalmente por micro y pequeñas empresas que enfrentan diversas problemáticas tecnológicas, lo que, aunado a esquemas laborales y de producción informales, se convierte en un gran problema ambiental, económico y social. Dicha situación es de suma importancia ya que en México los pequeños molinos de nixtamal no se rigen de acuerdo con un plan estricto de gestión de residuos, de tal suerte que el nejayote es descargado directamente al drenaje sin algún tipo de tratamiento previo.

Los 20,000 molinos de maíz registrados generan en promedio 7 toneladas de nixtamal al mes, lo que resulta en una descarga potencial mensual promedio de 600,000 m³ de nejayote, cifra equivalente al 15% de las descargas residuales municipales totales del país. Esto sin tomar en cuenta las descargas residuales de los molinos de nixtamal no registrados [15, 52].

El nejayote, al ser un efluente altamente alcalino, con elevada carga orgánica en solución y suspensión, ser rico en nutrientes del tipo carbonáceo, y, tener valores de DQO superiores a los encontrados en efluentes porcícolas, azucareros e incluso algunos provenientes de la industria petrolera; es considerado como un contaminante potencial de los cuerpos de agua receptores de aguas residuales [6].

V.2. La nixtamalización y el nejayote

El término nixtamalización proviene de la raíz etimológica derivada de la palabra náhuatl *nextamalli*, que significa “lejía o agua pasada por cenizas” y de la palabra *tamalli* que significa “pan envuelto” [9].

Esta técnica consiste en la lixiviación alcalina de los granos de maíz a elevadas temperaturas. El maíz es cocido en agua (3:1) y cal viva (CaO) al 1% durante varias horas, con el propósito de separar el pericarpio del endospermo del grano [3, 9, 45]. Al finalizar el tiempo de cocción se obtienen dos productos; el primero se refiere al maíz ablandado listo para seguir su proceso de molienda para la fabricación de harinas (nixtamal), mientras que el segundo se refiere al agua residual proveniente de la cocción del mismo en presencia de cal (nejayote).

El término nejayote proviene del náhuatl *nextli* que significa “cenizas de cal” y de la palabra *áyoh* “caldo o cosa aguada”. Como se puede observar en la figura 5.2.1., durante el proceso de nixtamalización del maíz, suceden una serie de reacciones fisicoquímicas que alteran la composición de la membrana y la estructura misma del grano, se hidroliza la hemicelulosa del pericarpio, se gelatiniza el almidón y se destruyen algunas proteínas y aminoácidos [47, 59].

Figura 5.2.1.Diagrama del proceso de la nixtamalización del maíz [47].

El nejayote está compuesto principalmente por material orgánico suspendido proveniente del endospermo y del pericarpio del maíz (Figura 5.2.2.), que se separan del grano a consecuencia de la exposición temporal de los mismos a temperaturas que rebasan los 150°C, en presencia de CaO (Cal). Se trata entonces, de una solución rica en almidón, celulosa y calcio [59].

Figura 5.2.2. Taxonomía del maíz [5].

Mientras que los polisacáridos son los componentes principales del pericarpio del maíz, el almidón es el principal componente del maíz nixtamalizado. El ácido fenúrico es el principal compuesto fenólico con capacidad biológica activa presente en el maíz (pericarpio del grano) concentrado en forma libre o esterificado a los heteroxilanos que constituyen la hemicelulosa de la pared celular [39, 56]. Una fracción de este almidón resiste a la hidrólisis. El almidón resistente (AR) forma parte de la fibra dietética que es fermentada en el colon, dando lugar a la formación de ácidos grasos de cadena corta, como lo es, el ácido butírico usado por las bacterias para generar gas [12, 47]. Así pues, el nejayote cumple con los requerimientos energéticos necesarios para poder ser considerado un sustrato adecuado para la fermentación en fase oscura, en virtud de que sus componentes principales, son polisacáridos y almidón.

V.3. El hidrógeno como combustible

El H₂ es considerado como una alternativa para convertirse en el principal portador de la energía en un futuro, principalmente porque el producto de su combustión no evoluciona transformándose en CO₂ o en alguno de los gases de efecto invernadero [19]. Otra de las muchas razones por las cuales el hidrógeno es un elemento atractivo para sustituir a los combustibles fósiles, es porque se puede encontrar conformando casi toda la materia del planeta [23, 49, 62]. Sin embargo, el principal desafío para adoptar al hidrógeno como fuente factible para la generación de energía a gran escala, es que este gas no se encuentra libre en la naturaleza. Para extraerlo de cualquier material, se requiere de la aplicación de energía y

de la generación de subproductos contaminantes. Por tal razón, una economía basada en el uso del hidrógeno aún se vislumbra distante [23,49].

Los métodos para la producción de hidrógeno se pueden dividir de acuerdo con las materias primas utilizadas y a las rutas seleccionadas; por ejemplo, existen rutas netamente químicas tal como se muestra en el esquema de la Figura 5.3.1., y rutas netamente biológicas. Aunque también, existen métodos intermedios donde el mecanismo de producción es químico, pero se hacen uso de microorganismos como catalizadores. Los métodos que recurren a rutas químicas, requieren grandes cantidades de energía; y los que recurren a rutas biológicas, presentan bajo desarrollo tecnológico.

Figura 5.3.1. Esquema de la producción de hidrógeno a partir del uso de combustibles fósiles [23].

El impacto ambiental asociado a la producción de hidrógeno está determinado por la cantidad de emisiones de gases de efecto invernadero que se emiten a la atmósfera durante su proceso de producción [59].

Como se muestra en la Figura 5.3.2., actualmente el 40% del gas H_2 , que se produce, se obtiene de la oxidación catalítica de gases naturales, el 30% de la transformación de los metales pesados, el 18% del carbón, el 4% de la electrólisis del agua, y cerca del 1% del aprovechamiento de la biomasa [31].

Figura 5.3.2. Esquema de la producción de hidrógeno a partir del uso de combustibles fósiles [31].

Encontrar una manera eficiente de producir biohidrógeno a partir del aprovechamiento de la biomasa, puede representar una técnica renovable y de bajo costo [23].

Otterbach, y colaboradores [54], muestran una breve revisión de la situación energética global, con el fin de esclarecer el papel de la biomasa dentro del proceso de obtención de biohidrógeno por fermentación oscura, y presentan las razones y los factores más destacables para determinar al biohidrógeno como una tecnología adecuada para combatir la problemática del calentamiento global y la contaminación atmosférica. Por otro lado, Rajesh y colaboradores [40], realizan un comparativo energético y económico de la factibilidad de usar aguas residuales como sustrato, a modo de aumentar el índice costo-

beneficio. Así también, Atiqueuzzamankhan, y colaboradores [4], realizan un análisis en donde se demuestra que la producción de biohidrógeno por fermentación en fase oscura es potencialmente válida y, además, representa ser una alternativa prometedora a la crisis ambiental mundial actual, haciendo referencia a la naturaleza finita de los combustibles fósiles. En este trabajo se hace una comparativa de los costos y el impacto ambiental que resultaría de la aplicación de esta tecnología.

Valencia y Cardona; (2013) [59], mencionan qué, según el análisis de ciclo de vida realizado para la producción de biohidrógeno, y haciéndose énfasis tanto en el impacto ambiental, como en el análisis de las rutas de obtención y las razones de su utilidad; es necesario tomar en cuenta ciertas aseveraciones que deberían establecerse como estándares, con el fin de encaminar las rutas de investigación a una senda donde los resultados sean en efecto, conclusivos. Y de esta manera, poder certificar al biohidrógeno como el biocombustible idóneo y la alternativa más prometedora para frenar significativamente la contaminación y, en consecuencia, el cambio climático.

V.4. Biorremediación, biocombustibles, biohidrógeno

La necesidad de estabilidad energética en equilibrio con la naturaleza permite el estudio intensivo de los métodos de obtención de biocombustibles. Las tres premisas que un biocombustible debe cumplir son: respetar al ambiente durante su producción y durante su uso, no afectar la salud alimentaria, y, representar ser una economía sostenible.

La biorremediación es un proceso de auto purificación que ocurre cuando condiciones sitio-específicas conducen al crecimiento de biodegradadores determinados [2, 23, 45]. Mientras en el medio de biodegradación sean mayores las diferencias estructurales a las endémicas necesarias para cada microorganismo, entonces habrá menor probabilidad de que el contaminante sea reconocido como un sustrato [23, 61].

La biorremediación es una técnica que cumple con todas las expectativas que se esperan de un biocombustible, esta técnica consiste en la aplicación de tratamientos biológicos que aprovechan u optimizan los ciclos bioquímicos naturales de ciertos organismos, para eliminar las especies contaminantes dentro de un medio [2].

El término "bacteria" está comúnmente asociado a infecciones, enfermedades y descomposición. Sin embargo, la habilidad de los microorganismos para degradar y reciclar los contaminantes ambientales ha sido reconocida desde hace muchos siglos [2, 45]. La biodegradación es uno de los mecanismos más importantes para la atenuación de la migración de contaminantes orgánicos disueltos en un medio. La biorremediación es útil para mitigar casi cualquier tipo de contaminación; materiales contaminantes (orgánicos e inorgánicos), residuos recalcitrantes y químicos peligrosos disueltos [2, 61].

Los compuestos orgánicos se conforman en su mayoría, por estructuras complejas que pueden ser transformadas casi en su totalidad en dióxido de carbono y agua, gracias a la acción metabólica de ciertos organismos unicelulares presentes en las aguas residuales. Los microorganismos endémicos de cada ambiente metabolizan diferentes tipos de compuestos orgánicos naturales y sintéticos, a modo de obtener energía y coadyuvar en los procesos para la síntesis de nuevo material celular. Algunas veces, dichos procesos naturales de degradación toman lugar en sitios contaminados sin necesidad de la intervención humana.

En un principio, los biocombustibles se fabricaron utilizando materia prima de procedencia agrícola, como caña de azúcar o semillas de palma; esta circunstancia ocasionó polémica debido al origen de los insumos. Para evitar dicho problema surgieron los biocombustibles de segunda generación, los cuales usan residuos agrícolas o de la industria de la transformación y procesamiento de alimentos. Los biocombustibles de tercera generación trabajan con materiales vegetales con una gran capacidad de crecimiento y agudo potencial energético, y, por supuesto, no están destinados a la alimentación. Por tanto, no interfieren en la producción convencional de alimentos ni en sus precios de venta. “El biohidrógeno (bioH_2) representa ser un biocombustible de tercera generación”.

Los estudios sobre la obtención de biohidrógeno se han enfocado principalmente en la biofotólisis del agua empleando algas y cianobacterias, la fotofermentación de compuestos orgánicos por bacterias fotosintéticas, y la fermentación oscura de compuestos orgánicos ricos en carbohidratos. Como puede observarse en la Figura 5.4.1., estas técnicas se clasifican en dos grupos principales (reacciones que suceden en presencia o en ausencia de luz).

Figura 5.4.1. Comparación de los diferentes procesos para la producción de biohidrógeno [6].

Biofotólisis. - En este proceso, las encargadas de llevar a cabo el ciclo metabólico de la transformación del biohidrógeno, son las algas verdes. Las enzimas comprometidas al sistema son muy sensibles a la concentración de oxígeno, por lo cual, los rendimientos de la producción de biohidrógeno están condicionados al minucioso control de la concentración de oxígeno en el medio [59].

Fotofermentación. - El factor más importante para el buen funcionamiento de esta técnica, radica en el diseño del reactor, el cual debe caracterizarse por su efectividad y capacidad para captar la luz. Además, se deben garantizar condiciones anaerobias con intermitentes periodos en presencia de luz, situación que complica el diseño ya que se trabaja bajo condiciones de reacción críticas para lograr alcanzar los rendimientos más elevados [59].

Fermentación oscura. - Esta técnica se basa en la digestión parcial del sustrato en condiciones de operación anóxicas y sin presencia de luz. El sustrato utilizado es un material rico en hidrocarburos, por lo cual, pueden utilizarse residuos orgánicos en estado líquido o en estado sólido [59]. Cuando compuestos orgánicos son la única fuente de carbono y energía, y, el proceso metanógeno se completa, se denomina digestión anaerobia. En el caso

que se requiera de luz como fuente adicional de energía, el proceso se cataloga como un procedimiento fotobiológico, y, cuando la digestión anaerobia del ciclo metanógeno, se interrumpe con el fin de obtener bioH_2 como producto principal, se conoce como fermentación oscura [42].

El proceso fermentativo en fase oscura al que se recurre para generar biohidrógeno es similar al de la fase acidogénica de la digestión anaerobia, sin embargo, las condiciones fisiológicas y fisicoquímicas bajo las cuales se optimiza la producción de bioH_2 no están aún establecidas. El gran desafío para poder diseñar sistemas eficientes y sustentables para la producción de bioH_2 por fermentación oscura, es encontrar la manera de disminuir e incluso eliminar, a los organismos consumidores de hidrógeno y a los microorganismos que compiten por el mismo sustrato que las bacterias productoras de bioH_2 [6].

V.5. Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso bioquímico mediante el cual, un compuesto orgánico es mineralizado principalmente a CH_4 , CO_2 y H_2O por acción de ciertos microorganismos eubacteriales procarióticos [2, 23], morfológicamente clasificados como: cocos, bacilos, vibriones y/o espiroquetas. Dichos organismos desempeñan el papel más importante tanto en la descomposición, como en la estabilización de la materia orgánica [59].

Durante la digestión anaerobia, la biomasa se descompone en los carbohidratos elementales que conforman los tejidos vegetales, se rompen las cadenas de los compuestos complejos y se transforman en sus constituyentes unitarios [23]. El biohidrógeno producido como subproducto de esta ruta metabólica, se obtiene a partir de las reacciones bioquímicas sucedidas dentro de las bacterias anaeróbicas que crecen en la oscuridad; cuando éstas entran en contacto con sustratos ricos en carbohidratos, resulta en la generación de una mezcla de gases, principalmente: H_2 , CO_2 y ácidos grasos volátiles (AGV) [23, 49].

Este proceso tiene lugar para casi toda la materia orgánica, {para casi cualquier compuesto orgánico virtualmente disponible habría un organismo que lo degrade bajo condiciones adecuadas (en caso contrario, la evolución y la adaptación no hubiesen

sucedido)) [2, 23, 48]; en consecuencia, esta técnica se favorece ajustando las condiciones de temperatura, humedad y anaerobiosis idóneas para el inóculo que se pretenda utilizar.

La digestión anaerobia de la materia orgánica compleja hasta metano y dióxido de carbono requiere de la sucesión de cuatro pasos principales (Figura 5.5.1.) [6].

Figura 5.5.1. Diagrama del proceso de la digestión anaerobia [6].

V.5.1 Hidrólisis

Durante la hidrólisis, los polímeros orgánicos complejos (polisacáridos, lignina, ácidos nucleicos, proteínas y lípidos), son hidrolizados en unidades más pequeñas como lo son los azúcares y los aminoácidos [6]. La hidrólisis es un mecanismo de ruptura con la adición simultánea de agua. Este proceso puede ser abiótico o mediado por enzimas extracelulares

como la celulosa, las esterasas, las amidasas, las fosfatasas, las nitrilasas o las proteasas [6]. Su desarrollo puede proceder bajo condiciones aerobias o anaerobias [2]. La tasa de hidrólisis depende también de la concentración del contaminante, del nivel de pH (5 ± 1), y de la temperatura del agua ($36^\circ\text{C} \pm 1$).

Las reacciones de hidrólisis generalmente poseen metabolismo prioritario y ocurren temprano en el proceso de biodegradación. Por ejemplo; muchos compuestos biodegradables que contienen estructuras repetidas como los polisacáridos y las proteínas, pueden ser hidrolizados en azúcares y aminoácidos, en cuestión de horas [32]. Durante este proceso de transformación bioquímica, una molécula orgánica (RX), reacciona con el agua. El resultado de la reacción es la introducción de iones hidroxilo (^-OH) al compuesto orgánico, con su consecuente separación en dos o más moléculas (menos complejas), las cuales son comúnmente más fáciles de biodegradar. El proceso se desarrolla como se indica en la Ecuación 5.5.1.

Donde, una molécula genérica (RX) reacciona con el agua para formar un nuevo enlace (RO) con el átomo de oxígeno, y reemplaza con el radical (^-OH) al grupo (X) que se desprende de los electrones. El radical (X) puede ser, por ejemplo, un halógeno adherido, azufre, fósforo o nitrógeno [2, 23].

La degradación hidrolítica proporciona una tasa básica degradativa para contaminantes orgánicos en medios acuosos, algunos compuestos químicos son resistentes a la hidrólisis, tal como lo son, los alcanos, los hidrocarburos aromáticos, los alcoholes, las cetonas, los glicoles, los fenoles, los éteres, los ácidos carboxílicos, los ácidos sulfónicos y los hidrocarburos policíclicos y heterocíclicos [2].

V.5.2. Acidogénesis

La acidogénesis, también denominada fermentación, es la segunda etapa de la digestión anaerobia, en la cual, los azúcares y aminoácidos resultantes de la hidrólisis, son

usados como sustratos por las bacterias fermentativas. Esta etapa usualmente es la más rápida en la conversión anaeróbica de la materia orgánica compleja en fase líquida. Los ácidos grasos, aminoácidos y azúcares son convertidos por las bacterias acidogénicas en alcoholes, dióxido de carbono, hidrógeno y ácidos grasos volátiles. Los azúcares son degradados siguiendo la vía de la glicólisis, tal como se muestra en la Ecuación 5.5.2. [6].

V.5.3. Acetogénesis

La acumulación de receptores de electrones tales como el ácido láctico, el ácido propiónico (Ecuación 5.5.3. y 5.5.4.), el ácido butírico, el etanol (Ecuación 5.5.5.), y otros ácidos grasos volátiles; es la respuesta de las bacterias al incremento de la producción de hidrógeno en el sustrato. En la ecuación 5.5.4., se puede apreciar que el producto generado a partir de la descomposición del ácido propiónico, resulta en dos moléculas de H_2 , y dos más de ácido acético. Por otro lado, en la ecuación 5.5.3., se genera como producto de la reacción de la degradación del ácido propiónico, tres moléculas de hidrógeno, pero también, se produce dióxido de carbono. Cabe señalar que estos productos pueden o no, ser utilizados directamente por los microorganismos metanógenos, pero si deben de ser degradados por las bacterias productoras de hidrógeno [6].

En la Ecuación 5.5.5., se aprecia que, a partir de la metabolización del etanol, las bacterias productoras de hidrógeno, generan como producto, dos moléculas de ácido acético y dos moléculas de hidrógeno.

V.5.4. *Metanogénesis*

La metanogénesis es la producción de metano y dióxido de carbono a partir de un limitado número de compuestos (ácido acético, metanol, H₂, CO₂ y ácido fórmico), quienes actúan como sustrato para los microorganismos metanógenos [6]. En la ecuación 5.5.6., puede observarse que la descomposición del ácido acético por acción de las bacterias metanógenas, resulta en una molécula de metano por otra de dióxido de carbono.

V.6. Biohidrógeno (bioH₂) por Fermentación Oscura

La generación de biohidrógeno a través de la fermentación oscura, se logra principalmente por la acción de bacterias estrictamente anaerobias o anaerobias facultativas. En general, son especies del género *Clostridium*, formadoras de esporas, las responsables de llevar a cabo este proceso bioquímico; así también, pueden ser de utilidad bacterias facultativas de los géneros *Enterobacter* y *Bacillus*, y algunas bacterias termófilas y acidogénicas anaerobias, provenientes de lodos residuales [6]. Los carbohidratos son la fuente de carbono orgánico preferida de las rutas metabólicas que producen biohidrógeno.

V.6.1. *Reactores usados para el estudio de la digestión anaerobia*

Los tipos de reactores más usados y estudiados para este fin son los reactores de tipo batch, también llamados reactores discontinuos; como se puede apreciar en la Figura 5.6.1., estos sistemas constan esencialmente de un tanque en donde se lleva a cabo la reacción bioquímica [6]. También se han realizado estudios con reactores UASB, EGSB y con biomasa inmovilizada. En el caso de los reactores UASB, debido a que se independiza el tiempo de residencia celular del hidráulico, es posible trabajar con concentraciones de biomasa por lo menos 5 veces mayores que en los reactores por lotes.

Figura 5.6.1. Reactor discontinuo convencional [6].

Una vez que se ha tratado un lote dentro de un proceso discontinuo, se vacía el reactor, y se puede entonces tratar un segundo lote. Un solo recipiente puede realizar una secuencia de diversas operaciones sin la necesidad de romper la contención. A pesar de que estos reactores son muy usados en procesos industriales y en aplicaciones de control de la contaminación; para el tratamiento de aguas residuales son poco prácticos, ya que no se pueden tratar con facilidad grandes volúmenes de agua. Por tal motivo, estos reactores sólo son potencialmente útiles en pruebas piloto con fines académicos, de investigación, o en procesos de tratamiento de sustancias tóxicas o componentes altamente reactivos.

V.6.2. *Cultivo discontinuo (batch)*

Basado en la fisión binaria de las células, sería razonable pensar que el crecimiento de las bacterias es del tipo exponencial. Este tipo de crecimiento, en un reactor discontinuo, puede darse hasta un punto en el que los nutrientes empiezan a acabarse u otros factores ambientales limiten el crecimiento. En la Figura 5.6.2., se presenta una curva de crecimiento típica para un medio de cultivo que ha sido inoculado al tiempo 0 [31, 50].

Figura 5.6.2. Curva típica de crecimiento de una población bacteriana en un sistema batch [50].

Se supone que, si las condiciones del medio de cultivo son óptimas, sucederían 4 fases en el ciclo del crecimiento celular: **Fase de demora (Lag)**, **Fase exponencial (Exp)**, **Fase estacionaria** y **Fase de Muerte** [31, 50].

Fase de demora. - Esta fase corresponde al tiempo que le lleva a la bacteria adaptarse al nuevo medio de cultivo. Durante esta fase el crecimiento es prácticamente nulo. La fase de demora puede ser corta si las bacterias se inoculan en un medio similar al medio en el cual se habían desarrollado. En cambio, cuando se inoculan en un medio de diferente composición, el tiempo de demora puede ser de 10 a 20 horas o mayor.

La fase de demora puede interpretarse como el tiempo que necesitan las bacterias para sintetizar las enzimas necesarias para metabolizar los nuevos nutrientes [31,50].

Fase de crecimiento exponencial. - El crecimiento exponencial sigue a la fase de aclimatación. Esta fase ocurre si no existe ningún factor que limite el crecimiento de las bacterias [31,50].

Fase estacionaria. - El crecimiento en esta fase no cesa, sin embargo, el crecimiento neto es 0. Las células se dividen utilizando nutrientes almacenados o componentes de células

mueras. Las células inician los procesos que le son necesarios para sobrevivir al período de falta de nutrientes. Esta fase dura en la mayoría de los casos entre 12 y 36 horas [31,50]. Esta etapa indica cómo se comportan las bacterias en situaciones adversas. Las que logran sobrevivir han sido capaces de almacenar cantidades de compuestos durante los períodos de alta concentración, estas bacterias suelen ser importantes en los procesos de tratamiento cíclicos [31, 50].

Fase de Muerte. - Cuando la bacteria cesa de crecer, eventualmente muere. La muerte puede asociarse a la inactivación de la actividad metabólica, o puede ser la descomposición real de las células. Ciertas bacterias pueden alimentarse de la materia orgánica de las células muertas [31, 50].

Debido a la flexibilidad metabólica de la especie *Clostridium* pueden producirse distintos subproductos, lo cual, si no se controla adecuadamente, puede reducir la producción de bioH₂ respecto al máximo [36]. Usualmente los monosacáridos funen como la principal fuente de carbono (glucosa y xilosa). Sin embargo, el almidón, la celulosa, y otras fuentes nutritivas, pueden ser generadas a partir de la hidrólisis de los polisacáridos, las proteínas y los lípidos [6].

La cantidad de biohidrógeno obtenido se puede cuantificar en términos de rendimiento o tasa; mientras que el rendimiento se define como la cantidad de bioH₂ producido por cantidad de sustrato consumido, y, se expresa en unidades de molaridad (bioH₂/mol de glucosa), la tasa de producción de hidrógeno se define como la cantidad de bioH₂ (ml) producido por unidad de tiempo y por unidad de volumen del reactor (tasa volumétrica), o, por unidad de biomasa (tasa específica). Es importante mencionar que es posible ajustar matemáticamente la producción de biohidrógeno por fermentación oscura mediante la ecuación modificada de Gompertz (Ecuación 5.6.1.), la cual, es un modelo adaptado para describir el progreso acumulativo de producción de bioH₂ en un experimento tipo batch [8]:

$$H = H_{\text{máx}} \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_{\text{máx}} \times e}{H_{\text{máx}}(\lambda - t)} + 1 \right] \right\} \quad (\text{Ecuación 5.6.1.})$$

Donde:

H = producción acumulada de bioH_2 (ml)

$H_{\text{máx}}$ = producción acumulada máxima de bioH_2 (ml)

$R_{\text{máx}}$ = tasa de producción máxima de bioH_2 (ml/h)

t = tiempo de cultivo (h)

λ = tiempo de retardo (h) requerido para comenzar la evolución del bioH_2 [8].

De acuerdo con la Ecuación 5.6.2., la producción máxima teórica de biohidrógeno a partir de la fermentación oscura de la glucosa, cuando el ácido acético es el único ácido graso volátil; es de 4 moles de bioH_2 por mol de glucosa consumida. En cuanto a la energía libre de Gibbs (Ecuación 5.6.3.), el valor negativo indica que en la reacción se forman productos espontáneamente sin necesidad de requerimientos energéticos externos [8].

$$\Delta G^\circ = -206 \text{ KJ mol}^{-1} \quad (\text{Ecuación 5.6.3.})$$

La máxima producción teórica de biohidrógeno también se puede lograr en un proceso de dos etapas mediante la degradación de la glucosa a acetato (Ecuación 5.6.4.), y, de acetato a formiato (Ecuación 5.6.6.). En cuanto a la energía libre de Gibbs, tanto para la Ecuación 5.6.4, como para la Ecuación 5.6.6., el valor también es negativo (Ecuaciones 5.6.5 y 5.6.7 sucesivamente); lo que indica que en estas reacciones también se forman productos espontáneamente sin necesidad de requerimientos energéticos externos [8].

$$\Delta G^\circ = -209.1 \text{ KJ mol}^{-1} \quad (\text{Ecuación 5.6.5.})$$

$$\Delta G^\circ = -6 \text{ KJ mol}^{-1} \quad (\text{Ecuación 5.6.7.})$$

Sin embargo, en la práctica, se han obtenido bajas producciones de bioH_2 debido a que parte de la glucosa es empleada por los microorganismos como sustento para el adecuado desarrollo celular. Adicionalmente, cuando la transformación forma como subproducto, ácido butírico, se producen dos moles de bioH_2 por mol de glucosa, y, si se genera ácido propiónico, se produce un consumo de 1 mol de bioH_2 por mol de ácido propiónico generado. La degradación del ácido láctico y etanol no genera consumo ni producción de bioH_2 . Sin embargo, si se produce ácido acético y butírico al mismo tiempo como subproducto de la reacción, se generan 2.5 moles de bioH_2 por mol de glucosa (valor máximo teórico) [8].

V.7. Factores limitantes de la Fermentación Oscura

La fermentación oscura depende de varios factores asociados a las condiciones ambientales y operacionales donde se lleve a cabo el proceso biológico. El requerimiento fundamental radica en satisfacer las necesidades fisiológicas y nutritivas de los microorganismos, además de proveerles las condiciones ambientales suficientes, que promuevan la producción catalítica de enzimas que eleven el potencial de degradación dentro del sistema [2, 17, 23, 32, 48]. Estos factores han sido evaluados por diferentes investigadores con el objetivo de obtener, por lo menos, el valor máximo teórico establecido para la generación de biohidrógeno usando glucosa como sustrato (4 moles de H_2 por mol de glucosa). Los principales parámetros de control son el pH, la temperatura, el tiempo de retención hidráulico, la concentración de la carga orgánica en el sustrato, y la introducción al sistema, tanto de nutrientes, como de determinados microorganismos [6].

Es pertinente recordar también, que, en ausencia de oxígeno, otros compuestos presentes en el medio, pudiesen fungir como aceptores de electrones, lo cual podría conducir a una acumulación de productos provenientes de la descomposición metabólica anaerobia y de la degradación de alcoholes y de ácidos orgánicos. La acumulación de esos productos fomentaría la inhibición de la actividad microbiana de manera significativa, reduciendo tanto la diversidad de especies, como la reproducción de los mismos [17, 32, 61]. Los requerimientos para llevar a cabo una biorremediación tienen un rango de trascendencia

primordial y específico. En la Figura 5.7.1., se muestra la importancia de cada uno de estos factores limitantes.

En la cúspide de la pirámide se encuentra la naturaleza del inóculo a utilizar, es necesario que los microorganismos que se introducirán al sistema sean capaces de producir enzimas que sinteticen el compuesto a degradar “compuesto objetivo”, las enzimas descomponen dicho compuesto a la par que explotan las necesidades energéticas (capacidad degradativa) de los organismos degradadores [2].

Figura 5.7.1. Factores limitantes de la fermentación oscura [17, 32, 61].

V.7.1. Inóculo

Las reacciones bioquímicas heterotróficas para la producción biológica de bioH_2 son llevadas a cabo por una diversidad de microorganismos, tales como, anaerobios estrictos y facultativos, además de aerobios cultivados en condiciones anóxicas. Se han empleado bacterias en cultivos puros y en cultivos mixtos, constituidos principalmente por especies del género *Clostridium* y *Enterobacter* [28]. Los organismos de las diferentes especies del género

Clostridium son bacilos gram-positivos, estrictamente anaerobios y formadores de esporas, mientras las *Enterobacter* son bacterias bacilos gram-negativas y anaerobias facultativas [22]. Estas bacterias se reproducen generalmente por la fisión binaria, poseen pared celular y material genético disperso en su citoplasma [59]. Rögner M; (2015) [44], explica la bioquímica de la fermentación oscura para la producción de biohidrógeno. Profundiza en el estudio del comportamiento de la entropía y la entalpía dentro del sistema anaerobio, usando biomasa como sustrato. Este estudio es útil, ya que comparte información específica para facilitar la elección del inóculo ideal, según el tipo de sustrato que se pretenda digerir.

Vera y colaboradores; (2016) [61], estudiaron la influencia del inóculo sobre la producción de hidrógeno biológico; gracias a las aportaciones de Pedro Vera y colegas, se sabe que la naturaleza del lodo microbiológico a utilizar como inóculo, debe caracterizarse por su capacidad adaptativa al tipo de residuo que se tenga como sustrato; siendo objeto para este estudio, el análisis de dos inóculos. El primer inóculo se obtuvo de una planta de tratamiento de agua de una industria cervecera (inóculo A), y el segundo provino de una planta de tratamiento de agua residual municipal (inóculo B). Se llevó a cabo un pretratamiento térmico por 24 horas a 104 °C. El sistema operó en condiciones mesófilas (35°C), con un sustrato preparado a partir de una solución de glucosa al 5% enriquecida con medio mineral. Fueron los lodos provenientes de la planta de tratamiento de la industria cervecera, los que, introducidos al sistema anaerobio para la degradación de dicha solución, los que presentaron un potencial de producción de biohidrógeno 78% mayor al producido usando un inóculo de aguas residuales municipales. La concentración de biohidrógeno varió desde 0% hasta 72.42% para el inóculo A y de 0% a 29% para el inóculo B.

V.7.2. Sustrato

Como fuente de energía para la producción de bioH_2 , se han utilizado sustratos simples. tales como: azúcares, almidones, celulosa e incluso, los residuos orgánicos obtenidos de diversas fuentes. La glucosa, la sacarosa y el almidón, son los sustratos que más se han utilizado. Para la producción de bioH_2 no es ideal emplear sustratos con estructuras

moleculares complejas, debido a que éstos son difíciles de asimilar por los microorganismos, sin embargo, después de emplear un pretratamiento físico o químico, estos sustratos pueden ser fácilmente asimilados por las bacterias productoras de bioH_2 [6].

Los sustratos ideales para la digestión anaerobia en biodigestores son los residuos orgánicos húmedos de origen agrícola, industrial, doméstico o municipal; así como las excretas de origen humano y animal. Los residuos de la industria alimentaria y de las actividades agrícolas en particular, son excelentes sustratos para la digestión anaerobia, ya que no contienen contaminantes patógenos, ni metales pesados. La presencia de nutrientes como carbono, nitrógeno y azufre, así como de algunos elementos traza, es necesaria para el desarrollo de las comunidades microbianas encargadas de la producción de bioH_2 [6].

Djalma y colaboradores (2015) [13], evaluaron la eficiencia de producción del biohidrógeno, variando la carga orgánica durante el proceso; debido a la naturaleza del residuo a digerir (residuos de una biorrefinería), se trabajó en condiciones termófilas y con la inclusión de un inóculo modificado con seis especies diferentes de microorganismos termofílicos. Además de las condiciones ambientales específicas. Así mismo, Nalakath, y colaboradores (2019) [36], estudiaron la producción de hidrógeno biológico a partir de residuos de frutas y vegetales, pero en este caso, la variable analizada fue la inocuidad del sustrato. Se realizó una comparación de la cantidad de biohidrógeno producido usando sustrato en bruto y sustrato previamente tratado usando una autoclave; concluyendo que el sustrato pretratado brindó mejores rendimientos para la producción de biohidrógeno.

V.7.3. pH del cultivo

Continuando con el análisis de la Figura 5.7.1., en un tercer nivel de importancia se encuentran la humedad y el adecuado nivel de pH. El pH es un factor importante que repercute en la actividad de las bacterias productoras de bioH_2 .

Un desequilibrio en este parámetro de control afectaría la integridad estructural de los organismos, disminuyendo los rendimientos producto de su metabolismo. Estudios comparativos con respecto al efecto del pH en la producción de bioH_2 , han mostrado que el

rango de pH óptimo para lograr la máxima producción del mismo está dada entre los valores de 4.5 y 6.5. Cabe mencionar que los valores de pH mayores a 9 o inferiores a 4, son difícilmente tolerados por las bacterias productoras de biohidrógeno [2, 17, 45, 46]. Cano y León (2019) [9], estudiaron la incidencia de los parámetros operativos en la producción de biohidrógeno generado a partir de la digestión de residuos sólidos de la central de abastos de Medellín, Colombia. En este trabajo se encontró que a un pH cercano a 5, era el idóneo para la máxima producción del bioH₂.

V.7.4. Temperatura

En el cuarto nivel de la pirámide de la Figura 5.7.1., están la temperatura y los nutrientes insertados al sistema; la temperatura es un factor que influye en la actividad de las bacterias productoras de bioH₂, afectando significativamente en las tasas de crecimiento de los microorganismos. Las bacterias son capaces de producir bioH₂ en rangos de temperatura que van desde los 15, hasta los 85°C (psicrófilico (15-20 °C), mesofílico (25-40 °C), termofílico (50-65 °C) o hipertermofílico (>80 °C)) [6].

V.7.5. Nutrientes

En los procesos fermentativos en fase oscura para producción de bioH₂, la presencia de nitrógeno, fosfatos y algunos iones metálicos, es de vital importancia para el desarrollo celular de las bacterias productoras de bioH₂. El nitrógeno es un componente de las proteínas, ácidos nucleicos y enzimas, por lo tanto, una concentración de nitrógeno apropiada favorece el crecimiento de las bacterias productoras de biohidrógeno y la producción de bioH₂ fermentativo. Los microorganismos requieren 30 partes de carbono por una de nitrógeno (30:1), por lo que mantener dicha relación es muy importante ya que un alto nivel de nitrógeno (>80 mg/L) como amoníaco puede causar toxicidad, mientras que un bajo nivel de nitrógeno puede inhibir la tasa de degradación del biohidrógeno esperado [6].

V.7.6. Tiempo de retención hidráulico

Finalmente están las cuatro condiciones ambientales que permiten que el proceso perdure: el tiempo de retención hidráulico, la ausencia de toxicidad para los

microorganismos, la remoción de los metabolitos generados y acumulados, y, la ausencia de microorganismos competitivos o predadores [2, 17, 32]. Al número de días durante los cuales los sustratos y los inóculos trabajan en conjunto dentro de un reactor, se le conoce como tiempo de retención hidráulica o THR. Este parámetro es importante ya que establece la cantidad de tiempo disponible necesario para el óptimo crecimiento bacteriano y la posterior conversión de la materia orgánica en biohidrógeno. El THR varía de acuerdo a la materia prima utilizada, a la concentración de sólidos y a la temperatura del medio [6].

Evaluar la tasa de degradación de contaminantes orgánicos es esencial para predecir la extensión a la cual la contaminación se puede esparcir. La cinética de Monod (Figura 5.6.2.), es ampliamente utilizada para caracterizar las tasas de biodegradación de contaminantes orgánicos. En este modelo se asume que la producción de biomasa depende exclusivamente de la concentración de este sustrato limitante. Para una reacción biológica del tipo $\alpha S \rightarrow \gamma X$, la velocidad de crecimiento de la biomasa puede representarse como se ilustra en la Figura 5.7.2., y, como se muestra en la siguiente Ecuación 5.7.1. [33, 50, 31].

$$\mu = \mu_{\max} \frac{s}{s+K_s} \quad (\text{Ecuación 5.7.1.})$$

Donde:

$\mu_{\max}$ = tasa de crecimiento específico, es decir, la tasa de crecimiento normalizado a la concentración celular (día⁻¹).

S = concentración del sustrato limitante en la masa del líquido (mg-sustrato/L).

K_s = coeficiente de saturación media (mg-sustrato/L).

Cuando $s \rightarrow \infty$, la velocidad $\mu \rightarrow \mu_{\max}$; cuando $s \rightarrow 0$, $\mu \rightarrow 0$ y cuando $s = K_s$, $\mu = \mu_{\max}/2$

Figura 5.7.2. Efecto de la concentración del sustrato sobre la velocidad de crecimiento bacteriano [50].

Buitrón, y colaboradores [7], analizaron los tiempos de retención hidráulico en lapsos temporales correspondientes a las primeras cinco horas desde el inicio de la reacción; se trabajó a una temperatura de 35°C y a un pH de 4.5. Se concluyó que, durante las primeras dos horas de reacción, la bioquímica metabólica que tenía lugar para esas condiciones, inhibía la producción de bioH₂, siendo que, a partir de la segunda hora, los índices de biohidrógeno generado, aumentaron significativamente.

León y Zapata [29], realizaron pruebas para cuantificar de manera predictiva, la producción máxima diaria de biohidrógeno, así como la producción acumulada, usando como sustrato mucílago de café y residuos de frutas y verduras; se trabajó bajo condiciones mesófilas de operación. A partir de ajustes polinomiales a los datos obtenidos les fue posible calcular la máxima producción de biohidrógeno respecto a la carga orgánica, esta fue de 5,511 ml de biohidrógeno por gramo de sustrato removido durante la digestión.

Por último, Srivastava y colaboradores; [55]. afirman que a partir de la relación entre los datos que se conocen sobre este fenómeno bioquímico y el uso de la nanotecnología, se podrían resolver las dificultades orgánicas acontecidas durante el proceso de digestión anaerobia. La combinación de la fermentación oscura y procesos fotobiológicos han

demostrado ser el método más eficiente para la producción de bioH_2 . Además, si a esto se le incorporan al sistema, materiales nanoestructurados y enzimas inmovilizadas, se agudizaría la remoción de los materiales contaminantes y, dicho sea de paso, se mejorarían los índices generales de costo y eficiencia. Factor indispensable en la evaluación de la factibilidad de usar una tecnología como metodología sostenible.

Si se profundiza un poco en la información anterior, se percata que toda la información brinda datos importantes y necesarios, pero, en todos los trabajos se utilizaron variables completamente diferentes, lo que sucede no sólo para esta selección de artículos, sino que sucede también en la gran mayoría de las investigaciones que se han realizado a lo largo del tiempo, con relación al estudio del biohidrógeno como el máximo vector de energía. Dicho de otro modo, se modifican los parámetros según las necesidades y los requerimientos que cada investigador cree, son los convenientes y adecuados. Se eligen las variables de acuerdo con los sustratos y a los medios que cada uno posea.

Blanco y Rodríguez [6]; confirman que tanto los diseños experimentales como las condiciones de operación y sus comportamientos, deben realizarse bajo ciertos patrones estandarizados a partir del conocimiento y la experiencia. Todo esto ilustra que, a partir de la recopilación de diferentes hallazgos se pueden mejorar los rendimientos de producción del bioH_2 , si se tomase en cuenta, aparte del rendimiento, el factor que indica la velocidad volumétrica de producción de bioH_2 (VVPH), y, además, si se incrementasen los estudios a escala real y bajo un sistema de operación continuo.

En la tabla 5.1., se observan las generalidades, hallazgos y diferencias entre las velocidades de producción y rendimientos de bioH_2 obtenidas bajo condiciones de operación determinadas, y, a partir del aprovechamiento de diversos inóculos y sustratos, en reactores discontinuos o de tipo “batch”. Mientras tanto, en la Tabla 5.2., se observa un listado similar, pero en procesos continuos de operación.

Tabla 5.1.1. Generalidades en las velocidades de producción y rendimientos de producción de bioH₂ a partir de diversos inóculos y sustratos en cultivos Batch

Inóculo	Sustrato	VVPH	Rendimiento	Condiciones del cultivo	Referencias
Cultivo	g DQO/L	(mmol biohidrógeno/L cultivo * hr)	(mol biohidrógeno/mol de sustrato)	(TRH (hr), pH, Temp. °C, biohidrógeno % v/v)	
<i>Clostridium Saccharoperbutyla cetomicum</i>	Suero de Leche Crudo (ca. 41.4 g lactosa/l)	9.4	2.70 mol H ₂ /mol lactosa	6.0 , 30 , NR	Ferchichi et al., 2005
<i>Escherichia coli</i> W3110, SR11*,SR12*,SR13*	Acido Fórmico (25 mM)	11795	1.00 0mol H ₂ /mol formiato	6.5 , 30 , NR	Yoshida et al., 2005
Bacteria mesofilica HN001	Almidon (20 g/L)	59	2.00 mol H ₂ /mol glucosa	6.0 , 37 , NR	Yasuda & Tanisho 2006
Suelo agrícola (tratamiento térmico)	Materia organica aguas residuales	6.2	100 ml H ₂ /g DQO removida	6.1 , 23 , 60	Van Ginkel et al., 2005
Lodo anaerobio (Tratamiento ácido, aclimatado CSTR)	Sacarosa (20 g DQO/L)	96	1.74 mol H ₂ /mol sacarosa	6.1 , 40 , 45	Wu et al., 2005
Lodo anaerobio	Glucosa (+/- 21.3 g/l)	4.9 - 8.6	0.80- 1.00 mol H ₂ /mol hexosa	5.7 , 34.5 , 59-66	Cheong & Hansen., 2006
Lodo anaerobio	Sacarosa (10.0 g/L)	8	1.90 mol H ₂ /mol sacarosa	5.5 , 35 , NR	Mu et al., 2006a
Lodo anaerobio	Sacarosa (24.8 g/L)	20	3.40 mol H ₂ /mol sacarosa	5.5 , 34.8 , 64	Mu et a.l, 2006b
Lodo anaerobio	Glucosa 3.76 g/l	9	1.00 mol H ₂ /mol glucosa	6.2 , 30 , 66	Salemo et al, 2006

Tabla 5.1.2. Rendimientos de la producción de H₂ bajo condiciones de operación determinadas, y a partir del aprovechamiento de diversos inóculos y sustratos

Inóculo	Sustrato	VVPH	Rendimiento	Condiciones del cultivo	Referencias
Cultivo	g DQO/L	(mmol biohidrógeno/L cultivo * hr)	(mol biohidrógeno/mol de sustrato)	(TRH (hr), pH, Temp. °C, biohidrógeno % v/v)	
Mixto	Sacarosa (20)	17	3.5	12,NR, 6.8,35,45.9	Lin et al., 2006
Mixto	Sacarosa (40)	20	1.15	12,80g/L,5.2,35,60	Kyazze et al., 2006
Mixto (inmovilizado)	Sacarosa (30)	612.5	3.86	0.5,NR,6.5,40,44	Wu et al., 2006
Mixto	Xilosa (20)	5	1.1	12,NR,7.1,35,32	Lin & Cheng. 2006
Mixto	Glucosa (15)	13.23	1.93	4.5,80g/L,5.5,37,67	Zhang et al., 2004
Lodo deshidratado	Glucosa (4)	3.4	1.9	10,NR,5.5,35,50	Salerno et al., 2006
Mixto	Sacarosa (20)	15.6	3.6	12,NR,5.5,35,50	Lin & Cheng., 2006
Lodo anaerobio	Sacarosa (20)	52.6	3.43	12,NR,6.8,35,50	Lin & Lay., 2005
Mixto	Sacarosa y azúcar	5.15	1.9	15,16Kg/m3,5.2,32,NR	Hussy et al., 2005
<i>C. thermolacticum</i>	Lactosa (10)	2.58	2.1	17.2,NR,7,58,55	Collet et al., 2004

Como puede observarse en las tablas 5.1. y 5.2., en ningún caso estudiado los rendimientos reportados rebasan la barrera biológica de 4 moles de bioH_2 por mol de monosacárido (para una fermentación oscura en una solo etapa). Hasta dónde llegó el presente trabajo de investigación, no se encontró alguna evidencia donde se haya estudiado la factibilidad de producir biohidrógeno a partir del nejayote. Se ha estudiado mucho la factibilidad de producir biohidrógeno por fermentación oscura utilizando residuos orgánicos tanto en estado sólido como en estado líquido, pero a partir del uso del nejayote propiamente, no.

Capítulo VI. Metodología

Este trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del laboratorio de óptica, G005, del Departamento de Ciencias Básicas e Ingeniería, bajo la supervisión del Maestro Jaime Granados Samaniego. La metodología se agrupó en tres fases, las cuales pueden apreciarse gráficamente en la Figura 6.1.1. La primera fase hace mención a la obtención de los materiales, los reactivos, el inóculo y el sustrato, a la construcción tanto de los biorreactores y sus sistemas de medición y almacenamiento, como a la construcción de los instrumentos de operación y de interpretación (baños María, instrumento electrónico medidor de gases G005R&T, entre otros) y la calibración del dispositivo G005R&T. La segunda fase se refiere a las actividades para la caracterización del sustrato y para la evaluación de la cinética del crecimiento microbológico endémico del nejayote. Y la tercera fase consistió en la medición del rendimiento del biohidrógeno generado por fermentación oscura del nejayote, para lo cual se diseñó un experimento, operando con seis relaciones nejayote/nutrientes (100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100), y bajo dos regímenes de temperatura (37 y 57°C), como respuesta a la influencia de factores, tales como, la composición del medio de cultivo, la temperatura de operación y el control del pH.

Figura 6.1.1. Diagrama de la metodología seguida.

VI.1. Fase 1

VI.1.1. Obtención de los Materiales y Reactivos

Los diversos materiales para este trabajo de investigación (Figura 6.1.2.), se obtuvieron gracias a la participación de diversas instancias, departamentos académicos, profesores investigadores, amigos y colegas; que aportaron, compartieron, donaron o facilitaron diversos equipos, instalaciones y recursos varios. Por mencionar algunos: Laboratorio de óptica G005 del Departamento de Ciencias Básicas; Planta Piloto de Tratamiento de Aguas Residuales (PPTAR) de la Unidad; almacén de mantenimiento de la Unidad; Laboratorio de Tecnologías Sustentables, edificio W de la Unidad; laboratorios de química del Departamento de Ciencias Básicas y del Departamento de Energía de la Unidad.

Figura 6.1.2. Materiales y reactivos utilizados.

VI.1.2. Obtención del inóculo anaerobio

Tomando en cuenta que los lodos biológicos contienen una población elevada de bacterias del género *Clostridium*, y que dichos microorganismos son por naturaleza

generadores de gases biocomburentes; se decidió utilizar como inóculo a la carga microbiológica endémica de un lodo biológico extraído de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales (Figura 6.1.3.). Este lodo microbiológico fue facilitado por la PPTAR de la UAM Azcapotzalco.

Figura 6.1.3. Inóculo (almacenamiento y apariencia física).

VI.1.3. Activación del inóculo

Una gran diversidad y cantidad de microorganismos se encuentran en los lodos activados. Las especies que se encuentran en ellos, pueden o no ser diferentes de aquellas especies que se encuentran en el agua residual cruda. El proceso básico para la activación y adaptación de los lodos biológicos al medio fermentativo en fase oscura, consiste en que el lodo tenga contacto con el agua residual que se pretende biotransformar (nejayote), y, con una fuente microbiana mixta (heces de ganado bovino) en forma de suspensión floclulenta, dentro de un sistema aireado y agitado (Figura 6.1.4.). Se eleva la temperatura del medio a 57°C por un par de horas, con el fin de eliminar a las bacterias estrictamente metanogénicas y permitir prioritariamente el desarrollo de microorganismos generadores de biohidrógeno. La materia orgánica disuelta en el medio se descompone lentamente por la acción metabólica de las bacterias; este proceso es conocido como estabilización microbiológica.

En esta fase el material nutriente se oxida a sustancias simples como el anhídrido carbónico, y parte de éste se convierte en biomasa. Al llegar a la estabilización microbiológica, el inóculo debe ser estudiado para verificar la presencia de poblaciones

bacterianas suficientes y poder aseverar la introducción del inóculo al sistema fermentativo en fase oscura para la obtención de biohidrógeno.

Figura 6.1.4. Activación del lodo biológico.

VI.1.4. Obtención del sustrato

El sustrato (nejayote) se obtuvo del molino de nixtamal “Bolsena”, ubicado en la calle lago Bolsena 186, Colonia Anáhuac, Alcaldía Miguel Hidalgo, CDMX {Figura 6.1.5. (c)}. Se colectaron 2 muestras de 10 litros de nejayote por cada día de muestreo. Se realizaron 11 muestreos. Bidones de 10 litros de capacidad, previamente esterilizados, fueron utilizados como recipientes muestrales. Las muestras se tomaron directamente del tanque receptor de nejayote {Figura 6.1.5. (a)}, conectado por medio de una tubería al drenaje municipal. Una vez tomadas las muestras, una parte de ellas fue llevada al laboratorio G005 para su pretratamiento {Figura 6.1.5. (b)}, y otra parte fue llevada a las instalaciones de la PPTAR de la UAM Azcapotzalco, para ser caracterizada por alumnos de Servicio Social.

Figura 6.1.5. Molino de nixtamal y apariencia del nejayote crudo.

VI.1.5. Construcción de los biorreactores

El equipo empleado para llevar a cabo la fermentación oscura consistió en el uso de biorreactores adaptados, contruidos con diversos materiales e instrumentos nuevos y de reúso. Todos los materiales y equipos utilizados para este trabajo se esterilizaron previamente mediante el lavado y desinfección química de los mismos. Los dispositivos de desplazamiento volumétrico y de almacenamiento de gases muestrales, adicionalmente fueron sometidos a procesos de radiación incandescente y posteriormente fueron irradiados con luz ultravioleta.

Se utilizaron dos tipos de biorreactores según la etapa en la que serían utilizados. Los rectores usados para la fase dos de este trabajo de investigación, se construyeron a partir de frascos de vidrio color ámbar de 250 ml de capacidad (para garantizar la ausencia de luz y promover la fermentación en fase oscura), tapones de hule y un dispositivo de medición volumétrica (MetriSet) de 100 mililitros de capacidad. Para conectar el sistema de

desplazamiento volumétrico a estos reactores, se realizaron perforaciones en el centro de los tapones de hule, utilizando un sacabocados de aluminio de 2 mm de diámetro. Se colocaron los tapones de hule perforados, en las boquillas de los frascos previamente etiquetados y preparados con las soluciones determinadas. En el orificio de cada tapón de hule se insertó la boquilla de alimentación del dispositivo MetriSet; esto con el fin de que los gases producidos dentro de los minirreactores, empujasen el émbolo del dispositivo de medición, revelando la cantidad de gas generado, a modo tal de conocer que mezcla o qué relación nejayote:nutrientes, sería la que presentara mayor generación de biogás.

Para la fase tres, se adaptaron reactores anaerobios utilizando envases color ámbar (para garantizar la ausencia de luz y promover la fermentación en fase oscura) de 1.23 litros de capacidad, tapones de hule, dispositivos MetriSet, mangueras y bolsas de almacenamiento. De la misma forma que se realizaron los orificios en los tapones de los minirreactores para la fase dos, se realizaron las incisiones de los tapones de hule para los reactores de la fase tres. Se conectaron las boquillas de los dispositivos MetriSet en las boquillas de los reactores previamente etiquetados y preparados con las soluciones determinadas {Figura 6.1.6. (b)}, y a su vez, también se conectaron a sus respectivos sistemas de almacenamiento y desplazamiento volumétrico {Figura 6.1.6. (a)}. Para garantizar que los reactores mantuvieran condiciones de operación anóxicas, se polimerizaron todas las entradas usando silicón gel.

Figura 6.1.6. Arreglo de biorreactores para los ensayos fermentativos en fase oscura.

VI.1.6. Baños María

Los baños María se construyeron utilizando peceras de 40 litros de capacidad, se forraron 3 de sus caras laterales usando papel aluminio, con el fin de contribuir en la estabilización de la temperatura del agua, así como también, de garantizar condiciones oscuras de operación.

El mecanismo funcional de los baños María a 37 °C consistió en el uso de un calentador sumergible con termostato “Lomas Thermo Jet” de 25 Watts de potencia, estos dispositivos garantizan una variación de temperatura menor a un grado Celsius. Mientras que el mecanismo de operación para los baños María que operaron a 57 °C consistió en el uso de resistencias eléctricas convencionales para calentar agua, conectadas a un dispositivo autotransformador de Voltaje continuo y ajustable (Variac). La rotación del conmutador de este dispositivo ofrece la capacidad para transferir potencia en una proporción determinada de voltaje, que va de cero hasta 100, de tal modo que se alcanzase una temperatura constante del baño a 57°C. Esta técnica garantiza una variación en la temperatura menor a medio grado Celsius. La estabilización se logró reduciendo la

transferencia de potencia de las resistencias a un 36% del máximo. El uso de agua desionizada como medio líquido de los baños, evitó la proliferación de sarro y calcificaciones que reducen la vida útil de las resistencias, permitiendo que estas funcionasen de forma continua durante periodos prolongados de tiempo, generalmente lapsos de tiempo superiores a los siete días.

VI.1.7. Sistemas de desplazamiento volumétrico

Los sistemas de desplazamiento volumétrico se construyeron a partir del uso de equipos MetriSet, utilizados para el suministro de medicamentos por vía intravenosa. En este caso se modificó el sentido de los factores, siendo el volumen de gas generado dentro de cada biorreactor el responsable de desplazar el volumen de solución contenida dentro de los tubos de medición del desplazamiento volumétrico. Las válvulas de salida del tubo de desplazamiento se mantuvieron cerradas, de manera que, al momento de que la presión del gas excedía la barrera de la resistencia gravitacional, el líquido contenido en el tubo se desplazaba de forma descendente, revelando el volumen de gas producido dentro del reactor (Figura 6.1.7). La solución desplazada se preparó a partir de una disolución de ácido nítrico al 1%. El volumen de gas generado se documentó al primer día, al tercer día y al sexto día a partir de que comenzó la reacción bioquímica, esto con el fin de conocer la tendencia de la producción de biohidrógeno con relación al tiempo.

Figura 6.1.7. Baños María y equipo de desplazamiento volumétrico.

VI.1.8. Sistemas de almacenamiento de biohidrógeno.

Se construyeron dos sistemas de almacenamiento de bioH_2 , las primeras bolsas de almacenamiento que se utilizaron para estudiar la cinética metabólica endémica del nejayote, consistieron en bolsas de suero, construidas a partir de material polimérico, herméticamente selladas, de 100 y 250 mililitros de capacidad. Estas bolsas generalmente cuentan con dos orificios de entrada con sus respectivos tapones, lo que permitió su reutilización. Las bolsas fueron drenadas, lavadas, desinfectadas, secadas por radiación infrarroja y posteriormente tratadas por irradiación de luz ultravioleta. Todo esto para garantizar condiciones asépticas. Estas bolsas se conectaron directamente a los biorreactores por medio de sistemas de mangueras y accesorios de instrumentación clínica.

El sistema de almacenamiento para la tercera fase consistió en usar bolsas plásticas para el almacenamiento de sangre, de 50 ml de capacidad, con doble válvula de entrada (a fin de garantizar la obtención efectiva de las muestras), y un sistema de seguridad basado en un broche hermético, para evitar cualquier tipo de fuga durante los procesos de traslado y toma de las muestras (Figura 6.1.8.). Al cumplirse el tiempo definido de estudio, se activaban los broches de seguridad de los sistemas de almacenamiento, se desconectaban las bolsas de los reactores, y, se colocaba una gota de silicón en la boquilla del cople de entrada de la bolsa, con el fin de que, al polimerizar, la naturaleza de la entrada de la bolsa, permitiese la fácil inserción de las agujas de los dispositivos para la toma de muestras, sin que existiera fuga de material muestral.

Figura 6.1.8. Sistemas de almacenamiento de biogás.

VI.1.9. Instrumento electrónico medidor de gases G005R&T

Para determinar las concentraciones de los gases producidos (H_2 , CH_4 , CO_2), se diseñó y construyó un sistema de adquisición de datos en la plataforma de desarrollo Lab View, utilizando sensores tipo MQ (Figura 6.1.9.). Se adaptó un recipiente hermético de plástico con una capacidad de 30 mL con boquillas especiales para permitir múltiples entradas de aguja y poder realizar diferentes inyecciones de muestras en el mismo dispositivo, se acoplaron 3 sensores de la familia “MQ-X” para los diferentes gases que según la literatura se deben de producir en los diferentes tiempos de la ruta metabólica estudiada, estos sensores fueron:

- MQ-8 Para detectar hidrógeno molecular, H_2 .
- MQ-4 Para detectar metano, CH_4 .
- MQ-135 Para detectar dióxido de carbono, CO_2 .

La adquisición de las señales de los diferentes sensores se realizó con una tarjeta Arduino UNO, la cual, se ajustó para trabajar con el protocolo de transferencia serial de LabView.

Figura 6.1.9. Construcción del dispositivo G005R&T.

VI.1.10. Calibración del Instrumento electrónico medidor de gases G005R&T (Software).

Se diseñó un algoritmo de adquisición de datos en LabView mostrado en la Figura 6.1.10., que cuenta con dos estados: el estado de calibración y el estado de lectura directa. El primer paso es la calibración de los sensores, utilizando un gas inerte, en este caso el Helio (He), el cual es invisible a los tres sensores MQ utilizados, al purgar el recipiente hermético con este gas, se hace una primera lectura recursiva y se ajustan todos los sensores a cero. Una vez terminada esta secuencia, se apaga el calibrado e inmediatamente después se pasa a la secuencia de lectura directa, una vez en este estado y con los sensores calibrados, se inyecta una muestra de 1 mL de la mezcla de gases producidos en la fermentación oscura ensayada.

Figura 6.1.10. Algoritmo en LabView del sistema de adquisición.

Para la calibración del dispositivo electrónico de medición se recurrió a una comparación de los valores de las curvas de calibración para los gases H_2 y CO_2 , el cromatógrafo de gases usado es un Hewlett-Packard modelo 5890 Series II {Figura 6.1.11. (a) y (c)}.

Las muestras fueron inyectadas a un alineador de vidrio (glass insert) contenido en un bloque metálico, usando una Jeringa para cromatografía de muestras gaseosas, marca VICI Valco®, Serie A-2 {Figura 6.1.11. (b)}. Las muestras eran vaporizadas y barridas hacia la columna determinada. El valor resultante para el gas objetivo en cada muestra, se reflejó en valores adimensionales representados por áreas bajo la curva a tiempos determinados.

Figura 6.1.11. Técnica de cromatografía de gases.

VI.2. Fase 2

VI.2.1. Caracterización del inóculo

Los microorganismos implicados en los procesos de digestión anaerobia son principalmente quimiorganótrofos, dicho de otra manera, son los microorganismos que pueden obtener su energía y su fuente de carbono a partir de la oxidación de los compuestos orgánicos. La caracterización taxonómica del inóculo después del proceso de activación se realizó en las instalaciones del Instituto Politécnico Nacional. Gracias a esta aportación se logró verificar en el lodo biológico, la presencia de bacterias suficientes para su inoculación al sistema de fermentación oscura. En la Figura 6.2.1. se puede apreciar la apariencia del inóculo activado.

Figura 6.2.1. Muestreo del inóculo.

VI.2.2. Caracterización del sustrato

Para la caracterización del sustrato {Figura 6.2.2. (a y b)}, los parámetros que se determinaron fueron: pH {Figura 6.2.2. (d)}, conductividad {Figura 6.2.2. (c2)}. SST {Figura 6.2.2. (c1)}. color {Figura 6.2.2. (c1)}. DQO {Figura 6.2.2. (e, f, g y h)}, y cuenta total microbiológica {Figura 6.2.2. (i)}. Los análisis se realizaron en la PPTAR de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Azcapotzalco, según los métodos que se muestran en la Tabla 6.2.1.

Figura 6.2.2. Caracterización del nejayote.

Tabla 6.2.1. Equipos y métodos para la caracterización del sustrato.

Actividad	Equipo	Método
Medición de pH	pH-METRO DE SOBREMESA HI 111, PROGRAMABLE HANNA	NMX-AA-008-SCFI-2016
Medición de SST	COLORÍMETRO PORTÁTIL MULTIPARAMÉTRICO DR890	NMX-AA-034-SCFI-2001
Medición de Conductividad	COLORÍMETRO PORTÁTIL MULTIPARAMÉTRICO DR890	NMX-AA-093-SCFI-2000
Medición de Color	COLORÍMETRO PORTÁTIL MULTIPARAMÉTRICO DR890	NMX-AA-017-SCFI-1980
Medición de DQO	COLORÍMETRO PORTÁTIL MULTIPARAMÉTRICO DR900	NMX-AA-0302-SCFI-2011
Medición de la cuenta total en placa y coloformes totales	SISTEMA DE FILTRACIÓN EN FASE MÓVIL. MILLIPORE	NMX-AA-042-SCFI-2015

VI.2.3. Evaluación de la cinética del crecimiento bacteriano del nejayote.

La fermentación oscura líquida representa ser una técnica de crecimiento bacteriano en medio acuoso, donde los nutrientes se encuentran disueltos en el medio vivo bajo condiciones fisicoquímicas controladas; la ventaja de este tipo de proceso bioquímico comparada con la fermentación oscura en fase sólida es que los productos que se obtienen son más homogéneos, además, se tiene un mejor control y manejo de los parámetros de temperatura y pH.

La evaluación del crecimiento bacteriano endémico del medio fue necesaria para saber si, a partir de las reacciones metabólicas de los organismos originarios del nejayote, se podía producir biohidrógeno. Con el fin de conocer con qué mezcla y a qué condiciones nutricionales, se generaba mayor cantidad de biohidrógeno, se realizó un ensayo experimental de fermentación oscura del nejayote. Como se observa en la tabla 6.2.2., se trabajaron seis concentraciones nejayote:nutrientes por triplicado (100:0), (80:20), (60:40), (40:60), (20:80), (100:00), y dos temperaturas objetivo (37 y 57°C)

Para esto, se usaron minirreactores de 250 mL de capacidad color ámbar para garantizar la ausencia de luz, debido a que se trata de una fermentación en fase oscura {Figura 6.2.3. (e)}, conectados a sus respectivos sistemas de desplazamiento volumétrico {Figura 6.2.3. (b y d)}; trabajados bajo los dos regímenes de temperatura determinados {Figura 6.2.3. (d y f)}. En la Figura 6.2.3. (a), puede observarse de izquierda a derecha, los vasos de precipitado contenedores de nejayote, activador microbiológico (excretas de ganado bovino), y, el inóculo activado, contenido en el vaso de precipitado más pequeño.

Tabla 6.2.2. Tabla de las relaciones nejayote/nutrientes (N/n) para los minirreactores de evaluación para la fase 2.

Minirreactor (mezcla N:n)	Temperatura	Minirreactor (mezcla N:n)	Temperatura
mR1a (100:00)	37°C	mR7a (100:00)	57°C
mR1b (100:00)	37°C	mR7b (100:00)	57°C
mR1c (100:00)	37°C	mR7c (100:00)	57°C
mR2a (80:20)	37°C	mR8a (80:20)	57°C
mR2b (80:20)	37°C	mR8b (80:20)	57°C
mR2c (80:20)	37°C	mR8c (80:20)	57°C
mR3a (60:40)	37°C	mR9a (60:40)	57°C
mR3b (60:40)	37°C	mR9b (60:40)	57°C
mR3c (60:40)	37°C	mR9c (60:40)	57°C
mR4a (40:60)	37°C	mR10a (40:60)	57°C
mR4b (40:60)	37°C	mR10b (40:60)	57°C
mR4c (40:60)	37°C	mR10c (40:60)	57°C
mR5a (20:80)	37°C	mR11a (20:80)	57°C
mR5b (20:80)	37°C	mR11b (20:80)	57°C
mR5c (20:80)	37°C	mR11c (20:80)	57°C
mR6a (00:100)	37°C	mR12a (00:100)	57°C
mR6b (00:100)	37°C	mR12b (00:100)	57°C
mR6c (00:100)	37°C	mR12c (00:100)	57°C

Figura 6.2.3. Evaluación del crecimiento endémico del nejayote.

Se midieron para los 36 ensayos, al tiempo cero de iniciar la reacción, y a las 96 horas del inicio de la reacción, los parámetros fisicoquímicos del sustrato (conductividad, SST, DQO, color y turbidez) y los parámetros tales como el pH, la temperatura y el volumen de biohidrógeno generado. A partir de los resultados obtenidos de este análisis, se elaboró el diseño de experimentos para la fermentación oscura del nejayote de la Fase 3.

VI.3. Fase 3

VI.3.1. Diseño del método experimental para la producción de biohidrógeno

Se realizó un ensayo experimental de fermentación oscura del nejayote, para lo cual se inocularon por triplicado seis relaciones diferentes de nejayote:nutrientes a dos regímenes

de temperatura {mesofílico (37°C) y termofílico (57°C)}, como se puede apreciarse en la Tabla 6.3.1.

Tabla 6.3.1. Relaciones nejayote/nutrientes (N/n) para la fase 3.

Reactor (mezcla N:n)	Temperatura	Reactor (mezcla N:n)	Temperatura
R1a (100:00)	37°C	R7a (100:00)	57°C
R1b (100:00)	37°C	R7b (100:00)	57°C
R1c (100:00)	37°C	R7c (100:00)	57°C
R2a (80:20)	37°C	R8a (80:20)	57°C
R2b (80:20)	37°C	R8b (80:20)	57°C
R2c (80:20)	37°C	R8c (80:20)	57°C
R3a (60:40)	37°C	R9a (60:40)	57°C
R3b (60:40)	37°C	R9b (60:40)	57°C
R3c (60:40)	37°C	R9c (60:40)	57°C
R4a (40:60)	37°C	R10a (40:60)	57°C
R4b (40:60)	37°C	R10b (40:60)	57°C
R4c (40:60)	37°C	R10c (40:60)	57°C
R5a (20:80)	37°C	R11a (20:80)	57°C
R5b (20:80)	37°C	R11b (20:80)	57°C
R5c (20:80)	37°C	R11c (20:80)	57°C
R6a (00:100)	37°C	R12a (00:100)	57°C
R6b (00:100)	37°C	R12b (00:100)	57°C
R6c (00:100)	37°C	R12c (00:100)	57°C

Se adaptaron 18 reactores discontinuos color ámbar, de 1.23 litros de capacidad, tal como se describe en la Figura 6.3.1., conectados a sus respectivos sistemas de control volumétrico y de almacenamiento de biohidrógeno.

Figura 6.3.1. Diagrama del método fermentativo en fase oscura y adquisición de datos.

VI.3.2. Caracterizaciones de parámetros

De la misma forma que para el ensayo de la cinética metabólica de la Fase 2, se documentaron al tiempo cero de iniciada la reacción, y a las 96 horas del inicio de la reacción, parámetros fisicoquímicos del contenido de cada biorreactor (conductividad, SST, DQO, color y turbidez), asimismo el pH, la temperatura y el volumen de biohidrógeno generado; con el fin de conocer qué mezcla y a qué condiciones nutricionales, se generaba mayor cantidad de biohidrógeno.

El monitoreo de la producción de biohidrógeno se realizó cada 48 horas después de haberse iniciado la reacción, hasta cumplirse las 96 horas, tal como se muestra en la Tabla 6.3.2. Las muestras de biohidrógeno generado se extrajeron de las bolsas de almacenamiento a las 96 horas de la fermentación oscura. Después de 96 horas de reacciones bioquímicas, se retiraron las muestras del gas recolectado en cada reactor. Estas muestras fueron analizadas por el dispositivo electrónico *G005 R&T*. Los resultados se documentaron en la Tabla 6.3.2.

Tabla 6.3.2. Tabla de la producción de biohidrógeno y otros gases (ensayo #2).

Reactor (mezcla N:n)	TR (hr)	Volumen de biogás (mL)	(ppm) CO ₂	(ppm) CH ₄	(ppm) H ₂
R1a(100:0)	00:00				
R1a(100:0)	24:00:00				
R1a(100:0)	48:00:00				
R1a(100:0)	72:00:00				
R1a(100:0)	96:00:00				
R2a(80:20)	00:00				
R2a(80:20)	24:00:00				
R2a(80:20)	48:00:00				
R2a(80:20)	72:00:00				
R2a(80:20)	96:00:00				
R3a(60:40)	00:00				
R3a(60:40)	24:00:00				
R3a(60:40)	48:00:00				
R3a(60:40)	72:00:00				
R3a(60:40)	96:00:00				
R4a (40:60)	96:00:00				
R5a(20:80)	96:00:00				
R6a (0:100)	96:00:00				
Reactor (mezcla N:n)	TR (hr)	Volumen de biogás (mL)	(ppm) CO ₂	(ppm) CH ₄	(ppm) H ₂
R7a (100:00)	00:00				
R7a (100:00)	24:00:00				
R7a (100:00)	48:00:00				
R7a (100:00)	72:00:00				
R7a (100:00)	96:00:00				
R7b (100:00)	00:00				
R7b (100:00)	24:00:00				
R7b (100:00)	48:00:00				
R7b (100:00)	72:00:00				
R7b (100:00)	96:00:00				
R7c (100:00)	96:00:00				
R8a (80:20)	96:00:00				
R9a (60:40)	96:00:00				
R10a (40:60)	96:00:00				
R11a (20:80)	96:00:00				
R12a (100:00)	96:00:00				

VI.3.3. Determinación de la velocidad volumétrica de la producción de H_2

Para determinar la velocidad volumétrica de la producción de H_2 , se realizó un análisis numérico en hoja de cálculo basado en un modelo matemático motivado por la ley de acción de masas y la ley de Arrhenius, ilustrando a partir de la variación en la frecuencia de interacción entre las partículas contenidas dentro de cada reactor discontinuo; este modelo toma en cuenta factores como las diferentes relaciones en la concentración (N:n), el volumen acumulado a las 96:00 horas de iniciada la reacción y la DQO de entrada y salida para cada relación. Es posible obtener la velocidad de una reacción de acuerdo con la ley de acción de masas (Ecuación 6.1), la cual está dada por:

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_1[E][X] + k_{-1}[EX] \quad . \quad (\text{Ecuación 6.1})$$

Aprovechando la ley de Arrhenius (Ecuación 6.2):

$$k_1 = F_1 e^{-E_1/RT} \quad \text{and} \quad k_{-1} = F_{-1} e^{-E_{-1}/RT} \quad (\text{Ecuación 6.2})$$

Donde, F_1 y F_{-1} son los factores de frecuencia, E_1 y E_{-1} son las energías de reacción de activación generalmente expresadas en Cal/mol, y R es la constante de los gases (expresada en $\text{JK}^{-1} \text{mol}^{-1}$). Por lo tanto, ambas energías de activación pueden expresarse como se muestra en la Ecuación 6.3.

$$E_1 = h_1 + \mu_2 - \mu_1 \quad \text{and} \quad E_{-1} = h_1 \quad . \quad (\text{Ecuación 6.3})$$

Donde μ_i ($i = 1, 2, 3, 4$) es el potencial químico correspondiente a su estado, junto con la secuencia de reacción, h_i ($i = 1, 2, 3$) es la energía mínima requerida para que una colisión entre moléculas resulte en una reacción química. Por lo tanto, usando las Ecuaciones 6.2 y 6.3, y, sustituyéndolas en la Ecuación 6.1, se obtienen las velocidades netas para las tres reacciones, de la forma (Ecuación 6.4).

$$w_i = \xi_i (e^{-h_i/RT} - e^{-(h_i + \mu_i - \mu_{i+1})/RT}) \quad (\text{Ecuación 6.4})$$

Donde $i = 1, 2, 3$ y ξ se define en términos de las concentraciones molares y los factores de frecuencia. Después de un poco de álgebra, la ecuación anterior se puede reescribir como tal como se indica en la Ecuación 6.5.

$$w_i = A_i (1 - e^{-(\mu_i - \mu_{i+1})/RT}) \quad (\text{Ecuación 6.5})$$

Donde: $A_i = \xi_i e^{-h_i/RT}$ (con $i = 1, 2, 3$). Por lo tanto, al usar la Ecuación 6.5 se pueden obtener las velocidades respectivas de cada reacción como se muestra en la Ecuación 6.6.

$$w_1 = A_1 (1 - e^{-(\mu_1 - \mu_2)/RT}); \quad w_2 = A_2 (1 - e^{-(\mu_2 - \mu_3)/RT}); \quad w_3 = A_3 (1 - e^{-(\mu_3 - \mu_4)/RT}) \quad (\text{Ecuación 6.6})$$

VI.3.4. Pretratamiento térmico del nejayote

Se recurrió a un pretratamiento térmico del sustrato con el fin de disminuir el pH del mismo sin necesidad de una acidificación externa, además de ir adaptando a las bacterias endémicas del medio a las temperaturas de operación elegidas para los ensayos {Figura 6.3.2. (a)}. Para esto, se colocaron los reactores contenidos de nejayote puro en condiciones anóxicas de operación, dentro de los baños María durante cinco días {Figura 6.3.2. (b)}, después de este tiempo se midieron los niveles de pH para confirmar niveles alrededor de las 6 unidades {Figura 6.3.2. (c)}. Al confirmar dicha condición, la solución nutritiva y el inóculo podían ser agregados al sistema, y, por ende, comenzar el proceso de fermentación oscura.

Figura 6.3.2. Pretratamiento del nejayote.

Capítulo VII. Resultados

Se presentan a continuación, los resultados más significativos sucedidos durante la evaluación de la factibilidad de producir biohidrógeno a través de la fermentación oscura del nejayote; así también, se describen las observaciones detectadas en cada fase del desarrollo experimental, y se generan nuevas premisas al respecto; con el fin de optimizar los mecanismos de reacción y, por ende, maximizar la producción del gas deseado. A partir del análisis de los resultados obtenidos durante el desarrollo de cada fase del proceso, se pudieron tomar decisiones operacionales con base en la documentación científica demostrada y evidenciada en el marco teórico de este trabajo.

VII.1. Fase 1 de la experimentación

VII.1.1. Calibración del Instrumento electrónico medidor de gases G005R&T

La naturaleza exacta de los parámetros registrados depende del correcto desarrollo de la técnica y de la adecuada configuración de los instrumentos utilizados. La calibración del instrumento electrónico medidor de gases G005R&T, se realizó con base en las instrucciones establecidas por el fabricante en las hojas técnicas de cada sensor (hojas que se anexan en la parte final de este documento). Para la comprobación de la precisión y exactitud de este instrumento, se realizó una curva de calibración del gas H₂ (Tabla 7.1.1.), y se comparó con la curva obtenida a partir de la técnica de cromatografía de gases.

Tabla 7.1.1. Tabla de las concentraciones de H₂ (en ppm) para la curva de calibración por el método electrónico G005R&T.

Muestra	Time	(ppm)	% ppm
1	02:38:40 p. m.	12.467831	12.4678128
1	02:38:42 p. m.	12.467823	
1	02:38:44 p. m.	12.467821	
1	02:38:46 p. m.	12.46782	
1	02:38:48 p. m.	12.467791	
1	02:38:50 p. m.	12.467791	
2	02:48:00 p. m.	22.579989	22.5799813
2	02:48:02 p. m.	22.579987	

Muestra	Time	(ppm)	% ppm
2	02:48:04 p. m.	22.579983	32.9124358
2	02:48:06 p. m.	22.579978	
2	02:48:08 p. m.	22.579977	
2	02:48:10 p. m.	22.579974	
3	03:04:06 p. m.	32.912444	
3	03:04:08 p. m.	32.912438	
3	03:04:10 p. m.	32.912435	
3	03:04:12 p. m.	32.912434	
3	03:04:14 p. m.	32.912434	
3	03:04:16 p. m.	32.91243	
4	03:18:12 p. m.	40.403572	40.403522
4	03:18:14 p. m.	40.403552	
4	03:18:16 p. m.	40.403532	
4	03:18:18 p. m.	40.403512	
4	03:18:20 p. m.	40.403492	
4	03:18:22 p. m.	40.403472	
5	03:27:14 p. m.	47.638954	47.638954
5	03:27:16 p. m.	47.638954	
5	03:27:18 p. m.	47.638954	
5	03:27:20 p. m.	47.638954	
5	03:27:22 p. m.	47.638954	
5	03:27:24 p. m.	47.638954	
6	03:41:02 p. m.	60.773556	60.7735448
6	03:41:04 p. m.	60.773548	
6	03:41:06 p. m.	60.773546	
6	03:41:08 p. m.	60.773541	
6	03:41:10 p. m.	60.77354	
6	03:41:12 p. m.	60.773538	
7	03:53:00 p. m.	68.121288	68.121278
7	03:53:02 p. m.	68.121285	
7	03:53:04 p. m.	68.121278	
7	03:53:06 p. m.	68.121277	
7	03:53:08 p. m.	68.121277	
7	03:53:10 p. m.	68.121263	
8	04:08:06 p. m.	79.486341	79.486337
8	04:08:08 p. m.	79.486338	
8	04:08:10 p. m.	79.486337	
8	04:08:12 p. m.	79.486337	
8	04:08:14 p. m.	79.486335	
8	04:08:16 p. m.	79.486334	

En la Tabla 7.1.2. y la Figura 7.1.1., se muestran los datos obtenidos para la curva de calibración del gas H_2 , donde nH_2 , representa el número de moles de hidrógeno dadas a partir del área bajo la curva. Los moles de hidrógeno (nH_2) se transformaron en ppm (Tabla 7.1.3.) para poder ser comparados con los datos obtenidos mediante el método electrónico G005R&T. La comparación de los datos obtenidos por la técnica cromatográfica y por la técnica electrónica se muestra en la Tabla 7.1.4.

Tabla 7.1.2. Tabla de las concentraciones de H_2 (en ppm) para la curva de calibración por el método cromatográfico.

$n H_2$	Área
4.17189219	405252.4
8.343784379	734125.5
12.51567657	1070056.9
16.68756876	1313610.1
20.85946095	1548846.9
25.03135314	1975882.8
29.20324533	2214772.8
33.37513752	2584232.5
0	0

Figura 7.1.1. Curva de calibración del gas H_2 por el método cromatográfico.

Tabla 7.1.3. Tabla de la concentración de H₂ (en ppm) para la curva de calibración por cromatografía de gases.

Muestra	Temperatura Inyección (°K)	Área	ppm H ₂
1	293.15	405252.4	12.4646145
2	293.15	734125.5	22.5799807
3	293.15	1070056.9	32.9124437
4	293.15	1313610.1	40.4035696
5	293.15	1548846.9	47.6389025
6	293.15	1975882.8	60.7735265
7	293.15	2214772.8	68.1212233
8	293.15	2584232.5	79.4849383

Tabla 7.1.4. Tabla comparativa del método electrónico G005R&T vs. el método por cromatografía de gases.

Método cromatográfico	Método electrónico <i>G005R&T</i>		
ppm H ₂	% ppm	Error	% Error
12.46461454	12.46781283	2.57E-04	2.565898%
22.57998073	22.57998133	2.68E-08	0.0003%
32.91244369	32.91243583	2.39E-07	0.002387%
40.40356961	40.403522	1.18E-06	0.011783%
47.63890255	47.638954	1.08E-06	0.010801%
60.77352652	60.77354483	3.01E-07	0.00301%
68.12122333	68.121278	8.03E-07	0.00803%
79.48493826	79.486337	1.76E-05	0.17598%

Como puede observarse en la Tabla 7.1.4., el porcentaje de error obtenido a partir de la comparación de los datos obtenidos de las dos técnicas ensayadas no rebasa el 5%; por lo cual, se puede determinar el uso de la técnica electrónica G005R&T, como una alternativa eficiente para la medición de la concentración de H₂ contenida en las muestras inyectadas al dispositivo.

VII.2. Fase 2 de la experimentación

VII.2.1. Caracterización del inóculo

La muestra se inoculó en agar anaerobio y tioglicolato, se incubó a 37 °C por 48 horas en una cámara de anaerobiosis. Se desarrollaron colonias circulares, blanquecinas de consistencia butirosa. Se realizó una tinción de Gram. Se identificaron bacilos Gram positivos en cadena además de cocos Gram positivos y Gram negativos.

En las Figuras 7.2.1.A., 7.2.1.B., 7.2.1.C., 7.2.1.D. y 7.2.1.E., se observan bacilos en cadenas (Gram positivos); también se pueden observar esporas en la parte superior de los bacilos. Esta taxonomía corresponde a bacterias del género *Clostridia*. Así mismo también se detectó la presencia de levaduras (Figura 7.2.1.F.).

Todos los clostridios son bacilos gram positivos esporulados; la mayoría son anaerobios obligados, aunque algunas especies pueden ser aerotolerantes. Los clostridios carecen de sistemas citocrómicos y de los mecanismos de fosforilación por transporte de electrones; por lo tanto, obtienen su energía por fosforilación a nivel de sustrato (fermentación). Se conoce una gran diversidad de mecanismos productores de energía en los clostridios; de hecho, la separación del género en subgrupos se basa principalmente en las propiedades y naturaleza del sustrato fermentable. Por lo que, para este trabajo en específico, al degradarse los azúcares y almidones contenidos en el nejayote, se obtendrían como probables subproductos de reacción, acetona, etanol, butanol, isopropanol, butirato, acetato, propionato, succinato, CO₂ y H₂.

Las bacterias responsables de llevar a cabo este proceso bioquímico pueden ser cualquiera de las especies que se nombran a continuación: *C. butyricum*, *C. cellobioparum*, *C. acetobutylicum*, *C. pasteurianum* y *C. perfringens* (Tabla 7.2.1). Como se muestra también en la Tabla 7.2.1., existen grupos de clostridios que fermentan la celulosa (*C. cellobioparum* y los *C. thermocellum*) formando ácidos y alcoholes. En la actualidad se han descrito más de 150 especies de clostridios, muchas de ellas tienen la capacidad de producir exotoxinas, las cuales son responsables de ocasionar cuadros tóxicos graves, por lo que es necesario tener extrema precaución al trabajar con estos microorganismos.

Tabla 7.2.1. Características de algunas especies de bacterias del género Clostridia [31].

Característica clave	Otras características	Especie
Fermentan carbohidratos	Productos de fermentación	
Fermentan celulosa	Acetato, lactato, succinato, etanol, CO ₂ y H ₂	<i>C. cellobioparum</i> , <i>C. thermocellum</i>
Fermentan azúcares, almidón y pectina	Acetona, butanol, etanol, isopropanol, butirato, acetato, propionato, succinato, CO ₂ y H ₂	<i>C. butyricum</i> , <i>C. cellobioparum</i> , <i>C. acetobutylicum</i> , <i>C. pasteurianum</i> , <i>C. perfringens</i>
Fermenta pentosas o metilpentosas	Células con forma de anillo, productos de la fermentación: acetato, propionato, n-propanol, CO ₂ y H ₂	<i>C. Methylopentosum</i>

Figura 7.2.1. Imágenes de las tinciones del inóculo anaerobio utilizado vistas por microscopio (fuente propia).

VII.2.2. Caracterización del nejayote.

A continuación, se presentan los datos obtenidos para la caracterización del nejayote (Figura 7.2.2.A. y D.). En la Tabla 7.2.2., puede observarse que los niveles de la demanda química de oxígeno (DQO) superan los 30.000 miligramos por litro en todos los casos, lo que indica que se superan los límites máximos permisibles para las descargas a los acuíferos receptores de aguas residuales municipales. Otro factor importante que puede observarse, son los elevados niveles de pH, valores que rebasaron las 11 unidades casi en la totalidad de las caracterizaciones. Además, se identificó un alto contenido de materia orgánica, lo cual es primordial para el adecuado desarrollo del proceso fermentativo en fase oscura; y, al ser el nejayote un sustrato rico en azúcares y almidones se rectifica no sólo de manera teórica, sino también de manera experimental, que el nejayote en términos de biomasa puede fungir como una fuente de energía adecuada para la producción de biohidrógeno por fermentación oscura.

Tabla 7.2.2. Resultados de la caracterización de las 11 muestras de nejayote.

MUESTRA	DQO (mg/L)	Conductividad (μ S/cm)	SST (mg/L)	Color (Pt-Co)	pH	Temperatura (°C)
M ₁	30,850	6.79	696.66	6666.66	12.05	25
M ₂	30,500	6.05	753.33	7366.66	10.89	23.3
M ₃	32,617	7.6	606.66	7146.66	11.87	23.7
M ₄	33,433	6.43	726.66	6500	12.08	24.1
M ₅	31,167	7.21	793.33	7123.66	11.8	25.2
M ₆	33,750	6.98	760.33	6893.66	10.96	29.6
M ₇	35,400	7.32	746.33	7100	11.02	24.1
M ₈	37,300	7.41	682.66	6936.66	12.01	23.7
M ₉	31,869	6.99	701.33	6523.33	10.59	25.2
M ₁₀	32,452	7.46	649.66	703.33	11.76	24.8
M ₁₁	30,698	7.28	713.33	6987.66	11.58	25
Promedio	32,730.54	7.04	711.84	6358.93	11.51	24.88

Así también, los análisis de la cuenta total microbiológica en placa (Figura 7.2.3.C. y E.) y, de la cuenta de coliformes fecales (Figura 7.2.3.B. y C.) para las once muestras de nejayote caracterizadas, fue de 0 UFC/mL de muestra. Esto demuestra la ausencia de microorganismos en el agua residual del proceso de nixtamalización del maíz (Figura 7.2.3.F.); situación que es favorable en cuestiones sanitarias y de control de la contaminación, pero para fines de la producción de biohidrógeno por fermentación oscura, no lo es. Por lo tanto, para el óptimo desarrollo de la fermentación en fase oscura del nejayote, se confirma la necesidad de inocular al sistema fermentativo.

Figura 7.2.3. Análisis de la cuenta microbiológica total en placa y coliformes fecales, para las 11 muestras de Nejayot recolectadas del molino de nixtamal “Bolsena”.

VII.2.3. Evaluación de la cinética del crecimiento bacteriano del nejayote

En la metodología se planteó realizar la evaluación de la cinética de crecimiento bacteriano del nejayote, sin embargo, la información obtenida a partir de los análisis microbiológicos realizados a cada una de las once muestras de este (cuenta total en placa/coliformes totales), indicó que no tenía que ser así (Figura 7.2.3.).

A pesar de que el nejayote es un agua residual, no contiene microorganismos capaces de llevar a cabo la ruta fermentativa en fase oscura para la producción de biohidrógeno; en consecuencia, fue necesario inocular el contenido de cada reactor con un cultivo mixto proveniente de un lodo residual de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales. Dicho sea de paso, el ensayo programado para la cinética del crecimiento bacteriano endémico del nejayote, sí se llevó a cabo; y a manera de comprobar la premisa de la ausencia en la necesidad de realizar la cinética microbiológica endémica del sustrato, los resultados que se obtuvieron en cuanto a la producción de biogás no fueron significativos. Sin embargo, la experiencia de lo comprendido a “prueba y error” durante este primer ensayo, resultó de vital importancia para el estudio de las necesidades particulares del sistema pretendido.

Al conocerse un poco más a fondo los mecanismos biofísicoquímicos que intervinieron y tuvieron lugar dentro de los reactores contenidos en los baños María, se pudo verificar experimentalmente que el pH del nejayote bajaba conforme avanzaba el tiempo de retención hidráulica (Tabla 7.1.1). Esta constatación dio paso a la implementación de un pretratamiento al nejayote en bruto, con el objeto de disminuir el pH inicial del mismo a niveles aptos para la fermentación en fase oscura (5 ± 1), aprovechando las capacidades globales del sistema biorremediativo, evitando la adición e intervención de sustancias externas y ajenas a la legítima intención de replicar un fenómeno de la naturaleza.

VII.3. Fase 3 de la experimentación

VII.3.1. Ensayo de la factibilidad de producir biohidrógeno a partir de la fermentación en fase oscura del nejayote

En las Tablas 7.3.1. y 7.3.2., se presentan las condiciones iniciales y finales de cada reactor a las distintas temperaturas ensayadas, es decir 37 y 57°C respectivamente. Así también, se presentan los valores volumétricos acumulados del biogás generado a las 96:00 horas de iniciada la reacción. Para esta acción se utilizó el medidor G005R&T, cuya pantalla (display de lectura) se ilustra en la Figura 7.3.1.

Figura 7.3.1. Vista del display de lectura de gases en una muestra (software del dispositivo G005 R&T)

Tabla 7.3.1. Volumen de gas obtenido a las 96:00 horas de THR. (37 °C)

Ensayo #(2)			(37°C)					
miniReactor (mezcla N:n)	TR (hr)	DQO	Conductividad	SST	Color	pH	Temp	Volumen de biogás (mL) a las 96 hrs.
		mg/L	mS/L	mg/L	(Pt-Co)		(°C)	
mR1a (100:00)	0:00	35400	6.47	626.66	12633.33	5.26	37	0
mR1a (100:00)	96:00:00	26000	2.81	100	4476.66	4.28	37	39
mR1b (100:00)	0:00	35400	6.47	626.66	12633.33	5.26	37	0
mR1b (100:00)	96:00:00	26700	2.8	100.66	4583.33	4.37	37	39
mR1c (100:00)	0:00	35400	6.47	626.66	12633.33	5.26	37	0
mR1c (100:00)	96:00:00	26300	2.81	102.33	4367.33	4.23	37	37
mR2a (80:20)	0:00	48266	6.23	933	11567.33	5.01	37	0
mR2a (80:20)	96:00:00	37300	2.85	793	9433.33	5.09	37	50
mR2b (80:20)	0:00	48266	6.23	933	11567.33	5.01	37	0
mR2b (80:20)	96:00:00	37400	2.83	789	9567.66	5.08	37	50
mR2c (80:20)	0:00	48266	6.23	933	11567.33	5.01	37	0
mR2c (80:20)	96:00:00	37400	2.83	783	9601.33	5.03	37	50
mR3a (60:40)	0:00	37900	6.59	863	10899	5	37	0
mR3a (60:40)	96:00:00	36310	3.06	643	8866.66	4.63	37	15
mR3b (60:40)	0:00	37900	6.59	863	10899	5	37	0
mR3b (60:40)	96:00:00	36100	2.97	621	8853.66	4.77	37	16
mR3c (60:40)	0:00	37900	6.59	863	10899	5	37	0
mR3c (60:40)	96:00:00	36300	2.99	634	8765.66	4.76	37	13
mR4a (40:60)	0:00	32167	6.77	1066	9789.66	5.01	37	0
mR4a (40:60)	96:00:00	30500	2.45	980	6230	4.85	37	19
mR4b (40:60)	0:00	32167	6.77	1066	9789.66	5.01	37	0
mR4b (40:60)	96:00:00	31100	2.43	930	6289.33	4.81	37	18
mR4c (40:60)	0:00	32167	6.77	1066	9789.66	5.01	37	0

Ensayo #(2)			(37°C)					
miniReactor (mezcla N:n)	TR (hr)	DQO mg/L	Conductividad mS/L	SST mg/L	Color (Pt-Co)	pH	Temp (°C)	Volumen de biogás (mL) a las 96 hrs.
mR4c (40:60)	96:00:00	30800	2.37	970	6291.33	4.83	37	15
mR5a (20:80)	0:00	30200	6.93	696	6789.33	5	37	0
mR5a (20:80)	96:00:00	24930	2.17	363	3240	4.46	37	50
mR5b (20:80)	0:00	30200	6.93	696	6789.33	5	37	0
mR5b (20:80)	96:00:00	24500	2.18	393	3210	4.43	37	50
mR5c (20:80)	0:00	30200	6.93	696	6789.33	5	37	0
mR5c (20:80)	96:00:00	24700	2.13	376	3220	4.45	37	50
mR6a (00:100)	0:00	NA	NA	NA	NA	6.3	37	0
mR6a (00:100)	96:00:00	NA	NA	NA	NA	5.93	37	38
mR6b (00:100)	0:00	NA	NA	NA	NA	6.3	37	0
mR6b (00:100)	96:00:00	NA	NA	NA	NA	5.89	37	36
mR6c (00:100)	0:00	NA	NA	NA	NA	6.3	37	0
mR6c (00:100)	96:00:00	NA	NA	NA	NA	5.8	37	36

Tabla 7.3.2. Volumen de gas obtenido a las 96:00 horas de THR. (57 °C)

Ensayo #(2)			(57°C)					
miniReactor (mezcla N:n)	TR (hr)	DQO mg/L	Conductividad mS/L	SST mg/L	Color (Pt-Co)	pH	Temp (°C)	Volumen de biogás (mL) a las 96 hrs.
mR7a (100:00)	0:00	35400	6.47	626.66	12633.33	5.26	57	0
mR7a (100:00)	96:00:00	13000	2.81	100	4476.66	4.28	57	39
mR7b (100:00)	0:00	35400	6.47	626.66	12633.33	5.26	57	0
mR7b (100:00)	96:00:00	17800	2.8	100.66	4583.33	4.37	57	39
mR7c (100:00)	0:00	35400	6.47	626.66	12633.33	5.26	57	0
mR7c (100:00)	96:00:00	15300	2.81	102.33	4367.33	4.23	57	37
mR8a (80:20)	0:00	48266	6.23	933	11567.33	5.01	57	0
mR8a (80:20)	96:00:00	27300	2.85	793	9433.33	5.09	57	50
mR8b (80:20)	0:00	48266	6.23	933	11567.33	5.01	57	0
mR8b (80:20)	96:00:00	28400	2.83	789	9567.66	5.08	57	50
mR8c (80:20)	0:00	48266	6.23	933	11567.33	5.01	57	0
mR8c (80:20)	96:00:00	23400	2.83	783	9601.33	5.03	57	50
mR9a (60:40)	0:00	37900	6.59	863	10899	5	57	0
mR9a (60:40)	96:00:00	28980	3.06	643	8866.66	4.63	57	15
mR9b (60:40)	0:00	37900	6.59	863	10899	5	57	0
mR9b (60:40)	96:00:00	29320	2.97	621	8853.66	4.77	57	16
mR9c (60:40)	0:00	37900	6.59	863	10899	5	57	0
mR9c (60:40)	96:00:00	28800	2.99	634	8765.66	4.76	57	13
mR10a (40:60)	0:00	32167	6.77	1066	9789.66	5.01	57	0
mR10a (40:60)	96:00:00	29500	2.45	980	6230	4.85	57	19
mR10b (40:60)	0:00	32167	6.77	1066	9789.66	5.01	57	0

Ensayo #(2)			(57°C)					
miniReactor (mezcla N:n)	TR (hr)	DQO mg/L	Conductividad mS/L	SST mg/L	Color (Pt-Co)	pH	Temp (°C)	Volumen de biogás (mL) a las 96 hrs.
mR10b (40:60)	96:00:00	27100	2.43	930	6289.33	4.81	57	18
mR10c (40:60)	0:00	32167	6.77	1066	9789.66	5.01	57	0
mR10c (40:60)	96:00:00	28400	2.37	970	6291.33	4.83	57	15
mR11a (20:80)	0:00	30200	6.93	696	6789.33	5	57	0
mR11a (20:80)	96:00:00	19300	2.17	363	3240	4.46	57	50
mR11b (20:80)	0:00	30200	6.93	696	6789.33	5	57	0
mR11b (20:80)	96:00:00	18500	2.18	393	3210	4.43	57	50
mR11c (20:80)	0:00	30200	6.93	696	6789.33	5	57	0
mR11c (20:80)	96:00:00	19400	2.13	376	3220	4.45	57	50
mR12a (00:100)	0:00	NA	NA	NA	NA	6.3	57	0
mR12a (00:100)	96:00:00	NA	NA	NA	NA	5.93	57	38
mR12b (00:100)	0:00	NA	NA	NA	NA	6.3	57	0
mR12b (00:100)	96:00:00	NA	NA	NA	NA	5.89	57	36
mR12c (00:100)	0:00	NA	NA	NA	NA	6.3	57	0
mR12c (00:100)	96:00:00	NA	NA	NA	NA	5.8	57	36

Como se aprecia en las Tablas 7.3.1. y 7.3.2., en promedio, el nejayote presentó, al día cero de la reacción, un pH de 12.4. Después del pretratamiento térmico a 37° durante 7 días, el pH disminuyó a 5.2 unidades, permitiendo entonces, las condiciones idóneas para diluir la solución nutritiva y el consorcio bacteriano dentro del medio fermentativo; y así, conformar las diferentes mezclas de cada reactor estudiado.

También, las dos tablas indican al día cero de la reacción y a las 96 horas, la variación de la DQO y de los SST. Al inicio, la DQO se ubicaba en 630 g/L de y los SST en 454 mg/L. Las mayores disminuciones de DQO para la temperatura de 37°C, se dieron para las relaciones {(20:80), 36%} y {(80:20), 24%}, y, para SST se dieron para las relaciones {(100:00), 77%} y {(20:80), 53%}. Asimismo, para la temperatura de 57°C, las mayores disminuciones de DQO se dieron también para las relaciones {(20:80), 53%} y {(80:20), 36%}, y, para SST se dieron para las relaciones {(100:00), 74%} y {(20:80), 57%}.

A partir de los datos contenidos en las Tablas 7.3.1. y 7.3.2, se construyó la Figura 7.3.3., en la cual se puede observar el comportamiento de los valores de biogás acumulado a las 96:00 hrs. de iniciada la reacción fermentativa en fase oscura, para cada uno de los reactores utilizados, bajo las condiciones de temperatura establecidas en la metodología, (37 y 57°C).

Figura 7.3.2. Comportamiento de la producción de biogás a las 96:00 hrs.

Si se enfoca la atención en la línea de tendencia color olivo, se distingue una diferencia significativa en la producción acumulada a las 96:00 hrs. de iniciada la reacción. La producción de biogás para la temperatura de reacción de 37°C, osciló entre 15 y 50 ml, y la mayor producción se dió para las relaciones, (80:20) y (20:80). Para la temperatura de reacción de 57°C, la producción de biogás osciló entre 4 y 34 ml, y la mayor producción también se dió para las relaciones, (80:20) y (20:80).

Pasadas las 96:00 horas, las muestras se sellaban, se retiraban del conducto del sistema fermentativo en fase oscura, se polimerizaban sus entradas y se proseguía a tomar y medir la concentración en ppm de los gases (H_2 , CO_2 y CH_4) contenidos en ellas. En la Figura 7.3.3., se aprecia la cantidad de mezcla gaseosa contenida en varias muestras (bolsas de almacenamientos) colectadas a las 96:00 hrs. de iniciada la reacción. Claramente se distingue que las bolsas ubicadas en la parte superior derecha de la imagen, sobresaturaron la capacidad máxima de almacenamiento de las bolsas. Para las dos temperaturas

estudiadas, el volumen de biogás producido se mantuvo cuasi constante a partir de las 48:00 horas. En la Tabla 7.3.3., se muestra la cantidad de biogás generado a las 48:00 y a las 96:00 horas de reacción para cada uno de los reactores estudiados.

Figura 7.3.3. Muestras de gas generado a las 96:00 hrs. para varias relaciones (N:n)

Tabla 7.3.3. Valores volumétricos generales del biogás producido a las 48:00 y 96:00 hrs.

Ensayo # 2		37°C	
Reactor	TRH	Temperatura	Volumen de biogás
(mezcla N:n)	(hr)	(°C)	(mL)
R1a			34
(100:0)	48:00:00	57	
R1a			39
(100:0)	96:00:00	57	
R1b			32
(100:0)	48:00:00	57	
R1b			39
(100:0)	96:00:00	57	
R1c			34
(100:0)	48:00:00	57	
R1c			37
(100:0)	96:00:00	57	
R2a			43
(80:20)	48:00:00	57	
R2a			50
(80:20)	96:00:00	57	
R2b			40
(80:20)	48:00:00	57	
R2b			50
(80:20)	96:00:00	57	
R2c			42
(80:20)	48:00:00	57	
R2c			50
(80:20)	96:00:00	57	
R3a			12
(60:40)	48:00:00	57	
R3a			15
(60:40)	96:00:00	57	
R3b			13
(60:40)	48:00:00	57	
R3b			16
(60:40)	96:00:00	57	
R3c			11
(60:40)	48:00:00	57	
R3c			13
(60:40)	96:00:00	57	
R4a			15
(40:60)	48:00:00	57	
R4a			19
(40:60)	96:00:00	57	
R4b			13
(40:60)	48:00:00	57	

Ensayo # 2		57°C	
Reactor	TRH	Temperatura	Volumen de biogás
(mezcla N:n)	(hr)	(°C)	(mL)
R7a			9
(100:0)	48:00:00	57	
R7a			12
(100:0)	96:00:00	57	
R7b			10
(100:0)	48:00:00	57	
R7b			13
(100:0)	96:00:00	57	
R7c			10
(100:0)	48:00:00	57	
R7c			12.5
(100:0)	96:00:00	57	
R8a			23
(80:20)	48:00:00	57	
R8a			29
(80:20)	96:00:00	57	
R8b			29
(80:20)	48:00:00	57	
R8b			34
(80:20)	96:00:00	57	
R8c			27
(80:20)	48:00:00	57	
R8c			31
(80:20)	96:00:00	57	
R9a			3
(60:40)	48:00:00	57	
R9a			4
(60:40)	96:00:00	57	
R9b			4
(60:40)	48:00:00	57	
R9b			5.5
(60:40)	96:00:00	57	
R9c			4.5
(60:40)	48:00:00	57	
R9c			6
(60:40)	96:00:00	57	
R10a			6
(40:60)	48:00:00	57	
R10a			7
(40:60)	96:00:00	57	
R10b			6
(40:60)	48:00:00	57	

Ensayo # 2		37°C	
Reactor	TRH	Temperatura	Volumen de biogás
(mezcla N:n)	(hr)	(°C)	(mL)
R4b (40:60)	96:00:00	57	18
R4c (40:60)	48:00:00	57	12
R4c (40:60)	96:00:00	57	15
R5a (20:80)	48:00:00	57	37
R5a (20:80)	96:00:00	57	50
R5b (20:80)	48:00:00	57	39
R5b (20:80)	96:00:00	57	50
R5c (20:80)	48:00:00	57	39
R5c (20:80)	96:00:00	57	50
R6a (0:100)	48:00:00	57	34
R6a (0:100)	96:00:00	57	38
R6b (0:100)	48:00:00	57	32
R6b (0:100)	96:00:00	57	36
R6c (0:100)	48:00:00	57	33
R6c (0:100)	96:00:00	57	36

Ensayo # 2		57°C	
Reactor	TRH	Temperatura	Volumen de biogás
(mezcla N:n)	(hr)	(°C)	(mL)
R10b (40:60)	96:00:00	57	6.5
R10c (40:60)	48:00:00	57	6.5
R10c (40:60)	96:00:00	57	8
R11a (20:80)	48:00:00	57	20
R11a (20:80)	96:00:00	57	24
R11b (20:80)	48:00:00	57	18
R11b (20:80)	96:00:00	57	23
R11c (20:80)	48:00:00	57	22
R11c (20:80)	96:00:00	57	26
R12a (0:100)	48:00:00	57	15
R12a (0:100)	96:00:00	57	19
R12b (0:100)	48:00:00	57	19
R12b (0:100)	96:00:00	57	22
R12c (0:100)	48:00:00	57	21
R12c (0:100)	96:00:00	57	23.5

En las Tablas 7.3.4 y 7.3.5., se muestra la producción acumulada de CO₂, CH₄ y H₂, para las diferentes relaciones ensayadas a las 96:00 hrs. de iniciada la reacción de fermentación en fase oscura. En los recuadros resaltados se distingue que la mayor producción de H₂ se obtuvo a temperatura mesófila y para la relacion nejayote:nutrientes (80:20), con una producción de biohidrógeno de 1046 ppm, cifra cuatro veces mayor a la obtenida para la concentración (20:80), por lo que a pesar de ser estas dos relaciones, mezclas con altos rendimientos de biogás en general, en cuestiones de cantidad de

biohidrógeno específicamente, la relación (80:20) es la más eficiente. Esto se debe principalmente a que las bacterias involucradas en este proceso son bacterias mesófilas, por lo que a diferencia de las bacterias degradadoras de celulosa (termófilas), las bacterias mesofílicas se desarrollan mejor a 37°C.

Tabla 7.3.4. Mediciones de CO₂, CH₄ y H₂ generado a 37° C

Ensayo # 2						
Reactor	TRH	Temperatura	Volumen de biogás	CO ₂	CH ₄	H ₂
(mezcla N:n)	(hr)	(°C)	(mL)	(ppm)	(ppm)	(ppm)
R1a(100:0)	96:00:00	37	39	10.34	14.94	0.15
R1b(100:0)	96:00:00	37	39	10.29	14.73	0.17
R1c(100:0)	96:00:00	37	37	10.31	14.79	0.19
R2a(80:20)	96:00:00	37	50	120.21	222.78	1046.64
R2b(80:20)	96:00:00	37	50	116.23	221.36	1012.36
R2c(80:20)	96:00:00	37	50	117.98	229.58	1120.01
R3a(60:40)	96:00:00	37	15	260.02	386.77	726.3
R3b(60:40)	96:00:00	37	16	234.23	371.56	703.42
R3c(60:40)	96:00:00	37	13	245.61	369.23	719.24
R4a (40:60)	96:00:00	37	19	332.08	384.57	457.49
R4b (40:60)	96:00:00	37	18	339.63	379.23	449.82
R4c (40:60)	96:00:00	37	15	348.13	371.96	431.27
R5a (20:80)	96:00:00	37	50	419.06	381.94	236.2
R5b (20:80)	96:00:00	37	50	402.89	353.26	256.41
R5c (20:80)	96:00:00	37	50	409.26	374.29	248.49
R6a (0:100)	96:00:00	37	38	523.09	378.81	9.27
R6b (0:100)	96:00:00	37	36	543.01	346.97	9.01
R6c (0:100)	96:00:00	37	36	514.23	362.12	10.32

Según los datos obtenidos para la relación (00:100), la generación de biohidrógeno usando únicamente solución nutritiva, resultó en valores 25% más bajos que los obtenidos para las concentraciones (N:n) restantes; sin embargo, al comparar los resultados de biogás total obtenido, la concentración (00:100) y (100:00) muestran similitudes, no

obstante, en cuanto a índices de biohidrógeno generado, las muestras 100% nejayote, no presentaron generación de dicho biogás, a pesar de haberse generado casi 40 ml de biogás acumulado a las 96:00 horas; mientras que para los ensayos de glucosa, la fracción de biohidrógeno encontrada osciló las 10 ppm. Aún así, esta cifra es muy baja si se compara en las 1050 ppm obtenidas para la relación (80:20).

Tabla 7.3.5. Mediciones de CO₂, CH₄ y H₂ generado a 57° C

Ensayo # 2						
Reactor	TRH	Temperatura	Volumen de biogás	CO₂	CH₄	H₂
(mezcla N:n)	(hr)	(°C)	(mL)	(ppm)	(ppm)	(ppm)
R7a (100:0)	96:00:00	57	12	7.21	9.58	0.01
R7b (100:0)	96:00:00	58	13	7.18	10.23	0.01
R7c (100:0)	96:00:00	57	12.5	7.69	10.06	0
R8a (80:20)	96:00:00	57	29	350.63	469.84	723.64
R8b (80:20)	96:00:00	57	34	386.12	434.21	765.23
R8c (80:20)	96:00:00	57	31	374.29	451.23	745.36
R9a (60:40)	96:00:00	57	4	310.71	391.32	596.13
R9b (60:40)	96:00:00	57	5.5	308.23	375.69	575.23
R9c (60:40)	96:00:00	57	6	309.12	384.21	602.45
R10a (40:60)	96:00:00	57	7	396.29	401.17	321.79
R10b (40:60)	96:00:00	57	6.5	381.45	395.66	365.26
R10c (40:60)	96:00:00	57	8	392.74	398.13	394.08
R11a (20:80)	96:00:00	57	24	491.78	437.41	189.46
R11b (20:80)	96:00:00	57	23	485.21	456.12	179.23
R11c (20:80)	96:00:00	57	26	497.36	432.16	196.12
R12a (0:100)	96:00:00	57	19	496.16	416.81	7.36
R12b (0:100)	96:00:00	57	22	503.29	436.58	5.59
R12c (0:100)	96:00:00	57	23.5	521.13	404.96	6.48

El balance entre la relación nutrientes/sustrato inoculado y la temperatura de 37°C en los reactores de la serie R2, resultó en la mayor producción tanto de biogás acumulado a las 96:00 hrs, como también de biohidrógeno. Dicho equilibrio entre variables acrecienta la viabilidad de usar al nejayote como sustrato en procesos fermentativos en fase oscura para

la generación de hidrógeno biológico ya que, con la mínima aportación nutritiva ensayada, se alcanzaron los niveles más altos en la producción del gas deseado.

En las Figuras 7.3.4. y 7.3.5., se muestra el comportamiento de la producción de H₂, CO₂ y CH₄, para las relaciones estudiadas a 37°C y 57°C respectivamente.

Figura 7.3.4. Comportamiento en las concentraciones en ppm para cada biogás producido a 37°C.

Figura 7.3.5. Comportamiento en las concentraciones en ppm para cada biogás producido a 57°C.

En las Figuras 7.3.4. y 7.3.5., se observa que las producciones de dióxido de carbono y de metano se mantuvieron por debajo de las 600 ppm para las dos temperaturas ensayadas durante las 96:00 hrs. de la reacción fermentativa en fase oscura. Asimismo, se aprecia que la producción de CH₄ y CO₂ a las 96:00 hrs., presentó un comportamiento ascendente muy lento pero constante; situación que implica que el proceso metabólico de la metanogénesis estaba tomando curso. Conforme aumenta el tiempo de retención hidráulico, los compuestos asimilables por las bacterias generadoras de hidrógeno se reducen junto con ellas. En consecuencia, la población de bacterias metanogénicas aumenta, resultando en el progresivo aumento en la cantidad de CH₄ generado.

A partir del análisis de las variaciones en los valores de DQO para los rectores de la serie R2, se vislumbra que el proceso biorremediativo por fermentación en fase oscura del nejayote, es una alternativa factible, ya que la carga orgánica de la relación idónea para la producción de hidrógeno biológico (80:20), también presentaba una disminución significativa (24%). En la Figura 7.3.6., se pueden observar las muestras de nejayote a las 96:00 hrs. de reacción para la temperatura de 37°C.

Figura 7.3.6. Muestras de nejayote a las 96:00 hrs. de reacción para la temperatura de 37°C.

Respecto a las variaciones en los valores de SST a las 96:00 hrs. de iniciada la reacción fermentativa en fase oscura, se percibió una disminución del 77% en la cantidad de SST para los reactores de la serie R1 (100:00), lo que indica una disminución significativa en la población microbiana del medio, mientras que para la relación idónea para la producción de hidrógeno biológico (80:20), la cantidad de SST a las 96:00 hrs. sólo se redujo en proporciones cercanas al 22%, lo que denotó que la población microbiana persistente a las 96:00 hrs. seguía en la fase de crecimiento estacionario.

VII.3.2. Determinación de la velocidad volumétrica de la producción de H_2

Como se ha mencionado en capítulos anteriores, la producción de biohidrógeno no ha sido documentada de manera estandarizada, por lo que es difícil seguir una línea segura y concisa tanto para el desarrollo de una metodología homogénea, como para la

comparación de las eficiencias resultantes de cada desarrollo metodológico. Cada investigador combina las variables de operación de sus arreglos experimentales, según los requerimientos de los factores dependientes de cada uno de los elementos que completan su determinado sistema; así también, los resultados están sujetos a la cantidad y la calidad de los recursos que cada investigador posea. Una manera de traducir la información resultante de los procesos experimentales para la producción de bioH_2 es el cálculo termodinámico de la velocidad volumétrica de producción de biohidrógeno. Sustituyendo en la expresión matemática (Ecuación 6.4) los valores de DQO obtenidos de la caracterización inicial de las mezclas ensayadas (Tablas 7.3.1. y 7.3.2.), se obtienen los datos del rendimiento basado en el VVPH; los cuales se muestran en la Tabla 7.3.6. A partir de estos cálculos, se obtienen la cantidad de interacciones entre las partículas contenidas en los distintos sistemas y el rendimiento de la VVPH para cada relación (N:n). En la Figura 7.3.7. puede apreciarse el comportamiento de los rendimientos obtenidos para las dos temperaturas estudiadas (37 y 57 °C).

Tabla 7.3.6. Rendimiento de la producción de biohidrógeno a 37 y 57° C

Temp.	Vol. producido[mL]	DQO	Factor de frecuencia	C1	C2	Temperatura [K]	W	Rendimiento
37 °C	9	26000	8775000	100	0	310.15	17216223.32	17.65766494
	22	37300	30772500	80	20	310.15	60837259.86	43.49401956
	2	36310	2723250	60	40	310.15	5425460.426	3.984548187
	4	30500	4575000	40	60	310.15	9185621.227	8.031144243
	21	24930	19632375	20	80	310.15	39726906.36	42.49435096
57°C	3	13000	1462500	100	0	330.15	2872679.468	5.892675831
	7	27300	7166250	80	20	330.15	14177558.27	13.84865276
	0.5	28980	543375	60	40	330.15	1082805.323	0.996370207
	1	29500	1106250	40	60	330.15	2220589.644	2.007312672
	5	18500	3468750	20	80	330.15	7014155.329	10.11049417

Figura 7.3.7. Comparativa del rendimiento para la producción de biohidrógeno a 37 y 57 °C

Los resultados muestran que la máxima generación fue para la temperatura de 37°C y la fracción (80:20), con 50 mL de biogás producidos a las 96:00 hrs. con una concentración de 1056 ppm de biohidrógeno. Se sabe que las bacterias encargadas de biotransformar azúcares y almidones, son bacterias mesófilas, por lo que su óptimo desempeño se da a temperaturas más cercanas de los 37°C que de los 57°C.

Resulta un factor de velocidad volumétrica de producción de biohidrógeno (VVPH) de 43.49; cifra que supera los valores de VVPH obtenidos en la mayoría de los experimentos realizados al respecto, únicamente superado por ensayos donde se utilizaron inóculos inmovilizados (Wu et al., 2006), y, *escherichia coli* y ácido fórmico como sustrato (Yoshida et al., 2005). Es importante mencionar que la diferencia entre el volumen de gas generado durante el lapso temporal comprendido entre las 48:00 y las 96:00 horas de iniciada la reacción, es mínima (cercana al 30%), lo que indica la posibilidad de encontrar mejores rendimientos en la producción volumétrica de biogás, si se evaluarán las variaciones de la VVPH, obtenidas a partir de ensayar TRH más cortos o muy cercanos a las 48:00 hrs. de iniciada la reacción.

En la Figura 7.3.8., se ilustra lo mencionado en el párrafo anterior para la relación nejayote/nutrientes (80:20); en esta imagen se puede observar que la aceleración en la producción de biogás disminuye a partir de las 48:00 hrs. de iniciada la reacción, lo que indica que el tiempo de estudio para encontrar la máxima producción de biogás debe reducirse a las primeras 48:00 horas de retención hidráulica. El objetivo del análisis de datos de este proceso metodológico, aparte de comprobar la factibilidad de producir biohidrógeno a partir de la fermentación en fase oscura del nejayote, es facilitar el entendimiento profundo del proceso metabólico para la generación de biohidrógeno. Fue menester principal de esta investigación, lograr orientar el proceso bioquímico fermentativo en fase oscura para la generación de bioH_2 a través de la idónea combinación de las variables limitantes que conformaron el sistema (temperatura y concentración de sustrato/nutrientes). Dicho sea de paso, conocer los efectos positivos y negativos que resultan de la variación de los factores limitantes, es fundamental para orientar el proceso fermentativo a lograr la máxima eficiencia en la generación de biohidrógeno.

Figura 7.3.8. Volumen de biogás producido a las 48:00 y 96:00 horas, para la relación (80:20) a 37 °C.

Capítulo VIII. Conclusiones y recomendaciones

Se comprobó experimentalmente que la fermentación en fase oscura, como todo proceso biológico, es un método para aguas residuales con alto contenido de materia orgánica. Sin embargo, al aplicar este método (para tratar el nejayote), se puede generar simultáneamente energía en forma de biogás (biohidrógeno).

En este trabajo, el máximo rendimiento de bioH_2 se obtuvo para la relación nejayote:nutrientes (80:20), a la temperatura de 37°C , con una producción de 50 mL de biogás a las 96:00 hrs. y una concentración de 1056 ppm de biohidrógeno, pero aún es necesario ensayar nuevas relaciones cercanas a la relación 80:20, para verificar la efectividad del método o encontrar posibles mejoras en los rendimientos de producción volumétrica, además de armonizar las condiciones operacionales seleccionadas a modo de contribuir en la exploración del sistema probado para lograr encontrar el balance idóneo.

Cabe señalar que el uso del dispositivo G005 R&T facilitó la obtención de los resultados necesarios para nutrir y guiar las estrategias diseñadas para la producción de biohidrógeno. Este dispositivo preciso, confiable y económico, también es inmediato y portátil (el tiempo necesario para leer muestras no pasa los 5 segundos necesarios para el calentamiento de las resistencias contenidas en los sensores electrónicos MQ-X); por lo que su utilización en proyectos de investigación, podría convertirse en una herramienta muy útil. El uso de dispositivos como éste no sólo agiliza la toma de decisiones durante el desarrollo de una investigación, sino que también aumenta la posibilidad de obtener resultados de carácter conclusivo.

Si se conecta permanentemente un dispositivo G005R&T en cada reactor, se podría coleccionar los datos de la cantidad de biohidrógeno producida en tiempo real, y obtener así una curva mucho más completa e ilustrativa; pretendiendo encontrar de una manera más rápida y sencilla, para cada relación estudiada, el momento exacto en el que la producción de biohidrógeno está en su nivel máximo. En consecuencia, se podría trabajar en la aplicación de acciones que sin duda repercutirían en el diseño y la construcción de sistemas fermentativos más eficientes, continuos e incluso integrandos. Optimizando resultados a

partir de la selección del mejor tiempo de retención hidráulico y del adecuado volumen de los sistemas de almacenamiento.

Otra modificación que podría trabajarse para mejorar los rendimientos en la VVPH de esta metodología, es la utilización de un reactor más sofisticado, ergonómicamente conformado por piezas modulares que faciliten la variación y el análisis de los factores limitantes estudiados, además de ser modular, se le pueda agregar técnicas procedimentales más sofisticadas, como la adición en polvo de las trazas del maíz desecado contenido en el nejayote en bruto, con el fin de aumentar la carga orgánica endémica del sustrato. Otra técnica que se puede estudiar con el uso de reactores modulares es la inclusión de bombas peristálticas que dosifiquen las necesidades nutricionales y ambientales de las bacterias productoras de biohidrógeno. Convertir al reactor en una especie de cámara de interperismo adecuada a las necesidades particulares de las especies sintetizadoras del producto deseado.

La ejecución de este trabajo de investigación refuerza la importancia que significa la integración del conocimiento multidisciplinario. No sólo las ciencias exactas aportan lo necesario para mejorar la eficiencia de los procesos tecnológicos; disciplinas como las artes y las ciencias para el diseño, pueden ser muy útiles para el aporte de nuevos hallazgos y la optimización de los mecanismos de acción resultando en información de carácter conclusiva. Para prueba de esto se anexa en la parte final de este trabajo, una infografía de un proyecto multidisciplinario (CBI-CyAD) que se realizó en paralelo durante la realización de esta tesis. Se trata de la fabricación de un biorreactor discontinuo para la producción de biogás usando residuos orgánicos domésticos (residuos de piña principalmente).

El ambiente, al igual que la salud y la calidad de vida de los individuos que conforman los sistemas naturales, siguen deteriorándose progresiva y aceleradamente. Es menester esencial de “todos”, trabajar en encontrar soluciones menos invasivas del equilibrio ecológico para resolver los retos de las problemáticas ambientales actuales; así también es nuestra responsabilidad prevenir, minimizar y controlar las posibles dificultades ambientales del futuro, garantizando así la permanencia de los recursos naturales renovables vitales para las generaciones siguientes.

Capítulo IX. Referencias bibliográficas

- [1] Alfie, M.; Méndez, L. (2000). “Maquila y movimientos ambientalistas. Examen de un riesgo compartido”. UAMA. Editorial Eón, México. ISBN: 968-7546-12-3.
- [2] Álvarez, P.; Guevara, E. (2003). “Biorremediación y atenuación natural de acuíferos contaminados por sustancias químicas peligrosas”. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo, Venezuela, 2003. ISBN: 980-233-360-3.
- [3] Argun, H., Kargi, F. (2011). “Bio-hydrogen production by different operational modes of dark and photo-fermentation: An overview”. International Journal of Hydrogen Energy. Vol. 36, Issue 13, pp. 7443-7459.
- [4] Atiqueuzzamankhan M.; Hao, H.; Guo, W.; Liu, Y.; Zhang, X.; Guo, J.; Woong, S.; Duc, D.; Wang, J. (2017). “Biohydrogen production from anaerobic digestion and its potential as renewable energy”. Renewable energy. Elsevier. Sydney. 129, pp. 754-768; <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2017.04.029>.
- [5] Blanco, F. (1880). “Flora de Filipinas”. Gran edición, Atlas II.
- [6] Blanco, S.; Rodríguez, T. (2012). “Producción de biohidrógeno a partir de residuos mediante fermentación oscura: revisión crítica.”. Ingeniare, Rvista Chilena de Ingeniería, vol.20, número 3,. Pp. 398-411.
- [7] Buitrón, G.; Muñoz-Páez K.; Hernández-Mendoza, Ch. (2019). “Biohydrogen production using a granular sludge membrane bioreactor.”; Fuel, Elsevier, Querétaro, México, Vol. 241, pp. 954-961.
- [8] Bustamante, V.; Carrillo A.; Prieto J.; Corral-Rivas, J.; Hernández, J. (2016). “Química de la biomasa vegetal y su efecto en el rendimiento durante la torrefacción: revisión”; Revista Mexicana de Ciencias Forestales; vol.7, No.38, México, 2016. ISSN 2007-1132.
- [9] Cano, D.; León, E. (2019). “Incidencia de parámetros operativos en la producción de biohidrógeno generado a partir de residuos sólidos urbanos”, Universidad Nacional de Colombia, Colombia, 2019. ISSN 0304-2847.

- [10] Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático.
- [11] Cheong D.; Hansen, C. (2006). "Bacterial stress enrichment enhances anaerobic hydrogen production in cattle manure sludge". *Biotechnology*. 72:635-643.
- [12] Chuck, C. (2015). "Efecto de la nixtamalización en características nutritivas de diferentes materias primas cereales y soya". Centro de desarrollo de proteínas (CIDPRO), Monterrey, Sexto Congreso Internacional de Nixtamalización, Sonora.
- [13] Djalma, A.; Zaiat, M.; Etchebehere C. (2015). "High organic loading ratio on thermophilic hydrogen production and methanogenic study at an anaerobic packed-bed reactor treating a residual liquid stream of a Brazilian biorefinery". *Bioresour Technol*, Elsevier, pp 81-88.
- [14] Díaz, O.; Páez, R., Santillán, M. (2010). "Thermodynamic performance vs. dynamic stability in an enzymatic reaction model". *Phys. A*, páginas 389, 3476–3483.
- [15] Dirección de investigación y evaluación económica y sectorial. (2016) "Panorama agroalimentario, fideicomisos contruidos en relación con la agricultura". Gobierno del Distrito Federal.
- [16] Comisión Nacional del Agua, (CONAGUA), (2018), "Estadísticas del agua en México 2018". Subdirección General de Planeación. México.
http://sina.conagua.gob.mx/publicaciones/EAM_2018.pdf
- [17] Gale, E. (1952). "The Chemical Activities of Bacteria"; London Academic Press, UK.
- [18] Giddens, A. (1999), "La tercera vía. La renovación de la socialdemocracia, Madrid, Taurus, , pp. 60 Y 64.
- [19] González, D.; Hernández, D.; Chaparro, R. (2016). "Hydrogen production from microalgae", *Energética* 47 junio, Universidad Nacional de Colombia pp 51-64.
- [20] Hallenbeck, P.; Ghosh, D. (2009) "Advances in fermentative biohydrogen production: the way forward?". *Trends in Biotechnology*. Vol.27, Issue 5, pp. 287-297.

- [21] Hernández, E. (2015). “Propiedades químicas, físico químicas, estructurales y de textura de harinas, masas y tortillas de maíz nixtamalizado adicionadas con inulina”. Cinvestav Querétaro, Sexto Congreso Internacional de Nixtamalización, Sonora.
- [22] Hernández, O. (2008). “Petróleo y riqueza: una reflexión para el debate de la reforma energética”, Tabasco (México). ISBN: 978-607-00-0322-6.
- [23] Hordeski, M. (2007). “Alternative Fuels, the future of hydrogen”, The fairmont press, INC; Lilburn, Alemania. ISBN 0-88173-519-1.
- [24] https://www3.epa.gov/acidrain/education/site_students_spanish/caaa1990.html
- [25] https://www.opec.org/opec_web/en/data_graphs/330.htm
- [26] Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático; “México ante el Cambio Climático”;
- <https://www.gob.mx/inecc/acciones-y-programas/mexico-ante-el-cambio-climatico>.
- [27] K.Y. Show, Chang J. (2011). “Bioreactor and process design for biohydrogen production”. Bioresource Technology. Vol.102, issue 18, pp.8524-8533.2011.
- [28] Larson, E. (2006), “A review of lifecycle analysis studies on liquid biofuel systems for the transport sector”. Energy for Sustainable Development. 10, 2, pp. 109-126.
- [29] León, E.; Zapata, A. (2019). “Biohydrogen production by co-digestion of fruits and vegetable waste and coffee mucilage”, Universidad Nacional de Colombia, Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín, vol.72, n.3, pp.9007-9018. ISSN 0304-2847.
- [30] Logan; B. (2004) “Extracting hydrogen and electricity from renewable resources”. Environ. Sci. Technol. 38:160A-167^a.
- [31] Mandenius, C. (2016). “Bioreactors : Design, Operation and Novel Applications”. John Wiley & Sons, Incorporated, 2016. ProQuest Ebook Central, <https://bidi.uam.mx:9155/lib/uam-ebooks/detail.action?docID=4455005>.
- [32] Mc Carty, P.; Smith, D. (1986) “Anaerobic wastewater treatment”; Environmental Science Technologies; U.S.A., 20, pp. 1201-1206.

- [33] Monod, J. (1949) "The Growth of Bacterial Cultures"; Annual Review of Microbiology". U.S.A., 3, pp. 371-394.
- [34] Naciones Unidas (ONU), (2019). "La Agenda para el Desarrollo Sostenible"; <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/development-agenda/>
- [35] Nalakath, H.; Yazgin, O.; Keskin, T.; Günay, B. (2019). "Biohydrogen production from autoclaved fruit and vegetable wastes by dry fermentation under thermophilic condition." International Journal of Hydrogen Energy (44), Elsevier, Turquía. pp. 18776-18784. 62.
- [36] Nath, K.; Das, D. (2004) Improvement of fermentative hydrogen production: various approaches. Appl. Microbiol. Biotechnol. 65:520-529.
- [37] Noyola, A. (1999). "Desarrollo de tecnologías mexicanas en tratamiento de aguas residuales". Interciencia. 24:169-172.
- [38] Otterbach, D. (2014). "Energía y calentamiento global. ¿Cómo asegurar la supervivencia de la humanidad?". Grupo Editorial Patria, México. ISBN ebook: 978-607-438-786-5.
- [39] Pérez, J. (2015). "Consumos de energía térmica y eléctrica en molinos de nixtamal en la elaboración de harina y masa". UAM, Sexto Congreso Internacional de Nixtamalización, Sonora.
- [40] Rajesh, B.; Kavitha, S.; Yukesh, R.; Bhosale, R.; Kumar, G. (2019). "Industrial wastewater to biohydrogen: Possibilities towards successful biorefinery route". Bioresource technology, Elsevier Ltd. India. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122378>
- [41] Ramos, T. (2015). "Procesos alternativos en la nixtamalización para la producción de masa y tortillas". Universidad Autónoma de Chihuahua. Sexto Congreso Internacional de Nixtamalización, Sonora.

- [42] Reith, J.; Wijffels, R.; Barten, H. (2003). "Bio-methane & Bio-hydrogen: Status and perspectives of biological methane and hydrogen production". Dutch Biological Hydrogen Foundation, La Haya, Holand.
- [43] Ríos, A., Turpin, S.; Tavera, F.; Granados, J. (2019). "Producción de biohidrógeno por digestión anaerobia del nejayote". CIE 2019, Morelia.
- [44] Rögner, M., (2015) "Biohydrogen". De Gruyter, Ruhr-Universität Bochum, Germany. ISBN 978-3-11-033645-0.
- [45] Romero, A.; Vázquez, A.; Lugo, A. (2010) "Bacterias, fuente de energía para el futuro"; Tecnura; Bogotá, 16, No. 32, pp.118-143,
- [46] Romero, J. (2003). "Tratamiento de aguas residuales, teoría y principios de diseño"; Escuela Colombiana de Ingeniería, .010, Colombia. ISBN 958-8060-13-3.
- [47] Rostro, M. (2015). "Estudio del efecto de métodos de Extrusión y digestión enzimática sobre el pericarpio de maíz nixtamalizado", tecnológico de Monterrey, Sexto Congreso Internacional de Nixtamalización, Sonora.
- [48] Salinas, E.; Gasca, V. (2009). "Los Biocombustibles"; El Cotidiano, núm. 157, septiembre-octubre, , pp. 75-82.
- [49] Sapiña F. (2006). "El reto energético". Publicacions de la Universitat de València, España.
- [50] Schiesser, W. (2014). "Differential Equation Analysis in Biomedical Science and Engineering: Ordinary Differential Equation Applications", John Wiley & Sons, Incorporated. ProQuest Ebook Central; <https://bidi.uam.mx:9155/lib/uam-ooks/detail>.
- [51] Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México (SEDEMA), Dirección Ejecutiva de Ambiental (DECA), educacionambiental@sedema.cdmx.gob.mx.
- [52] Sexto Congreso Internacional de Nixtamalización, (2015). Sonora, México; docID=1637703
- [53] SIAP servicio de información agroalimentaria y pesquera, números del campo.

- [54] Sinha, D.; Pandey, A. (2011). "An evaluative report and challenges for fermentative biohydrogen production". *International Journal of Hydrogen Energy*. Vol.36, Issue 13.
- [55] Srivastava, N.; Srivastava, M.; Malhotra, B.; Gupta, V.; Ramteke, P.; Silva, R.; Shukla, P.; Kumar, K.; Mishra, P. (2019). "Nanoengineered cellulosic biohydrogen production via dark fermentation: A novel approach."; *Biotechnology advances*, 37, Elsevier, India pp.7460-7478.
- [56] Tapia, J. (2015). "Comparación de las propiedades físico químicas y textura el es de tortillas comerciales elaboradas de masas de nixtamal y harinas de maíz", Universidad de Sonora, Sexto Congreso Internacional de Nixtamalización, Sonora, México.
- [57] Téllez, V. (2015). "Uso agrícola de agua generada a partir del tratamiento de aguas residuales de la industria de la nixtamalización". Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Sexto Congreso Internacional de Nixtamalización, Sonora, México.
- [58] Toledo, V. (2000). "Ecología, identidad y modernidad". *La jornada*, página 7.
- [59] Valencia M.; Cardona, C. (2013). "Life Cycle Analysis of the hydrogen production as the future fuel". *Revista Cubana de química*.
- [60] Valderrama, M. (2015). "Manejo sustentable del reúso del Nejayote facultad de estudios superiores de ingeniería y tecnología", UNAM, Sexto Congreso Internacional de Nixtamalización, Sonora, México.
- [61] Vera, P.; Moreno, I.; García, C. (2017) "Influence of the inoculum source on the biohydrogen production". *Ciencia UAT, Biotecnología y Ciencias Agropecuarias*, México, ISSN 7521, 10(2):63-71.
- [62] Valencia, M.; Cardona, C. (2010). "Life Cycle Analysis of the Hydrogen Production as the Future Fuel". *Revista Cubana de Química*, Universidad Nacional de Colombia, Colombia. XXV, 2, p. 165-179.
-

Anexos

A. Infografía de un proyecto multidisciplinario (CBI-CyAD) para el trimestre 19-O.

Este proyecto se realizó en paralelo durante la realización de esta tesis. Se trata de la fabricación de un biorreactor discontinuo para la producción de biogás usando residuos orgánicos domésticos (residuos de pinya principalmente).

B. VII TIBERO, 2016

Producción de hidrógeno por digestión anaerobia del nejayote.

A. Ríos Maravilla¹, S. Turpin Marion¹, J. Granados Samaniego², F. Tavera Romero.²

¹Departamento de Energía, ²Departamento de Ciencias Básicas. División de CBI. Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco. Av. San Pablo 180, Col. Reynosa Tamaulipas, C.P. 02200, Del. Azcapotzalco, Ciudad de México, México. Department of Physics, National University, México D. F.

angelicariosmar@gmail.com, stm@correo.azc.uam.mx, jalgras@yahoo.com, fer8707@gmail.com

Abstract

The imminent energetic crises that our society is suffering now a days, has awaken the need of research, optimize or implement new technologies to produce environmentally sustainable energies. The hydrogen is a free emission fuel of carbon dioxide witch its energetic performance is 2.7 times bigger than the most of the fossil fuels performances. Meanwhile, nejayote is a waste water product of the process of nixtamalization of corn, this compound is highly pollutant because its pH level exceeds the 13 units, so undoubtedly participates in the actual, uncontrollable and fastly growing pollution of the waste water body receptors. Because of that, the objective of this work is to propose an environmentally sustainable technology to compensate such problematic taking advantage of the dark anaerobic digestion process of nejayote in order to produce hydrogen from a potentially pollutant waste. During the development of this research, it was found interesting behaviors on the efficiency of the biogas extraction process in the two first phases of the metabolic process of methanogenesis pathway, besides this it was added a bacterial consortium previously adapted to pH particular conditions, temperature and nutritional material to guarantee the biogas production. It was realized trials of two simultaneous testing, one in mesophilic conditions and other in thermophilic operating conditions, all of this was carried out in two bain marie previously characterized to guarantee that the process was always isothermic. There were placed bio-reactors in anaerobic conditions, connected to an equipment of volume displacement previously modified with the inclusion of a data acquisition system based on LabVIEW for the quantification of hydrogen and carbon dioxide, to realize the correlation of the variables of every concentration mixtures of every reactor in function of time. In conclusion, using nejayote as a prime material for the hydrogen generation by dark anaerobic digestion turns in a feasible environmental technology.

Key words: Clean energies, anaerobic digestion, hydrogen production.

PACS: 01.50.Lc, 88.05.Np, 88.20.F-, 88.20.fn, 88.20.gh, 88.20.H-.

Resumen

La crisis ambiental que experimenta nuestra sociedad, ha despertado la necesidad de investigar, optimizar o implementar nuevas tecnologías para producir energías ambientalmente sustentables. El hidrógeno es un combustible libre de emisión de dióxido de carbono, cuyo rendimiento energético es 2.7 veces mayor al de la mayoría de los combustibles fósiles. Mientras que el nejayote es un agua residual producto del proceso de la nixtamalización del maíz, este compuesto es altamente contaminante debido a su nivel de pH, el cual excede las 13 unidades, por lo que indudablemente participa en el actual, incontrolable y creciente contaminación de los cuerpos de agua receptores de aguas residuales. Por tal motivo el objetivo de este trabajo es proponer una tecnología ambientalmente sustentable para resarcir dichas problemáticas mediante el aprovechamiento del proceso de digestión anaerobia en fase oscura del nejayote con el fin de producir hidrógeno. Durante el desarrollo de esta investigación se encontraron comportamientos interesantes de la eficiencia en el proceso de obtención del biogás durante las dos primeras fases del proceso metabólico de la ruta bioquímica de metanogénesis, se adicionó también a cada bio-reactor un consorcio bacteriano previamente adaptado a condiciones particulares de pH, temperatura y material nutricional para garantizar la producción del biogás. Se realizaron ensayos de dos pruebas simultáneas cada uno, una a condiciones mesofílicas y otra a condiciones termofílicas, todo esto se llevó a cabo en dos baños María caracterizados previamente para garantizar que el proceso fuese siempre isotérmico. Se colocaron bio-reactores a condiciones anaerobias de operación, se midió la concentración de gases usando un equipo de cuantificación de volumen de gas desplazado, modificado previamente con la inclusión de un sistema de adquisición de datos basado en LabVIEW para la cuantificación de hidrógeno y dióxido de carbono, con el fin de realizar una correlación de la concentración de las variables de cada mezcla en cada reactor en función del tiempo. En conclusión, el uso del nejayote como materia prima para la generación de hidrógeno por digestión anaerobia en fase oscura, resulta en una tecnología factible ambientalmente hablando.

Palabras clave: Energías limpias, digestión anaerobia, producción de hidrógeno.

I. INTRODUCCIÓN

Debido al incremento de la brecha entre los requerimientos energéticos del mundo industrializado y la deficiencia para poder cubrir dichas necesidades, así como el constante incremento del nivel de contaminación causado por los gases de efecto invernadero, las descontroladas descargas de aguas residuales a los cuerpos receptores, entre otros problemas ambientales; se agrandan considerablemente los factores de riesgo en cuanto a calentamiento global y crisis energética se refiere. En la actualidad, la sociedad industrial depende por completo de los combustibles fósiles, estos se han depositado en la tierra durante un periodo de alrededor de 600 millones de años, y el hombre contemporáneo se ha encargado de explotarlos hasta hacerlos escasear.

Recientemente se piensa que el hidrógeno puede ser una alternativa para resarcir los problemas ambientales y energéticos que nos aquejan a principios del siglo XXI. Lamentablemente el hidrógeno no es un combustible primario, este generalmente se obtiene a partir de la transformación del agua con recursos energéticos ya sean fósiles o no. Según M. Balat [1], anualmente el consumo de Hidrógeno en el mundo es de 50 millones de toneladas al año. El hidrógeno es un combustible limpio, libre de emisiones de dióxido de carbono y fácil de ser usado en las celdas de combustible para la generación de electricidad; además de que tiene un rendimiento energético 2.75 veces más alto que el rendimiento energético de los combustibles fabricados a base de hidrocarburos. [2]

En la actualidad el 95% de los métodos utilizados para producir hidrógeno comercialmente no son amigables con el ambiente; esto se debe a que el hidrógeno se produce mayormente haciendo uso de combustibles fósiles como materia prima, lo que provoca la emisión de dióxido de carbono y en consecuencia el aumento en la concentración de gases de efecto invernadero. [3]

Recientemente se han estado desarrollando varios procedimientos con el fin de convertir contaminantes orgánicos a Hidrógeno por medio del aprovechamiento del proceso de hidrólisis durante la fermentación anaerobia en fase oscura, en lugar de completar el proceso de metanogénesis. Según A. Fakhru'l-Razi, el uso de bacterias endémicas provenientes de lodos activados y otros tipos de residuos, resultan favorables para la producción de hidrógeno por vías fermentativas. [4]

El hidrógeno puede ser producido por bacterias anaerobias que crecen en la oscuridad y en sustratos ricos en carbohidratos. Las reacciones de fermentación pueden llevarse a cabo a condiciones mesofílicas, que van de los 25 a los 40 °C, a condiciones termofílicas que van de los 40 a los 65° C, y a condiciones termofílicas extremas que van de los 65 a los 80 °C.[5]

Las bacterias más conocidas y estudiadas para producir hidrógeno por fermentación anaerobia son: *Enterobacter*, *Bacillus* y *Clostridium*. En un sentido práctico, controlar los diversos tipos de microorganismos fermentativos puede aumentar la cantidad de hidrógeno producido durante el inicio del proceso de fermentación.

Por otro lado, el agua potable es fundamental para la vida; Las civilizaciones siempre han florecido cerca de abastecimientos de este vital líquido. Sin embargo, con el paso del tiempo, los mantos acuíferos naturales se han descuidado y sobre explotado, lo que ha conducido a otro problema de contaminación grave. [6]

Tomando un caso en particular, se parte de la premisa de que la base de la alimentación en nuestro país es el consumo de tortillas, alimento que proviene del maíz, pero para poder obtener la masa es necesario tratar el maíz mediante un proceso denominado nixtamalización, proceso del cual se genera un agua residual muy contaminante debido a sus características fisicoquímicas.

“Por tal motivo, el objetivo de realizar esta investigación se justifica con la premisa de encontrar soluciones ambientalmente factibles para controlar, gestionar, reducir y resarcir en lo mayor de lo posible los daños que las actividades humanas le causan al planeta.”

Se realizó un experimento de manera simultánea, con el fin de conocer información significativa cuantitativamente hablando, analizando minuciosamente los resultados obtenidos a partir de las mediciones de la composición de los gases generados dentro de los reactores anaerobios contenidos por determinadas concentraciones de inóculo, nutrientes y nejayote.

Después de cierto tiempo de retención, se concluyó que es posible generar hidrógeno durante los primeros días del proceso fermentativo, y conforme avanza el tiempo, teóricamente, la cantidad de hidrógeno producida disminuye debido a que la concentración de dióxido de carbono aumenta y el hidrógeno se convierte en materia prima para continuar el proceso natural de la ruta metabólica de metanogénesis.

II. Desarrollo

La producción de hidrógeno a partir de residuos orgánicos líquidos ó sólidos es un proceso mediante el cual el hidrógeno se genera a partir de una fermentación acidogénica seguida de una fase de digestión [7]; la fermentación del hidrógeno utiliza la biomasa para producir combustible, esta tecnología cumple con el objetivo de desarrollar estrategias sustentables, ya que el proceso de producción de hidrógeno a partir de residuos representa una tecnología integrada, esto quiere decir que se producen hidrógeno mientras se trata un residuo. [8]

Haciendo un análisis más profundo de las problemáticas ambientales que se enrojan en los párrafos anteriores, se pensó en proponer alguna forma de conocer que si de algo que lamentablemente no se gestiona correctamente y que por ende no se controla y contamina nuestro ambiente, se podría obtener un beneficio en algún sentido.

“Por lo que entonces, se decidió estudiar la factibilidad de producir energía a partir de un residuo”. Se eligió evaluar la posibilidad de producir un combustible (que en este caso es el hidrógeno), a partir de un residuo muy contaminante y además abundante, (el nejayote).

Para llevar a cabo el proceso experimental, se requirió contar con dos baños María, uno para contener los bio-reactores a temperatura mesofílica (37°) y otro para albergar los reactores que serían sometidos a condiciones termofílicas (57°); también se requirió construir 36 reactores anaerobios de 250 mL (llenados al 80% de su capacidad).

Figura 1. Caracterización de los baños María

Producción de hidrógeno por digestión anaerobia del nejayote

Se construyó un equipo de cuantificación modificado previamente con la inclusión de un sistema de adquisición de datos basado en LabVIEW para la cuantificación de hidrógeno y dióxido de carbono producidos en cada reactor, esto con el fin de conocer si el proceso de digestión anaerobia para la producción de hidrógeno resultaba en un proyecto factible.

Figura 2. Equipo de cuantificación de gases

Se decidió trabajar con seis concentraciones diferentes de nejayote para cada reactor (todo por triplicado), las variaciones en las concentraciones de nejayote aumentaron de 20% en 20% desde la concentración de 0 mL hasta la de 100 mL. Además se adicionó a cada bio-reactor, una cantidad equivalente de glucosa e inóculo para conocer si con ello el proceso se optimizaba. Puesto que por sí solo el nejayote, al tener un potencial de hidrógeno mayor a las trece unidades, no permite la proliferación de una gran cantidad de bacterias.

Figura 3. Frascos contenidos con determinado porcentaje de nejayote.

A. Ríos Maravilla¹, S. Turpin Marion¹, J. Granados Samaniego², F. Tavera Romero.²

Las muestras de nejayote se tomaron de un molino de nixtamal ubicado a un costado de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Azcapotzalco. Se caracterizó previamente la muestra y se prosiguió a neutralizarla agregándole ácido nítrico al 1%.

Figura 4. Muestra de nejayote crudo

Inmediatamente después de obtener y dividir la muestra, los frascos contenedores de nejayote fueron introducidos a su baño María correspondiente, con el fin de adaptar el sustrato a la temperatura, pH, y nivel de nutrientes necesario, para que con ello, se lograra la reacción de fermentación anaerobia en cada bio-reactor de manera adecuada. Pasadas 24 horas, se inyectó gas nitrógeno a cada bio-reactor para garantizar las condiciones anaerobias del sistema y se prosiguió a rellenar con agua destilada previamente templada y a sellar los reactores herméticamente.

Al pasar 50 horas de reacción sin agitación, se tomaron muestras directas del gas producido en cada bio-reactor haciendo uso de agujas quirúrgicas y jeringas de 25 mL. Tales muestras se inyectaron inmediatamente en el equipo medidor de la composición de gases anteriormente mencionado, previamente purgado con gas nitrógeno.

Figura 5. Inyección de una muestra en el equipo cuantificador.

Los datos obtenidos a partir de las lecturas de los sensores, permitieron conformar un archivo con una gran cantidad de datos, que permitió calcular la media aritmética de cada conjunto de iteraciones generadas por muestra inyectada, con el fin de realizar un análisis estadístico que nos permitiese conocer la cantidad de gas producido en (ppm) en tres tiempos específicos; a las 0, 50 y 100 horas después de iniciada la fermentación en fase oscura.

Figura 6. Vista del software preparado para medir.

III. RESULTADOS OBTENIDOS

Al concluir las primeras pruebas, se decidió descartar la información obtenida a partir del muestreo de los gases producidos en el sistema termofílico, ya que se intuye no hubo un buen acoplamiento en la adaptación de los *clostridios* a temperaturas relativamente altas para ellos, por lo cual la cantidad de gases producidos es insignificante y por ende no es significativa para esta investigación.

Por el contrario a partir de las mediciones de la concentración y la composición de los gases producidos en cada bio-reactor a condiciones mesofílicas, se lograron recopilar datos muy interesantes que permitieron la realización de la siguiente tabla:

TABLA 1. Promedio de las concentraciones de los gases estudiados en la composición total del gas inyectado en PPM				
% NEJAYOTE		40 HORAS		100 HORAS
0%	H ₂	42.81	H ₂	29.38
	CH ₄	35.69	CH ₄	33.62
	CO ₂	5.42	CO ₂	7.84
20%	H ₂	40.81	H ₂	25.43
	CH ₄	30.7	CH ₄	35.42
	CO ₂	5.02	CO ₂	5.21
40%	H ₂	47.28	H ₂	36.52
	CH ₄	36.4	CH ₄	6.91
	CO ₂	0.76	CO ₂	6.12
60%	H ₂	32.36	H ₂	48.47
	CH ₄	26.72	CH ₄	38.67
	CO ₂	0.6	CO ₂	6.13
80%	H ₂	44.25	H ₂	42.13
	CH ₄	36.69	CH ₄	36.61
	CO ₂	5.02	CO ₂	5.99
100%	H ₂	22.85	H ₂	26.28
	CH ₄	20.92	CH ₄	5.1
	CO ₂	8.6	CO ₂	3.69

En la Tabla 1, se puede apreciar que la mayor cantidad de hidrógeno producida se da a cien horas después del inicio del proceso fermentativo, usando una concentración de nejayote del 60%; a su vez, también se aprecia a simple vista que a pesar de que el pico más alto en cuanto a producción de hidrógeno se refiere, se encuentra a las cien horas de reacción, la mayor parte de hidrógeno generado para cada concentración de nejayote se da durante las primeras cuarenta horas de reacción. Siendo los reactores que trabajaron con nejayote al 40% los que produjeron mayor cantidad de hidrógeno, menor cantidad de dióxido de carbono y además necesitaron sólo dos días para producir una cantidad significativa de hidrógeno, 47.26 ppm.

Esto se puede apreciar mejor a partir del análisis de la siguiente figura:

Figura 7. Diagrama del comportamiento de la producción de gases en función del tiempo.

En la figura 7, se puede apreciar un comportamiento peculiar de la concentración de hidrógeno a las 40 horas, se observa que a una concentración de nejayote del 60%, el nivel de hidrógeno disminuye significativamente, esto podría deberse en un sentido práctico, a que es correcto decir que al controlar los diversos tipos de microorganismos fermentativos se puede aumentar la cantidad de hidrógeno producido durante el inicio del proceso de fermentación.

También se puede apreciar que la cantidad de dióxido de carbono producida es mínima, casi insignificante en algunos casos como cuando se trabaja con la concentración de 40 y 60% de nejayote a las 40 horas.

Producción de hidrógeno por digestión anaerobia del nejayote

IV. CONCLUSIONES

De acuerdo con los datos y los resultados obtenidos a partir de este trabajo de investigación, se concluye que es posible obtener hidrógeno a partir del nejayote durante las primeras horas del proceso de digestión anaerobia en fase oscura del mismo.

La digestión anaerobia implica grandes beneficios al ambiente como una alternativa para el tratamiento de residuos sólidos y líquidos, participando entonces en la reducción de la contaminación y en la producción de energía de manera sustentable.

Al usar biomasa como materia prima para la generación de energía, estamos utilizando un recurso renovable, además de que estos recursos se pueden almacenar de manera sencilla y pueden ser utilizados de manera continua sin depender de las cambiantes condiciones meteorológicas de cada entorno en particular.

Cabe mencionar que al usar un sistema de sensores de gases, se logra una medición más exacta de la concentración y el comportamiento de los mismos comparado con los resultados obtenidos a partir de la cromatografía de gases, ya que al estar monitoreando de manera constante la producción de biogás, se cuenta con un estudio mucho más detallado del comportamiento de los microorganismos en el sistema, por ende se conoce de una manera más sencilla el punto máximo donde se consigue la mayor producción del gas deseado; además de que también se conoce el tiempo en el cual el hidrógeno deja de generarse para convertirse en materia prima del siguiente paso que conlleva la ruta fermentativa de metanogénesis.

V. REFERENCIAS

- [1] Balat, M., *Production of hydrogen via biological processes*, Taylor & Francis, 1802-1812 (Turkey, 2009).
- [2] Balat M., *Hydrogen in Fueled Systems and the Significance of Hydrogen in Vehicular Transportation*. Energy sources, 49-61 (Turkey, 2007).
- [3] Hammons, T., *Energy and the Environment: Alternatives in UK for CO2 Reduction*. Electric Power Components and Systems, 277-295 (UK, 2010).
- [4] Fakhru'l-Razi, Y., *Bio-Hydrogen Synthesis from Wastewater by Anaerobic Fermentation Using Microflora*, International Journal of Green Energy, 2, 387-396 (Malaysia, 2005).

A. Ríos Maravilla¹, S. Turpin Marion¹, J. Granados Samaniego², F. Tavera Romero.²

- [5] Demirbas, M. *Technological Options for Producing Hydrogen from Renewable Resources*. Energy Sources, Part A(28), 1215–1223. (turkey, 2007)
- [6] Dickson, T. R., *Understanding chemistry from atoms to attitudes*, 3rd ed. (Limusa Wiley, New York, 2006).
- [7] Kocar, G., *Anaerobic Digesters : From Waste to Energy Crops as an Alternative Energy Source*. Alternative Energy Sources, 30, 660–669 (turkey, 2008).
- [8] Ren, N., *Hydrogen production by fermentation : Review of a new approach to environmentally safe energy production*, Aquatic Ecosystem Health and Management Society, 39–42 (China, 2010).

C. Poster TIBERO

https://www.researchgate.net/publication/342657279_poster_Nejayote_TIBERO_pdf

Producción de hidrógeno por digestión anaerobia del nejayote

A. Ríos Maravilla¹, S. Turpin Marion¹, J. Granados Samaniego², F. Tavera Romero²

¹ Departamento de Energía, ² Departamento de Ciencias Básicas, División de CBI, Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco, Av. San Pablo 180, Col. Reynosa Tamaulipas, C.P. 02200, Del.

Azcapotzalco, Ciudad de México, México.

angelcarlosmar@gmail.com, stm@correo.azc.uam.mx, jalgras@yahoo.com, fer8707@gmail.com

RESUMEN

La crisis ambiental que experimenta nuestra sociedad ha despertado la necesidad de investigar, optimizar o implementar nuevas tecnologías para producir energías ambientalmente sustentables. El hidrógeno es un combustible libre de emisiones de dióxido de carbono, cuyo rendimiento energético es 2.7 veces mayor al de la mayoría de los combustibles fósiles. Mientras que el nejayote es un agua residual producto del proceso de la sistematización del maíz, este compuesto es altamente contaminante debido a su nivel de pH, el cual excede las 13 unidades, por lo que inadecuadamente participa en el actual, incontrolable y creciente contaminación de los cuerpos de agua receptores de aguas residuales. Por tal motivo el objetivo de este trabajo es proponer una tecnología con el fin de resarcir dichas problemáticas mediante el aprovechamiento del proceso de digestión anaerobia en fase oscura del nejayote para producir hidrógeno.

Palabras clave: Energía limpia, digestión anaerobia, producción de hidrógeno.

I. INTRODUCCIÓN

El proceso de producción de hidrógeno a partir de residuos representa una tecnología integrada, esto quiere decir que se produce energía mientras se trata un producto de desecho; por ende, a partir de la realización de este trabajo, se evaluó el proceso de obtención de hidrógeno durante la primera fase del proceso metabólico de la metanogénesis del nejayote. Se realizaron ensayos de dos pruebas simultáneas cada uno, una a condiciones mesófilicas (37°) y otra a condiciones termófilicas (57°). Se introdujeron equitativamente 16 bio-reactores anaerobios dentro de dos baños María caracterizados previamente para garantizar que el proceso fuese siempre isotérmico y se adicionó a cada bio-reactor un consorcio bacteriano previamente adaptado a condiciones particulares de pH, temperatura y material nutricional para garantizar la producción del biogás. Se midió la concentración de gases usando un equipo de cuantificación basado en la inclusión de un sistema de adquisición de datos en LabVIEW para la cuantificación de hidrógeno y dióxido de carbono, con el fin de realizar una correlación de la concentración de las variables de cada mezcla en cada reactor en función del tiempo.

II. METODOLOGÍA

Se estudió la factibilidad de producir hidrógeno a partir de la fermentación anaerobia del nejayote. Para esto se construyeron equipos de operación, reacción y medición tales como: Baños María, bio-reactores, sistemas de cuantificación de volumen de gas producido, así como un equipo de cuantificación de gases para conocer tanto la composición como la concentración de los gases generados en cada bio-reactor.

Se decidió trabajar con seis concentraciones diferentes de nejayote para cada reactor (todo por triplicado), las variaciones en el porcentaje de las concentraciones de nejayote por reactor aumentaron de 20 en 20 desde la concentración de 0 ml. hasta la de 100 ml.. Además se adicionó a cada bio-reactor, una cantidad equivalente de glucosa e inóculo para conocer si con ello el proceso se optimizaba. Al pasar 50 y 100 horas de reacción sin agitación, se tomaron muestras directas del gas producido en cada bio-reactor haciendo uso de agujas quirúrgicas y jeringas de 25 ml.. Tales muestras se inyectaron inmediatamente en el equipo medidor de la composición de gases anteriormente mencionado, previamente purgado con gas nitrógeno para evitar interferencias. Los datos obtenidos a partir de las lecturas de los sensores, permitieron calcular la media aritmética de cada conjunto de iteraciones generadas por muestra inyectada, con el fin de realizar un análisis estadístico que nos permitiera conocer la cantidad de gas producido en (ppm) en tres tiempos específicos; a las 0, 50 y 100 horas después de iniciada la fermentación en fase oscura.

III. RESULTADOS

Se realizó un análisis minucioso de los resultados obtenidos a partir de las mediciones de la composición de los gases generados dentro de los reactores anaerobios controlados por determinadas concentraciones de inóculo, nutrientes y nejayote.

Realizado el análisis estadístico de los datos obtenidos, se obtuvo información para la realización de la siguiente tabla, los cuales se representan mejor en la imagen que se muestra a continuación.

Tabla 1. Producción de los microorganismos de la gasificación en la fermentación total de los gases producidos.

Concentración de Nejayote (%)	Concentración de Glucosa (g/L)	Concentración de Inóculo (g/L)	Concentración de Gases (ppm)
0%	0.00	0.00	0.00
20%	0.00	0.00	0.00
40%	0.00	0.00	0.00
60%	0.00	0.00	0.00
80%	0.00	0.00	0.00
100%	0.00	0.00	0.00

IV. CONCLUSIONES

La digestión anaerobia implica grandes beneficios al ambiente como una alternativa para el tratamiento de residuos sólidos y líquidos, participando entonces en la reducción de la contaminación y en la producción de energía de manera sustentable. De acuerdo con los datos y los resultados obtenidos a partir de este trabajo de investigación, se concluye que es posible obtener hidrógeno a partir del nejayote durante las primeras horas del proceso de digestión anaerobia en fase oscura del mismo.

Al usar biomasa como materia prima para la generación de energía, estamos utilizando un recurso renovable, que además de representar una buena fuente de materia prima para la generación de energía alterna, puede ser utilizada de manera continua sin depender de los cambiantes condiciones meteorológicas actuales de cada entorno en particular.

V. OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES

Al usar un sistema de sensores de gases, se logra una medición más exacta de la concentración y el comportamiento de los mismos, esto si se compara con los datos obtenidos usando otros equipos de cuantificación como la cromatografía de gases. Se recomienda modificar los reactores con la inclusión en cada uno de los sensores MQ, ya que al estar monitoreando de manera constante la producción de biogás, se cuenta con un estudio mucho más detallado del comportamiento de los microorganismos en el sistema, por ende, se conoce de una manera más sencilla el punto donde se consigue la mayor producción del gas deseado; además de que también se conoce el tiempo en el cual el hidrógeno deja de generarse para convertirse en materia prima para el siguiente paso que conlleva la ruta fermentativa de metanogénesis.

V. REFERENCIAS

- [1] Balci, M., *Production of hydrogen via biological processes*, Taylor & Francis, 1802-1812 (Turkey, 2009).
- [2] Balci M., *Hydrogen in Fuel Cells and the Significance of Hydrogen in Fuel Cells*, Energy sources, 49-61 (Turkey, 2007).
- [3] Harman, T., *Energy and the Environment: Alternatives to Oil for CO2 Reduction*, Electric Power Components and Systems, 277-280 (U.S., 2010).
- [4] Vithan, V., *Hydrogen Production from Biomass by Anaerobic Fermentation Using Microalgae*, International Journal of Green Energy, 2, 387-396 (Malaysia, 2005).
- [5] Deshais, M., *Technological Options for Producing Hydrogen from Renewable Resources*, Energy Sources, Part A, 1213-1223 (Turkey, 2007).
- [6] Dickson, T. R., *Understanding Chemistry from atoms to molecules*, 3rd ed. (London Wiley, New York, 2006).
- [7] Kwon, G., *Anaerobic Digestion: From Waste to Energy Crops as an Alternative Energy Source*, Alternative Energy Sources, 80-88-89 (Turkey, 2004).
- [8] Kim, N., *Hydrogen production by fermentation: Review of a new approach to environmentally safe energy production*, Aquatic Toxicology and Management Society, 39-62 (China, 2010).

D. CIE, Morelia, 2019

https://www.researchgate.net/publication/342657008_Produccion_de_hidrogeno_por_digestion_anaerobia_del_nejayote

Evaluación de la producción de Hidrógeno por digestión anaerobia del Nejayote

A. Ríos, S. Turpin.

Departamento de Energía
Universidad Autónoma Metropolitana
CDMX, México.
angelicariosmar@gmail.com

F. Tavera, J. Granados.

Departamento de Ciencias Básicas
Universidad Autónoma Metropolitana
CDMX, México.
fer8707@gmail.com

Resumen— El proceso de nixtamalización del maíz requiere de un gran volumen de agua para poder ser completado. En promedio, los molinos tradicionales de nixtamal tienen la capacidad de procesar 7 toneladas de maíz al mes, lo que genera un efluente de aproximadamente 30 m³ de nejayote por molino en ese mismo periodo de tiempo; esto multiplicado por los cerca de 12 mil molinos registrados en el país, resulta en una descarga potencial de 360 mil m³ de nejayote mensualmente. Este gasto, en su mayoría, es vertido a los acuíferos receptores sin previo tratamiento. Por sus propiedades, el nejayote presenta niveles altos de temperatura (60°C), pH (entre 10-12) y carga orgánica (30-70 g/L), es un sustrato óptimo para la producción fermentativa de H₂. En este trabajo, se estudió la digestión anaerobia del nejayote con la adición al sistema de un consorcio bacteriano (*Clostridium sp.*) y diferentes concentraciones de solución nutritiva (glucosa al 10%). Se ensayaron seis diferentes concentraciones de nejayote/nutrientes (N:n) (100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:100) a 37°C. Para ello, se instalaron 18 biorreactores anaerobios de 1 L, conectados a un equipo de desplazamiento de volumen para conocer la cantidad del gas generado. Las muestras de gas fueron analizadas por un dispositivo electrónico de medición y adquisición de datos, basado en la plataforma LabVIEW, utilizando sensores previamente caracterizados para detectar hidrógeno, metano y dióxido de carbono (dicho

dispositivo se calibró con los resultados obtenidos a partir de una serie de cromatogramas). Los resultados muestran que la generación de hidrógeno por digestión anaerobia en fase oscura, resulta en una tecnología factible, ya que a partir de una relación (N:n) 80:20, se obtienen alrededor de 1046.64 ppm de hidrógeno en 30 mL de biogás.

Keywords—biomasa; digestión anaerobia; eficiencia energética; energía renovable; instrumentación

Introducción

El tratamiento adecuado de los subproductos y residuos de las diferentes actividades industriales es una prioridad nacional [1]. Por otro lado, el uso actual de la bioenergía en México alcanza aproximadamente 408 PJ al año, que apenas representa el 8% del total del consumo de energía primaria, siendo las principales fuentes de bioenergía, el bagazo de caña y la leña [2]. La participación de las energías renovables en el total nacional es marginal, no obstante, de acuerdo con información de la Secretaría de Energía, se espera que, para los próximos años, se cuenten con mejoras significativas en cuanto a la obtención de energía por vías renovables.

El agua residual obtenida a partir de la nixtamalización, es el principal subproducto de la industria del maíz a pequeña escala en los molinos locales y gran escala en las industrias harineras. Dicho residuo presenta un alto potencial de contaminación verificado, (determinado mediante la caracterización

física y química de muestras del efluente y su comparación con normas y estándares de calidad). En promedio, los molinos tradicionales de nixtamal tienen la capacidad de procesar 7 toneladas de maíz al mes, lo que genera un efluente de nejayote de 30 m³/mes; esto multiplicado por los cerca de 12 mil molinos registrados en el país, resulta en una descarga potencial de 360 mil m³ de nejayote mensualmente [2]. Este gasto, en su mayoría, es vertido a las aguas residuales sin previo tratamiento; siendo que según la NOM-002-SEMARNAT-1996 [3], este efluente no puede ser descargado al sistema de alcantarillado, en términos de su elevada demanda química de oxígeno, cuyos valores se estiman entre 30 y 70 g/L, altos niveles de pH (entre 10 y 12), sólidos suspendidos totales (300-800 mg/L) y temperaturas que en muchas ocasiones exceden los 60°C.

La composición nutricional del nejayote puede variar dependiendo de las características del maíz utilizado, de la cantidad de hidróxido de calcio añadida y del proceso tecnológico empleado. Según estas particularidades, dependerá el previo tratamiento del sustrato. El tratamiento de residuos orgánicos por rutas fermentativas, es una manera eficiente para combatir la contaminación, convirtiendo dichos productos, en materia útil para la producción de energía en forma de biocombustible. Entre estos residuos, los materiales ricos en glucosa, celulosa y almidón juegan un papel muy importante debido a su enorme disponibilidad y a la variabilidad en sus fuentes de generación [4].

Además, como alternativa a esta preocupación mundial, desde hace algunos años se ha planteado un cambio en el sistema energético [1].

La economía del hidrógeno presume ser sustentable. El problema que se plantea con ésta, es la necesidad de desarrollar sistemas más económicos tanto para la obtención como para la distribución y el almacenamiento del gas. Sin embargo, el hidrógeno tiene amplias posibilidades de utilización en la producción de electricidad con pilas de combustible y mediante fusión nuclear [5].

Los estudios relacionados con la producción de biogás por vías fermentativas de la biomasa, aún no han arrojado resultados conclusivos, por lo que con este trabajo se pretende contribuir a la aportación de datos.

Además de analizar la factibilidad de reducir la problemática que representa el nejayote en la aportación de nutrientes contaminantes a los cuerpos de aguas receptores.

Teoría

Evaluar los rendimientos de un sistema tomando en cuenta consideraciones de manejo ambiental sostenible, incluye una serie de decisiones que permiten crear estructuras y métodos para lograr el idóneo desempeño de los desarrollos particulares dentro de un proceso general. Los diseños exitosos se basan generalmente en el pleno entendimiento de lo sucedido durante las pruebas, del ensayo y error se obtienen parámetros importantes para optimizar cualquier experimento [6].

Fermentación anaerobia en fase oscura

La digestión anaerobia es un proceso biotecnológico mediante el cual un compuesto orgánico insertado a un sistema, es convertido en un rango de compuestos orgánicos más simples que son convertidos subsecuentemente en un biogás, que, para ser aprovechado, implica evidentemente una previa separación in situ de los gases producidos. Los compuestos orgánicos en su mayoría están conformados por estructuras complejas, las cuales pueden ser transformadas por completo en dióxido de carbono y agua, por acción metabólica de ciertos organismos unicelulares presentes en las aguas residuales. Los productos reducidos extraídos a partir de células microbianas, como es en el caso de la fermentación de los carbohidratos, pueden ser aislados completamente para el uso de los mismos como biocombustible. Dependiendo de la composición del gas podría o no ser usado directamente para producir calor o electricidad [7].

La biomasa varía considerablemente en su composición y estructura, dependiendo del proceso y de la materia de donde provenga, del tiempo transcurrido desde su descomposición, así como de las influencias estacionales de cada sitio determinado para llevar a cabo el proceso. Tanto la biomasa como los materiales residuales, están disponibles en una amplia variedad de apariencias. Las estructuras poliméricas dominantes en la materia orgánica son la celulosa, la hemicelulosa y la lignina [8].

Ruta metabólica de la digestión anaerobia

Los microorganismos dependen de las reacciones fermentativas que puedan suceder a partir del sustrato orgánico utilizado. Como ejemplo, la degradación anaerobia de la glucosa a una mezcla de metano y dióxido de carbono en términos de un donador y un aceptor de electrones, como se muestra en la imagen 1 [7].

Imagen 1. Transferencia de electrones durante la fermentación de la glucosa

De los seis átomos de carbono contenidos en la molécula de glucosa, tres son oxidados y transformados en dióxido de carbono, y los electrones son donados a los otros tres átomos que son reducidos a metano [7].

Contrariamente a la mayoría de los esquemas degradativos de origen bioquímico, la digestión anaerobia requiere de la participación activa de ciertos microorganismos especializados como catalizadores de las reacciones dentro de todo el proceso fermentativo. Las moléculas orgánicas complejas son degradadas en una secuencia estructurada hasta obtener metano [7].

El material orgánico polimérico, es transformado (hidrolizado y solubilizado). Esta reacción es catalizada típicamente por enzimas extracelulares producidas por las bacterias acidogénicas. Los sustratos poliméricos pueden ser proteínas, carbohidratos o lípidos. Los productos de la hidrólisis son aminoácidos, monómeros, glicerol y ácidos grasos. Dichos monómeros son fermentados en el proceso de acidogénesis, momento en el cual son producidos ácidos grasos volátiles, dióxido de carbono, hidrógeno y alcohol. La degradación de los aminoácidos genera la liberación de aminas en solución, lo que permite que las moléculas orgánicas más pequeñas sean convertidas en precursores para la producción de metano como resultado. Las bacterias

acetogénicas permiten la generación de acetatos y moléculas de hidrógeno [7].

La ruta metabólica para la metanogénesis se muestra en la imagen 2 [7].

Imagen 2. Ruta metabólica de la metanogénesis.

Los rendimientos prácticos de hidrógeno en la fermentación oscura están alrededor de 2 mol H₂/mol glucosa [9].

Método experimental

Se construyeron 18 reactores anaerobios a partir de recipientes ámbar de 1.23 litros de capacidad, tapones de hule modificados para garantizar hermeticidad y por ende condiciones de anaerobiosis, conectados por medio de mangueras a dos sistemas, como se describe en la imagen 3, uno de control volumétrico a partir de tubos de desplazamiento y el otro de almacenamiento de gas producido, usando bolsas de 50 mL de capacidad y cierre hermético.

Se realizó un pretratamiento térmico del nejayote a 37°C durante 23 días, y, para conocer los efectos de la mezcla en la producción de biogás, se prepararon por triplicado seis relaciones diferentes de nejayote/nutrientes: 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80, 0:10. Después de cinco días, se recolectaron las muestras de gas producido por cada reactor. En la tabla 1 se muestran las relaciones utilizadas para los experimentos.

Imagen 3. Diagrama del método fermentativo y adquisición de datos

Tabla 1. Relaciones en los reactores

Muestra	Nejayote	Nutrientes
1	100	0
2	80	20
3	60	40
4	40	60
5	20	80
6	0	100

Para determinar las concentraciones de los gases producidos, se diseñó y construyó un sistema de adquisición de datos en la plataforma de desarrollo Lab View y utilizando sensores tipo MQ-x. El sistema de adquisición consta de diferentes partes, las cuales se enuncian a continuación.

Hardware

Se adaptó un recipiente hermético de plástico con una capacidad de 30 mL con boquillas especiales para permitir múltiples entradas de aguja y poder realizar diferentes inyecciones de muestras en el mismo dispositivo, se acoplaron 3 sensores de la familia MQ-x para los diferentes gases que según la literatura se deben de producir en los diferentes tiempos de fermentación, Estos sensores fueron:

- Sensor MQ-8 para detectar hidrógeno molecular (H_2) que es la principal causa de interés en este estudio.
- Sensor MQ-4 para detectar metano (CH_4)
- Sensor MQ-135 para detectar dióxido de carbono (CO_2)

La adquisición de las señales de los diferentes sensores se realizó con una tarjeta Arduino UNO, la cual, se ajustó para trabajar con el protocolo de transferencia serial de LabView.

Software

Se diseñó un algoritmo de adquisición de datos en LabView mostrado en la imagen 4, que cuenta con dos estados: el estado de calibración y el estado de lectura directa. El primer paso es la calibración de los sensores, utilizando un gas inerte, en este caso el Helio (He), el cual es invisible a los tres sensores MQ, al purgar el recipiente hermético con este gas se hace una primera lectura recursiva y se ajustan todos los sensores a cero. Una vez terminada esta secuencia, se apaga el calibrado e inmediatamente después se pasa a la secuencia de lectura directa, una vez en este estado y con los sensores calibrados, se inyecta una muestra de 10 mL con la mezcla de gases producidos en la fermentación anaerobia.

Imagen 4. Algoritmo en Lab View del sistema de adquisición

Se realizaron las lecturas de cada una de las mezclas en el orden de la tabla 1, purgando con He entre cada muestra, en la imagen 5 se presenta una de las lecturas en la pantalla principal de Lab View.

Imagen 5. Medición de muestra 2 relación 80:20.

En la imagen 5 se puede apreciar dos valles producto de la calibración de los sensores y como al inyectar la muestra de gas vuelve a incrementarse la señal de cada sensor y mostrado numéricamente con unidades de PPM en un volumen de 30 mL.

Resultados

El nejayote al día cero presentó un pH de 12.4, 63 g/L de DQO y 454 mg/L de SST. Después del pretratamiento térmico a 37° durante 23 días, el pH disminuyó a 5.6, permitiendo las condiciones adecuadas para diluir la solución nutritiva y el consorcio bacteriano dentro del medio; y así, conformar las relaciones determinadas para el ensayo. Durante los primeros cinco días de retención hidráulica, la cantidad de biogás producido se mantuvo constante, siendo que para el quinto día, el porcentaje de H₂ obtenido para las diferentes muestras, alcanzó su máximo, pasado este límite, la producción de biogás disminuyó considerablemente durante los siguientes veinte días.

Para determinar la máxima producción de cada gas (H₂, CH₄, CO₂) contenido en la mezcla obtenida de cada muestra, se realizó un análisis numérico en hoja de cálculo de las mediciones obtenidas a partir de las diferentes relaciones (N:n) en cada reactor, resultando que los mejores rendimientos fueron para la relación (80:20) a los cinco días después del

pretratamiento del sustrato, dichos valores se indican en la tabla 2.

Tabla 2 Valores de relaciones y gas obtenido

Muestra	H2 (ppm)	CO2 (ppm)	CH4 (ppm)
Relación 1 (100:0)	0.153	10.341	14.94
Relación 2 (80:20)	1046.64	120.216	222.787
Relación 3 (60:40)	726.300411	260.024057	386.770665
Relación 4 (40:60)	457.497417	332.08546	384.57292
Relación 5 (20:80)	236.208272	419.066175	381.9474
Relación 6 (0:100)	9.27969134	523.091832	378.810103

Graficando los datos obtenidos con Lab View, se pueden observar, como se muestra en la imagen 6, las diferentes concentraciones de gas en ppm de cada una de las seis muestras ensayadas.

Imagen 6. Gráfico de la concentración de especies gaseosas vs la relación (N:n), en ppm.

También se puede apreciar que la concentración de H₂ decae conforme aumenta la cantidad de nutrientes, y, al contrario, el CO₂ aumenta cuando la relación de nutrientes es mayor. Respecto al CH₄ se observó que se mantiene constante a partir de la muestra 3 (relación 60:40).

A partir de estas mediciones se puede determinar, que la relación nejayote/nutrientes que produjo mayor rendimiento de hidrógeno fue la relación (80:20), obteniéndose alrededor de 1,046.64 ppm de hidrógeno en 30 mL de biogás.

El sistema de adquisición de datos basado en Lab View fue capaz de detectar hidrógeno en una mezcla de varios gases, obteniendo la concentración específica del mismo. Al hacer cromatografía de gas a las muestras se pudo validar la sensibilidad del sistema propuesto, obteniendo valores muy parecidos a los del cromatógrafo.

Conclusiones

El máximo rendimiento de H_2 en este trabajo se obtuvo para la relación nejayote/nutrientes 80:20, con una generación de hidrógeno de 1,046.4 ppm en 30 mL.

Es necesario ensayar nuevas relaciones cercanas a la relación 80:20, para verificar la efectividad del método o encontrar mejores rendimientos para nuevas relaciones. Es posible conectar permanentemente un dispositivo de medición en cada reactor, para coleccionar datos en tiempos determinados, y obtener la curva de obtención de hidrógeno en tiempo real, de forma que se encuentre el máximo de producción y por ende, el momento exacto en el que la producción de hidrógeno decae.

El sistema de adquisición de datos se mostró un dispositivo de medición efectivo y fiable para la caracterización de hidrógeno en mezclas de gases, además de ser un dispositivo portátil y de bajo costo. Si se compara su efectividad y practicidad con la de un cromatógrafo de gases convencional, su operatividad es más sencilla ya que los sensores se calibran a cero, purgando el recipiente con helio.

Si se removiesen la mayor parte de las impurezas en el gas obtenido a partir de la fermentación anaerobia del nejayote, se obtendría H_2 con niveles de pureza superiores al 90%, para una relación N:n (80:20). Por tal motivo, la digestión anaerobia es un proceso

que debería ser utilizado en el tratamiento de residuos orgánicos como lo son las aguas residuales, debido a que además de ser un sustrato óptimo para la producción de biogás, logra la estabilización de la materia orgánica, que consiste en la mineralización de la misma, la cual, terminado el proceso, puede ser reinsertada a la tierra como enriquecedor natural.

Referencias

- [1] F. Sapiña, "El reto energético," ISBN 10: 8437064058, Universidad de Valencia, España, 2006.
- [2] J. Galarza, et al., "Situación actual y perspectivas del maíz en México," Servicio de información agroalimentaria y pesquera, 2012.
- [3] NOM-002-SEMARNAT-1996
- [4] M. Noeldris, L. López, "Cuban contributions to the development of hydrogen as renewable energy," Rev Cub Quim vol.31, no.1, ISSN 2224-5421, Facultad de Química Universidad de La Habana, Cuba, 2019.
- [5] Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático, Naciones Unidas, 1992.
- [6] M. F. Hordiski, "Alternative Fuels- The Future of Hydrogen," ISBN 0-88173-519-1, The Fairmont Press, USA, 2007.
- [7] W. de Jong, J. R. van Ommen, "Biomass as a Sustainable Energy Source for the Future," ISBN 978-1-118-30491-4, John Wiley & Sons Inc., USA, 2015.
- [8] A. Ríos, S. Turpin, J. Granados, F. Tavera, "Producción de hidrógeno por digestión anaerobia del nejayote," VII TIBERO, La habana, Cuba, 2016.
- [9] A. Bedoya, et al., "Producción biológica de hidrógeno: una aproximación al estado del arte," Dyna, año 75, no.154, pp. 137-157. Medellín, Colombia, 2008.
- [10] J. Granados, F. Tavera, O. Calzadilla, L. Medina, G. López, J.M. Velázquez, A. Morales, "Sistema Computarizado de sensado de Gases Contaminantes," VII TIBERO, La habana, Cuba, 2016.
- [11] J. Granados, O. Calzadilla, L. Medina, F. Tavera, G. López, J.M. Velázquez, "La física y la problemática del medio ambiente," VII TIBERO, La

E. Hojas técnicas de los Sensor MQ-8 (hidrógeno)

HANWEI ELETRONICS CO.,LTD

MQ-8

<http://www.hwsensor.com>

TECHNICAL DATA

MQ-8 GAS SENSOR

FEATURES

- * High sensitivity to Hydrogen (H_2)
- * Small sensitivity to alcohol, LPG,cooking fumes
- * Stable and long life

APPLICATION

They are used in gas leakage detecting equipments in family and industry, are suitable for detecting of Hydrogen (H_2), avoid the noise of alcohol and cooking fumes, LPG,CO.

SPECIFICATIONS

A. Standard work condition

Symbol	Parameter name	Technical condition	Remarks
V_c	Circuit voltage	$5V \pm 0.1$	AC OR DC
V_H	Heating voltage	$5V \pm 0.1$	AC OR DC
P_L	Load resistance	$10K \Omega$	
R_H	Heater resistance	$31 \pm 5\%$	Room Tem
P_H	Heating consumption	less than 800mW	

B. Environment condition

Symbol	Parameter name	Technical condition	Remarks
T_{ao}	Using Tem	$-10^\circ C - 50^\circ C$	
T_{as}	Storage Tem	$-20^\circ C - 70^\circ C$	
R_H	Related humidity	less than 95%Rh	
O_2	Oxygen concentration	21%(standard condition)Oxygen concentration can affect sensitivity	minimum value is over 2%

C. Sensitivity characteristic

Symbol	Parameter name	Technical parameter	Remark 2
R_s	Sensing Resistance	$10K \Omega - 60K \Omega$ (1000ppm H_2)	Detecting concentration scope: 100-10000ppm Hydrogen (H_2)
α (1000ppm/ 500ppm H_2)	Concentration slope rate	≤ 0.6	
Standard detecting condition	Temp: $20^\circ C \pm 2^\circ C$ Humidity: $65\% \pm 5\%$	$V_c: 5V \pm 0.1$ $V_H: 5V \pm 0.1$	
Preheat time	Over 24 hour		

D. Structure and configuration, basic measuring circuit

Structure and configuration of MQ-8 gas sensor is shown as Fig. 1 (Configuration A or B), sensor composed by micro Al_2O_3 ceramic tube, Tin Dioxide (SnO_2) sensitive layer, measuring electrode and heater are fixed into a crust made by plastic and stainless steel net. The heater provides necessary work conditions for work of sensitive components. The enveloped MQ-8 have 6 pin ,4 of them are used to fetch signals, and other 2 are used for providing heating current.

Electric parameter measurement circuit is shown as Fig.2

E. Sensitivity characteristic curve

Fig.2 sensitivity characteristics of the MQ-8

Fig.4 is shows the typical dependence of the MQ-8 on temperature and humidity.
Ro: sensor resistance at 1000ppm of H_2 in air at 33%RH and 20 degree.
Rs: sensor resistance at 1000ppm of H_2 in air at different temperatures and humidities.

SENSITIVITY ADJUSTMENT

Resistance value of MQ-8 is difference to various kinds and various concentration gases. So,When using this components, sensitivity adjustment is very necessary. we recommend that you calibrate the detector for 1000ppm H_2 concentration in air and use value of Load resistance (R_L) about 10 K Ω (5K Ω to 33 K Ω).

When accurately measuring, the proper alarm point for the gas detector should be determined after considering the temperature and humidity influence.

F. Hojas técnicas de los Sensor MQ-135 (metano)

MQ135 Semiconductor Sensor for Air Quality Control

Sensitive material of MQ135 gas sensor is SnO_2 , which with lower conductivity in clean air. When the target combustible gas exist, The sensor's conductivity is more higher along with the gas concentration rising. Please use simple electrocircuit, Convert change of conductivity to correspond output signal of gas concentration.

MQ135 gas sensor has high sensitivity to Ammonia, Sulfide and Benze steam, also sensitive to smoke and other harmful gases. It is with low cost and suitable for different application.

Character

- * Good sensitivity to Harmful gases in wide range
- * High sensitivity to Ammonia, Sulfide and Benze
- * Long life and low cost
- * Simple drive circuit

Application

- * Domestic air pollution detector
- * Industrial air pollution detector
- * Portable air pollution detector

Configuration

Technical Data

Model No.		MQ135	
Sensor Type		Semiconductor	
Standard Encapsulation		Bakelite (Black Bakelite)	
Detection Gas		Ammonia, Sulfide, Benze steam	
Concentration		10-10000ppm (Ammonia, Benze, Hydrogen)	
Circuit	Loop Voltage	V_c	$\leq 24V$ DC
	Heater Voltage	V_H	$5.0V \pm 0.2V$ AC or DC
	Load Resistance	R_L	Adjustable
Character	Heater Resistance	R_H	$31\Omega \pm 3\Omega$ (Room Tem.)
	Heater consumption	P_H	$\leq 900mW$
	Sensing Resistance	R_s	$2K\Omega - 20K\Omega$ (in 100ppm NH_3)
	Sensitivity	S	$R_s(\text{in air})/R_s(100\text{ppm } \text{NH}_3) \geq 5$
	Slope	α	≤ 0.6 ($R_{100\text{ppm}}/R_{100\text{ppm } \text{NH}_3}$)
Condition	Tem. Humidity	$20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}; 65\% \pm 5\% \text{RH}$	
	Standard test circuit	$V_c: 5.0V \pm 0.1V$ $V_H: 5.0V \pm 0.1V$	
	Preheat time	Over 48 hours	

$$P_s = V_c^2 \times R_s / (R_s + R_L)^2$$

Basic test loop

The above is basic test circuit of the sensor. The sensor need to be put 2 voltage, heater voltage (V_H) and test voltage (V_C). V_H used to supply certified working temperature to the sensor, while V_C used to detect voltage (V_{RL}) on load resistance (R_L) whom is in series with sensor. The sensor has light polarity, V_c need DC power. V_C and V_H could use same power circuit with precondition to assure performance of sensor. In order to make the sensor with better performance, suitable R_L value is needed: Power of Sensitivity body (P_s):

Sensitivity Characteristics

Fig.1 shows the typical sensitivity characteristics of the MQ135, ordinate means resistance ratio of the sensor (R_s/R_o), abscissa is concentration of gases. R_s means resistance in different gases, R_o means resistance of sensor in 100ppm Ammonia. All test are under standard test conditions.

Influence of Temperature/Humidity

Fig.2 shows the typical temperature and humidity characteristics. Ordinate means resistance ratio of the sensor (R_s/R_o), R_s means resistance of sensor in 100ppm Ammonia under different tem. and humidity. R_o means resistance of the sensor in environment of 100ppm Ammonia, 20°C/65%RH

Structure and configuration

Structure and configuration of MQ135 gas sensor is shown as Fig. 3, sensor composed by micro AL₂O₃ ceramic tube, Tin Dioxide (SnO₂) sensitive layer, measuring electrode and heater are fixed into a crust made by plastic and stainless steel net. The heater provides necessary work conditions for work of sensitive components. The enveloped MQ-4 have 6 pin, 4 of them are used to fetch signals, and other 2 are used for providing heating current.

Notification

1 Following conditions must be prohibited

1.1 Exposed to organic silicon steam

Organic silicon steam cause sensors invalid, sensors must be avoid exposing to silicon bond, fixture, silicon latex, putty or plastic contain silicon environment

1.2 High Corrosive gas

If the sensors exposed to high concentration corrosive gas (such as H_2S , SO_x , Cl_2 , HCl etc), it will not only result in corrosion of sensors structure, also it cause sincere sensitivity attenuation.

1.3 Alkali, Alkali metals salt, halogen pollution

The sensors performance will be changed badly if sensors be sprayed polluted by alkali metals salt especially brine, or be exposed to halogen such as fluorin.

1.4 Touch water

Sensitivity of the sensors will be reduced when spattered or dipped in water.

1.5 Freezing

Do avoid icing on sensor's surface, otherwise sensor would lose sensitivity.

1.6 Applied voltage higher

Applied voltage on sensor should not be higher than stipulated value, otherwise it cause down-line or heater damaged, and bring on sensors' sensitivity characteristic changed badly.

1.7 Voltage on wrong pins

For 6 pins sensor, if apply voltage on 1、3 pins or 4、6 pins, it will make lead broken, and without signal when apply on 2、4 pins

2 Following conditions must be avoided

2.1 Water Condensation

Indoor conditions, slight water condensation will effect sensors performance lightly. However, if water condensation on sensors surface and keep a certain period, sensor's sensitivity will be decreased.

2.2 Used in high gas concentration

No matter the sensor is electrified or not, if long time placed in high gas concentration, it will affect sensors characteristic.

2.3 Long time storage

The sensors resistance produce reversible drift if it's stored for long time without electrify, this drift is related with storage conditions. Sensors should be stored in airproof without silicon gel bag with clean air. For the sensors with long time storage but no electrify, they need long aging time for stbility before using.

2.4 Long time exposed to adverse environment

No matter the sensors electrified or not, if exposed to adverse environment for long time, such as high humidity, high temperature, or high pollution etc, it will effect the sensors performance badly.

2.5 Vibration

Continual vibration will result in sensors down-lead response then reapture. In transportation or assembling line, pneumatic screwdriver/ultrasonic welding machine can lead this vibration.

2.6 Concussion

If sensors meet strong concussion, it may lead its lead wire disconnected.

2.7 Usage

For sensor, handmade welding is optimal way. If use wave crest welding should meet the following conditions:

2.7.1 Soldering flux: Rosin soldering flux contains least chlorine

2.7.2 Speed: 1-2 Meter/ Minute

2.7.3 Warm-up temperature: $100 \pm 20^\circ C$

2.7.4 Welding temperature: $250 \pm 10^\circ C$

2.7.5 1 time pass wave crest welding machine

If disobey the above using terms, sensors sensitivity will be reduced.

G. Hojas técnicas de los Sensor MQ-4 (dióxido de carbono)

HANWEI ELECTRONICS

MQ-4

www.hwsensor.com

TECHNICAL DATA

MQ-4 GAS SENSOR

FEATURES

- * High sensitivity to CH₄, Natural gas.
- * Small sensitivity to alcohol, smoke.
- * Fast response .
- * Stable and long life
- * Simple drive circuit

APPLICATION

They are used in gas leakage detecting equipments in family and industry, are suitable for detecting of CH₄, Natural gas. LNG, avoid the noise of alcohol and cooking fumes and cigarette smoke.

SPECIFICATIONS

A. Standard work condition

Symbol	Parameter name	Technical condition	Remarks
V _c	Circuit voltage	5V±0.1	AC OR DC
V _H	Heating voltage	5V±0.1	AC OR DC
P _L	Load resistance	20K Ω	
R _H	Heater resistance	33 Ω ± 5%	Room Tem
P _H	Heating consumption	less than 750mw	

B. Environment condition

Symbol	Parameter name	Technical condition	Remarks
Tao	Using Tem	-10℃-50℃	
Tas	Storage Tem	-20℃-70℃	
R _H	Related humidity	less than 95%Rh	
O ₂	Oxygen concentration	21%(standard condition)Oxygen concentration can affect sensitivity	minimum value is over 2%

C. Sensitivity characteristic

Symbol	Parameter name	Technical parameter	Remark 2
R _s	Sensing Resistance	10K Ω - 60K Ω (1000ppm CH ₄)	Detecting concentration scope: 200-10000ppm CH ₄ , natural gas
α (1000ppm/5000ppm CH ₄)	Concentration slope rate	≤0.6	
Standard detecting condition	Temp: 20℃ ± 2℃ Humidity: 65%±5%	V _c : 5V±0.1 V _H : 5V±0.1	
Preheat time	Over 24 hour		

D. Strucyure and configuration, basic measuring circuit

TEL: 86-371-67169080

FAX: 86-371-67169090

E-mail: sales@hwsensor.com

Structure and configuration of MQ-4 gas sensor is shown as Fig. 1 (Configuration A or B), sensor composed by micro Al_2O_3 ceramic tube, Tin Dioxide (SnO_2) sensitive layer, measuring electrode and heater are fixed into a crust made by plastic and stainless steel net. The heater provides necessary work conditions for work of sensitive components. The enveloped MQ-4 have 6 pin ,4 of them are used to fetch signals, and other 2 are used for providing heating current.

Electric parameter measurement circuit is shown as Fig.2

E. Sensitivity characteristic curve

Fig.2 sensitivity characteristics of the MQ-4

Fig.4 is shows the typical dependence of the MQ-4 on temperature and humidity.

Ro: sensor resistance at 1000ppm of CH_4 in air at 33%RH and 20 degree.

Rs: sensor resistance at 1000ppm of CH_4 in air at different temperatures and humidities.

SENSITIVITY ADJUSTMENT

Resistance value of MQ-4 is difference to various kinds and various concentration gases. So, When using this components, sensitivity adjustment is very necessary. we recommend that you calibrate the detector for 5000ppm of CH_4 concentration in air and use value of Load resistance (R_L) about 20K Ω (10K Ω to 47K Ω).

When accurately measuring, the proper alarm point for the gas detector should be determined after considering the temperature and humidity influence.