



Universidad  
**Mariana**

Aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica proveniente de la plaza de mercado El Potrerillo  
para la producción de hidrógeno verde por medio de fermentación oscura

Cristhian Alexis Guapucal Castañeda

Fredy Alexander Jiménez Taticuan

William David Gavilanes Ortega

Universidad Mariana

Facultad de Ingeniería

Programa de Ingeniería Ambiental

San Juan de Pasto

2024

Aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica proveniente de la plaza de mercado El Potrerillo  
para la producción de hidrógeno verde por medio de fermentación oscura

Cristhian Alexis Guapucal Castañeda

Fredy Alexander Jiménez Taticuan

William David Gavilanes Ortega

Proyecto de investigación para optar al título de Ingenieros ambientales

Mg. Juan Carlos Narváez Burgos

Asesor

Universidad Mariana

Facultad de ingeniería

Programa de ingeniería ambiental

San Juan de Pasto

2024

|

Artículo 71: los conceptos, afirmaciones y opiniones emitidos en el Trabajo de Grado son responsabilidad única y exclusiva del (los) Educando (s)

Reglamento de Investigaciones y Publicaciones, 2007  
Universidad Mariana

|

## **Dedicatoria**

Agradecemos a Dios por habernos permitido culminar este proyecto de manera exitosa. A nuestras familias, queremos expresarles nuestro más profundo reconocimiento por su apoyo constante y su respaldo inquebrantable durante toda nuestra carrera, siempre incentivando a ser los mejores profesionales.

A nuestros padres, quienes no descansaron ni un momento para brindarnos la educación, el cariño, los sabios consejos y la fortaleza que necesitamos a lo largo de este tiempo, les debemos todo, su dedicación y amor han sido el pilar fundamental en nuestras vidas. A nuestros hermanos, les agradecemos por su admiración y apoyo, permitiéndonos preservar los valores y la moral necesarios para alcanzar nuestras metas.

A nuestros compañeros, amigos y colegas, gracias por dejarnos ser parte de sus vidas, por compartir con nosotros los mejores momentos, las tristezas y las historias ganadas, así como todas las experiencias y lecciones aprendidas. Finalmente, a la Universidad Mariana por conferir todo el conocimiento de educación superior y en general a todas y cada una de las personas que han sido parte de este proceso, que nos han acompañado en cada paso y que reconocen el esfuerzo empleado para alcanzar este objetivo, les extendemos nuestro más sincero agradecimiento. Su colaboración y presencia han sido esenciales para lograr esta meta en nuestras vidas.

|

## **Contenido**

Introducción .....	11
1. Resumen del proyecto.....	13
1.1. Descripción del problema .....	14
1.1.1. Formulación del problema .....	16
1.1.2. Formulación de la pregunta de investigación.....	16
1.1.3. Formulación de la hipótesis.....	17
1.2. Justificación.....	17
1.3. Objetivos .....	19
1.3.1. Objetivo general .....	19
1.3.2. Objetivos específicos.....	19
1.4. Marco referencial o fundamentos teóricos.....	19
1.4.1. Antecedentes.....	19
1.4.1.1. Internacionales. ....	19
1.4.1.2. Nacionales. ....	20
1.4.1.3. Regionales. ....	21
1.4.2. Marco teórico.....	23
1.4.2.1. Residuos sólidos (RS). ....	23
1.4.2.2. Energía de la biomasa. ....	23
1.4.2.3. Hidrógeno. ....	23
1.4.2.4. Fermentación oscura. ....	24
1.4.2.5. Inóculo.....	25
1.4.2.6. Arranque de reactor anaerobio.....	25
1.4.2.7. pH en el medio.....	25
1.4.2.8. Temperatura.....	26

1.4.2.9. Microorganismos. ....	26
1.4.2.10. Proceso anaerobio. ....	27
1.4.2.11. Ácidos Grasos Volátiles (AGV). ....	27
1.4.3. Marco contextual ....	27
1.4.4. Marco legal.....	29
1.4.4.1. Normativa Internacional.....	29
1.4.4.2. Normativa Nacional ....	29
1.4.4.3. Normativa Regional ....	29
1.4.5. Marco Ético ....	31
1.5. Metodología ....	31
1.5.1. Paradigma de investigación ....	32
1.5.2. Enfoque de investigación.....	32
1.5.3. Tipo de investigación ....	33
1.5.4. Población y muestra / Unidad de trabajo y unidad de análisis ....	33
1.5.5. Técnica e instrumentos de recolección de información ....	33
1.5.5.1. Las técnicas de investigación. ....	34
1.5.5.1.1. La técnica de observación ....	34
1.5.5.2. Instrumentos de investigación. ....	35
1.5.5.2.1. Diseño metodológico de la investigación.....	35
1.5.5.2.2. Diseño experimental.....	37
1.5.5.2.3. Caracterización fisicoquímica. ....	40
1.5.5.2.4. Obtención y caracterización de inóculos utilizados. ....	41
1.5.5.2.5. Diseño del reactor. ....	42
2. Presentación de resultados ....	43

2.1 Caracterización fisicoquímica de la biomasa generada en la plaza de mercado El Potrerillo.	43
2.1.1. Obtención de residuos generados en la plaza de mercado El Potrerillo. ....	43
2.1.2. Caracterización fisicoquímica. ....	47
2.2. Implementación de reactores experimentales para fermentación oscura. ....	52
2.2.1. Diseño de los reactores. ....	52
2.2.2. Caracterización fisicoquímica de los inóculos. ....	56
2.2.3. Siembra de sustrato e inóculo. ....	60
2.2.4. Implementación de reactores en piscina de calefacción. ....	61
2.2.5. Descripción de las series de tiempo en el proceso de generación de H <sub>2</sub> . ....	63
2.2.5.1. pH. ....	63
2.2.5.2. Temperatura interna y externa. ....	65
2.2.5.3 Diferencia entre los tratamientos. ....	68
2.2.5.3.1. pH. ....	68
2.2.5.3.2. Temperatura interna. ....	72
2.2.5.4. Correlación entre pH y Temperatura. ....	76
2.3. Análisis de producción de hidrógeno verde a partir del gas generado en la fermentación oscura.	80
2.3.1. Descripción de la generación de H <sub>2</sub> . ....	80
2.3.2. Diferencias en la producción de H <sub>2</sub> entre los reactores. ....	83
2.3.3. Correlación de variables determinantes para la producción de H <sub>2</sub> . ....	85
2.3.4. Tamaño del efecto de la producción de H <sub>2</sub> . ....	89
3. Conclusiones	93
4. Recomendaciones	97
Referencias bibliográficas	99
Anexos	107

|

## **Índice de Tablas**

Tabla 1. Descripción metodológica .....	36
Tabla 2. Diseño de experimentos.....	38
Tabla 3. Estadística descriptiva de los residuos encontrados .....	44
Tabla 4. Matriz de clasificación, separación y cuantificación de los residuos orgánicos más encontrados .....	46
Tabla 5. Caracterización fisicoquímica de los residuos más encontrados.....	49
Tabla 6. Caracterización elemental de los 4 Kg de sustrato .....	50
Tabla 7. Caracterización fisicoquímica de los inóculos.....	55
Tabla 8. Caracterización elemental de los inóculos .....	57
Tabla 9. Sumatoria de la mezcla sustrato e inóculos.....	58
Tabla 10. Datos iniciales para el proceso de fermentación .....	61
Tabla 11. Estadística descriptiva del pH .....	63
Tabla 12. Estadística descriptiva de temperatura .....	65
Tabla 13. Normalidad de pH y temperatura .....	75
Tabla 14. Correlación de spearman de pH y temperatura . .....	75
Tabla 15. Estadística descriptiva de la producción de H <sub>2</sub> .....	80
Tabla 16. Normalidad de hidrógeno .....	85
Tabla 17. Correlación de pH e hidrógeno .....	85
Tabla 18. Correlación de Temperatura e hidrógeno .....	86
Tabla 19. Tamaño de efecto de la producción de H <sub>2</sub> en los reactores .....	89

|

## **Índice de Figuras**

Figura 1. Zona de estudio.....	28
Figura 2. Diagrama de diseño de experimentos.....	40
Figura 3. Método de cuarteo utilizado.....	43
Figura 4. Acumulado de residuos encontrados en la plaza de mercado El Potrerillo .....	44
Figura 5. Gráfica de promedio y distribución de los residuos más encontrados .....	46
Figura 6. Composición elemental de los residuos más encontrados .....	51
Figura 7. Diseño del reactor tipo Batch.....	53
Figura 8. Modelo de los reactores de fermentación oscura .....	54
Figura 9. Gráfica de comportamiento y tendencia del pH .....	62
Figura 10. Comportamiento y tendencia de la temperatura .....	65
Figura 11. Comparación de pH en reactores .....	68
Figura 12. Dispersión de pH en reactores .....	68
Figura 13. Diferencias de pH entre reactores .....	70
Figura 14. Comparación de temperatura interna en reactores .....	71
Figura 15. Dispersión de temperatura en reactores .....	72
Figura 16. Diferencia entre temperatura interna de los reactores .....	74
Figura 17. Gráfica de comportamiento y tendencia del hidrógeno .....	80
Figura 18. Comparación de hidrógeno en reactores .....	82
Figura 19. Dispersión de hidrógeno en reactores .....	83
Figura 20. Diferencia entre hidrógeno de los reactores .....	84

|

## **Índice de Anexos**

Anexo A. Punto de recolección .....	106
Anexo B. Método de cuarteo .....	106
Anexo C. Pesaje de residuos .....	107
Anexo D. Modelo de reactor para fermentación oscura .....	107
Anexo E. Laguna anaerobia PTAA .....	108
Anexo F. Adición de inóculo .....	108
Anexo G. Medición de pH .....	109
Anexo H. Montaje de reactores en piscina.....	109

|

## **Introducción**

A lo largo de la historia humana, la relación entre la especie y el medio ambiente ha experimentado transformaciones significativas. Desde el nomadismo del Paleolítico hasta el sedentarismo actual impulsado por la Revolución Agrícola (Colmer & Gallardo, 2007). Estas transiciones han dejado una huella indeleble en los ecosistemas. Más de 250 arqueólogos coinciden en que el período de cazadores-recolectores y los inicios de la agricultura, hace aproximadamente 5000 años, marcaron el inicio de los impactos antrópicos que alteraron las condiciones terrestres (Rodríguez, 2022).

El crecimiento exponencial de los asentamientos urbanos, paralelo al aumento de la población y el desarrollo industrial, ha intensificado los efectos negativos sobre el medio ambiente. Esta realidad, junto al inconformismo social y los avances científico-tecnológicos, ha impulsado la conciencia sobre la necesidad de preservar los recursos naturales no renovables, esenciales para la supervivencia humana (Greenpeace, 2023).

La desolación causada por la Segunda Guerra Mundial motivó la creación de la Organización de las Naciones Unidas (ONU) en 1945, con el objetivo de prevenir futuros conflictos y promover el desarrollo humano en armonía con el medio ambiente. Organización de las Naciones Unidas (ONU, 2019). En 1972, la primera Cumbre de la Tierra en Estocolmo, Suecia, marcó un hito al reconocer la urgencia de abordar el cambio climático y mitigar sus impactos (ONU, 1972).

Desde entonces, se han realizado numerosas reuniones internacionales enfocadas en la protección ambiental y la transición hacia un modelo sostenible. En 2015, los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) adoptados por la ONU establecieron metas ambiciosas para erradicar la pobreza, proteger el planeta y garantizar paz y prosperidad para todas las personas en 2030 (ONU, 2015).

En este contexto histórico, el presente proyecto de investigación se centra en el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica proveniente de residuos orgánicos generados en la plaza de mercado El Potrerillo para la producción de hidrógeno verde (Vázquez, 2017). Esta iniciativa cobra relevancia ante la alarmante cifra de 11.200 millones de toneladas de Residuos Sólidos Urbanos

|

(RSU) generados anualmente a nivel global, de los cuales el 5% corresponden a la fracción orgánica, contribuyendo significativamente a las emisiones de Gases Efecto Invernadero (GEI) (ONU, 2022).

En el ámbito local, la Empresa Metropolitana de Aseo (EMAS by Veolia) gestiona la recolección y disposición final de residuos en Nariño, Putumayo y Cauca. Sin embargo, el potencial energético latente en estos desechos motivó a explorar su valorización mediante un proceso de fermentación oscura controlado (Corredor, 2018). El sensor MQ8 permitió la cuantificación del gas hidrógeno (H<sub>2</sub>) producido (Miranda, 2021).

La caracterización fisicoquímica de los residuos y la utilización de tres inóculos diferentes (estiércol de cerdo, lodos de la laguna anaerobia del Parque Tecnológico Ambiental Antanas (PTAA) y del frigorífico Frigovito) permitieron optimizar la actividad microbiana y maximizar la producción de hidrógeno verde (Fuentes, 2022).

Los resultados obtenidos evidenciaron que el reactor inoculado con lodos del Parque tecnológico Ambiental Antanas (PTAA) presentó la mayor producción de hidrógeno. El proceso detallado en este documento invita al lector a profundizar en el potencial de esta investigación para la valorización energética de residuos orgánicos y la producción de hidrógeno verde como fuente de energía renovable y sostenible.

|

## **1. Resumen del proyecto**

El presente proyecto de investigación se centra en el área de las energías renovables, con el objetivo de aprovechar los residuos orgánicos generados en la plaza de mercado El Potrerillo. Estos residuos son transportados por un vehículo recolector de EMAS by Veolia hasta el sitio de disposición final conocido como Parque Tecnológico Ambiental Antanas (PTAA). EMAS, Empresa Metropolitana de Aseo, se encarga de la recolección de los residuos sólidos de 44 municipios del departamento de Nariño, además de otros municipios de Cauca y Putumayo.

La propuesta se enfoca en la valorización de los residuos orgánicos mediante un proceso de fermentación oscura, donde un consorcio de microorganismos degrada la materia orgánica a través de un proceso de digestión anaerobia. Para potenciar la degradación, se utilizaron inóculos provenientes de diferentes fuentes: estiércol de cerdo, lodos de la laguna de lixiviación del PTAA (Cury, 2017) y lodos de laguna del Frigorífico Frigovito SA (Jiménez, 2020).

El biogás resultante de la fermentación presenta una mayor concentración de metano ( $\text{CH}_4$ ) debido a la acción de bacterias metanogénicas en la última fase de la digestión. Para fines prácticos del proyecto, se implementó un agente buffer con el fin de regular las condiciones de pH y así inhibir la producción de metano (Mata-Alvarado et al., 2014). Es preciso aclarar que, se debe evitar llegar al punto de producción de metano (fase metanogénica) pues es donde se presentan reacciones bioquímicas redox que conllevan electrones para el paso reductivo los cuales son obtenidos de la oxidación hidrógeno, es decir un gasto de la materia que se desea obtener. (Sosa, Galindo, Bocourt, et al., 2007).

Adicionalmente, para garantizar el desarrollo óptimo de los microorganismos, los reactores se dispusieron en un medio a temperatura controlada entre 25 y 30 °C. Se ha comprobado que, en condiciones mesófilas, los microorganismos presentan una mayor interacción con el sistema, y por tanto generan una mayor cantidad de biogás en un menor lapso (Mata-Alvarado et al., 2014).

## **1.1. Descripción del problema**

El crecimiento demográfico mundial llegó a 8000 millones de personas en noviembre de 2022 (ONU, 2022), lo que a su vez ha provocado un aumento exponencial de la demanda de materia prima utilizada para transformarse productos y servicios, generando impactos ambientales negativos como el cambio climático, provocado por las emisiones de gases efecto invernadero (GEI) a la atmósfera, la degradación de la cobertura vegetal, el cambio de las características del suelo y demás (AEMA, 2019). Dichos productos y servicios cumplen un ciclo que muchas veces no se renueva terminando en un punto, es ahí donde se revela la problemática con la sobreproducción y posterior generación de residuos sólidos que no son reutilizados o no se aprovechan sus características en su totalidad. La inminente alteración al bienestar humano provocó que, en 2015, se planteara, en el acuerdo de París, un objetivo primordial en el que se busca limitar el incremento de la temperatura global 2°C más y esforzarse por no superar los 1,5°C; sin embargo, por las actividades antrópicas insostenibles la temperatura planetaria ha incrementado gradualmente hasta 1,1°C (Naciones Unidas, 2015).

En la COP 26 realizada en Glasgow se plantearon fundamentos científicos, soluciones, la voluntad política de tomar medidas y las indicaciones claras para la acción por el clima. En la cumbre se destacó la urgencia de disminuir las emisiones de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) en un 45 % para alcanzar emisiones netas cero a mediados de siglo (Naciones Unidas, 2021). se considera que la emisión solo en el transporte o energía conlleva el 37% y los RSU como tal el 7% según estudios de proyección Arellano et al., 2015. Posteriormente en la COP 27 realizada en Sharm el-Sheikh, Egipto, en noviembre de 2022, se llegó a un acuerdo universal en cuanto a actuaciones inmediatas para la mitigación de las crisis ambientales que se viven actualmente y a las que se encamina el planeta (ONU, 2022).

En la última conferencia de las partes, COP 28, celebrada en Dubái (Emiratos Árabes Unidos), se realizó un llamamiento a alejarse de los combustibles fósiles de manera definitiva. El secretario ejecutivo de las Naciones Unidas declaró que "Aunque en Dubái no hemos pasado página a la era

|

de los combustibles fósiles, este es el principio del fin". Además, el secretario general de la ONU, Antonio Gutiérrez afirmó que "Para conseguir lo planteado en el acuerdo de París en 2015, en lo concerniente al límite permisible de incremento de la temperatura global, es imprescindible eliminar progresivamente los combustibles fósiles". En dicha COP se lograron entablar compromisos para triplicar la capacidad de las energías eléctricas renovables y duplicar la eficiencia energética para 2030 (ONU, 2023).

Existen seis tipos de gases efecto invernadero (GEI) a nivel global, entre los cuales se encuentran el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), que se emana en mayor proporción, con el 80%, convirtiéndolo en el mayor contaminante del planeta; seguido del CO<sub>2</sub> se encuentra el metano (CH<sub>4</sub>) generado a partir de la descomposición de la materia orgánica con trazas de 11% de las emisiones. El CH<sub>4</sub> posee un poder calorífico mayor que el del CO<sub>2</sub> por lo que una tonelada de metano es igual a emitir 21 toneladas de dióxido de carbono; y otros gases con trazas menores como el óxido nitroso (6%), los hidrofluorocarburos (2%), perfluorocarburos (PFCs), mezcla inespecífica de PFCs y HFCs, hexafluoro de azufre (SF<sub>6</sub>) y trifluoruro de nitrógeno (< 0.2%), (Agencia Europea de Medio Ambiente 2019).

En el mundo se recolectan alrededor de 11.200 millones de toneladas de Residuos Sólidos Urbanos (RSU) al año, de los que el 44 % corresponde a residuos orgánicos y el 38 % a reciclables secos, como el plástico, papel y cartón, metales y vidrios. Por el crecimiento de población se estima que pueden llegar a generar 3400 millones de toneladas de residuos en 2050 (World Bank Group et al., 2018). En 2019, para Colombia la tasa de reciclaje se acercó al 11,82 % y la materia orgánica producida en mayores proporciones no es aprovechable por la baja media de clasificación en los hogares, 39% en todo el país y 42,2% en las cabeceras municipales (DANE, 2020) (DNP, 2022).

La demografía nacional estima que el total de personas que habitan el territorio colombiano son 48.258.494 (censo DANE, 2018). Inevitablemente cada habitante genera residuos, que provocan repercusiones a la atmósfera, el agua y/o el suelo según corresponda el caso. El inventario de emisiones realizado por Ecopetrol determinó que el total de GEI, para el año 2021 fue de

|

10.869.936 tCO<sub>2</sub>e al año, presentando una disminución con respecto a los años anteriores 2018, 2019, 2020, esto en concordancia con el cumplimiento de la meta de disminución del 50% de emisiones nocivas que aportan al cambio climático (Ecopetrol, 2022).

A nivel nacional, el Ministerio de Minas y Energías a través de la ministra de minas, Irene Vélez (2024), anunció la hoja de ruta que será el primer paso para la construcción de la transición energética en el país a través de análisis técnicos, de la normatividad existente, como la Ley 2099 de 2021 y el Conpes 4075 de 2022. Vélez afirmó que el proceso contempla una etapa detallada de planeación, que se realizará en seis meses, y abordará temas como cualificación laboral de los trabajadores asociados al sector minero energético y la transición productiva.

### ***1.1.1. Formulación del problema***

La problemática se centra en el desaprovechamiento de una fuente energética sostenible con sentido integral en cuanto al cumplimiento de los objetivos de desarrollo sostenible, como: energía asequible y no contaminante, ciudades y comunidades sostenibles, producción y consumo responsables y acción por el clima. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD, 2015). En este sentido, aprovechar los residuos orgánicos para producir hidrógeno es una iniciativa que beneficia la reducción de los GEI y de la cantidad de residuos transportados para la disposición final (Mata-Alvarado et al., 2014).

La obtención de hidrógeno (H<sub>2</sub>) conlleva un proceso complejo porque este gas no está en la naturaleza, y, su captación en el proyecto de investigación requirió el control de factores como el pH y la temperatura interna y externa. Además, las trazas de H<sub>2</sub> no habrían sido significativas sin emplear inóculos que propicien el desarrollo microbiano efectivo en la fase acetogénica, donde los microorganismos desprenden moléculas de dicho gas, para conseguir un equilibrio (IRENA, 2023)

### ***1.1.2. Formulación de la pregunta de investigación***

|

¿Cuál es el efecto del inóculo en el proceso de fermentación oscura, para producción de hidrógeno verde, utilizando la biomasa de la plaza de mercado El Potrerillo?

### ***1.1.3. Formulación de la hipótesis***

Para conocer sobre el cumplimiento o no de la investigación planteada se formuló la hipótesis: “El mayor efecto del inóculo sobre el sustrato para la producción de biogás lo proporciona los lodos colectados de Antanas, con un 20% de más producción de hidrógeno”

## **1.2. Justificación**

De acuerdo con la Convención Marco de Naciones Unidas para el Cambio Climático (CMNUCC, 1992), se han realizado 28 Conferencias de las Partes (COP) siendo estos de carácter internacional, destacando entre estos el COP 3 “protocolo de Kioto” (Naciones Unidas 1998) y COP21 “Acuerdo de París” donde se planteó como objetivo principal la lucha contra el cambio climático, destacando la reducción de emisiones de Gases Efecto Invernadero (GEI), para evitar el incremento que la temperatura planetaria se aproxime a 2 °C donde han sido constantes en la búsqueda de la transición energética y utilización de recursos renovables sostenibles (Naciones Unidas, 2015). En las tres últimas conferencias de las Naciones Unidas sobre cambio climático (COP 26, 27 y 28), se reafirmó el objetivo del acuerdo de París, además de subrayar la importancia de eliminar progresivamente el aprovechamiento de combustibles fósiles y el cambio por energía sostenible, para alcanzar las emisiones netas cero en mediados del siglo. (Naciones Unidas, 2021).

A nivel nacional, la ley 99 de 1993, por la cual se creó el ministerio de ambiente y desarrollo sostenible (MADS), el sistema nacional ambiental (SINA), las corporaciones autónomas regionales (CAR) y las de desarrollo sostenible, como autoridades ambientales encargadas de la conservación medioambiental mediante normativas que involucran los sectores socio económicos del país como la fracción susceptible de control y regulación para el desarrollo progresivo y sostenible. En el mismo se enfatiza la necesidad de los deberes y derechos conferidos en la constitución política de

1991 en torno al cuidado del territorio, en aras de la prevención, preservación, mitigación, recuperación, restauración, entre otras. (Ministerio de Ambiente, 1993).

La investigación se centra en los residuos sólidos urbanos (RSU) y su impacto en el cambio climático al degradarse. El CONPES 3874 de 2016 estableció una política para la gestión integral de los RS, promoviendo el cambio hacia una economía circular que reintegre los desechos como recursos útiles en los ámbitos social, económico, ambiental y sanitario. Para ello, se ampliaron las responsabilidades del productor en la prevención, aprovechamiento y disposición final adecuada de los residuos, y se impulsaron programas de separación en la fuente para reducir los residuos enviados a los rellenos sanitarios. Departamento Nacional de Planeación (DNP, 2016)

La gran producción per cápita de RS y su mal manejo en su disposición final conlleva al deterioro de la calidad de vida de las personas y del medio a su alrededor, ya que se convierten en focos de contaminación. En ese orden de ideas, el posible aprovechamiento de estos residuos como estrategia de economía circular vislumbra la oportunidad de obtener hidrógeno verde o bio-hidrógeno por el proceso de fermentación oscura para el aprovechamiento de la biomasa (Contreras, 2022). De esta manera, se buscó contribuir con la ley 2099 de 2021 la cual trata sobre la transición energética, la dinamización del mercado y la reactivación económica del país; esta ley reconoce al hidrógeno verde y azul como una fuente no convencional de energía renovable, la cual puede obtenerse por diferentes procedimientos bioquímico, fotoquímico, hidrólisis entre otros. Además, teniendo en cuenta el CONPES 4075 de 2022, en el que se plantea la política de transición energética (Mendoza, 2020).

Por esto, se espera que los residuos orgánicos que se generan en la plaza de mercado Potrerillo en Pasto-Nariño puedan usarse en un modelo de producción de hidrógeno a escala piloto en laboratorio, con lo que se podrá identificar la viabilidad de uso de este gas para reducir las emisiones de gases efecto invernadero (Simón-Martín, 2021), acorde a lo planteado con los objetivos estipulados a nivel global y nacional en la transición energética sostenible (Lagos, 2019).

|

### **1.3. Objetivos**

#### ***1.3.1. Objetivo general***

Evaluar el efecto del inóculo en el proceso de fermentación oscura, para la producción de hidrógeno verde, utilizando la biomasa de la plaza de mercado El Potrerillo.

#### ***1.3.2. Objetivos específicos***

- Caracterizar fisicoquímicamente la biomasa de la plaza de mercado El Potrerillo.
- Implementar el reactor de fermentación oscura a partir de un modelo de análisis factorial.
- Analizar la cantidad de hidrógeno verde presente en el biogás, resultado del proceso de fermentación oscura.

### **1.4. Marco referencial o fundamentos teóricos**

#### ***1.4.1. Antecedentes***

##### **1.4.1.1. Internacionales.**

• (Vásquez et al, 2020) en la tesis denominada “producción de hidrógeno mediante fermentación oscura” planteó una revisión sistemática relacionada con los datos obtenidos de 62 artículos científicos relacionados con la cuantificación del gas hidrógeno desprendido de los procesos de degradación anaerobia de la materia orgánica proveniente de los residuos sólidos orgánicos. El tipo de investigación es descriptivo, por lo cual se planteó obtener información sobre estudios realizados por diferentes autores centralizados a esta temática; para ello, se tuvieron en cuenta las categorías y subcategorías de los tipos de sustrato. La producción de hidrógeno fue de 236 mol H<sub>2</sub>/mol lactato; condiciones operativas como el pH (5 a 6), la temperatura (37°C en condiciones mesofílicas y 80°C en termofílicas), el tiempo de retención hidráulico (24h), la

|

demanda química de oxígeno (83 g/L); los tipos de reactores utilizados como reactores UASB, AFBR, FPPBR, CSTR, FBR; y el pretratamiento con ácidos diluidos, congelamiento, térmico y ultrasónico.

- (Cisneros & Bustamante, 2021). propusieron el desarrollo de un modelo basado en el individuo (IBM) para la producción de metano e hidrógeno a partir de los lodos residuales provenientes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) en condiciones mesofílicas y termofílicas. Para ello utilizaron el software Netlogo 6.1.1, con el que se pueden simular sistemas complejos que evolucionan con el tiempo, en base a los modelos INDISIM-DA-H<sub>2</sub> e INDISIM - DA-CH<sub>4</sub>, con los cuales se estudió la actividad microbiana de los grupos fermentativos, acetogénicos, metanogénicos y sulfato-reductores de la digestión anaerobia. Mediante la fermentación de lodos residuales se obtuvo un rendimiento de gas hidrógeno de 10.6 ml/g de sólidos volátiles (SV) a 37°C de temperatura, y a 55°C la producción de H<sub>2</sub> aumentó a 93.7 ml/g SV.

#### **1.4.1.2. Nacionales.**

- (Moreno-Cárdenas, et al, 2014), en su idea de investigación titulada “Análisis de la producción de hidrógeno por fermentación anaerobia de residuos orgánicos urbanos” planteó mediante la utilización de tres herramientas matemáticas que optimizan y modelan los bioprocesos multivariantes no lineales (superficie de respuesta múltiple, Algoritmo genético y lógica difusa), la cuantificación del hidrógeno molecular desprendido por acción de la degradación de la materia orgánica en condiciones anaerobias en 10 test realizados sin la adición de inóculo, sin agitación y en condiciones mesófilas; teniendo en cuenta factores como el pH óptimo para inhibir la metanogénesis, el tiempo de acidificación, el pH operacional y la carga orgánica, esperando como respuesta la máxima producción de hidrógeno (L/día) y el máximo contenido de hidrógeno (%).

Para el trabajo se realizaron biorreactores de 2000L, a los que se les añadieron mezclas heterogéneas de 550+/- 20 Kg de sustrato compuesto principalmente de residuos de frutas, cítricos

|

y hortalizas con una adición de agua en proporción 1:2, representando un 70% del volumen del reactor ocupado. Cuando el tiempo de acidificación se completó se adiciono cal agrícola (CaO 54%) hasta que se estabilizó con lo correspondiente a cada prueba. El mejor resultado de máximo contenido de hidrógeno y máxima producción se presentó en la prueba 8 con un contenido de 18% y una producción de 33,6 L/día.

- En el artículo denominado “principales rutas en la producción de hidrógeno” (Brijaldo et al, 2021) pretende mostrar los avances realizados en la producción de hidrógeno en los últimos 7 años. Teniendo en cuenta investigaciones de rutas tradicionales (Bioquímicas, termoquímicas, electroquímicas y fotoquímicas)

Existe una gran variedad de mecanismos para la obtención de hidrógeno a partir de la biomasa (Galán, 2016). Diversos autores han planteado procesos de fermentación, como la fermentación oscura, la foto fermentación, la fermentación micro aerobia oscura y la electrólisis microbiana. Cabe aclarar que, al aumentar la densidad de esta biomasa, entonces se aumenta el número de biocombustibles y el producto de valor añadido, con lo cual en buena medida mejora el rendimiento y composición de los productos de pirólisis (Sanchez-Hervas, 2023).

En un estudio, Wong y Col. exploraron la presencia de nitrato para mejorar la generación de hidrógeno desde la fermentación oscura de lodos activados, determinó que la presencia de nitrato promovía la solubilización, y causaba una mayor inhibición en los procesos de consumo de hidrógeno que en los de producción. Con lo anterior, la producción máxima de hidrógeno de la fermentación ácida (pH 5.5) de residuos de lodos activados aumentaba de  $12.6 \pm 0.5$  a  $19.3 \pm 0.9$  mL por gramo de sólidos suspendidos volátiles.

#### **1.4.1.3. Regionales.**

- (Enríquez & Pérez, 2021) Realizaron un análisis del potencial de producción de biohidrógeno a partir de agua residual agroindustrial del café, caso de estudio: vereda Matarredonda,

Chachagüí, Nariño. Para ello caracterizaron muestras de agua residual agroindustrial provenientes del lavado del café de manera artesanal, al cual se le implementó un sensor de producción de hidrógeno calibrado con un voltímetro de Hoffman. Después de 32 días se obtuvo que el valor de generación máximo de hidrógeno en las muestras fue de 202 ppm (López, 2021). Además, se realizó la diferencia de los carbohidratos iniciales y finales, sobre las partes por millón de producción de H<sub>2</sub>, con lo que el hidrógeno generado en este tipo de aguas fue de 3.607 H<sub>2</sub>/L de mucílago al día.

- **(Rodríguez-López et al, 2022)** En este estudio, se realiza una revisión sistemática de la literatura sobre el potencial de producción de biogás a partir de residuos de café en Colombia. Se analizaron 25 artículos publicados entre 2010 y 2021, que evaluaron la composición de los residuos de café, las condiciones de digestión anaeróbica y la producción de biogás. Los resultados muestran que los residuos de café tienen un alto potencial para la producción de biogás, con un rendimiento promedio de 400-600 L/kg de materia seca. Se identificaron varios factores que afectan la producción de biogás, como la composición del sustrato, la temperatura de digestión, el tiempo de retención hidráulica y la relación C/N. Se concluye que la producción de biogás a partir de residuos de café es una alternativa viable para la generación de energía renovable y la gestión de residuos en Colombia.
- Las investigaciones a nivel regional abarcan una amplia gama de temas, desde estudios socioeconómicos hasta avances científicos y tecnológicos específicos de la región. En el ámbito socioeconómico, se realizan investigaciones sobre el desarrollo económico local, la calidad de vida de la población, la educación y la salud pública. En cuanto a la ciencia y la tecnología, se llevan a cabo investigaciones en campos como la energía renovable, la agricultura sostenible, la conservación del medio ambiente y la biodiversidad. Además, se exploran temas relacionados con la cultura, la historia y las tradiciones locales, así como también se analizan cuestiones políticas y de gobernanza. Estas investigaciones contribuyen a comprender mejor los desafíos y oportunidades que enfrenta la región, así como a desarrollar soluciones innovadoras y adaptadas a sus necesidades específicas.

|

### **1.4.2. Marco teórico**

**1.4.2.1. Residuos sólidos (RS).** Son objetos, sustancias, materiales o elementos generados por causas antrópicas o naturales, que se degradan al entrar en contacto con el ambiente en condiciones aerobias o anaerobias mediante microorganismos como bacterias y hongos que los descomponen en compuestos más simples. El tiempo de degradación depende de los componentes del material (Gonzales, 2014).

**1.4.2.2. Energía de la biomasa.** Según Fernández, et al. (2003) “la biomasa es un conjunto heterogéneo de materias orgánicas en descomposición, dependiendo de su origen y naturaleza. La energía contenida en cada residuo vegetal se puede aprovechar como fuente de energía renovable”. Para obtener dicha energía, la vía biológica se presenta como la mejor opción. Bien sea en condiciones aerobias o anóxicas, el ciclo bioquímico puede ser controlado para obtener de la materia, el producto deseado (Romero, 2010). En relación con su estructura química, la biomasa se clasifica en triglicéridos, azúcar y almidón, y lignocelulósica; a los que, mediante un proceso de biorrefinería, se puede emplear para obtener productos con valor agregado (Romero, 2010).

Cuando se lleva a cabo la hidrólisis (rompimiento de polímeros), los compuestos orgánicos más simples pueden convertirse en energía, biocombustibles, biomateriales o sustancias químicas. Para la obtención de biocombustibles se emplea el pirólisis rápido, del cual se obtiene un bioaceite (Hincapié, 2017). Cabe aclarar que, por ejemplo, algunos de los subproductos que se usan para la obtención de estos aceites son producto del desecho de industrias, por este motivo, estos desechos pueden resultar beneficiosos (Compean, 2006), ya que, mediante un tratamiento químico puede generar biocombustible y gases como  $H_2$ ,  $CO_2$ ,  $CH_4$  e hidrocarburos que pueden utilizarse para producir calor (Yoplac, 2021).

**1.4.2.3. Hidrógeno.** En la mayoría de los casos se encuentra presente en la troposfera terrestre, puesto que reacciona rápidamente con otros componentes, formando compuestos más estables (Smith & Jones, 2023). La versatilidad energética de este gas provoca que sea utilizado a nivel

industrial para solventar procesos en los que se requiera grandes inyecciones de energía; además, su capacidad de almacenar la energía química sin interacción con carbonos provoca que su aprovechamiento sea potencialmente viable para obtener una economía sin emisiones de GEI (Smith & Jones, 2023).

Para la obtención de este gas se necesitan de reacciones químicas que puedan romper los enlaces que unen al hidrógeno con otros componentes. Entre los procesos más comunes está la electrólisis, que consiste en la separación del hidrógeno y el oxígeno del agua (H<sub>2</sub>O) (Smith & Jones, 2023). Otro de los métodos de generación es mediante la degradación de la materia orgánica por acción de los microorganismos en condiciones aerobias o anaerobias. Este último, en el que está enfocado la investigación, se genera en los procesos hidrolíticos, acidogénicos y acetogénicos que se llevan a cabo en la fermentación oscura (Blanco, 2017).

**1.4.2.4. Fermentación oscura.** De acuerdo con (Vásquez et al, 2020) la fermentación oscura permite obtener biogases producto de la degradación de diferentes residuos orgánicos en un ambiente sin oxígeno y en oscuridad perpetua.

Con relación al párrafo anterior, (Londoño & Chaparro, 2012) indican que “la generación de bioproductos a través de la fermentación oscura se logra principalmente por bacterias estrictamente anaerobias o anaerobias facultativas que consumen todos los azúcares lignocelulósicos”. En general, son especies del género *Clostridium* formadoras de esporas, facultativas de los géneros *Enterobacter* y *Bacillus*, algunas bacterias termofílicas y acidogénicas anaerobias provenientes de lodos; sin embargo, la más empleada es *Saccharomyces cerevisiae*. (Gómez, 2016)

En la fermentación se utiliza el ATP (adenosín trifosfato), una molécula orgánica de tipo nucleótido compuesta por un enlace covalente entre nucleótidos (moléculas compuestas por un azúcar de tipo pentosa y una base nitrogenada) y un grupo fosfato (PO). El ATP es la principal fuente de energía para la mayoría de los procesos y funciones celulares. funcionando como síntesis de macromoléculas complejas como el ADN y el ARN o las proteínas (Tangkam, 2008).

|

**1.4.2.5. Inóculo.** La real academia española (RAE, 2024) señala que “un inóculo es la pequeña cantidad de la sustancia que se inocula”. Es decir, se trata de introducir en un sistema una sustancia que contenga -en este caso singular- el consorcio de microorganismos que degradan el sustrato en condiciones anaerobias.

Según (Wang, et al, 2009) Para la obtención de H<sub>2</sub> se han empleado bacterias en cultivos puros y mixtos como inóculos que para el primer caso en su mayoría corresponden a especies del género *Clostridium* y *Enterobacter*, los primeros son bacilos gram-positivos estrictamente anaerobios y formadores de esporas, los segundos son bacterias gram-negativas y anaerobias facultativas. Por otra parte (Li & Fang, et al, 2007) afirman que cultivos mixtos de bacterias de lodos anaerobios, plantas de tratamiento, compost y el suelo se han empleado como inóculo para la producción de H<sub>2</sub>, debido a que estos son potencialmente más resistentes a cambios en las condiciones ambientales en relación con los cultivos puros.

**1.4.2.6. Arranque de reactor anaerobio.** El arranque de cualquier reactor anaerobio es lento, debido a la baja producción de biomasa en relación al sustrato consumido y se hace necesaria una inoculación, además, se debe tener en cuenta buenos inóculos adaptados. Pacheco, J. y Magaña, A. (2003) mencionan que “para asegurarse de la estabilidad de un reactor anaerobio se hace viable que exista un ambiente que permita la mejor actividad de la biomasa y que el tiempo de retención de sólidos sea adecuado, la variación de la temperatura, una sobrecarga orgánica causada por el aumento en la concentración y la entrada de compuestos tóxicos al reactor, son causas que rompen la estabilidad”.

**1.4.2.7. pH en el medio.** Este factor afecta el rendimiento de producción de hidrógeno, durante la producción de hidrógeno por fermentación oscura se podría evidenciar disminución gradual de este parámetro. Esto por la producción de ácidos orgánicos que agotan la capacidad amortiguadora del sistema obligándolo a reducir su nivel de pH (Khanal, et al., 2004). Según Dabrock, et al. (1992) se puede explicar la inhibición en la producción de hidrógeno en relación a la disminución del

|

parámetro en cuestión (pH) porque afecta a la actividad del hierro que contiene la enzima hidrogenasa e induce el desvío a rutas metabólicas que no conducen a la producción del gas.

Adicionalmente, el pH influye directamente en la actividad de las bacterias para la hidrogenasa y sus rutas metabólicas (Londoño & Chaparro, 2012); alterando el nivel de producción de H<sub>2</sub>. También se plantearon estudios comparativos con respecto al efecto del pH en la producción del gas, indicando que el rango de pH óptimo para lograr la máxima producción de H<sub>2</sub> está entre 4,5 y 6,0. En caso de que el pH se encuentre en un rango bajo (4,0 a 4,5) puede cambiar la ruta de producción de Hidrógeno a otros productos reducidos: lactato y alcoholes. (Girón & Pinzón, 2019).

**1.4.2.8. Temperatura.** El proceso de producción de hidrógeno por vía fermentativa, al igual que otros procesos biológicos, es fuertemente dependiente de la temperatura. El incremento de la temperatura en los sistemas biológicos suele estar asociada con mayores producciones y esto es debido a que la velocidad de reacción del proceso depende de la velocidad de crecimiento de los microorganismos involucrados que a su vez, depende de la temperatura. En muchos sistemas de producción de hidrógeno por vía fermentativa operan en los intervalos mesofílico (entre 30-35°C) y termofílico (entre 50-60 °C) (Angenent et al., 2004; Kapdan y Kargi, 2006; Akutsu et al., 2008; Lee et al., 2010)

**1.4.2.9. Microorganismos.** La temperatura es un parámetro físico de crecimiento que permite establecer una clasificación de los microorganismos, así entonces, los microorganismos capaces de crecer a temperaturas menores a 10°C se catalogan como psicrófilos, aquellos que se desarrollan entre los 10°C y 50°C se catalogan como mesófilos, los que proliferan entre los 50°C y 75°C se catalogan como termófilos y por último los hipertermófilos que se desarrollan a temperaturas superiores a 75°C (Navas, 2010). Según *Forero, L (2017)* estos organismos incorporaron diversas adaptaciones a diferentes factores ambientales tales como la composición de minerales y gases, pH, potencial reductor, la salinidad y la temperatura.

|

**1.4.2.10. Proceso anaerobio.** Retomando que la degradación anaerobia se lleva a cabo en ausencia de oxígeno; *Lorenzo, Y. Obaya, M. (2005)* confiere que, los microorganismos degradan la materia orgánica en sucesivas etapas y que además en la práctica ingenieril se acostumbra a considerar tres etapas para residuos sólidos o lodos (hidrólisis, acidogénesis, metanogénesis)

- **Hidrólisis.** En esta etapa los compuestos orgánicos son solubilizados por enzimas excretadas por bacterias hidrolíticas que además actúan en el exterior celular y denominándose exoenzimas. Es, por tanto, la conversión de los polímeros en sus respectivos monómeros.
- **Acidogénesis.** En esta etapa los compuestos orgánicos solubles que comprenden los productos de la hidrólisis son convertidos en ácidos orgánicos tales como acético, propiónico y butírico principalmente.
- **Acetogénesis.** Es una etapa importante en la presente investigación, se le conoce también como acidogénesis intermediaria, aquí los productos correspondientes son convertidos en ácido acético, hidrógeno y CO<sub>2</sub>.
- **Metanogénesis.** El CH<sub>4</sub> es producido a partir del ácido acético o de mezclas de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, pudiendo formarse también a partir de otros sustratos tales como ácido fórmico y metanol. El rol de las bacterias metanogénicas se define por el tipo de sustrato disponible.

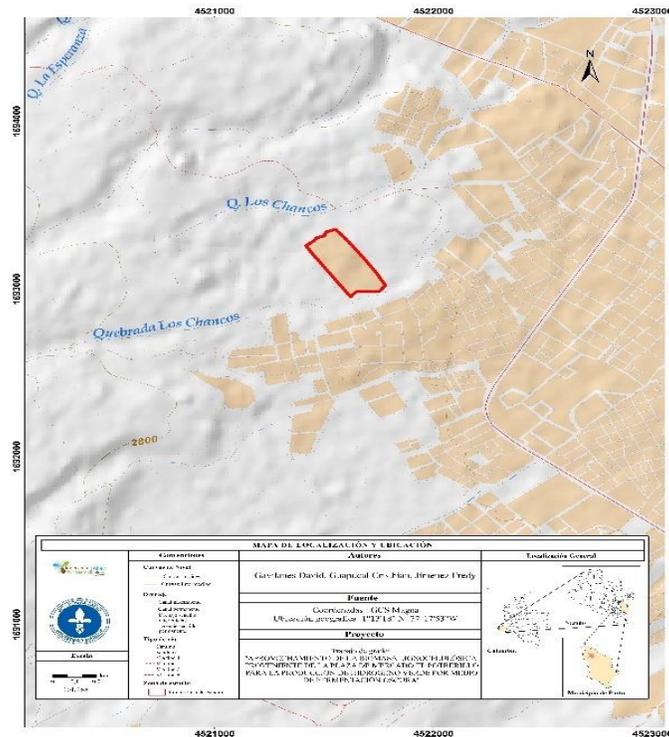
**1.4.2.11. Ácidos Grasos Volátiles (AGV).** Durante el proceso de fermentación la formación del hidrógeno se desarrolla adicionalmente la producción de AGV y de solventes (por ejemplo, el etanol). Estos son productos microbianos con características solubles. Las concentraciones de estos productos líquidos son reflejo del metabolismo de los microorganismos productores de hidrógeno. De ese modo, la distribución de AGV y solventes en la fase líquida son indicadores de la evolución de la producción del biogás. (Monteserín. V, 2013)

### ***1.4.3. Marco contextual***

Para el desarrollo de la investigación planteada se hizo uso del Campus Deportivo Alvernia (Figura 1) de la universidad Mariana donde quedan ubicados los bloques de laboratorio del alma mater, esta se encuentra ubicada a 1,2 km por la vía que conduce al corregimiento de Mapachico con coordenadas N1.219825, W-77.298831 en Pasto - Nariño. (Universidad Mariana, 2022) En estas instalaciones se dio solución a los objetivos específicos planteados anteriormente, para la ejecución de este se procederá a llevar las muestras del sustrato e inóculo clasificados a la sede de laboratorios (Gancedo, 2002), para tener el control completo de los procesos de degradación que se efectuarán en cada uno de los reactores de fermentación oscura. Los laboratorios son destinados principalmente al estudio de ramas ambientales como emisiones atmosféricas, también se llevan a cabo procesos químicos y de control de agua, la temperatura promedio registrada es de 12°C.

### Figura 1

Imagen Zona de Estudio



Fuente: Google Maps, 2024

|

#### **1.4.4. Marco legal**

Tanto a nivel nacional como internacional se han planteado diversas normativas en pro del bienestar humano y del ambiente; además, la transición energética en cumplimiento de los objetivos del milenio hace hincapié en lo que se planteó en esta investigación. Con lo anterior se tiene:

##### **1.4.4.1. Normativa Internacional**

- La Organización de las Naciones Unidas (ONU) establece tratados y convenciones internacionales en una amplia gama de temas, incluidos los derechos humanos, el medio ambiente, la seguridad, etc.
- La Organización Mundial del Comercio (OMC) establece regulaciones comerciales internacionales.
- La Organización Internacional del Trabajo (OIT) establece estándares laborales internacionales.
- Los Tratados y Convenciones Internacionales

##### **1.4.4.2. Normativa Nacional**

- La Constitución política de 1991 establece los principios fundamentales y la estructura del gobierno en un país; entre ellos el artículo 79 y 80, concerniente al ámbito ambiental y social.
- Las leyes son promulgadas por el poder legislativo del país y cubren una amplia gama de temas, desde el derecho penal hasta el derecho civil y el derecho laboral.
- Las Regulaciones Administrativas establecidas por agencias gubernamentales para detallar cómo se implementarán las leyes.

##### **1.4.4.3. Normativa Regional**

|

- La Unión Europea (UE) tiene su propio sistema legal que opera junto con los sistemas legales nacionales de sus estados miembros.
- MERCOSUR (Mercado Común del Sur) establece regulaciones para el comercio y la cooperación entre los países miembros.
- La Organización de los Estados Americanos (OEA) Promueve la cooperación y los acuerdos entre los países americanos.

De este modo, la normativa nacional que tiene mayor relevancia para fines de la presente investigación; aquí se encuentran:

- **Ley 217:** ley general del medio ambiente y los recursos naturales por establecer normas para la conservación, protección, mejora y restauración de los recursos naturales, con relación a los residuos sólidos.
- **Ley 559:** Ley especial de delitos contra el medio ambiente y recursos: Establece las acciones u omisiones que violen o alteren las disposiciones relativas de conservación, protección, manejo, defensa y mejora del medio ambiente y sus recursos.
- **Ley 1259:** Instauro en territorio nacional la aplicación del comparendo ambiental a los infractores de las normas de aseo, limpieza y recolección de escombros, y la implementación municipal de planes de gestión integral de residuos sólidos.
- **Resolución 2184:** por el cual se reglamenta el código de colores y la separación de residuos en la fuente.
- **CONPES 2750:** habla sobre las políticas de manejo de residuos sólidos.
- **CONPES 3874:** se crea una política nacional para la gestión integral de residuos sólidos.
- **Resolución 1164:** la cual establece los requisitos técnicos para la disposición final de residuos sólidos en rellenos sanitarios y controla las emisiones contaminantes.
- **Resolución 754:** establece criterios técnicos para la clasificación de los residuos sólidos y los procedimientos para la identificación y manejo de los residuos peligrosos.
- **Ley 2099 de 2021:** donde se dictan disposiciones para la transición energética, dinamización del mercado energético y reactivación económica del país.

|

#### ***1.4.5. Marco Ético***

El proyecto se desarrolló con diversos enfoques, siempre priorizando el respeto hacia las personas involucradas, cuya colaboración fue fundamental para su ejecución. Desde la interacción con recuperadores y vendedores en la plaza de mercado durante la recolección de residuos, hasta la colaboración de quienes suministraron inóculos vitales para la investigación, así como el apoyo brindado por el personal de la Universidad Mariana en sus sedes central y Alvernia (Figura 1); se mantuvo un trato humano adecuado, reconociendo la dignidad de cada individuo y su contribución al logro de objetivos comunes.

Además, se asumió la responsabilidad y la imparcialidad en el manejo de la información obtenida de diversas fuentes secundarias, como páginas web, libros y la propia institución universitaria. Esto se llevó a cabo con el objetivo de evitar el plagio y respetar el trabajo de quienes previamente han dedicado tiempo y esfuerzo a investigaciones similares. Se fomentó un ambiente de trabajo saludable, con miras a una transición sostenible que busque mitigar y prevenir los impactos negativos que han afectado la calidad de vida en nuestro planeta.

Este enfoque refleja una conciencia profunda sobre la interconexión entre nuestras acciones y el curso histórico del desarrollo humano. Al reconocer la importancia de la ética y la responsabilidad en la investigación, se estableció un modelo ejemplar de colaboración y respeto, promoviendo la equidad y valorando las contribuciones individuales. Este compromiso con la integridad y la justicia no solo fortaleció el proyecto, sino que también sentó las bases para una relación armoniosa y de confianza con las comunidades involucradas y los proveedores de información. La transparencia y el respeto hacia todas las partes interesadas se convirtieron en pilares fundamentales, garantizando la credibilidad y el impacto positivo del trabajo realizado.

### **1.5. Metodología**

|

### ***1.5.1. Paradigma de investigación***

Durante el desarrollo del proyecto, se llevaron a cabo observaciones directas detalladas con el fin de identificar cualquier factor que pudiera afectar las condiciones óptimas del sistema. Se consideraron varios aspectos cruciales, tales como la temperatura del agua en la piscina, el volumen de agua necesario para los reactores, las condiciones de oscuridad constante, así como el correcto funcionamiento de los instrumentos encargados de regular la temperatura y garantizar una distribución uniforme en la piscina, como el termostato y la bomba de agua sumergible, respectivamente. Además, se tuvieron en cuenta otros elementos que podrían haber alterado los resultados de la investigación.

Adicionalmente, se realizaron mediciones preliminares antes de implementar el sensor MQ8 con el objetivo de evaluar los factores influyentes en la obtención de H<sub>2</sub> verde a partir de biomasa lignocelulósica proveniente de la plaza de mercado El Potrerillo. Estas mediciones incluyeron la evaluación del pH y la temperatura interna. El propósito de estas mediciones fue detectar las variaciones a lo largo del experimento, lo que a su vez contribuyó a abordar la hipótesis planteada. Este enfoque mantuvo una estrecha relación con los inóculos implementados y el objetivo específico del estudio, lo que garantizó la precisión y la fiabilidad de los resultados obtenidos.

### ***1.5.2. Enfoque de investigación***

El campo de investigación del proyecto es ambiental, enfocado en la línea de energías renovables, debido a que se obtuvo un producto gaseoso H<sub>2</sub> (hidrógeno molecular), derivado del proceso de fermentación oscura de la materia orgánica proveniente de la plaza de mercado El Potrerillo, de la ciudad San Juan de Pasto. El hidrógeno producido por este método está asociado a la reducción de la problemática ambiental arraigada a la generación per cápita de residuos orgánicos en la plaza de mercado El Potrerillo, cuyas características energéticas aportan un valor agregado desaprovechado cuando su disposición final culmina en el parque tecnológico ambiental Antanas PTAA.

### ***1.5.3. Tipo de investigación***

Se presenta una investigación de enfoque mixto debido a que se planteó un análisis tanto cuantitativo como cualitativo, teniendo en cuenta aspectos que, según (Fernández & Díaz, 2002), recogen y analizan datos cuantitativos sobre variables, estudiando la asociación y la relación entre las mismas. Se consideró la generalización y objetivación de resultados mediante una muestra en inferencia a una población, junto a la anterior, la investigación trata de identificar su naturaleza profunda, el sistema de relaciones, la estructura dinámica y registros narrativos de los fenómenos estudiados sobre el proceso que dirige hacia el hidrógeno mediante procesos estructurados.

### ***1.5.4. Población y muestra / Unidad de trabajo y unidad de análisis***

La población referente con el proyecto de investigación corresponde a los residuos orgánicos que se generan en la plaza de mercado El Potrerillo; por lo tanto, se considera como muestra la cantidad de residuos obtenidos por los investigadores en cada visita al centro de acopio de los mismos en la plaza de mercado; y que fueron, a posteriori, utilizados para su análisis y disposición en reactores tipo batch (Figura 7).

### ***1.5.5. Técnica e instrumentos de recolección de información***

Para la presente investigación se utilizó información de fuentes secundarias, provenientes de motores de búsqueda académicos (Google académico, Scopus, Scielo, Biblioteca Luis Ángel Arango - BLAA, entre otros), los documentos elegidos contienen información relevante sobre características fisicoquímicas de la biomasa, inóculos utilizados para la fermentación oscura, limitaciones y potencialidades, lo cual permite recopilar información y posteriormente indagar sobre los aspectos más relevantes en la creación del diseño metodológico y experimental del presente estudio.

|

Por otra parte, se crearon diferentes matrices para las etapas del proyecto, donde se registraron los datos de los factores que intervienen en la investigación, esos datos son cuantitativos discretos y se les asigna su unidad de medida, los datos obtenidos son el resultado de aplicar y utilizar herramientas adecuadas como balanza digital, termómetro, pH metro y sensor de gas hidrógeno.

Con los resultados obtenidos se realizaron grupos focales con el equipo de investigación para debatir sobre la credibilidad de los datos, al igual que proponer ideas sobre los valores arrojados, que conllevó a la estructuración de los análisis y conclusiones pertinentes al proyecto.

#### **1.5.5.1. Las técnicas de investigación.**

**1.5.5.1.1. La técnica de observación.** Los resultados de gas hidrógeno obtenidos en PPM fueron posibles con el sensor MQ8 y un lenguaje de programación en C++ usado para arrojar valores secuencialmente durante el minuto de toma de muestra. Previo a lo anterior, el sensor se calibró - por el método Hoffman- para especificar la medida de hidrógeno netamente (Sánchez et al., 2023).

Para iniciar con el experimento que culminó en lo mencionado en el anterior párrafo, primero se obtuvo la materia prima; es decir, los residuos orgánicos tomados los días de comercio en la plaza de mercado El Potrerillo. Posterior a esto, se llevaron a la sede Alvernia (Figura 1) para su clasificación y determinación de la masa de la muestra necesaria para cada reactor tipo batch; diseñados de forma preliminar, siguiendo las especificaciones técnicas que se mencionan a la postre.

En concordancia, parámetros como: humedad, peso específico, tamaño de partícula, en los físicos, y, pH y determinación del Nitrógeno total en los químicos; dieron mayor robustez al trabajo de investigación, al analizar los valores de H<sub>2</sub> obtenidos. Por último, una adecuación idónea del sustrato y los inóculos utilizados, conllevaron a que el ciclo bioquímico se realice para la toma efectiva de la muestra. Dicha adecuación relaciona al pH y la temperatura, como factores internos

dependientes; y a la temperatura externa, el proceso de agitación, la prevención/mitigación de fugas, el proceso de pretratamiento de los residuos, entre otras, como factores externos.

El pH fue influyente para que el desarrollo microbiano desprendiera H<sub>2</sub> de la degradación, según la revisión bibliográfica en el marco de antecedentes, los pH óptimos para lo mencionado pueden estar entre 5.0-7.0; así pues, en los reactores se agregó de un agente Buffer fruto de la combinación de bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>) y ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH). Estas dos moléculas actúan como agente tampón, regulando la acidificación a valores favorables para la investigación. Para la solución se implementó 29g de NaHCO<sub>3</sub> y 95mL de ácido acético a uno molar para el volumen total de la muestra. Para el cálculo de las cantidades necesarias para la solución Buffer se hizo uso de la ecuación de equilibrio químico para la disociación ácido-base [Ecuación 1]. (Parra-Orobio et al, 2014). Para fines del experimento, y con base a la revisión bibliográfica, se calculó el PKa para un pH de 7.0.

$$PKa = -\log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad \text{[Ecuación 1]}$$

En donde se utilizó ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH) como ácido débil [HA], y el bicarbonato de Sodio (NaHCO<sub>3</sub>), como la base conjugada [A<sup>-</sup>].

**1.5.5.2. Instrumentos de investigación.** La revisión bibliográfica, el análisis documental y la técnica de observación -mencionada anteriormente-, favorecieron a la línea base de la investigación, que, a su vez, otorgó la potestad a los investigadores para actuar en el transcurso de la experimentación. Enfatizando en lo anterior, la parte experimental inició con los procedimientos mencionados anteriormente:

**1.5.5.2.1. Diseño metodológico de la investigación.** El objetivo general y los específicos planteados para la investigación se realizaron con actividades planteadas por los investigadores, para obtener resultados que permitieron responder a la hipótesis planteada. El desarrollo metodológico con sus respectivos resultados esperados se presenta en la tabla 1.

**Tabla 1**

*Descripción metodológica*

Objetivo general	Evaluar el efecto del inóculo en el proceso de fermentación oscura, para la producción de hidrógeno verde, utilizando la biomasa de la plaza de mercado El Potrerillo.	
Objetivos Específicos	Actividades	Resultados esperados
<ul style="list-style-type: none"> <li>Caracterizar fisicoquímicamente la biomasa proveniente de la plaza de mercado El Potrerillo.</li> </ul>	<p>Identificación de los residuos a utilizar.</p> <p>Clasificación de sustrato</p> <p>Caracterización física de los residuos.</p> <p>Caracterización química de los residuos.</p>	<p>Matriz de cuantificación, clasificación y separación de residuos en punto de recolección.</p> <p>4 muestras homogeneizadas con los residuos orgánicos.</p> <p>% de humedad, peso específico, tamaño de las partículas,</p> <p>PH y nitrógeno total.</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Implementar el reactor de fermentación oscura a partir de un modelo de análisis factorial.</li> </ul>	<p>Adecuación de los recipientes que serán utilizados como reactores discontinuos.</p>	<p>Reactor anaerobio con un sistema de 3 válvulas.</p> <p>Conocer las diferentes cantidades de sustrato, inóculo y agua que se</p>

	Diseño de experimentos.	de adicionaran a cada reactor.
	Adición de sustrato y agua a los reactores.	identificación de las variables dependientes e independientes. Todos los reactores contarán con la misma cantidad de sustrato y agua.
	Adición del inóculo a los reactores.	Cada reactor contendrá un inóculo diferente a excepción del blanco.
<ul style="list-style-type: none"> <li>Analizar la cantidad de hidrógeno verde presente en el biogás resultado del proceso de fermentación.</li> </ul>	Adaptar un sensor para la medición de H <sub>2</sub> .	Dispositivo programado para la lectura del gas generado.
	Determinar el número de moles de H <sub>2</sub> generado.	Identificar los microorganismos más eficientes en la producción de H <sub>2</sub> . Cuantificar la producción de hidrógeno generado.

#### 1.5.5.2.2. Diseño experimental.

En la tabla 2 muestra la tabla de los procesos involucrados en el diseño experimental:

**Tabla 2**

Diseño de experimentos

<b>Elementos del diseño experimental</b>	<b>Descripción</b>
Tipo de estudio	Experimental
Variable de respuesta	moles de H <sub>2</sub> generadas ppm de H <sub>2</sub>
Caso	Se toma la muestra de residuos orgánicos que servirán como sustrato para la generación de H <sub>2</sub> se realizará un análisis fisicoquímico, y se depositarán los elementos según corresponda a cada tratamiento, el volumen de la mezcla en todos los reactores será de 11,08 L y se dispone de un volumen de 3,920 L de acumulación de gases lo que representa un 26,2% del volumen total, del reactor
Factores	I = inóculo
Niveles de factor	I1= inóculo de laguna anaerobia del relleno sanitario (LA) I2= inóculo de laguna anaerobia de planta de sacrificios (Frigovito) (LF) I3= inóculo de estiércol de cerdo (P)
<i>Confusing factors</i>	Material del Recipiente Tiempo de retención celular (TRC)
Covariables	T = temperatura P = pH
Unidad experimental	Tras realizar el método del cuarteo (Figura 3), se toma 16 kg de residuos orgánicos, luego se adiciona a cada reactor en partes iguales la masa que le corresponde siendo de 4 kg por cada recipiente, se añaden 4 L de agua y se deja listo para inocular. La cantidad de inóculo será la misma en todos los reactores 2,5 L, adicionalmente, se agregan 580 ml de solución buffer

|

---

(Ácido acético) por lo tanto, la distribución en % V/V dentro del contenedor es 26.7% sustrato, 26,7% agua, 16.7% inóculo, y el 3,8% de buffer lo que equivale a 11.08 L; La cantidad de reactores a utilizar son 4, por lo tanto, es necesario marcar cada contenedor con su respectiva etiqueta para facilitar su identificación, de esta manera se tiene:

**Muestra control (Mc):** corresponde a uno (1) de los reactores con 4kg de R orgánicos + 4L de agua sin inóculo.

**Muestra Inoculada 1 (MI-1):** en 1 de los recipientes que contienen 4kg de R orgánicos + 4L de agua se agrega el inóculo 1+ buffer.

**Muestra Inoculada 2 (MI-2):** en 1 de los recipientes que contienen 4kg de R orgánicos + 4L de agua se agrega el inóculo 2 + buffer.

**Muestra Inoculada 3 (MI-3):** En 1 de los recipientes que contienen 4kg de R orgánicos + 4L de agua se agrega el inóculo 3 + buffer

---

Número de 3  
unidades  
experimentales

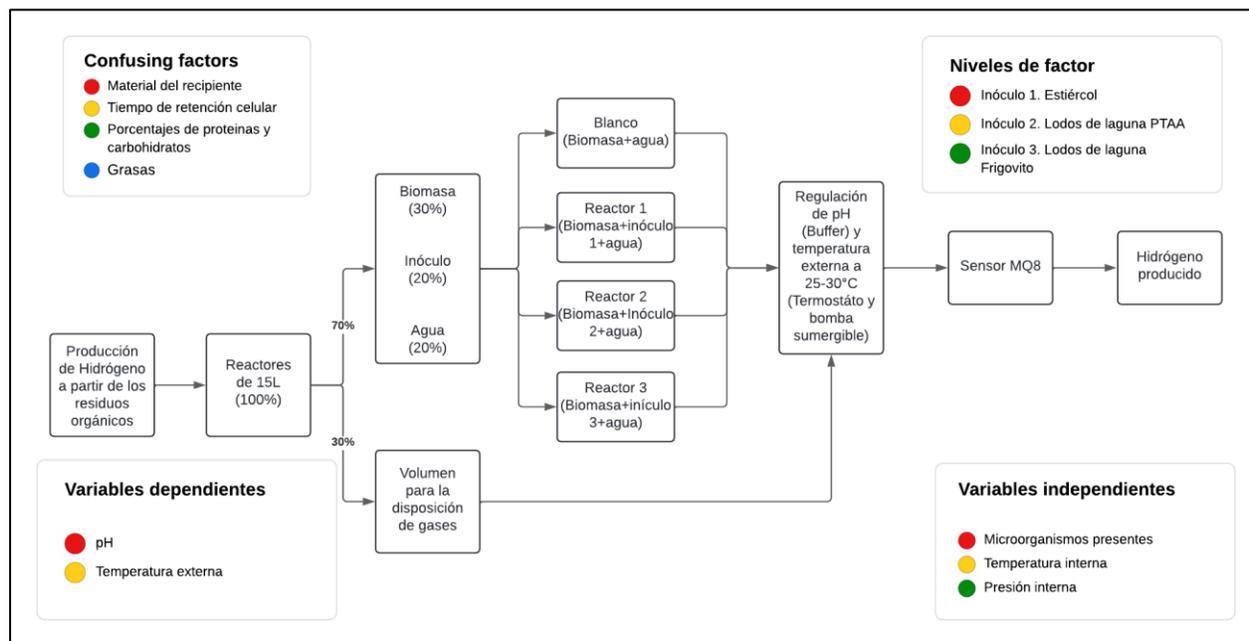
---

Tratamientos  $Nk= 4*1= 4$

---

## Figura 2

*Diagrama de diseño de experimentos*



**1.5.5.2.3. Caracterización fisicoquímica.** Se realizó una revisión bibliográfica de las características fisicoquímica para una mejor comprensión de los residuos orgánicos antes de iniciar y después, con los resultados obtenidos.

Para la caracterización física se analizó tres diferentes características de los residuos:

- **Peso específico:** Es la relación que existe entre el peso y el volumen que ocupan los residuos (Mitchell & Soga, 2005)
- **Humedad:** La cantidad de agua contenida en los residuos influye en la procesabilidad, la vida útil y la facilidad de uso. La humedad se analiza por el método termogravimétrico, en donde la diferencia del peso antes y después de ser sometido a calentamiento indica, a escala porcentual, con que contenido de humedad cuentan los residuos (Mettler-Toledo, 2015).
- **Tamaño de partícula:** Varía según el grado requerido para la investigación, pero por rasgo común entre más pequeña la partícula tiene una mayor área de contacto lo cual hace que interaccione más rápidamente con los agregados (Mitchell & Soga, 2005). Para la investigación, se trabajó con una procesadora de alimentos, estipulando el tamaño de partícula menor a 2cm.

|

- **Tiempo de Retención Hidráulico:** Este concepto hace referencia al tiempo promedio que permanece cierto contenido en un reactor para que los procesos bioquímicos se desarrollen a cabalidad (Chen, 2024). En el caso de esta investigación hace referencia al tiempo que permaneció el sustrato homogenizado con inóculos y agua para que se desarrollara el proceso microbiano que desencadenó en la producción de hidrógeno.

Para la caracterización química se analizaron características químicas influyentes en la investigación:

- **pH:** se realiza con el método potenciométrico, se basa en la actividad de los iones hidrógeno en una solución acuosa de residuos orgánicos al 10%. (McLaughlin & Albers, 2015)
- **Nitrógeno total:** se puede determinar por el método de Kjeldahl, basado en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado (Jones et al., 2009).

*1.5.5.2.4. Obtención y caracterización de inóculos utilizados.* La variable que cambió la generación de H<sub>2</sub> verde cuantificable fue el material con el que se inoculó los reactores. Por tanto, se consideraron tres puntos diferentes de los cuales obtener una muestra representativa de inóculos:

- **Inóculo 1 (Lodos Antanas):** mediante solicitud escrita y firmada por el asesor del proyecto de investigación, la directora del programa de ingeniería ambiental y un representante del proyecto se obtuvieron muestras de los lodos de las lagunas anaerobias de lixiviación del PTAA.
- **Inóculo 2 (Lodos Frigovito):** Por medio de una respectiva petición con las firmas correspondientes, se consiguió muestras de lodos de las lagunas anaeróbicas de las instalaciones de una planta de sacrificios principalmente de vacunos y porcinos (Frigovito SA).
- **Inóculo 3 (Estiércol de cerdo):** Mediante un sondeo realizado por los alrededores de la ciudad de Pasto se encontró un criadero de cerdos ubicado en el corregimiento de Mapachico, pues el estiércol de este fue utilizado como el tercer inóculo.

|

**1.5.5.2.5. Diseño del reactor.** Según el diseño de experimentos (Tabla 2), se realizó en 4 reactores con los sustratos mencionados, su descripción consta de cuatro recipientes de plástico con capacidad para almacenar un volumen de 15L, cada recipiente tiene dos salidas laterales constituidas por su respectivo racor y manguera usadas en la regulación de algunos parámetros, además, con una tapa de sello hermético para evitar la fuga de gas, y luego se usa una salida con válvula que cumplen funciones de regulación de presión en el reactor.

|

## **2. Presentación de resultados**

En este apartado se presentan los resultados tras el procesamiento de la información obtenida en el desarrollo experimental de la investigación. De la misma forma se presenta un análisis pertinente que explica el comportamiento de las variables en el proceso de generación de Hidrogeno en los reactores. Finalmente se realiza una discusión por cada objetivo para especificar los factores que determinan las diferencias e intervienen en la producción de hidrogeno en cada reactor. En seguida se detalla el proceso por cada objetivo específico.

### **2.1 Caracterización fisicoquímica de la biomasa generada en la plaza de mercado El Potrerillo.**

#### ***2.1.1. Obtención de residuos generados en la plaza de mercado El Potrerillo.***

Se recolectaron residuos orgánicos provenientes de los contenedores predispuestos por la empresa de aseo EMAS by Veolia en la plaza de mercado el Potrerillo. Para obtener una muestra significativa de los residuos generados, las muestras se tomaron los días de mercado en la mañana, horario en el cual se presenta mayor movimiento comercial.

Además, considerando la bioseguridad de los investigadores, se llevaron los respectivos implementos como: guantes, tapabocas, bata, gafas de seguridad y botas. Para extraer la muestra se utilizaron bolsas plásticas y costales donde transportará la muestra para identificar residuos y realizar el método del cuarteo según la norma mexicana NMX-AA-15-1985.

Las actividades realizadas fueron:

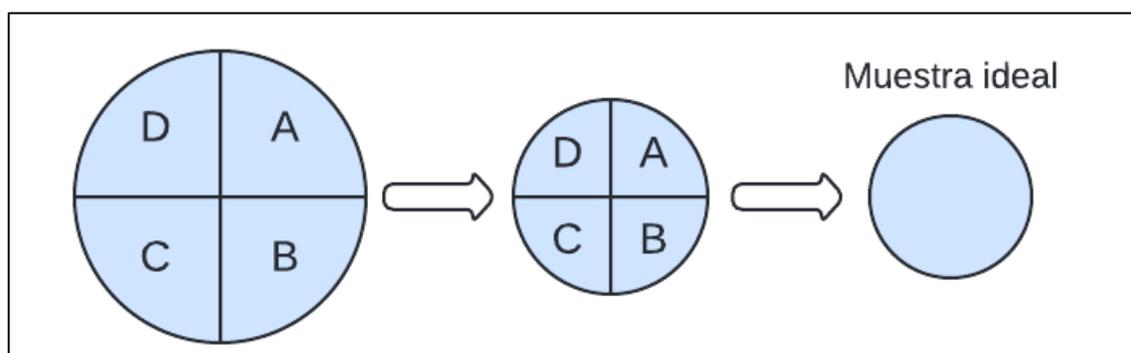
1. Se tomaron los residuos recolectados y se los apiló sobre un área plana.

2. Se realizó una clasificación de los residuos orgánicos Aprovechables y No Aprovechables, tales como: residuos inorgánicos y cítricos, así como residuos en descomposición, para dar cumplimiento a los objetivos de la investigación.

3. Se procedió a homogeneizar todos los residuos y se dividió en cuatro partes iguales A, B, C, D. Luego se eliminaron, al azar, las partes opuestas A y C o B y D, hasta obtener una muestra representativa. Teniendo en cuenta el volumen de los reactores tipo batch (Figura 7), la muestra fue de 16 kg.

### Figura 3

*Método de cuarteo utilizado*

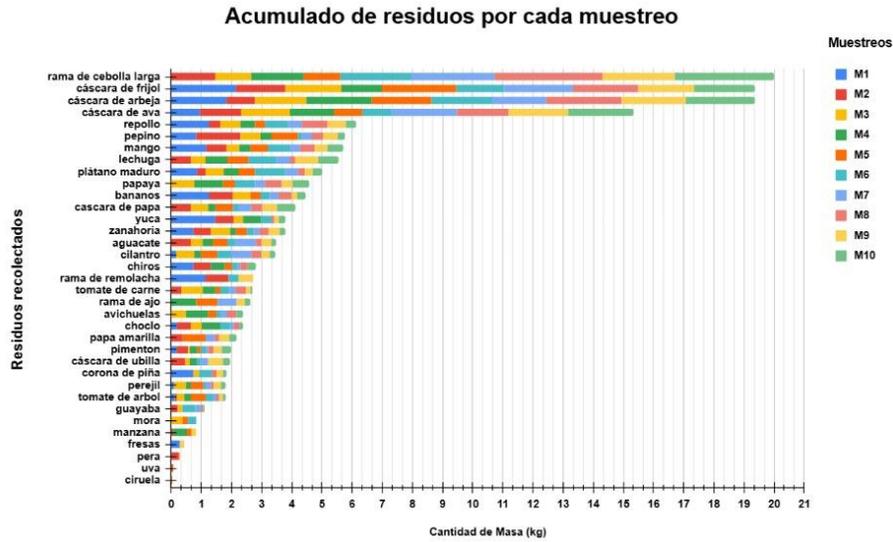


La plaza de mercado El Potrerillo alberga una cuantiosa cantidad de trabajadores quienes comercializan con una variedad significativa de productos orgánicos, bien sea propios de la región o ajenos a la misma. El expendio genera, de alguna u otra manera, deshechos que son retirados con regularidad por la empresa. De esta manera, los residuos que se recolectaron como materia prima estuvieron sujetos a diferentes condicionantes que provocan variabilidad en los residuos encontrados.

Por lo anterior fue indispensable realizar el muestreo aleatorio simple, pues con esto se pudo identificar los residuos que tuvieron preponderancia en los 10 muestreos, y así, a la postre, se investigó de manera concisa la caracterización fisicoquímica del sustrato agregado a los reactores tipo Batch. La proporción de los residuos se muestra en la figura 4.

**Figura 4**

*Acumulado de residuos encontrados en los muestreos realizados.*



**Tabla 3**

*Estadística descriptiva de los residuos encontrados*

Residuos	Media (g)	Distribución (g)	Varianza (g)	Desviación estándar (g)
rama de cebolla larga	1999,9	17.34	1175684,5	1084,2
cáscara de frijol	1935,5	16.78	121556,7	348,6
cáscara de arveja	1934,5	16.78	176523,8	420,1

cáscara de haba	1533	13.29	226967,7	476,4
repollo	612,9	5.31	81733,4	285,8
pepino	576,4	5.00	156591,3	395,7
mango	570,8	4.95	58875,7	242,6
lechuga	555,2	4.81	79826,8	282,5
plátano maduro	500,5	4.34	67817,6	260,4
papaya	458,3	3.97	93447,7	305,6
bananos	444	3.85	125500,4	354,2
cascara de papa	410,9	3.56	45364,7	212,9

Particularmente, la cascara de frijol, arveja, haba y rama de cebolla larga fueron, según la dispersión y la media, los residuos de mayor presencia en el punto de recolección durante los muestreos realizados con una distribución de 64.19% (Tabla 3). Por lo que se puede apreciar que es más común encontrar residuos de leguminosas que frutas u hortalizas. Los tres primeros residuos mencionados contienen un elevado valor energético, debido a su considerable contenido de hidratos de carbono, proteínas y fibra, además de presentar minerales tales como hierro, potasio, zinc y magnesio. La cebolla por su parte, a pesar de ser baja en calorías, es rica en fibra y algunos de los minerales nombrados anteriormente (Illescas, Bacho & Ferrer, 2008). Dichos minerales son importantes para el proceso microbiológico, pues según Varnero (2011), “se requiere que estén en equilibrio sales minerales (azufre, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, cobalto, selenio, tungsteno, níquel y otros menores)”

En aclaración de que no se pueden obtener los mismos componentes orgánicos en la conformación del sustrato pues los residuos restantes se distribuyen heterogéneamente en los reactores, la caracterización fisicoquímica se estimó para los productos más comunes encontrados en los contenedores durante los muestreos, que conforman el 64.19% del total de la muestra.

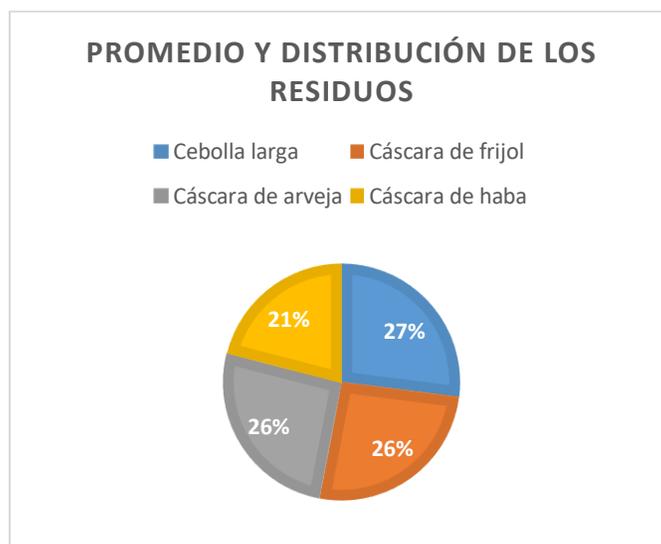
**Tabla 4**

Matriz de clasificación, separación y cuantificación de los residuos orgánicos más encontrados

Residuos orgánicos	Promedio en muestreos (g)	Distribución en sustrato (%)
Cebolla larga	1999,9	0.27
Cáscara de frijol	1935,5	0.26
Cáscara de arveja	1934,5	0.26
Cascara de haba	1533	0.21

**Figura 5**

Gráfica de promedio y distribución de los residuos más encontrados



La figura 5 indica gráficamente el promedio y la distribución obtenidos de los cuatro residuos de mayor preponderancia, a los cuales se les realizó la caracterización fisicoquímica para comprender el comportamiento en los reactores.

### 2.1.2. Caracterización fisicoquímica.

|

Comprender el comportamiento de la degradación es un proceso arduo en donde influyen distintos factores. La presente investigación se enfocó en aquellos parámetros que en la línea base demostraron mayor relevancia para la generación de hidrógeno.

La información recolectada permitió tener consideraciones para que el proceso anaerobio se desarrollara en óptimas condiciones, aquí se tiene que el contenido de carbono y nitrógeno jugó un rol fundamental, pues según Varnero (2011), corresponden a las principales fuentes de alimentación para el metabolismo microbiano. El carbono representa la fuente energética y por su parte, el nitrógeno actúa en la formación de nuevas células. Además, Varnero también afirma que “Las bacterias consumen 30 veces más carbono que nitrógeno, por lo que la relación se considera en un rango de 30:1 hasta 20:1 para que el sustrato sea consumido”.

Con relación a lo anterior, los residuos que se agregaron a los reactores cuentan con una fracción aceptable de C/N, puesto que la mayoría se encuentra en el rango estimado por Varnero. De lo anterior se deduce que las moléculas complejas tales como proteínas, carbohidratos y lípidos, fueron hidrolizadas produciendo compuestos sencillos, tales como aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga. Estos últimos, mediante bacterias acidogénicas, dan lugar a ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, hidrógeno, dióxido de carbono y trazas de otros elementos (Londoño, 2013). En este punto cabe destacar que las proteínas contienen generalmente 16% de nitrógeno. De este, el nitrógeno orgánico, al ser hidrolizado, da lugar a formas amoniacales, que, de no contener los valores óptimos, puede limitar la reproducción bacteriana. (Varnero, 2011).

Por otro lado, la materia orgánica lignocelulósica (Lignina, celulosa y hemicelulosa) es susceptible a una lenta degradación, debido a que la lignina presenta una resistencia considerable a la misma. Esto a su vez desencadena que la celulosa y hemicelulosa se vean afectadas (Varnero, 2011). Teniendo en cuenta lo anterior mencionado, se incrementó la superficie de adsorción por medio del rompimiento de la pared celular lo que generó que las bacterias puedan asimilar la materia para convertirla en moléculas menores y que el proceso anaerobio continúe.

Las proteínas constituyen una parte fundamental, no solo por ser fuente de carbohidratos y energía, sino que contiene un valor nutricional considerable. Los géneros de bacterias productores de proteasas degradan las proteínas y aminoácidos (Chernicharo, 1997). Parte de los aminoácidos se utilizan para sintetizar nuevo material celular y el restante se degrada en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, ácidos volátiles, sulfuro y amonio. (Varnero, 2011). Por su parte, Chernicharo (1997), afirma que bacterias como *Clostridium*, *Micrococcus* y *Staphylococcus* denominadas, lipasas, se encargan de degradar los lípidos produciendo ácidos grasos de cadena larga y glicerol.

Una parte importante en la producción del biogás es la glucosa que contenga el sustrato o que se genere a partir de la hidrólisis, pues en la fermentación oscura los monosacáridos, en particular la glucosa, microorganismos tales como *Clostrium*, *Enterobacter sp* y *Bacilos sp* se alimentan y desarrollan de esta. En el aprovechamiento, dichas bacterias transforman la glucosa a ácido acético, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. (Ntaikou, Antonopoulou & Lyberatos, 2010). Cuando la fermentación se encamina a la producción de ácido acético como único ácido graso volátil (AGV), la relación de producción de H<sub>2</sub> es en razón de 4mol de H<sub>2</sub> por cada mol de glucosa, sin embargo, el consumo del monosacárido y la formación de ácidos desencadenan que la producción de hidrógeno disminuya (Londoño, 2013).

Toda la información recolectada tras la revisión bibliográfica permitió estimar la composición elemental de los residuos de mayor relevancia en los 4 kg de sustrato agregados a cada reactor, tal como se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5**

*Caracterización fisicoquímica de los residuos más encontrados*

<b>Residuo orgánico</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>Cenizas (%)</b>	<b>Carbono (%) en base seca</b>	<b>Nitrógeno (%)</b>
<b>Cebolla larga</b>	92 <sup>a</sup>	6,6 <sup>f</sup>	28 <sup>g</sup>	1,68 <sup>g</sup>

<b>Cascara de frijol</b>	60,2 <sup>c</sup>	12,5 <sup>c</sup>	44 <sup>e</sup>	1,7 <sup>c</sup>
<b>Cascara de arveja</b>	55 <sup>c</sup>	15,2 <sup>c</sup>	42 <sup>d</sup>	2,1 <sup>c</sup>
<b>Cascara de haba</b>	88,7 <sup>h</sup>	2,36 <sup>b</sup>	56 <sup>h</sup>	4,6 <sup>i</sup>

- a- Duarte 2016.
- b- Aguilar et al, 2019.
- c- Tchobanoglous & Theisen, 1994.
- d- Gonzales Avila, 2016.
- e- Morales, Peña, Garcia, Aguilar & kohashi, 2017
- f- Bello et al, 2013
- g- Martínez-Nieto, P., García-González, D., Silva-Bonilla, P. S., Vargas-Chaparro, G., & Valderrama-Escallón, F. (2011).

Con la información de referencia se calculó la composición elemental en relación a la composición de los 4 Kg de sustrato, obtenida después de realizar el método de cuarteo (Figura 3).

**Tabla 6**

*Composición elemental de los 4Kg de sustrato*

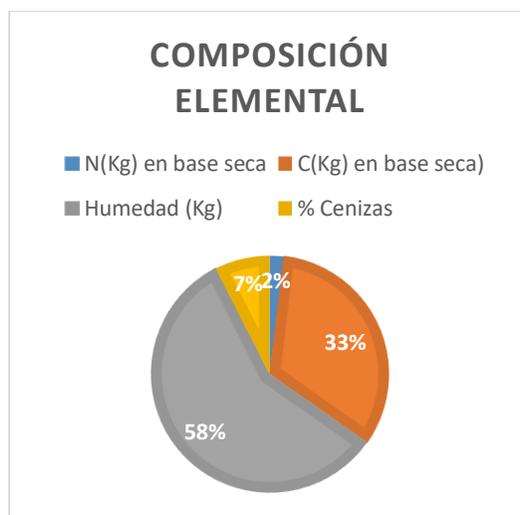
<b>%</b>	<b>% en la muestra</b>	<b>Kg en sustrato</b>	<b>N (Kg) en base seca</b>	<b>C (Kg) en base seca</b>	<b>Humedad (Kg)</b>	<b>%Cenizas</b>
<b>Cebolla larga</b>	0.27	1.08	0.01814	0.3024	0.9936	0.0713
<b>Cáscara de frijol</b>	0.26	1.0	0.01768	0.4576	0.6240	0.1300

<b>Cáscara de arveja</b>	0.26	1.0	0.02184	0.4368	0.5720	0.1580
<b>Cáscara de haba</b>	0.21	0.8	0.03864	0.4704	0.7450	0.0198
<b>TOTAL</b>	<b>100.00</b>	<b>4.00</b>	<b>0.0963</b>	<b>1.6672</b>	<b>2.9300</b>	<b>0.3791</b>

En la tabla 6 se presenta la composición elemental de los cuatro subproductos predominantes en los muestreos (Tabla 4). Además, indica la composición elemental teórica total del sustrato que fue homogenizado luego de realizar el método de cuarteo (Figura 3) y posteriormente agregado a cada uno de los reactores, el cual se compone de: 0.0963 Kg de nitrógeno, 1.6672 Kg de carbono, 2.9300 Kg de humedad y 0.3791 Kg de cenizas (Figura 6). De esta manera en el reactor ingresa una relación elemental [C/N] de 17.31 para cada reactor, lo que teóricamente es favorable para la generación de biogás, pues existió un contenido adecuado de nutrientes para que los microorganismos sigan una ruta metabólica para la producción de hidrógeno.

### Figura 6

*Composición elemental de los residuos más encontrados*



|

En la figura 6 se evidencia la distribución elemental de la totalidad de los residuos que se agregaron a los reactores de fermentación oscura.

A pesar de contar con valores favorables para el arranque, los residuos encontrados no cuentan con las características más propensas para que la degradación que conlleve a la producción de hidrógeno sea efectiva. Según el estudio realizado por Rojas (2023), y en comparación con los residuos encontrados en esta investigación, las frutas contienen mayores contenidos de humedad y azúcares, lo que favorece a la descomposición y al enriquecimiento energético de los microorganismos para que desarrollen sus procesos más rápido. Para la producción de hidrógeno se requiere de monosacáridos como la glucosa, xilosa, los almidones, entre otros, pues es a partir de ellos, y transitando por la fase acetogénica, que la fermentación puede desencadenar en valores de hidrógeno más elevados (Londoño & Rodríguez, 2012). En ese orden de ideas, las frutas se convierten en una de las mejores opciones para el aporte de glucosa y por ende para la generación de H<sub>2</sub>. Además, en su estudio, Rojas (2023) también analizó el contenido elemental de algunos residuos de frutas, evidenciando que también presentan valores más elevados. Tal es el caso del carbono, que debido a la cantidad de azúcares y carbohidratos contiene compuestos ricos en carbono que favorecen a la fermentación oscura.

Esclarecido lo anterior, para analizar si la producción se eleva con la utilización de residuos de frutas, es conveniente realizar la misma experimentación empleando dichos residuos, pues así se podrá concluir si en realidad el aporte de glucosa incrementa la generación de dicho gas o, por el contrario, se desmiente lo que indica la teoría.

## **2.2. Implementación de reactores experimentales para fermentación oscura.**

### **2.2.1. Diseño de los reactores.**

Siguiendo lineamientos importantes en el diseño del reactor, se tuvieron en cuenta puntos importantes como lo sugiere Vivian, V. y Liana, G (2022); donde se involucra una respectiva

|

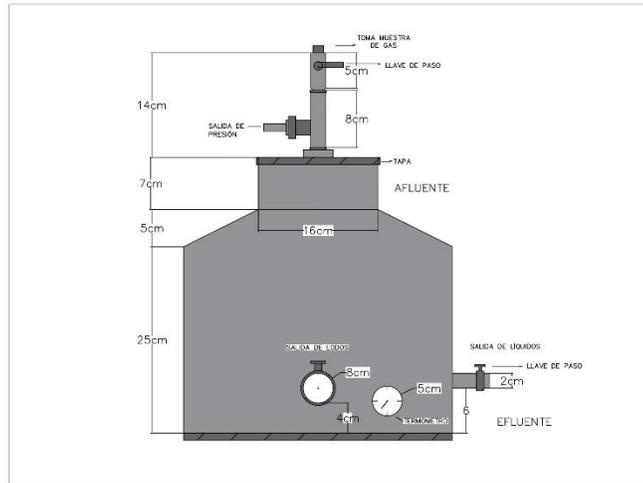
entrada de alimentación, salida de purga, válvula para la salida y recolección de gas y pH, control de temperatura y presión con el fin de ajustarse a las necesidades de seguimiento, control y características de las mezclas de sustrato, se garantizó que la fermentación oscura se realice de la mejor manera. Las tres variables fundamentales en el proceso (pH, temperatura y presión), permitieron deducir hasta cierto modo cómo se desarrolló el microbiota en cada uno de los reactores.

Concerniente a los parámetros establecidos anteriormente, se sugiere además la revisión de los materiales y métodos para el diseño haciendo énfasis en la selección de los materiales, de tal manera que estos sean resistentes a la mezcla, no generen reacciones adversas y de la misma manera que se ajusten al presupuesto destinado. Hilbert (2006), menciona que se han desarrollado diversos tipos de biodigestores de acuerdo a la aplicación de gas, la caracterización del material a ser digerido y a la relación costo-inversión-beneficio. Como montajes empleados se tienen aquellos de intensidad de mezcla, de manejo de sustrato, manejo bioquímico y el sistema de interés para el presente estudio el cual es el de carga donde se encuentra el sistema discontinuo batch. García, M., e Intriago, S. (2019).

Según García y Gómez, (2016) el sistema discontinuo batch se caracteriza porque el sustrato se carga una sola vez en forma total, la descarga se efectúa una vez que ha dejado de producir biogás y es utilizado para degradar materias primas sólidas. Siendo fáciles de construir además de ideales a nivel de laboratorio para evaluar los parámetros del proceso o el comportamiento de un residuo orgánico o una mezcla. Vásquez y Riveros, (2013).

### **Figura 7**

*Modelo de reactor tipo Batch implementado para fermentación oscura*



Así entonces, se consolidaron cuatro reactores tipo Batch de polietileno de alta densidad (HDPE), con capacidad de almacenamiento de 15L (Figura 7). Cada recipiente es hermético y no permite el paso de los rayos de luz debido al material. Tiene dos salidas laterales que forman su respectivo racor, caucho para sello de fugas. Debido al peso específico de los residuos, los sólidos sedimentables se disponen en el fondo de los reactores, por lo que, para la toma de muestra de pH, la válvula se dispuso en la mitad de estos; así, luego de realizar un proceso de agitación pre-muestreo, se obtuvo un valor significativo del valor del pH en la solución. En la parte superior tienen una tapa de sello hermético para evitar la fuga de gas; en ella se empleó una salida con válvula bifuncional, regulando la presión en el reactor y, además, fue usada para la toma de muestra de H<sub>2</sub> con el sensor MQ8.

Seguido a esto, en la parte inferior de los reactores, se hicieron efectivos los termómetros tipo punzón, con los que se obtuvieron datos de la temperatura interna durante la fermentación. Para un desarrollo microbiano eficiente, los recipientes se dispusieron en un medio líquido a temperatura controlada. Para lo anterior, se implementaron en la piscina dos calentadores básicos para piscina o termostatos con potencia de 50w cada uno, además de una bomba para agua sumergible, que tiene la finalidad de recircular el agua uniformemente por el sistema y así se consiguió evitar zonas muertas que puedan afectar al consorcio de microorganismos en los reactores (Figura 8).

**Figura 8**

*Modelo de los reactores de fermentación oscura*



Con la totalidad de las instalaciones verificadas, se dispuso el material triturado que fue previamente adecuado mediante un pretratamiento térmico a baño maría, lo que garantiza la proliferación de los microorganismos benéficos en la producción de hidrógeno y eliminando aquellos consumidores de hidrógeno (Wang et al., 2002), además de representar una reducción en los tiempos de arranque de la degradación orgánica. El baño maría tuvo una duración de 30 minutos a una temperatura de 80 °C con agitación constante.

En este punto cabe resaltar que el inóculo, por su parte, no fue sometido a elevadas temperaturas, pues a criterio de los investigadores, el pretratamiento del sustrato fue suficiente para que los microorganismos se desarrollaran eficientemente, pues se tuvo en cuenta que de exceder los valores óptimos en la temperatura, puede desencadenarse la inactivación térmica por parte de las enzimas celulares, y dado que en la investigación se planteó obtener valores mesófilos, se limitó a adecuar el sustrato para que no existan cambios en las rutas metabólicas (Cadena & Córdoba, 2022). Sin embargo, según Ren y col (2008), es indispensable realizar el pretratamiento térmico a altas temperaturas al inóculo para eliminar los microorganismos consumidores de hidrógeno. Es así como queda a consideración para futuras investigaciones la variación real de la producción de hidrógeno implementando el pretratamiento de los inóculos.

|

### 2.2.2. Caracterización fisicoquímica de los inóculos.

Dado que la investigación se basó en identificar cuál de los reactores inoculados tuvo mayor producción de hidrógeno durante la experimentación, fue menester que se analice cada uno de los niveles de factor mencionados. Para este fin, se realizó una revisión bibliográfica de los inóculos, teniendo en cuenta que los parámetros de interés fueron: el nitrógeno, carbono, humedad, cenizas y grasas. Luego de recolectada la información, la caracterización se sintetizó en la tabla 7.

**Tabla 7**

*Caracterización fisicoquímica de los inóculos*

<b>Residuo orgánico</b>	<b>% Nitrógeno</b>	<b>% Carbono</b>	<b>% Humedad</b>	<b>% Cenizas</b>	<b>%Grasas</b>
<b>Antanas</b>	2,5 <sup>c</sup>	45 <sup>c</sup>	73 <sup>d</sup>	6 <sup>f</sup>	10 <sup>e</sup>
<b>Frigovito</b>	1,93 <sup>b</sup>	43,86 <sup>b</sup>	83,18 <sup>b</sup>	19,28 <sup>b</sup>	2,55 <sup>b</sup>
<b>Porcino</b>	1,4 <sup>a</sup>	19,6 <sup>a</sup>	64,68 <sup>a</sup>	20,32 <sup>a</sup>	8,43 <sup>a</sup>

a- Mojica, vidal, rueda & Acosta 2005.

b- Mojica et al, 2016.

c- Cardenas, 2022

d- Pellón Arrechea, A., López Torres, M., Espinosa Lloréns, M. D. C., & González Díaz, O. (2015).

e- Donado R 2013.

f- Valdés, Esperanza, González, P., & Obaya, M. C. 1991

El estiércol de cerdo presenta una variabilidad en sus características producto de factores como la alimentación, las condiciones climáticas, la especie de animal, la edad, el manejo, etc. Este inóculo contiene una rica diversidad microbiológica, esencial para el proceso de fermentación. Los

microorganismos predominantes incluyen *Clostridium* spp. *Bacillus* spp y diversas especies de Bacteroidetes (Iglesias Martínez 1994). Estas bacterias son cruciales en la descomposición de materia orgánica y contribuyentes a la producción de ácidos grasos volátiles, los cuales son precursores en la producción de hidrógeno durante la fermentación oscura. (Universidad de Minnesota, 2024).

Además, este inóculo es rico en nutrientes y compuestos orgánicos, tales como el nitrógeno, fósforo, potasio y ácidos grasos volátiles. (Universidad de Minnesota, 2024). Sin embargo, a pesar de ser rico en nitrógeno, aún presenta limitaciones debido a la baja relación de C/N (Neshat, 2017). Para la producción de hidrógeno no es benéfico debido a que es propenso a la producción de amoníaco, el cual afecta el metabolismo de microorganismos hidrogenotróficos (Universidad de Minnesota, 2024). Según Varnero (2011), la relación C/N para el estiércol de cerdo se encuentra en 13:1

Por otra parte, los lodos de una laguna anaerobia provenientes de un relleno sanitario también varían en relación a la ubicación geográfica, el tipo de residuos que se dispongan y la antigüedad (Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. MAVDT, 2002). El proceso de lixiviación o percolación de los residuos sólidos urbanos llegan en forma acuosa y sólida con un elevado contenido de nitrógeno, fósforo y materia orgánica, y también contienen sustancias tóxicas como metales pesados. Por la compresión de los residuos se generan procesos anaerobios que desencadenan en la proliferación de bacterias metanogénicas las cuales afectan negativamente la producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) (Erazo, 2011). En un estudio realizado por Muñoz & Muriel, (2020) , indica que la relación C/N puede encontrarse entre 15:1 y 30:1 dependiendo de la composición de los lodos, el tiempo de retención y demás factores de influencia. Entre los problemas que pueden desencadenar para la producción de hidrógeno está que los metales pesados pueden inhibir a los microorganismos generadores de hidrógeno y, además, al presentar un proceso metanogénico marcado, el microbiota está acostumbrada a consumir las moles de hidrógeno para producir metano.

|

Los lodos de Frigovito presentan diversas características, producto de los procesos que conlleva el sacrificio de animales. Así pues, en el proceso de lavado, se desprende agua ruminaza y agua sangre que llega a la laguna anaerobia. A pesar de presentar variaciones por la raza, edad y alimentación contiene unos valores medios de 80% de agua, 18% de proteínas y 2% dividido en hidratos de carbono, lípidos y sales minerales (Linden y Lorient, 1997). Además, también contiene altas concentraciones de grasa y compuestos orgánicos provenientes de materiales vegetales como la celulosa, lignina o el metabolismo del animal (Pabón & Suárez, 2009). Las características encontradas de este tipo de lodos hacen que sea favorable utilizarlos como inóculo para potenciar la generación de hidrógeno pues como menciona Rodríguez (2023), la relación C/N se encuentra en valores cercanos a 17,48.

Con lo anterior, fue posible realizar el cálculo elemental para cada uno de los inóculos, y así, a su vez, identificar qué características tuvo cada inóculo agregado (Tabla 8).

**Tabla 8**

*Caracterización elemental de los 2.5L de inóculo agregados*

Inóculo	%N	%C	%Humedad	%Cenizas	%Grasas
Antanas	0.0625	1.1250	1.8250	0.1500	0.2500
Frigovito	0.0483	1.0965	2.0795	0.4820	0.0638
Porcino	0.0350	0.4900	1.6170	0.5080	0.2108

Además, la homogenización del sustrato con el inóculo provocó que la composición elemental para cada reactor variara. Para identificar la caracterización fisicoquímica resultante de la mezcla, luego de obtener la composición elemental de los 2.5L de inóculo agregados a cada reactor, se realizó la sumatoria del sustrato e inóculo para cada uno, obteniendo lo que se evidencia en la tabla 9.

**Tabla 9**

Sumatoria de la mezcla sustrato e inóculos

Reactor	N (kg)	C (kg)	Humedad (kg)	Cenizas (kg)	Grasas (kg)	Relación
						C/N
Blanco	0.10	16.67	29.30	0.38	0.00	16.7:1
Antanas	0.16	17.80	31.13	0.53	0.25	17.8:1
Frigovito	0.14	17.77	31.38	0.86	0.06	17.7:1
Porcino	0.13	17.16	30.92	0.89	0.21	17.2:1

Los resultados arrojan que el mayor aporte de nitrógeno se encuentra en el reactor de Antanas con 0,16 kg, de importancia porque según Garavito Ruas, O. P., et al 2018, durante el proceso anaeróbico en la etapa de la hidrólisis el nitrógeno orgánico da lugar a formas amoniacales que son nutrientes importantes para el crecimiento bacteriano siempre y cuando la producción de nitrógeno orgánico no se encuentre en exceso. En cuanto al carbono, Antanas y Frigovito determinan valores superiores a 17 kg que en relación al nitrógeno están en valores de relación C/N (17:1) cercanos a lo sugerido por Werner et al., 1989 lo que podría determinar una inhibición en el crecimiento de bacterias metanogénicas por la cantidad excesiva de amonio lo cual es importante en el proceso de producción de hidrógeno. Por otra parte, la FAO 2011, explica que en relaciones C/N relativamente bajas la actividad bacteriana es mucho menos acelerada y tiende a producirse amonio lo que podría inhibir el proceso de digestión anaerobia. El amonio libre puede ser inhibitorio para la fermentación anaeróbica y tóxico para las bacterias metanogénicas (Guevara, 1996; Gallert y Winter, 1997; Cui y Jahng, 2006).

Las grasas como contribución al proceso son netamente aportadas por los inóculos (Tabla 8) donde se reportan los valores más elevados por parte de Antanas y Porcino mayores a 0,20kg según Mojica, C., Vidal, E., Rueda, B., & Acosta, D. (2016), reporta que en 1000kg de estiércol de cerdo es posible encontrar hasta 8,43% de grasas que en relación son valores similares a los expuestos en la tabla 9. Rivas S et al., 2010 destaca que, la utilización de grasas junto con la combinación de sustratos ricos en nitrógeno y abundantes en carbono eleva la productividad de biogás.

|

A nivel general, los reactores a los que se les agregó inóculos de Antanas y Frigovito representan los valores más elevados a nivel elemental, por lo que en ambos los microorganismos van a tener mayor disponibilidad a los nutrientes para sus procesos metabólicos. Sin embargo, Porcino no varía significativamente con relación a los dos, así que, en este punto cabe destacar la cantidad de cenizas, pues Antanas es el que representa la menor cantidad, lo que puede indicar que los contenidos inorgánicos contenidos en estas no representan un problema tan importante que altere los procesos anaerobios que desencadenen en la generación de hidrógeno.

### **2.2.3. Siembra de sustrato e inóculo.**

Una vez preparada la mezcla homogénea de inóculo y sustrato se procede a implementar en los reactores para iniciar con la fermentación oscura. Se señalizó cada recipiente con una nomenclatura que identifica el contenido dentro de ellos. Los nombres y las proporciones de elementos depositados dentro de cada reactor son:

- **Blanco (B):** Este reactor, servirá de control en la generación de hidrógeno verde; lleva en su contenido 4 Kg de sustrato caracterizado, cuantificado y homogenizado, 4 L de agua adicional y 0.58 L de solución buffer ( $\text{CH}_3\text{COOH}+\text{NaHCO}_3$ ). Se cierra herméticamente, se rastrea pH, temperatura interna y presión de agua constante con los accesorios instalados en cada reactor.
- **Lodos de Frigovito (LF):** Aquí se dispusieron 4 L de agua adicional, 4 kg de sustrato homogenizado y 2.5 L del inóculo proveniente de la planta de sacrificios Frigovito S.A y 0.58 L de solución buffer ( $\text{CH}_3\text{COOH}+\text{NaHCO}_3$ ). Con todos los elementos dentro del reactor se cierra herméticamente y se dispone en la piscina para el inicio de su función.
- **Lodos de Antanas (LA):** En este recipiente se adiciona 4 kg de sustrato homogeneizado, 4 L de agua adicional, 2.5 L del inóculo proveniente de la laguna de igualación del PTAA y 0.58 L de solución buffer ( $\text{CH}_3\text{COOH}+\text{NaHCO}_3$ ).

|

- **Porcino (P):** En este contenedor se agregaron 4 kg de sustrato homogeneizado, 4 L de agua adicional, 2.5L del inóculo estiércol de cerdo suministrado por una unidad familiar ubicada en el corregimiento de Mapachico, Pasto y 0.58L de solución buffer ( $\text{CH}_3\text{COOH}+\text{NaHCO}_3$ ).

En cada uno se cargó la mezcla homogeneizada de sustrato-inóculo-agua, en las proporciones mencionadas en el diseño de experimentos (Tabla 2). Dicha mezcla solo ocupó el 70% del volumen total de cada reactor, debido al espacio predestinado al almacenamiento de los gases correspondiente al 30% restante.

Ahora bien, aunque en un proceso fermentativo, la producción de hidrógeno se da per sé, es consumido por las bacterias metanogénicas. Este ciclo se da de forma natural y es así cómo la degradación y el reciclaje de la materia es posible. Sin embargo, para fines de la experimentación, no fue suficiente con la degradación del sustrato extraído de la plaza de mercado El Potrerillo. De esta manera, inocular la muestra con un consorcio de microorganismos adaptados a condiciones anaerobias, potenció significativamente la degradación de la materia, y a su vez, en condiciones mencionadas, la producción de hidrógeno. Es así que sistemas cómo los lodos de lagunas anaerobias y el porcino permitieron analizar más ampliamente, si la producción, gracias a estos, incrementó. Para ello, el análisis del tercer objetivo específico, centrado puntualmente en el estudio de la producción, permitió centralizar la idea principal de la investigación, y darle una respuesta a la hipótesis planteada.

#### ***2.2.4. Implementación de reactores en piscina de calefacción.***

Una vez adecuados los reactores se obtuvieron unos valores iniciales para cada parámetro influyente en la investigación. En la tabla 10 se indican los datos mencionados.

#### **Tabla 10**

*Datos Iniciales para el proceso de fermentación*

|

Inicio del proceso de fermentación oscura			
Parámetros medidos	VALOR	UNIDADES	
Temperatura	Interna	20-25	°C
	Externa	18	°C
pH	5.5-7.0	Unidades de pH	
Presión manométrica	0.0014	Atmósferas (Atm)	
Volumen de agua en la piscina	90	L	

Los parámetros expuestos en la tabla 10 representan dichos valores iniciales para una mejor producción de hidrógeno. La presión se reguló para que esté constante durante el periodo de experimentación. Gracias al agente buffer suministrado, el pH consiguió una estabilidad entre ese rango óptimo de valores. La temperatura externa se planteó en valores cercanos a los 18°C para garantizar un medio estable y, por último, la temperatura interna se mantuvo entre los 20-25°C, gracias al pretratamiento mencionado, lo que otorgó un ambiente propicio para la degradación microbiana.

La presión, que se fijó el valor en 0.0014atm, se concatena con las demás variables a la hora de la producción de hidrógeno. Lo anterior debido a que, al no estar en un rango óptimo, puede llegar a la inhibición por la acumulación del gas, que a su vez reduce la actividad bacteriana, o, por otro lado, no conseguir la solubilidad del hidrógeno en el medio. Al tomar las muestras puntuales de H<sub>2</sub>, la presión interna se reduce significativamente, ocasionando que las bacterias puedan seguir consumiendo el sustrato y emitiendo gases en la zona de disposición predestinada en el diseño de experimentos (Figura 2), pues dado que la presión influye en la solubilidad de los gases, al mantenerse constante se puede conseguir la estabilidad en la formación de gases.

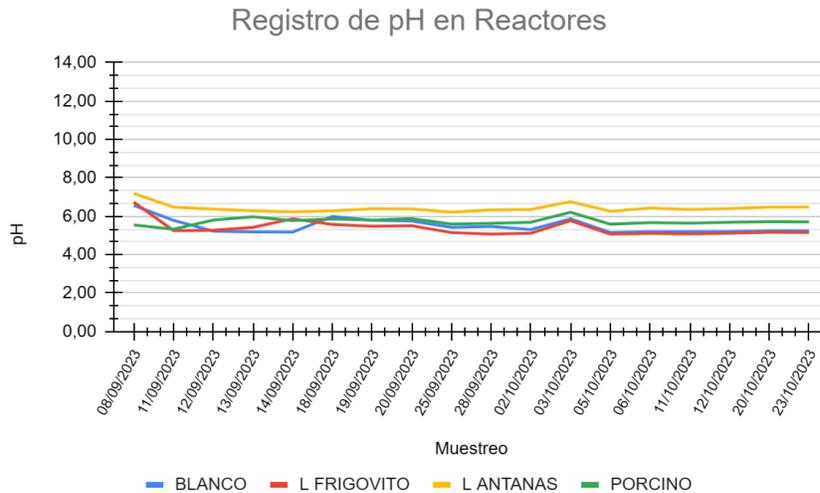
### 2.2.5. Descripción de las series de tiempo en el proceso de generación de H<sub>2</sub>.

Para evidenciar el comportamiento de las variables que influyeron en la producción de hidrógeno se analizó el comportamiento temporal del pH y la temperatura tanto interna como externa.

**2.2.5.1. pH.** En total se realizaron 18 muestreos durante el proyecto de investigación, identificando una tendencia producto de la adición del agente Buffer, adecuado para que la degradación de la materia sea efectiva, sobre todo hasta la fase acetogénica. Los resultados para cada día están explícitos en la figura 9.

#### Figura 9

Gráfica de comportamiento y tendencia del pH



Los datos de pH permitieron acceder a diferentes medidas de tendencia central para analizar a profundidad que ocurrió durante el tiempo del experimento.

#### Tabla 11

Estadística descriptiva del pH

	<b>Blanco</b>	<b>Frigovito</b>	<b>Antanas</b>	<b>Porcino</b>
<b>Nombre</b>	<b>(B)</b>	<b>(F)</b>	<b>(A)</b>	<b>(P)</b>
Media	5.49	5.38	6.42	5.73
Máximo	6.56	6.74	7.19	6.21
Mediana	5.28	5.21	6.38	5.7
Mínimo	5.15	5.07	6.21	5.33
Variación	0.15	0.18	0.052	0.035
Desviación estándar	0.39	0.42	0.23	0.19
Error estándar	0.09	0.1	0.05	0.04
Sesgo	1.19	1.88	2.16	0.5
Curtosis	0.6	3.34	4.49	0.82

La estadística de la tabla 11 permitió inferir que el efecto *Buffer* actuó, a nivel general, de manera eficiente en los reactores, esto debido a que se mantuvieron en un valor medio de 5.49 el menor, hasta 6.42 el mayor. Según Varnero (2011), el pH óptimo para la digestión anaerobia de un cultivo mixto está en un rango de 5.2 y 7.4, siendo el pH neutro el ideal. El bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) reacciona con los Ácidos Grasos Volátiles (AGV), liberando  $\text{CO}_2$ , el cual, a su vez, se mezcla en la fase acuosa desarrollando una alcalinidad natural en el sistema (Mohammadi et al., 2012; Mohan et al., 2011), lo que permite obtener un pH óptimo sin alterar abruptamente el balance fisicoquímico de la comunidad microbiana.

El pH fue una de las variables más indispensables para que la ruta metabólica siguiera el camino de la producción de hidrógeno por medio de la actividad de la enzima hidrogenasa, encargada de la oxidación reversible de hidrógeno, pues aquí, los microorganismos pueden presidir en la formación de ácidos grasos volátiles como el butirato y el acetato si el pH se encuentra entre 5 y 6. Además, este rango también inhibe la proliferación de microorganismos metanogénicos, debido a que las arqueas de este tipo son afectadas directamente por el pH. (Hawkes et al., 2022; Fang y Liu, 2002).

|

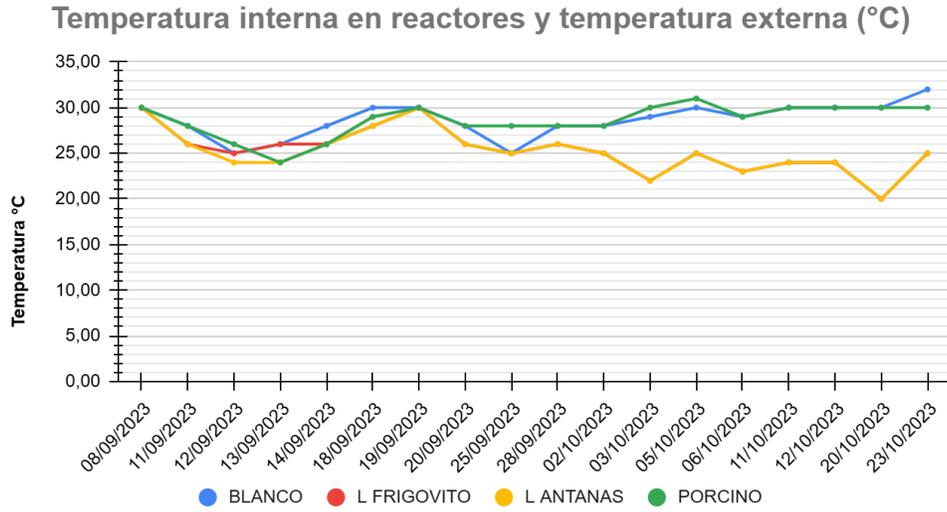
Ahora bien, en este punto se debe considerar que el rango óptimo de pH está sujeto al sustrato utilizado, pues dependiendo de las características de este, la producción de hidrógeno puede aumentar. En este sentido, cabe resaltar que la biomasa lignocelulósica está compuesta de celulosa, hemicelulosa y lignina. Por su parte la hemicelulosa se compone de polisacáridos ramificados en cadenas de monosacáridos mucho menos resistentes a la hidrólisis que la celulosa, por lo que son propensos a una digestión anaerobia más efectiva (Tenkanen et al., 1995). Según Peraza et al., 1993 “los residuos de los monosacáridos incluyen pentosas, hexosas y ácidos uránicos”. En un estudio realizado por Lin et. Al (2006), el rango óptimo de pH para la producción de hidrógeno fue de 6.5 empleando xilosa y glucosa.

Se evidenció que, a pesar de mantenerse en valores cercanos, durante el tiempo de experimentación el pH de Antanas siempre se mantuvo en valores más altos que los demás (Tabla 11). Según el pH cercano a la neutralidad es benéfico para que la ruta metabólica desencadene en el desprendimiento de H<sub>2</sub>, pues mediante la glucólisis se desprende piruvato, y la oxidación de este, a su vez, determina el rendimiento. Un cambio en el metabolismo puede desencadenar en la acumulación de ácidos, elementos tóxicos para la producción (Cadena & Córdoba, 2022). Con la anterior aclaración, hasta el momento se deduce que el reactor que contiene el sustrato con las características lignocelulósicas mencionadas anteriormente y el inóculo de Antanas fue el más adecuado para la producción de hidrógeno.

**2.2.5.2. Temperatura interna y externa.** De igual manera, junto con la toma de muestras de pH se recolectaron los datos de temperatura dentro de los reactores (con los termómetros de punzón) y la temperatura externa (con un termómetro digital); obteniendo los datos que aparecen en la figura 10.

### **Figura 10**

*Comportamiento y tendencia de la temperatura*



Para identificar el comportamiento de la temperatura en los 18 muestreos se realizó la estadística descriptiva de los datos (Tabla 12).

**Tabla 12**

*Estadística descriptiva de temperatura*

	<b>Blanco</b>	<b>Frigovito</b>	<b>Antanas</b>	<b>Porcino</b>
<b>Nombre</b>	<b>(B)</b>	<b>(F)</b>	<b>(A)</b>	<b>(P)</b>
Media	28.66	25.33	25.16	28.61
Máximo	32	30	30	31
Mediana	29	25	25	29
Mínimo	25	20	20	24
Variación	3.53	6	6.15	3.31
Desviación estándar	1.88	2.44	2.48	1.82
Error estándar	0.44	0.58	0.58	0.43
Sesgo	-0.55	0.07	0.24	-0.94
Curtosis	-0.51	0.04	-0.06	0.06

|

Para garantizar unas características ambientales favorables, fue necesario realizar el pretratamiento térmico al sustrato. Según Li y Fang (2007), es de los métodos más utilizados para favorecer el predominio de microorganismos productores de H<sub>2</sub>. Aquí también cabe resaltar que las bacterias metanogénicas no logran sobrevivir a temperaturas elevadas pues son muy sensibles a cambios drásticos. Por ende, al aumentar la temperatura los microorganismos que consumen el hidrógeno se inactivan.

Según Varnero (2011), “la temperatura es uno de los principales parámetros de diseño”, debido a que el crecimiento microbiano es directamente proporcional al incremento de la temperatura. Por lo tanto, al disponer los reactores en un ambiente acuoso en un rango de temperatura mesófilo, se garantiza que den lugar a las fases anaeróbicas con mayor eficiencia pues se incrementa la producción de hidrógeno a medida que hay mayor degradación de la materia orgánica, dado que, con un incremento en la temperatura, menor es el tiempo que se demora la fermentación en efectuarse.

Además, La temperatura externa también fue una variable influyente, puesto que su control externo y el realizado en el pretratamiento del sustrato provocó una activación de las bacterias productoras de hidrógeno. Según la línea base, la temperatura óptima debe estar en un rango mesófilo, para que el proceso fermentativo se desarrolle a cabalidad y en un menor lapso de tiempo. Mantener la temperatura externa en los rangos mencionados en la piscina, influyó en que las bacterias actuaran de manera eficiente, pues, de lo contrario, un cambio brusco en la temperatura hubiera ocasionado el decremento de la actividad microbiana y, por tanto, valores mucho menores a los obtenidos.

Ahora bien, de acuerdo a la figura 8 se puede observar el comportamiento de la temperatura interna de los reactores durante los 18 muestreos realizados, destacando entre estos datos, la desviación estándar de los reactores inoculados con lodos de PTAA y de Frigovito, pues presentan

|

casi 1 punto de diferencia al alza, en comparación con los demás reactores, lo que representa una mayor variabilidad entre los datos recolectados (Tabla 12).

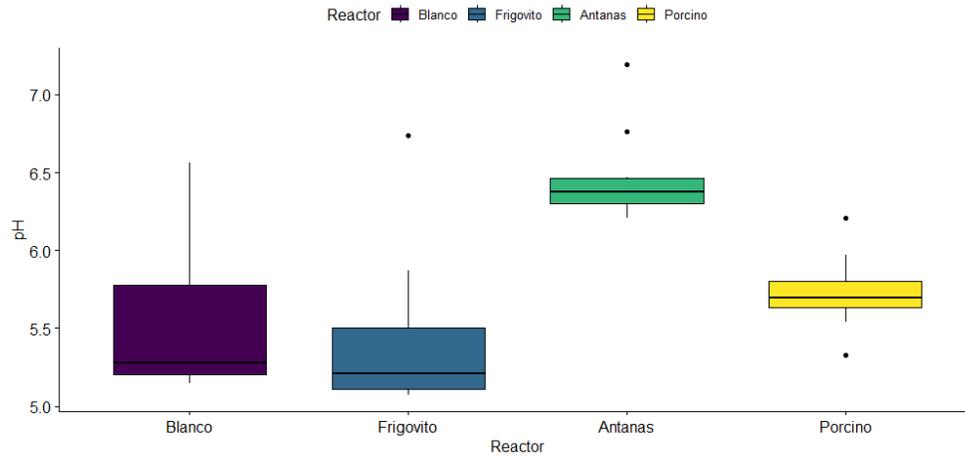
La diferencia en la temperatura interna observada entre los reactores inoculados por una parte con lodos de Antanas y lodos de Frigovito y por otra parte el reactor inoculado con estiércol de cerdo y el blanco, se debe a varios factores relacionados con el metabolismo microbiano y la composición del inóculo, pues las condiciones externas fueron las mismas para todos los reactores durante el proceso investigativo (Tabla 12).

**2.2.5.3 Diferencia entre los tratamientos.** Se realizó la comparación de los cuatro inóculos mediante la aplicación de las pruebas Kruskal-Wallis, cuya finalidad es comparar si existen diferencias entre las medianas de los reactores. Se utilizó esta prueba dado que no se cumple el supuesto de normalidad. Además, la prueba de Tukey sirvió para tener el contraste de las diferencias encontradas. Para determinar si realmente existen diferencias significativas se trae a colación el valor p, utilizado para identificar si el valor obtenido cumple o no con los supuestos de normalidad planteados en las hipótesis. En este sentido se tomó un rango de significancia del 5%, lo que indica, si los valores obtenidos se encuentran por debajo de 0.05 se interpreta que los datos no se comportan normalmente.

**2.2.5.3.1. pH.** El análisis de Kruskal-Wallis, con un grado de libertad de 3, el p-valor arrojado por el *software* RStudio fue de  $4.14 \cdot 10^{-9}$ , estando muy por debajo del 0.001, lo que implica que en este caso los datos no se comportan normalmente y por tanto existen diferencias entre el pH de los reactores.

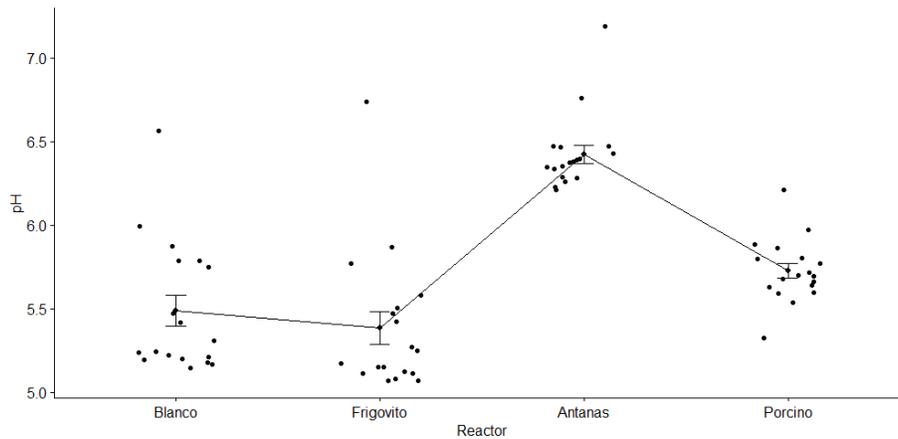
## **Figura 11**

*Comparación de pH en reactores*



**Figura 12**

*Dispersión de pH en reactores*



Las figuras 11 y 12 permiten analizar que, a nivel general, si existen diferencias en el pH de los cuatro reactores. Sin embargo, el reactor Blanco y el de Frigovito no presentan una diferencia tan considerable, dado que las medias entre ellos se encuentran cercanas. Por ello, se aplicó una prueba de rangos de Wilcoxon, para determinar si existen diferencias y efectivamente, la prueba arrojó un valor de 0.1246, con lo que se deduce que no hay diferencias significativas entre ellas. También se identifica una dispersión más considerada en el reactor blanco, en donde el pH tuvo un comportamiento variable, hasta el punto de presentar valores atípicos.

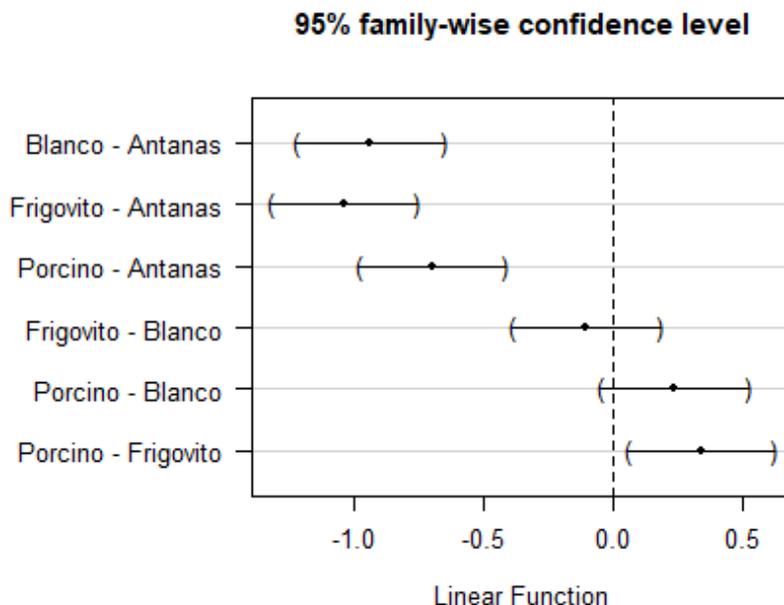
|

A pesar de que al igual que los demás, se agregó el agente *buffer*, la ausencia de inóculo afectó a la estabilización del pH, debido a que el consorcio de microorganismos que se encuentran en los inóculos, en el proceso degradativo, se encargan de estabilizar los ácidos, alcoholes y bases producto de los cambios de fases y de la producción acuosa y/o gaseosa de compuestos propios de la fermentación (Londoño & Rodríguez, 2012). Lo anterior en conjunto con que el contenido elemental incrementa con el inóculo, explica porque este es indispensable para los parámetros influyentes en la producción de hidrógeno.

Por otra parte, los reactores con inóculos de Antanas y Porcino presentan las dispersiones más bajas durante la investigación, por lo que se deduce que el efecto *Buffer* fue más efectivo en ambas. Sin embargo, el pH del porcino no logró amortiguarse en los valores cercanos a la neutralidad, razón por la cual se vio afectada la producción de hidrógeno; a comparación que con en el reactor de Antanas, donde el pH obtuvo los mayores valores. Para corroborar esta diferenciación se aplicó la prueba de Tukey, la cual arrojó la figura 13.

### **Figura 13**

*Diferencias de pH entre reactores*



De la figura 13 se puede argumentar que tanto el Porcino, el Blanco y Frigovito se encuentran en rangos cercanos y que el Blanco se encuentra en medio de Frigovito y Porcino, viendo así que la variación de pH no es tan abrupta. También se evidencia que, exceptuando Antanas, el efecto *Buffer* no reguló los valores de pH en los valores iniciales. Por el contrario, tendieron a acidificarse, producto de los procesos de hidrólisis y acidogénesis, en donde se maximiza el desprendimiento de compuestos ácidos y Ácidos Grasos Volátiles (Parra, 2015) que provocan una caída en el pH interno.

Por su parte, Antanas tiene medias significativamente diferentes en comparación con los demás reactores, siendo el único más cercano a la neutralidad. Lo anterior se explica si se tiene en cuenta que los residuos de lixiviación y percolación que gravitatoriamente sedimentan, entran a una serie de fases, en donde, al disminuir el oxígeno, la fase de transición ocasiona una reducción del pH, al igual que en la fase ácida, pero esta incrementa en la fase fermentativa anaerobia, donde de no ser por el agente *Buffer*, culminaría en liberación de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> (Zuluaga, 2019). Sin embargo, debido a que la alcalinidad natural del sistema se da en la descomposición, especialmente de las proteínas, donde se libera amoníaco, que al reaccionar con el dióxido de carbono del medio produce

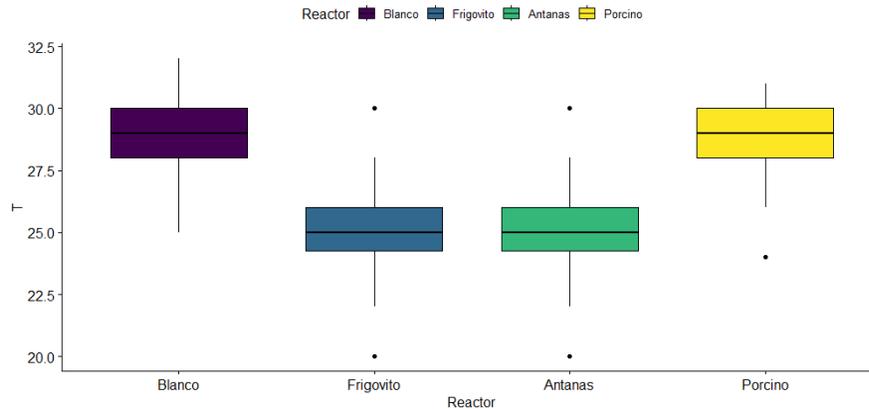
bicarbonato de amonio, el cual aporta a la alcalinidad (Varnero, 2011) el pH en el sistema se estabiliza. Esto, en contraste con la tabla 9, indica que los valores de nitrógeno en el caso de Antanas son los mayores en comparación con los demás y, por tanto, se especifica que son más propensos a regular el pH.

Dado que, a pesar de las variaciones, según la revisión bibliográfica todos se encuentran en rangos óptimos para la producción de hidrógeno, se vio necesario realizar el contraste con la temperatura.

**2.2.5.3.2. Temperatura interna.** Al igual que con el pH, primero se aplicó Kruskal-Wallis, arrojando un p valor de  $7.04 \cdot 10^{-6}$ , con un grado de libertad de 3. Lo anterior indica que también hay diferencias muy marcadas entre los cuatro reactores.

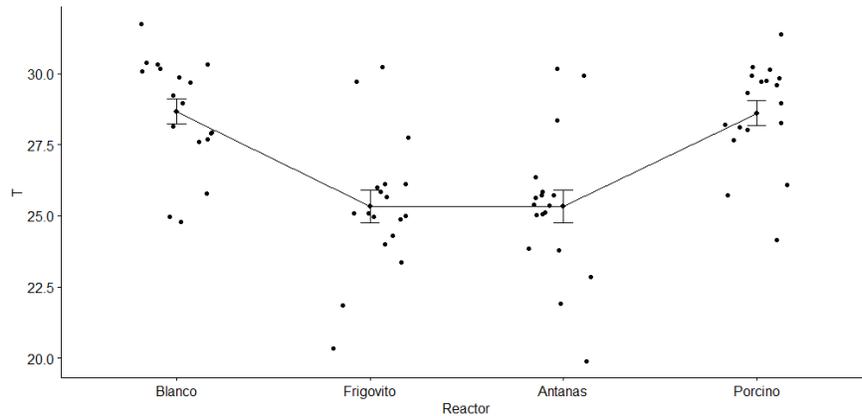
**Figura 14**

*Comparación de temperatura interna en reactores*



**Figura 15**

*Dispersión de temperatura en reactores*



Con las figuras 14 y 15 se demuestra que, a pesar de que existen diferencias significativas, hay reactores cuya media se encuentra estrechamente relacionada; tal es el caso de los lodos de Frigovito y Antanas y de Blanco y Porcino. Para lo anterior se aplicó nuevamente la prueba de rangos de Wilcoxon, con lo que se obtuvo un valor de 1 para las dos relaciones mencionadas, lo que significa que la temperatura tuvo un comportamiento similar en los dos casos, a pesar de que la dispersión de los datos es parecida.

Los reactores de lodos anaerobios presentaron una temperatura decreciente, después del octavo día de experimentación, lo que condujo a que sean quienes presenten, aunque no drásticas, las menores temperaturas. Lo anterior puede explicarse si se aprecia que los microorganismos presentes son anaerobios estrictos y facultativos, pues se tomaron directamente de un hábitat anóxico, esto indica que bacterias *Clostridium* y *Enterobacter*, mencionadas anteriormente, incrementaron la velocidad de degradación gracias a la temperatura suministrada en el proyecto, lo que evidentemente redujo el tiempo (Varnero 2011). Además, lo anterior también explica que la dispersión de ambos presente valores atípicos muy por debajo de la media.

En comparación con el blanco y porcino, la composición lignocelulósica de los dos, en conjunto con que se tomaron a temperatura ambiente, afecta a la degradación efectiva de la materia, por lo que los procesos microbianos se van desarrollando lentamente, conservando así la temperatura, pues el microbiota tiene materia que consumir, inclusive hasta el último día de muestreo.

|

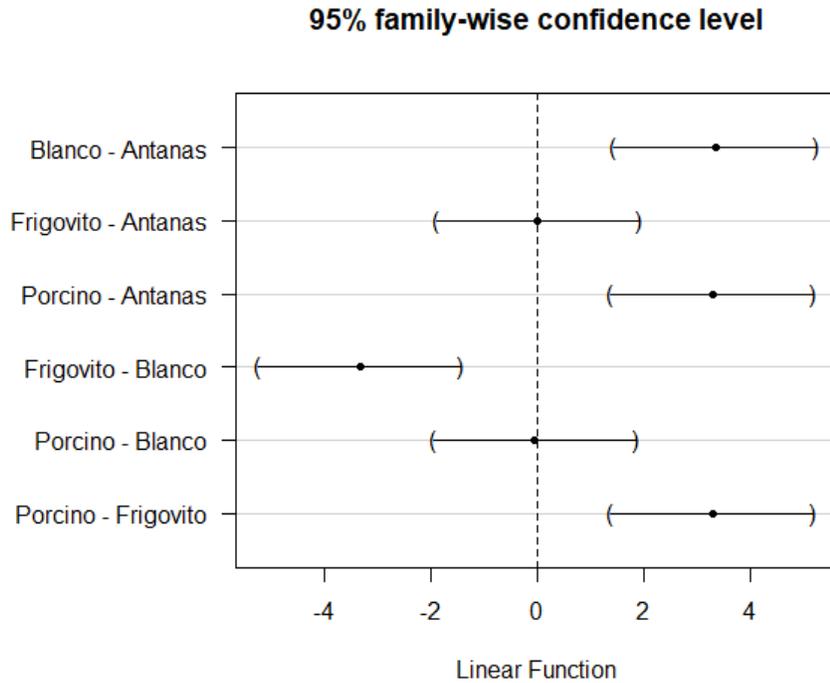
De acuerdo con Detman A, et al (2021) los lodos anaeróbicos y el estiércol de cerdo albergan distintas poblaciones microbianas, el estiércol de cerdo suele contener una mayor concentración de bacterias fermentativas altamente activas, como *Clostridium*, que producen más energía y, por lo tanto, más calor durante la fermentación oscura al descomponer los residuos orgánicos en gases como hidrógeno (H<sub>2</sub>) y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).

Además, Lee J-H et al (2024) declara que el estiércol de cerdo podría contener bacterias como *Clostridium* y *Thermoanaerobacterium*, que son productores de hidrógeno y suelen generar más calor durante el proceso de acidogénesis en condiciones mesofílicas o incluso termofílicas, este fenómeno podría explicar por qué el reactor con estiércol de cerdo muestra una temperatura interna superior a la externa. Estas bacterias generan más energía debido a una mayor actividad fermentativa, descomponiendo los sustratos orgánicos a una velocidad superior, lo que genera más calor. En contraste Junkyung Lee, et al (2024) manifiesta que los lodos anaerobios, puede contener una mezcla microbiana adaptada a condiciones mesofílicas o incluso psicofílicas, por lo cual tienden a liberar menos energía térmica en sus reacciones metabólicas, ya que los microorganismos presentes no generan suficiente calor para compensar la pérdida hacia el ambiente, este tipo de comunidades es más eficiente en la degradación de compuestos orgánicos complejos a bajas temperaturas, pero menos efectiva en la producción de calor.

Por otra parte, Herwig C, et al (2012) menciona que, en la fase metabólica de los microorganismos, los procesos de fermentación especialmente en la fermentación oscura, la descomposición de compuestos orgánicos genera ácidos grasos volátiles, alcoholes y gases, durante esta actividad metabólica dependiendo del tipo de microorganismos y la fase de crecimiento, puede generarse calor (termogénesis). Los microorganismos presentes en el estiércol de cerdo tienden a ser más eficientes en esta conversión, lo que explica la mayor temperatura interna del reactor con este inóculo. Para verificar lo anterior se aplicó la prueba de Tukey (figura 16) para ver las diferencias entre cada reactor.

**Figura 16**

*Diferencia entre temperatura interna de los reactores*



A nivel general, la figura 16 permitió corroborar que, como se explicó anteriormente, los únicos cuya comparación es similar es entre los inóculos de lodos y los de porcino y blanco. Las demás comparaciones entre pares presentan diferencias significativas. Debido a que para los cuatro casos el sustrato es el mismo, la variación de temperatura radica en el inóculo. Así pues, se identifica que los lodos consumen más rápido la materia por lo que la actividad microbiana decrece luego de unos días. Lo anterior se fundamenta en qué, según Varnero (2011), la velocidad de los procesos biológicos depende de la temperatura. Al disminuir la temperatura, la actividad decrece, producto de la disminución en el alimento y variaciones en el pH como se evidencia en el apartado posterior. Por otro lado, la composición elemental de los inóculos expuesta en la tabla 7 indica que se presentan mayores valores de nitrógeno, carbono, humedad, cenizas y grasas (este último exceptuando Frigovito), que el porcino. Por lo que hay más nutrientes y características físicas favorables para que la descomposición se haya dado de esta manera. Los valores más bajos en el

estiércol tuvieron sus repercusiones en la efectividad del consumo del sustrato por parte de los microorganismos presentes en él, cuyas características también difieren de los lodos.

**2.2.5.4. Correlación entre pH y Temperatura.** Para la correlación de datos, se utilizó el coeficiente de correlación de *Spearman*, siguiendo con la linealidad de las pruebas no paramétricas, pues como se evidencia en la tabla 13, no todos los datos se comportan con normalidad. El coeficiente de correlación se calculó con el software RStudio, teniendo en cuenta que valores de 0.10 a 0.29 presentan una correlación pequeña, de 0.30 a 0.49 mediana y de 0.50 en adelante son altas. Dicha correlación se realizó entre el pH y la temperatura interna de los cuatro reactores, teniendo en cuenta que se planteó como hipótesis nula (H0): No existe una correlación entre las variables; y una hipótesis alternativa (H1): Existe una correlación entre las variables.

**Tabla 13**

*Normalidad de pH y temperatura*

Normalidad (Shapiro-Wilk)	Blanco	Frigovito	Antanas	Porcino
pH	0.00173	0.000223	0.000101	0.422
Temperatura Interna	0.0347	0.196	0.256	0.0139

A excepción del blanco, la temperatura tuvo un comportamiento normal en los reactores, y así mismo, solo el porcino logró la normalidad en los valores de pH obtenidos. Viendo esta discrepancia se continuó el análisis con pruebas no paramétricas.

**Tabla 14**

*Correlación de spearman de pH y temperatura*

Parámetros	Correlación de Spearman	P valor
pH Blanco – Temperatura Blanco	0.084	0.74

|

pH Frigovito-Temperatura Frigovito	0.46	0.05
pH Antanas – Temperatura Antanas	-0.18	0.41
pH Porcino -Temperatura Porcino	-0.23	0.36

Según la tabla 14, el comportamiento entre temperatura y pH del blanco es directamente proporcional positivo, con una correlación de 0.084. A pesar de que, si existe una correlación entre las dos, esta es muy pequeña, por lo que se identifica que la conexión entre ambas no es significativa. Con lo que se infiere además que, al no contener inóculo, no existió una actividad en los microorganismos degradadores que permitieran fluctuar las variables dependientes. Por otra parte, teniendo en cuenta un p-valor mayor a 0.05, los datos no tienen un comportamiento normal. Con todo lo anterior, se aprueba la hipótesis alternativa, argumentando que a medida que la temperatura del blanco aumenta, el pH lo hará proporcionalmente en un nivel insignificante.

En el reactor con inóculo de Frigovito se presenta la correlación más fuerte en comparación con los demás reactores. Aquí, con un resultado de 0.46, se aprueba la hipótesis alternativa pues se evidenció una relación media entre ambas, y se dedujo que influyen positivamente de manera recíproca. Además, el p-valor de 0.05 está en los límites de la normalidad, por lo que hay datos fuera del rango de normalidad. En este reactor se intuye que el inóculo agregado si incrementó la actividad microbiana, provocando que los dos parámetros tengan un comportamiento creciente.

La correlación del reactor con inóculo de Antanas, arrojó un valor de -0.18, que indica la comparación inversa entre los dos parámetros. Se evidencia que a medida que la temperatura disminuye, el pH aumenta pH. El p-valor está alejado de la normalidad, dado que fue de 0.41 y la dispersión de algunos datos están por fuera de los límites. Sin embargo, aquí también se aprueba la hipótesis alternativa.

El reactor con inóculo de Porcino, cuyo comportamiento es decreciente presenta una relación entre pH y temperatura negativa, representando que a medida que incrementa el pH la temperatura interna disminuye. A pesar de esto, los valores de la tabla 14 indicó que, si existe una correlación,

|

por lo que se aprueba la hipótesis alternativa. Por su parte, el p-valor, con un resultado de 0.36, no presenta normalidad en sus valores.

A nivel general, si existió una correlación en todos los reactores, dado que según HANNA *instruments* (s.f), el movimiento de los iones de hidrógeno es potenciado por el aumento en la temperatura del medio y viceversa. Aquellos a los que se les agregó inóculo, tuvieron una correlación mayor, por lo que la interacción microbiana sembrada en los reactores potencializa los procesos fisicoquímicos que alteran tanto los niveles de pH como de temperatura.

En el caso del reactor con inóculo estiércol de cerdo, el decremento de la temperatura pudo deberse a que los microorganismos no lograron desarrollarse a cabalidad por la composición del mismo, pues este contiene, según Soltanian (2020), materiales lignocelulósicos que son difíciles de degradar debido a la celulosa y hemicelulosa compuestas dentro de este material. Esto en conjunto con el sustrato, que también tiene esas características en la lignina, hacen que las bacterias descomponedores no logren trabajar eficientemente y a su vez ocasionan que la temperatura no aumente en el sistema. Además, en el artículo escrito por Vanegas (2022), estipula que para optimizar la degradación de el estiércol se requiere de una temperatura mesófila en un rango mayor al planteado en el experimento, rondando los 35-40 °C.

En este punto también se trae a colación que la relación C/N es baja en el estiércol, por lo que también fue un factor de influencia en la producción microbiana. Así es que, la falta de actividad microbiana en el ambiente fermentativo pudo ocasionar que el ambiente se acidificara, pero el efecto *buffer* estabilizó los niveles de pH desprendiendo, por parte del bicarbonato de sodio (como se mencionó anteriormente), CO<sub>2</sub>, que al mezclarse en la fase acuosa formara una alcalinidad natural.

Por su parte, la diferencia del reactor de Antanas con el anterior radica en que aquí, los microorganismos tuvieron mejores cantidades de nutrientes y características físicas, al igual que los niveles de pH no tuvieron un decremento considerable. Puesto que según Varnero (2011), la

|

solubilidad de los gases generados desciende al aumentar la temperatura, en este caso particular, la solubilidad de los gases fue mayor luego del octavo día de experimentación. Esto implica que los gases se mezclaron con la fase acuosa, lo que pudo desencadenar en la formación de ácidos, que, a su vez, pudieron ser contrarrestados gracias al agente tampón.

Además, la actividad microbiana, producto de la reducción de temperatura y el aumento del pH, ralentizó la actividad de algunos microorganismos o en algunos casos inclusive se extinguieron, ocasionando que la formación de ácido acético disminuya, y que también, no den lugar a las arqueas metanogénicas, puesto que este consorcio de microorganismos es más susceptible a desactivación por cambios drásticos en el ambiente (Barrios, 2015). Sin embargo, al aumentar los valores de pH, favorece a que, de cierta manera, los microorganismos generadores de hidrógeno se adapten al sistema con baja temperatura, por lo que, como se verá en el apartado posterior, la producción sea la mayor en este caso.

A pesar de que, en este caso, los parámetros se comportaron de esta manera, en la revisión realizada por Dávila y Razo (2007) indican que, en múltiples experimentos, el comportamiento del pH, en valores cercanos al arrojado en la experimentación, implica que la temperatura tenga valores más elevados, para que así, la actividad microbiana se desarrolle a cabalidad y se produzcan mayores trazas de hidrógeno, por lo que hay una contradicción con los valores obtenidos en la investigación, dado que la temperatura bajó. En este punto vale la pena destacar que tanto el sustrato como el inóculo presentan consorcios microbianos que no fueron sujeto de evaluación para el proyecto, debido a los límites del proyecto y a que la investigación se centró en identificar el tamaño del efecto. Sin embargo, para una mejor comprensión de los procesos acaecidos en los reactores, que permitan esclarecer el porqué de la variación entre el pH y temperatura desencadenaron en la producción de hidrógeno, es conveniente realizar un análisis microbiológico de la materia agregada.

### **2.3. Análisis de producción de hidrógeno verde a partir del gas generado en la fermentación oscura.**

Se tomaron muestras diarias del pH en cada reactor y al mismo tiempo se registraron los datos de temperatura interna y externa para su respectivo control. Las mediciones del biogás se hicieron posibles empleando el sensor MQ8 -calibrado para la medición de hidrógeno mediante el método Hoffman- (Arduino.cc, *s.f*), el cual hizo la lectura de los datos gracias a la adaptación de una tarjeta para el procesamiento de la información (Arduino), tomados durante un minuto por cada muestreo.

El registro de datos fue posible empleando la metodología de programación con el *software* “Arduino IDE”, donde se estableció un código de salida C++, que, según las especificaciones técnicas del fabricante “*Hanwei Electronics*”, se adapta a la medición de hidrógeno a través del sensor MQ8. Cabe aclarar que el sensor está capacitado para registrar otros gases como alcohol, GLP y vapores de cocina, pero con baja sensibilidad a estos. Además, el código utilizado en la programación del Arduino se enfoca especialmente a la medición del biogás en el desarrollo de esta investigación, hidrógeno.

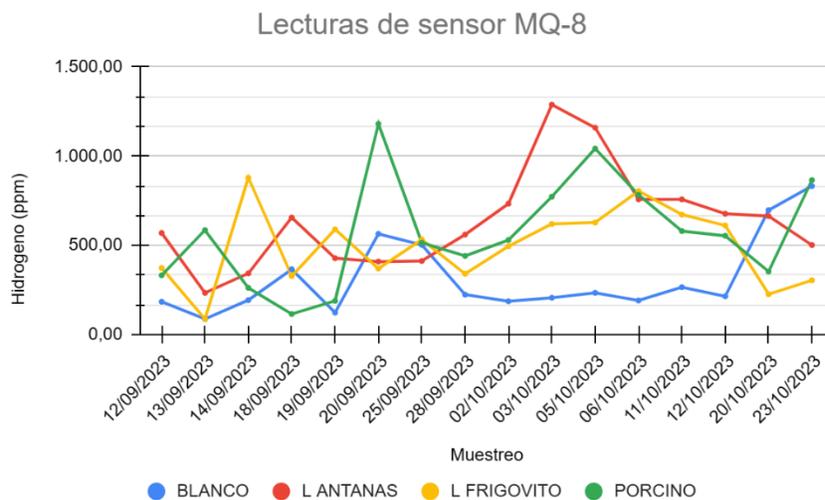
La toma de muestra empezó a realizarse 3 días después del experimento, puesto que, se requirió evacuar las primeras trazas de gases contenidas, pues los microorganismos consumían el oxígeno contenido al inicio del experimento, lo que no favorecía una anaerobiosis completa. Además, el tiempo en que estuvo confinado sin medición favoreció a la fermentación del material orgánico y, consecuentemente, a una muestra inicial representativa.

#### ***2.3.1. Descripción de la generación de H<sub>2</sub>***

La producción de hidrógeno tuvo fluctuaciones considerables a lo largo del experimento, razón por la cual, para un mejor entendimiento se realizó la gráfica de producción en el tiempo, obteniendo la gráfica que se muestra en la figura 17.

**Figura 17**

Gráfica de comportamiento y tendencia del hidrógeno



**Tabla 15**

Estadística descriptiva de producción de  $H_2$

	<b>Blanco</b>	<b>Frigovito</b>	<b>Antanas</b>	<b>Porcino</b>
<b>Nombre</b>	<b>(B)</b>	<b>(F)</b>	<b>(A)</b>	<b>(P)</b>
Media	281.28	492.21	507.78	505.21
Máximo	8.32.16	757.53	1288.67	1180.73
Mediana	209.88	564.72	433.63	521.9
Mínimo	0	0	0	0
Variación	52058.41	52217.57	132469.84	112832.87
Desviación estándar	228.16	228.51	363.96	335.91
Error estándar	53.78	53.86	85.79	79.17
Sesgo	1	-0.94	0.53	0.26
Curtosis	-0.01	-0.24	-0.6	-0.87

|

La estadística de la tabla 15 permitió identificar que, en promedio, el que tuvo mayor producción de hidrógeno fue el de Antanas. El reactor del blanco reportó valores en un rango máximo de 832 partes por millón (ppm) siendo el que presentó menores trazas de generación de H<sub>2</sub>. Con respecto a la desviación estándar, se mostraron resultados cercanos a la media establecida lo que rescata un sentido de confiabilidad en la toma de las muestras. En cuanto a la columna de los lodos de Antanas expone una media mejor establecida con respecto a las medias de los otros reactores, pues se mostró un comportamiento de producción más constante registrando valores mayores a 507 ppm del biogás y registrando el valor máximo con respecto a los otros reactores. Lo anterior confiere una importancia significativa, pues el volumen de hidrógeno obtenido se potencializa al mantener una constante de producción durante el tiempo establecido en los muestreos.

Frigovito establece una producción más lenta con respecto porcino y Antanas, aunque la media establecida se encuentre por encima de 490 ppm, los comportamientos en los reactores del inóculo con estiércol de cerdo y lodos de Antanas, podrían presentar una mejor adaptación de los microorganismos al control del pH y temperatura como se explica en párrafos anteriores. Los valores que se encontraron a lo largo de los muestreos dictaminaron una media en el pH de 6,42 y temperaturas de entre 27°C y 30°C lo que según Londoño & Chaparro 2012 son valores que ayudan a la eficiencia en la producción por proporcionar el medio ideal.

En general la producción de hidrógeno muestra una alta variabilidad entre los diferentes puntos de medición. Esto sugiere que diversos factores, además del pH y la temperatura, podrían estar influyendo en el proceso. La presencia de valores máximos muy altos indica que pueden existir eventos o condiciones específicas que favorecen picos de producción en ciertos momentos, además los valores de sesgo y curtosis sugieren que la distribución de los datos no es perfectamente normal, esto puede indicar la presencia de valores atípicos o de condiciones que afectan la simetría de la distribución.

La interacción entre el pH y la temperatura puede ser compleja. Un pH óptimo a una determinada temperatura puede no ser el mismo a otra temperatura. Además, cambios bruscos de

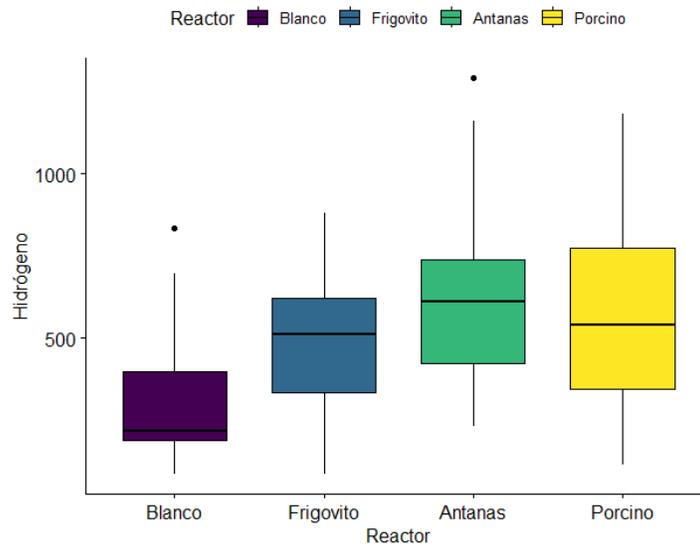
temperatura o pH afectan negativamente la estabilidad del sistema y la producción de hidrógeno, además, la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco expone en su artículo “Producción biológica de hidrógeno mediante fermentación oscura” que controlar la reacción en pH ácido hace que crezcan los microorganismos favorables, pero no en la misma proporción y sólo muy pocos prefieren pH básico.

### 2.3.2. Diferencias en la producción de H<sub>2</sub> entre los reactores.

Se realizó la comparación entre la producción de hidrógeno en los cuatro reactores para identificar las diferencias entre cada uno. La comparación de Kruskal-Wallis indicó que, en un grado de libertad de 3, el p valor fue de 0.00529, por lo que, al estar por debajo de 0.05, no existe normalidad y por ende si existen diferencias entre los cuatro reactores.

**Figura 18**

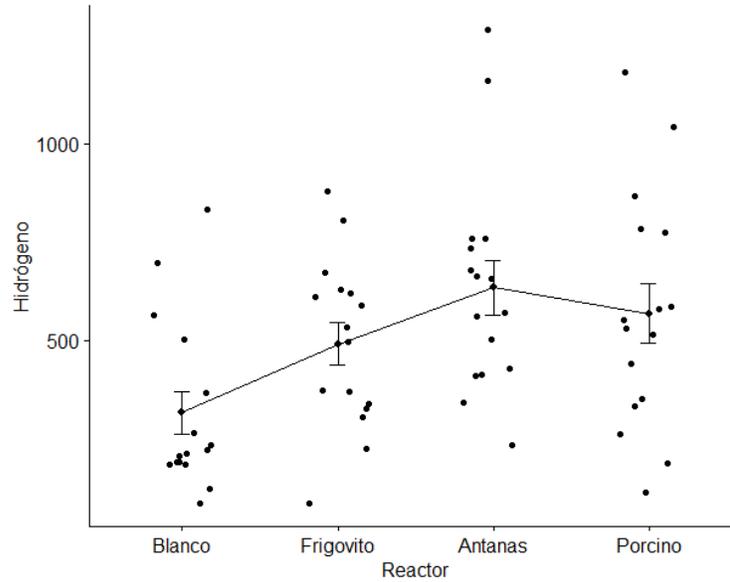
*Comparación de hidrógeno en reactores*



**Figura 19**

|

### Dispersión de hidrógeno en reactores

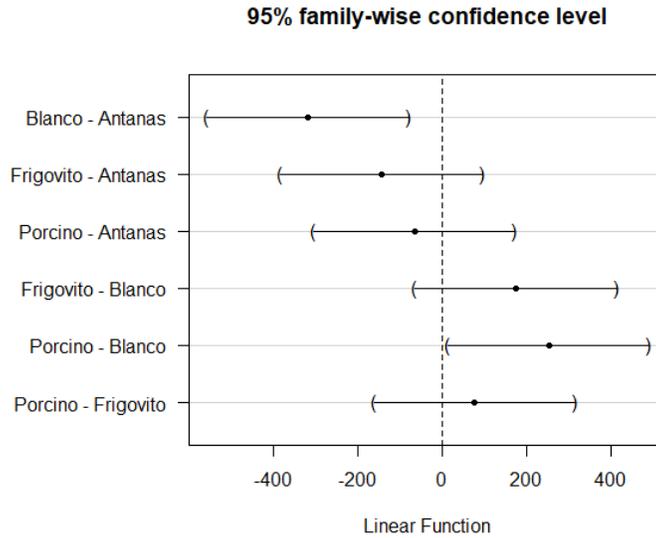


En las figuras 18 y 19 se evidenció que efectivamente, las medias en la producción varían en cada caso, siendo el del reactor blanco, según la media, el que presentó valores más bajos en la experimentación, producto de que no se inoculó con un consorcio de microorganismos especializados. También se observó que entre los reactores con inóculos de Antanas y porcino no existieron diferencias significativas en la producción de hidrógeno. Además, el IQR indica que los datos fueron muy dispersos, presentando valores atípicos en cada caso. Esto indica que el comportamiento microbiano fue variable en los reactores en cada muestreo, lo que puede atribuirse principalmente a los valores de pH y Temperatura del medio, pero además a diversas reacciones que acontecieron en el proceso y que provocaron la variabilidad de los datos.

### Figura 20

*Diferencia entre hidrógeno de los reactores*

|



Los resultados de la prueba de Tukey mostrados en la figura 20 evidencian diferencias significativas entre los grupos. El blanco presenta una producción de hidrógeno significativamente menor que los lodos de Antanas. Los lodos de Frigovito y el estiércol Porcino muestran resultados más cercanos al de Antanas, aunque aún presentan diferencias significativas.

Los lodos de Antanas muestran la mayor producción de hidrógeno, seguida de los lodos de Frigovito y el estiércol Porcino. La diferencia en la producción entre los lodos de Antanas y los de Frigovito es menor que la diferencia entre Antanas y el blanco. Los lodos de Frigovito presentan una producción significativamente mayor que el blanco, pero menor que los lodos de Antanas y el estiércol porcino. El estiércol porcino, a su vez, produce más hidrógeno que el blanco, pero menos que los otros dos inóculos.

### 2.3.3. Correlación de variables determinantes para la producción de H<sub>2</sub>.

Se utilizó la correlación de *Spearman* teniendo en cuenta que se está realizando una prueba no paramétrica. Para ello, utilizando el *software* Rstudio se analizó la relación entre las variables de influencia en el experimento y la producción de hidrógeno para cada reactor.

|

Antes de realizar la correlación se aplicó el test de normalidad de Shapiro-Wilk para identificar la normalidad de los datos.

**Tabla 16**

*Normalidad de hidrógeno*

<b>Normalidad (Shapiro-Wilk)</b>	<b>Blanco</b>	<b>Frigovito</b>	<b>Antanas</b>	<b>Porcino</b>
Hidrógeno (ppm)	0.0158	0.6337	0.420	0.804

En la tabla 16 se observa que al aplicar el test se evidenció que hay diferencias entre la normalidad de los datos, dado que en el blanco no es normal y en los demás reactores se cumplen los supuestos de normalidad. De aquí se puede deducir que la adición de los inóculos actuó eficientemente para que los datos siguieran un comportamiento normalizado durante el tiempo que se tomaron los datos. Para realizar el análisis estadístico, teniendo en cuenta lo anterior, se aplicaron pruebas no paramétricas.

Así pues, se realizó la correlación entre el pH y la temperatura con relación a la producción de hidrógeno, para identificar cual fue su influencia.

**Tabla 17**

*Correlación de pH e Hidrógeno*

	<b>Correlación</b>	<b>P valor</b>
pH Blanco – H2 Blanco	0.2	0.66
pH Frigovito – H2 Frigovito	-0.11	0.31
pH Antanas – H2 Antanas	0.37	0.95
pH Porcino – H2 Porcino	-0.12	0.39

**Tabla 18**

*Correlación Temperatura e Hidrógeno*

	Correlación	P valor
Temperatura Blanco – H2 Blanco	0.41	0.2
Temperatura Frigovito – H2 Frigovito	-0.25	0.097
Temperatura Antanas – H2 Antanas	-0.5	0.008
Temperatura Porcino – H2 Porcino	0.26	0.45

Las tablas 17 y 18 indican que los valores de pH y Temperatura en el blanco no tienen una correlación significativa, por lo que, a pesar de que en ambos casos se presentan datos positivos, es decir, que a medida que la temperatura y pH aumentan, el hidrógeno también lo hace, estos no tienen una influencia fuerte que potencie la producción. Se puede deducir que los microorganismos consumieron lentamente los residuos a causa de la composición lignocelulósica. También, en la estadística descriptiva, la producción de hidrógeno indicó un crecimiento, por lo que puede ser posible que el tiempo de retención celular no fue el necesario para que el microbiota logre descomponer toda la materia.

Es fundamental considerar el tiempo de retención hidráulica (TRH) en procesos continuos o semicontinuos para la producción de hidrógeno, ya que se debe determinar un punto óptimo de retención. Un tiempo de retención excesivamente prolongado puede reducir la producción de hidrógeno, y esto varía según el tipo de sustrato y su biodegradabilidad (Vásquez Garzón et al., 2023). Por su parte Aguilera et al. (2016) destaca la producción de biogás, midiendo el volumen en mililitros obtenido durante un período de retención de 7 días, que marcó el inicio de la producción de biogás. Este tiempo es más corto que el del estudio actual, que presenta un periodo de retención mayor y podría explicar el descenso final, aunque ambos registraron un pico de producción común en los reactores. Barrena M. et al. (2017) señala que el TRH está inversamente relacionado con la temperatura ambiente promedio; temperaturas más altas favorecen una producción más rápida de biogás, lo cual coincide con lo indicado por Martí (2008) en Bolivia y Varnero (2011) en Chile. Además, la altitud de la ubicación y el volumen del recipiente no influyen en el proceso.

|

La correlación del hidrógeno con los dos parámetros de mayor influencia en el reactor de Frigovito arrojó valores significativos que afectan a la producción. La relación en ambos es inversamente proporcional, de lo que se puede inferir que la adaptabilidad microbiana a ese ambiente fue efectiva, pues a pesar de las reducciones siguió produciendo hidrógeno. Anteriormente se mencionó que la temperatura en los lodos resultó ser menor, pero el pH sí varió. La variación de este parámetro fue el causante de que la producción de hidrógeno sea menor que en Antanas, pues se dice que el pH óptimo debe estar entre 5 y 7, en el caso particular de los desechos de cultivos se habla de un pH de 5 a 6; es necesario el control del pH en el proceso debido a que la producción de hidrógeno está acompañada por los ácidos orgánicos (acético, láctico, butírico y propiónico) los cuales pueden disminuir el pH por debajo de 5 y hacer que la actividad de las enzimas baje además de una limitación en las bacterias para mantener el pH intracelular. (Vásquez Garzón, et al., 2023). Coincidentemente en otro estudio Aguilera, et al., 2016 resalta que, una vez estabilizado el proceso fermentativo, los registros de pH no sobrepasaron 8.0 y no bajaron de 6.0 permitiendo el desarrollo de fermentación anaerobia alejando la inhibición del proceso fermentativo o evitando que se detenga. También se habla de que los registros de pH bajos en el periodo de arranque producen gran cantidad de ácido orgánico en los digestores por la actividad de las bacterias acidógenas, permitiendo retomar la importancia de la preselección de material vegetal con ausencia de lignina y limoneno para la implementación en el sustrato. Por otra parte, Magaña, et al., 2006 habla de que la fase inicial ácida, puede durar 2 semanas, el pH puede bajar a 6 o menos produciendo una gran cantidad de CO<sub>2</sub>, pero también, conforme prosigue la digestión se produce menos CO<sub>2</sub> y el pH se eleva lentamente hasta llegar a un valor más básico, también menciona un punto importante y es que observó que cuando la temperatura aumenta y el pH de la mezcla se mantiene constante la producción de gas tiende a aumentar o ser más regular.

En Antanas el pH en donde la correlación del pH incide significativamente en la producción de hidrógeno, se mantuvo en valores más cercanos a la neutralidad, provocando que, como se observa más adelante, la producción de hidrógeno sea mayor. Teniendo en cuenta esto, los microorganismos sí lograron adaptarse al cambio de temperatura en el medio, pero la acidificación

|

provocó que la tasa de producción se redujera, porque fue más difícil que los microorganismos se estabilizaran para producir hidrógeno. La reducción del pH pudo provocar que el hidrógeno desprendido fuera consumido por otras bacterias y se desencadenaran otros procesos, como la producción de metano.

Por su parte, la temperatura también tiene una influencia inversa significativa en la producción. Lo anterior se resume en que, a medida que el pH aumenta y la temperatura baja, la producción de hidrógeno será mayor. En este caso se deduce que los microorganismos lograron adaptarse al cambio de temperatura en el medio, pues el lugar de procedencia de ellos se encuentra a unas temperaturas más elevadas. Por su parte, el efecto *Buffer* trabajó de manera más eficiente en este reactor, manteniendo valores cercanos a la neutralidad. Esos valores de pH favorecieron a que la producción microbiana trabajara de mejor manera en la producción de hidrógeno, convirtiendo a este reactor en el indicado para fermentación oscura con dicha finalidad. El último día de muestreo, la producción tuvo una tendencia decreciente, con lo que se puede identificar que el consumo de la materia fue más rápido, lo que respalda que la generación de hidrógeno sea mayor.

A diferencia de los lodos de Antanas, en el caso del porcino, aunque la relación de la temperatura y el pH varía, en este caso lo hace a medida que la temperatura aumente y el pH disminuya. Este reactor fue el segundo con mayor producción de hidrógeno, después de Antanas. Aquí pudieron suceder varias limitaciones. Una de ellas, como se ha mencionado con anterioridad, fue la dificultad en la degradación de los residuos por los compuestos lignocelulósicos. La segunda pudo deberse a la reducción del pH. Pues como se evidencia en la estadística descriptiva del pH, el efecto *Buffer* no logró estabilizar a valores cercanos a la neutralidad, afectando directamente al microbiota productor de hidrógeno. Sin embargo, el comportamiento de la producción el último día de muestreo indicó un comportamiento creciente, al igual que el blanco, indicando la importancia de los TRH.

#### ***2.3.4. Tamaño del efecto de la producción de H<sub>2</sub>.***

Se utilizó la *g* de Hedges para determinar el tamaño del efecto en cada uno de los reactores en comparación con el blanco. El tamaño del efecto estipula cuánto difiere un grupo de otro para determinar cuál de los grupos presenta mayor efecto. En este caso, la *g* de Hedges indica cuál generó mayor cantidad de hidrógeno en la conglomeración de los muestreos realizados.

**Tabla 19**

*Tamaño de efecto de la producción de H<sub>2</sub> en los reactores*

Reactores	Tamaño de efecto
Blanco – Frigovito	0.767 (Medium)
Blanco – Antanas	1.209 (Large)
Blanco - Porcino	0.906 (Large)

De acuerdo a los resultados arrojados en la prueba de Hedges mostrados en la tabla 19 y destacando que el valor más alto es el que representa el mejor rendimiento, se infiere que, para la presente investigación el inóculo con la mejor tasa de producción de hidrógeno verde son los lodos de Antanas, pues la prueba arroja un valor significativo con mayor diferencia al blanco a comparación de los otros inóculos siendo este de 1.209. Como se describe en párrafos anteriores, diferentes variables, circunstancias y hechos pudieron jugar un papel importante para que se presentaran dichos resultados, el pH en el reactor con el efecto *Buffer* actuó de manera eficiente, esto debido a que se mantuvo en un valor medio de 6.42, además de ser Antanas el único en sobrepasar máximos de 7.0 y no bajar de un valor de 6.0 corroborando lo que según Varnero (2011), dice con respecto a que el pH óptimo para la digestión anaerobia de un cultivo mixto está en un rango de 6.8 y 7.4, siendo el pH cercano al neutro el ideal.

Los valores de temperatura según las correlaciones anteriores no fueron directamente proporcionales a la producción de hidrogeno, pues su tendencia a disminuir no ocasionó la disminución en la tasa de producción, podría decirse que con un mejor control y destacando una tendencia positiva en la temperatura, el hidrogeno podría potencializarse aún más pues según

|

Varnero (2011) el crecimiento microbiano de interés se favorece al incrementar la temperatura. Para el caso, Antanas tuvo una media de 25°C que por teoría aún se encuentra en los rangos óptimos de producción como lo presenta Aguilera, et al., 2016 que también destacó un correcto desempeño en biodigestores pues la temperatura durante el tiempo de funcionamiento y evaluación del proceso anaeróbico se mantuvo bajo un régimen mesofílico (entre 20°C y 40°C) similares a los del presente estudio, cabe resaltar que los elementos presentes en los lodos de Antanas, provienen de un lugar cuya temperatura es ligeramente más baja que la del lugar donde se realizaron los estudios, lo que podría explicar una adaptación de los microorganismos o el que la media de la temperatura registrada no sea un choque mayor en el rendimiento de su trabajo pudiéndolo asimilar con facilidad.

Además de las variables de interés, en este punto cabe resaltar la importancia de la comprensión de los microorganismos presentes en dicho proceso que conllevo a la producción de biogás. Así, es menester saber que, por la ruta de la glucólisis, las moléculas de ATP que desprendieron energía transformándose en ADP; y el NADH transformado a NAD, forman acetato y butirato. La ruta del acetato genera, en total, 4 moles H<sub>2</sub>/mol de glucosa consumida. Por otra parte, el butirato, empleado por la oxidación del acetyl-CoA, finaliza con una producción de 2 moles H<sub>2</sub>/mol de glucosa consumida. Con este contexto se identificó la necesidad de que la fase fermentativa llegase hasta la acetogénesis. Lo anterior junto con las características elementales del inóculo, plasmadas en la tabla 9, hicieron que el ambiente fuera propicio para que la generación de hidrógeno se diera de una mejor manera pues los lodos de Antanas, que contienen microorganismos anaerobios estrictos y facultativos, son quienes degradaron la materia de forma eficiente para el fin del proyecto. Al provenir de una laguna anaerobia de un relleno sanitario, puede que los microorganismos estén adaptados a este tipo de compuestos, pues se formaron a partir de la lixiviación y percolación de los RSU, los cuales se componen en mayor parte de residuos orgánicos.

En general, cualquier sustancia en cuya composición aparezca hidrógeno puede servir como una posible fuente para su obtención. Se puede producir hidrógeno a partir del agua o de los hidrocarburos, así como de materia orgánica de origen vegetal o animal. Gómez, et al., 2022. La

|

adopción a largo plazo de estas tecnologías emergentes depende de varios factores claves, porque a pesar de las ventajas ambientales, muchas de estas tecnologías aún enfrentan desafíos relacionados con la eficiencia energética y los altos costos de producción. Moreno et al, 2024. Es necesario realizar más investigaciones exhaustivas para mejorar la eficiencia y reducir los costos asociados con estas tecnologías emergentes Huang, et al., 2020. Aparte de la necesidad de tecnologías más eficientes, los principales obstáculos para la adopción del hidrógeno se encuentran en la infraestructura de distribución y el equipo de los usuarios finales; ambos tendrán que adaptarse para hacerlos adecuados para la transmisión de hidrógeno. Barrio, et al., 2023.

|

### **3. Conclusiones**

Las condiciones más relevantes en el desarrollo del primer objetivo de la presente investigación se deben a la disponibilidad y cantidad de residuos aprovechables, lo cuales se encuentran condicionados por aspectos geográficos, económicos y de consumo principalmente, seguido a eso se tienen en cuenta que los residuos predominantes hacen alusión a las cáscaras de haba, frijol y arveja (legumbres), además de la rama de cebolla larga que de acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 5 son los productos que en mayor cantidad se encuentran, por lo cual se considera que estos elementos son los de mayor relevancia en la producción de hidrógeno.

La adecuación de los reactores jugó un rol fundamental para que los procesos se dieran a cabalidad, pues controlar las fugas, procurar condiciones completamente oscuras, adecuar las válvulas de salida, de manera que no se fuge el gas, fue un trabajo arduo para que el hidrógeno, el gas más liviano existente, no se perdiera en la atmosfera; pues de ser así implica que no se tomen valores verídicos. Para obtener un correcto proceso de fermentación se utilizó recipientes donde no atravesen los fotones, porque los microorganismos añadidos prefieren un medio oscuro, templado y húmedo para realizar actividades metabólicas.

Concerniente a los materiales utilizados no hubo relevancia de interferencia química en la degradación de la muestra al interior de los recipientes, el funcionamiento de los mismos fue efectivo considerando que en el arranque se llevaron a cabo condiciones idóneas para el desarrollo de la actividad en su interior. Cabe destacar que, siendo reactores tipo batch (Figura 7), la agitación del material en descomposición se hizo diariamente para cada uno, pues un mecanismo de agitación continuo adaptado con paletas no era lo idóneo para prevenir posibles fugas del biogás. Una pieza clave fue el control de temperatura externa, pues por las características geográficas del lugar donde se llevó a cabo la investigación no habría sido posible generar un rendimiento óptimo en la producción de H<sub>2</sub> verde, dado que a temperaturas bajas el metabolismo microbiano también se reduce.

|

Por otra parte, los parámetros fisicoquímicos de dichos residuos cuentan con altos porcentajes de carbohidratos y porcentajes de nitrógeno, carbono, humedad y cenizas favorables para que los microorganismos, bajo condiciones controladas, se alimentaran y desarrollaran eficientemente sus procesos metabólicos anóxicos en donde se libera hidrógeno, el cual es tema de esta investigación. Debido a que, en la descomposición del sustrato, el microbiota no está adecuado para la fermentación oscura, y menos para la producción de hidrógeno, se vio necesaria la implementación de tres tipos de inóculo diferentes, para determinar cuál es el más favorable en la producción de hidrógeno. Los inóculos (Frigovito, Antanas y Porcino), implican microorganismos anaerobios estrictos o facultativos que favorecen a la degradación y a la emisión de hidrógeno.

Al adicionar los inóculos al sustrato se evidenció que los porcentajes de nitrógeno, carbono, humedad, cenizas y grasas incrementaron, siendo el reactor con el inóculo de Antanas el de mayor contenido elemental, exceptuando el contenido de cenizas, que también pudo ser benéfico por los contenidos de sustancias inorgánicas que pudieron afectar a la digestión. El carbono, fuente energética de las células, beneficia la interacción de los procesos en los reactores, el nitrógeno, que beneficia la formación de nuevas células y además provoca una alcalinidad natural en el sistema que permite que el pH no se acidifique, la humedad, que favorece a la ruptura de moléculas complejas mediante la hidrólisis y las grasas, que pueden transformarse en ácido grasos volátiles tales como el ácido acético, el cual benefició la producción de hidrógeno.

Para que el ciclo anaerobio no desencadene en la producción de biogás fue necesario controlar las variables de temperatura y pH. Para el control de la temperatura se adecuó un medio acuoso a temperaturas mesófilas de entre 18 y 25°C, para que los microorganismos se desarrollaran eficientemente. El pH, mediante la adición de un agente *Buffer* constituido por ácido acético y bicarbonato de sodio, se adecuó a pH cercanos a la neutralidad, pues esto favorece a que el ambiente no se acidificara en rangos extremos. Además, la presión se fijó en un valor constante de 0.0014 atm, para que la solubilidad de los gases no altere la producción de hidrógeno ni altere los niveles de pH.

|

A medida que se desarrolló la experimentación, tanto el pH como la temperatura interna tendieron a fluctuar, debido a la actividad metabólica de las comunidades microbianas presentes en cada reactor. En el caso de los reactores Blanco y Frigovito, cuya comparación no resultó variar significativamente en el pH, aunque en la temperatura si, el comportamiento fue directamente proporcional. Para Antanas, el pH aumentó a medida que la temperatura disminuyó, constatando la adaptabilidad a medios con temperaturas relativamente bajas. Y, por último, el de Porcino, al contrario de Antanas, redujo el pH a medida que la temperatura aumentó.

Con lo anterior se concluye que el pH es el parámetro que requiere mayor control, pues se evidenció que un cambio brusco puede afectar significativamente la producción. Tal fue el caso del reactor con porcino como inóculo, en dónde, a pesar de presentar una temperatura teóricamente favorable, la reducción del pH ocasionó que no fuera el mayor generador de hidrógeno. A pesar de lo anterior, no se debe menospreciar la temperatura, pues esta juega un rol fundamental en la actividad microbiana. Sin embargo, el reactor de Antanas permitió concluir que los microorganismos pueden adaptarse a temperaturas más bajas de lo acostumbrado en sus ambientes originarios.

La composición microbiana también fue un tema que, a pesar de no haber analizado en la experimentación, juega un rol fundamental; pues comprender que microorganismos trabajan en los procesos degradativos de cada reactor ayuda a comprender alteraciones que afectaron o aportaron a la producción de hidrógeno. Sin embargo, este aspecto se analizó a nivel teórico únicamente, haciendo la relación con la cantidad de nutrientes y las características fisicoquímicas de los reactores.

Por último, se identificó que la concentración de hidrógeno verde varía en función de los parámetros de operación de los reactores y la composición de los desechos utilizados. Con esta aclaración, el reactor de Antanas fue el generador de mayores trazas de hidrógeno, dado que tuvo mayores cantidades de nutrientes, el pH fue idóneo durante el experimento, los consorcios microbianos estaban adaptados a ambientes anóxicos y, por su procedencia, a consumir ese tipo de

|

materia y que los mismos lograron adaptarse a reducciones en la temperatura. Con todo lo anterior mencionado, se aprueba la hipótesis planteada al inicio de esta investigación.

Los dos inóculos utilizados también son adecuados para la producción de hidrógeno, pero los parámetros de influencia jugaron en contra al consorcio de microorganismos provocando que se disminuyera la producción de hidrógeno.

La integración de la fermentación oscura con otros procesos de tratamiento de residuos y la promoción de tecnologías para la purificación y almacenamiento eficiente del hidrógeno verde son áreas de investigación prioritarias. Los hallazgos de este estudio tienen un impacto significativo como base para la búsqueda de un futuro energético sostenible. La producción de hidrógeno verde a partir de desechos orgánicos mediante la fermentación oscura representa un paso importante hacia la descarbonización del sector energético y la construcción de un futuro sostenible.

|

#### **4. Recomendaciones**

Es necesario realizar estudios más detallados sobre cómo diferentes tipos de desechos orgánicos afectan la producción de hidrógeno verde, pues al variar la composición lignocelulósica y de hidratos de carbono de la materia se pueden obtener mejores resultados en la producción de hidrógeno. Se recomienda experimentar con residuos de frutas, pues al contener mayores trazas de azúcares y carbohidratos, según teoría, puede beneficiar a la emisión de  $H_2$ . Esto implica analizar la composición de los desechos y su impacto en la eficiencia del proceso y la concentración de hidrógeno en el biogás. Se recomienda explorar la integración de la fermentación oscura con otros métodos de tratamiento de residuos para maximizar la recuperación de recursos y minimizar el impacto ambiental general.

También, se recomienda hacer más estudios con temperaturas más elevadas en el rango de los mesófilos, pues la disminución del pH en la investigación pudo provocar que no se potencialice al máximo la producción de hidrógeno. Además, para que el análisis del sustrato y por ende de lo que sucede en la fermentación sea más clara, se recomienda que se agreguen solo los residuos de mayor preponderancia, o los que, mediante el análisis bibliográfico indiquen que contienen características benéficas para la producción de  $H_2$ .

Además, a pesar de que el inóculo extraído de la laguna anaerobia de Antanas fue el que más repercute en la producción, cabe destacar que hay que conseguir un control más exhaustivo para que se potencialice la generación de hidrógeno, pues está puede ser la base para trabajos posteriores en dónde se busque el aprovechamiento de este gas, con un potencial energético considerable. Este control sugiere conseguir que tanto temperatura como el pH se encuentren en rangos óptimos, que no fluctúen durante el experimento, para que así la producción mejore. Teniendo en cuenta que los lodos de Antanas produjeron más  $H_2$ , se recomienda que se tome como la base, analizando la variación con diversos factores como el sustrato o el tiempo de retención celular.

|

Así mismo se recomienda identificar el tiempo de retención celular idóneo para la producción de hidrógeno, pues luego de que los microorganismos hayan consumido toda la materia presente, la producción de hidrógeno ya no va a ser la ideal para que pueda ser utilizada, lo que implicaría abastecer nuevamente el sistema para seguir generando  $H_2$ . También, identificar si el microbiota no está consumiendo el hidrógeno es importante, pues indica si el proceso productivo va por buen camino. Para ello se sugiere que, además del sensor de hidrógeno (MQ8) se implementen medidas de metano con un sensor MQ4 y de dióxido de carbono MQ135, pues son los mayores compuestos del biogás.

Dado que la producción de hidrógeno no arroja valores favorables para ser utilizado como fuente energética, se recomienda continuar con la investigación y el desarrollo continuo que permita optimizar el proceso de fermentación oscura y escalarlo a nivel industrial, para así, posteriormente poder evaluar la viabilidad económica de la producción de hidrógeno verde a partir de desechos orgánicos a una escala mayor. Esto incluye el costo de recolección y procesamiento de los residuos, la inversión en infraestructura y tecnología, y el valor de mercado del hidrógeno verde. Es fundamental considerar la aceptación social de la producción de hidrógeno a partir de desechos orgánicos. Se debe involucrar a la comunidad y abordar cualquier inquietud sobre olores, emisiones o el impacto en la salud pública.

Se considera necesario promover la investigación y el desarrollo de tecnologías para la purificación y almacenamiento eficiente del hidrógeno verde producido a partir de la fermentación oscura. Esto permitirá su integración en las redes de energía existentes y facilitará su uso en diversas aplicaciones. La investigación futura debería centrarse en escalar el proceso de fermentación oscura a nivel industrial. Esto requerirá abordar desafíos como el diseño y optimización de reactores a gran escala, el control preciso de las condiciones de operación y la gestión eficiente del volumen de residuos orgánicos necesarios para la producción continua de hidrógeno verde.

|

### Referencias bibliográficas

Galtung, E. A. (2001). *La paz positiva y negativa. Una construcción de diversas perspectivas de paces*. Editorial Planeta.

Molina, V. (Ed.). (2015). *Panorama de los centros y programas de escritura en Latinoamérica*. Sello Editorial Javeriano. <https://doi.org/10.2307/j.ctvt6rnd6.27>

De Jesús Domínguez, J. (2019). *La autonomía administrativa en Puerto Rico*. Springer.

De Jesús Domínguez, J. (2019). *La autonomía administrativa en Puerto Rico*. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-19685-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-19685-1_3)

Barton, D. y Hamilton, M. (2004). La literacidad entendida como práctica social. En V. Zavala, M. Niño-Murcia y P. Ames. (Eds.), *Escritura y sociedad. Nuevas perspectivas teóricas y etnográficas* (pp. 109-139). Red para el desarrollo de las ciencias sociales en el Perú.

Martín-Criado, P. A. (2003). Una crítica de la sociología de la educación crítica. *Revista Andaluza de Ciencias Sociales*, 3(2), 9-27.

Caicedo-Tamayo, A. y Rojas-Ospina, T. (2014). Creencias, conocimientos y uso de las TIC de los profesores universitarios. *Educación y Educadores*, 17(3), 517-533. <https://educacionyeducadores.unisabana.edu.co/index.php/eye/article/view/4333/>

Hoyos-Hernández, P., Sanabria, J., Orcasita, L., Valenzuela, A., González, M. y Osorio, T. (2019). Representaciones sociales asociadas al VIH/Sida en universitarios colombianos. *Saúde e Sociedade*, 28(2), 227-238. <https://doi.org/10.1590/s0104-12902019180586>

|

Kogan Cogan, L. (2014). *La insoportable proximidad de lo material: Cuerpos e identidades* [Tesis de doctorado, Pontificia Universidad Católica del Perú] Dissertations & Theses A&I. <https://bdbib.javerianacali.edu.co:2519/docview/2398211090/61EA0F09B31D47A2PQ/5?accountid=13250>

Sentencia T-006/20. (2020, 17 de enero). Corte Constitucional (Cristina Pardo, M. P). <https://www.corteconstitucional.gov.co/Relatoria/2020>

Ley 1090 de 2006. (2006, 6 de septiembre). Congreso de la República. Diario oficial No 46.383. <http://www.secretariassenado.gov.co/senado/basedoc/ley>

Pacto Internacional de Derechos Económicos, Sociales y Culturales, 16 de diciembre, 1966, <https://www.ohchr.org/SP/Professional>

United Nations Convention on the Rights of the Child, November 20, 1989, <https://www.ohchr.org/en/professional>

Ondula. (2021, 15 de mayo). *Educación Digital Crítica*. <https://ondula.org/category/educacion-digital-critica/>

AEMA. (2019). Informe Anual del Estado del Medio Ambiente en España 2019. Madrid: Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico.

Colmer, F., & Gallardo, A. (2007). *Historia de la humanidad*. Madrid: Ediciones Akal.

Corredor, J. F. (2018). Fermentación oscura para la producción de hidrógeno a partir de residuos orgánicos. *Revista de Ingeniería*, 35(1), 71-80.

|

Fuentes, M. C. (2022). Evaluación de la actividad microbiana y producción de hidrógeno en fermentación oscura de residuos orgánicos utilizando diferentes inóculos. Trabajo de grado, Universidad de Nariño, San Juan de Pasto, Colombia.

OLIVARES TAMAYO, Y. (2019). Caracterización física adicional de los residuos con más preponderancia. UNIVERSIDAD SANTO TOMAS.  
<https://repository.usta.edu.co/bitstream/handle/11634/20018/2019OlivaresYuleida.pdf>

ROMERO, A. (2010). APROVECHAMIENTO DE LA BIOMASA COMO FUENTE DE ENERGÍA ALTERNATIVA A LOS COMBUSTIBLES FÓSILES. Real Academia de Ciencias Exactas.

Producción y Consumo Sostenible - Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2022, 29 marzo). Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.  
<https://www.minambiente.gov.co/asuntos-ambientales-sectorial-y-urbana/produccion-y-consumo-sostenible/>

La importancia de la ventilación del hidrógeno para reducir riesgos y costos. (s. f.). Revista Ecoconstrucción | Noticias de Construcción Sostenible y Novedades En el Sector.  
<https://www.ecoconstruccion.net/noticias/importancia-ventilacion-hidrogeno-reducir-riesgos-costos>

Rodríguez-López, M. C., Ramírez-Ramírez, C. A., & Sierra-Muñoz, A. (2022). Evaluación del potencial de producción de biogás a partir de residuos de café en Colombia: una revisión sistemática. *Revista Ingeniería y Desarrollo*, 30(2), 313-328.

Mettler-Toledo, (2015). Guía para el análisis de la humedad, fundamentos y aplicaciones.

|

Pacheco, J., & Magaña, A. (2003). Arranque de un reactor anaerobio Redalyc. Arranque de un reactor anaerobio

Redondas Monteserín, V. (2013). Obtención de hidrógeno mediante la fermentación oscura de residuos de comida y lactosuero (Tesis doctoral). Universidad de León. 1\_tapa\_v1 (unileon.es)

Lorenzo, Y. Obaya, M. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I Redalyc. La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I

Forero, L (2017). Aislamiento y caracterización de microorganismos termófilos con potencia biotecnológico del manantial termomineral Santa Monica del municipio de Choachi (Cundinamarca). Aislamiento y caracterización de microorganismos termofílos con potencial biotecnológico del manantial termomineral santa monica del municipio de choachi.pdf (udistrital.edu.co)

Vivian V, & Liana, G. (2022) Diseño y construcción de un sistema de biodigestores tipo Batch a escala laboratorio, para el trabajo experimental del proyecto “Aditivo nanoestructurado para reducir el contenido de H<sub>2</sub>S en biogás producido por digestión anaerobia” y la Línea de profundización en energías limpias del programa de Ingeniería Ambiental (Doctoral dissertation, Universidad Santo Tomás)  
<https://repository.usta.edu.co/bitstream/handle/11634/47248/2022llianagomez.pdf?sequence=6>

García, M., e Intriago, S. (2019). Evaluación de la producción de metano mediante digester anaerobio tipo batch en aguas residuales agroindustriales de destilería (vinaza) (Bachelor's thesis, Calceta: ESPAM MFL).  
<https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/42000/991/TTMA37.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Aguilera, E. A. R. (2016). Producción de biogas a partir de Biomasa. *Revista Científica Estelí*, (17), 11-22 file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/admin,+237-879-1-CE.pdf

|

Martínez, V.L.; Salierno, G.L.; García, R.E.; Lavorante, M.J.; Galvagno, M.A.; Cassanello, M.C. Producción biológica de hidrógeno por fermentación oscura en un reactor de tanque agitado y su correlación con la evolución del tiempo de pH. *Catalizadores* **2022**, *12*, 1366. <https://doi.org/10.3390/catal12111366>

Martínez, V.L.; Salierno, G.L.; García, R.E.; Lavorante, M.J.; Galvagno, M.A.; Cassanello, M.C. Biological Hydrogen Production by Dark Fermentation in a Stirred Tank Reactor and Its Correlation with the pHTimeEvolution. *Catalysts* **2022**, *12*, 1366. <https://doi.org/10.3390/catal12111366>

Detman A, Laubitz D, Chojnacka A, Wiktorowska-Sowa E, Piotrowski J, Salamon A, Kaźmierczak W, Błaszczak MK, Barberan A, Chen Y, Łupikasza E, Yang F y Sikora A (2021) Dinámica y complejidad de las comunidades microbianas de fermentación oscura que producen hidrógeno a partir de melaza de remolacha azucarera en reactores de lecho empacado en funcionamiento continuo. *Frente. Microbiol.* **11**:612344. doi: 10.3389/fmicb.2020.612344

Raw reads from isolates sequenced in this study are available at the NCBI Short Read Archive (SRA) under BioProject accession no. PRJNA1013211 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA1013211>).

Rittmann, S., Herwig, C. Una revisión exhaustiva y cuantitativa de la producción de biohidrógeno fermentativo oscuro. *Hecho de la célula Microb* **11**, 115 (2012). <https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-115>

Martínez-Nieto, P., García-González, D., Silva-Bonilla, P. S., Vargas-Chaparro, G., & Valderrama-Escallón, F. (2011). Manejo de residuos generados directa o indirectamente por el cultivo de cebolla en Aquitania (Boyacá-Colombia). *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias*

|  
*Ambientales. Investigación, desarrollo y práctica*, 23-34  
file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/bgr,+3-Mart%C3%ADnez.pdf

Veizaga, G. L., & Alcocer, M. A. (2005). Evaluación comparativa de cuatro abonos verdes y estimación de su capacidad de fijación de carbono en dos comunidades del municipio Morochata-Bolivia. *Acta Nova*, 3(1), 44 [https://www.researchgate.net/profile/Gonzalo-Lora/publication/239544530\\_Evaluacion\\_comparativa\\_de\\_cuatro\\_abonos\\_verdes\\_y\\_estimacion\\_de\\_su\\_capacidad\\_de\\_fijacion\\_de\\_carbono\\_en\\_dos\\_comunidades\\_del\\_municipio\\_Morochata\\_-\\_Bolivia/links/544a96180cf24b5d6c3ccb42/Evaluacion-comparativa-de-cuatro-abonos-verdes-y-estimacion-de-su-capacidad-de-fijacion-de-carbono-en-dos-comunidades-del-municipio-Morochata-Bolivia.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Gonzalo-Lora/publication/239544530_Evaluacion_comparativa_de_cuatro_abonos_verdes_y_estimacion_de_su_capacidad_de_fijacion_de_carbono_en_dos_comunidades_del_municipio_Morochata_-_Bolivia/links/544a96180cf24b5d6c3ccb42/Evaluacion-comparativa-de-cuatro-abonos-verdes-y-estimacion-de-su-capacidad-de-fijacion-de-carbono-en-dos-comunidades-del-municipio-Morochata-Bolivia.pdf)

Pellón Arrechea, A., López Torres, M., Espinosa Lloréns, M. D. C., & González Díaz, O. (2015). Propuesta para tratamiento de lixiviados en un vertedero de residuos sólidos urbanos. *Ingeniería hidráulica y ambiental*, 36(2), 3-16. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1680-03382015000200001&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1680-03382015000200001&script=sci_arttext&tlng=en)

Valdés, Esperanza., González, P., & Obaya, M. C. 1991 Evaluación preliminar de lodos anaerobios como complemento en la dieta animal. <https://biblat.unam.mx/hevila/ICIDCASobrelosderivadosdelaca%C3%B1adeazucar/1991/vol25/no1-2/1.pdf>

Vásquez Garzón, O. A. (2023). Diseño conceptual de una biorrefinería para la producción de hidrógeno. <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/9315/4/6142426-2023-2-IQ.pdf>

Moreno Morrison, M. (2024). Huella de Carbono en Diferentes Sistemas de Producción de Hidrógeno: Una Revisión Bibliográfica.

|

[https://titula.universidadeuropea.com/bitstream/handle/20.500.12880/8726/TFG\\_MELANIE%20MORENO.pdf?sequence=1](https://titula.universidadeuropea.com/bitstream/handle/20.500.12880/8726/TFG_MELANIE%20MORENO.pdf?sequence=1)

Coma Gómez, D. (2022). *Proyecto de una instalación fotovoltaica para generación de hidrógeno verde* (Bachelor's thesis, Universitat Politècnica de Catalunya). [https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/381191/Memoria\\_DavidComa.pdf?sequence=1](https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/381191/Memoria_DavidComa.pdf?sequence=1)

Barrio, D. H., Martín-Marroquín, J. M., Díez, D., & Urueña, A. (2023). Producción integrada de hidrógeno y metano con biomasa y residuos. *Industria química*, (113), 66-70. <https://www.industriambiente.com/media/uploads/noticias/documentos/CARTIF.pdf>

Barrena, M., Olivares, V., Taramona, L., & Chauca, N. (2017). Influencia de la temperatura ambiente sobre la producción de biogas. *Revista de investigaciones de la Universidad le Cordon Bleu*, 4(1), 15-25. <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/55-Texto%20del%20art%C3%ADculo-539-1-10-20200609.pdf>

Magaña, J. L., Torres, E., Martínez, M. T., & Cantero, R. H. (2006). Producción de biogás a nivel laboratorio utilizando estiércol de cabras. *Acta Universitaria*, 16(2), 27-37. <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/185-Texto%20del%20art%C3%ADculo-689-1-10-20120209.pdf>

Sosa, A., Galindo, J., & Bocourt, R. (2007). Metanogénesis ruminal: aspectos generales y manipulación para su control. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 41(2), 105-114. <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193017658001.pdf>

Arellano Wences, H. J., Sampedro Rosas, M. L., Cabrera Cruz, R. B. E., Rosas Acevedo, J. L., & Cortes Badillo, E. (2015). Generación de emisiones de gases efecto invernadero en unidades académicas de la Universidad Autónoma de Guerrero.

|

[https://ri.uagro.mx/bitstream/handle/uagro/656/11238885\\_ART2015\\_1\\_OK.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://ri.uagro.mx/bitstream/handle/uagro/656/11238885_ART2015_1_OK.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Avedaño Diego, Ladino Juan, Acevedo Paola, Cabeza Iván (s.f). producción de biohidrógeno mediante fermentación oscura a partir de residuos sólidos orgánicos de una plaza de mercado en bogotá Colombia. [Tesis pregrado, Universidad Santo Tomás, Universidad Cooperativa de Colombia]. Repositorio USTA. 2019diegoavendano.pdf

GreenPeace (2023). Balance de lo mejor/peor del año y retos para 2024. 2023: el año de récords negativos para el planeta - ES | Greenpeace España.

Londoño Sergio. (2013). Producción de biohidrógeno a través de la fermentación oscura de residuos – Revisión crítica [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia]. Repositorio UNAL. Microsoft Word - Informe Final\_06\_octubre 02.

Organización de las Naciones Unidas (ONU) (2022). Día de los 8000 millones. Día de los 8000 millones | Naciones Unidas.

Organización de las Naciones Unidas (ONU) (2023). Acción por el clima, COP 28. COP28: La acción por el clima no puede esperar | Naciones Unidas.

Varnero Teresa, Gobierno de Chile Ministerio de energía, Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Global Environment Facility. (2011). Manual de Biogás. Editado por Proyecto CHI/00/G32.

World Bank Group (WBG) (2018). Los desechos a nivel mundial crecerán un 70 % para 2050, a menos que se adopten medidas urgentes. Informe del Banco Mundial: Los desechos a nivel mundial crecerán un 70 % para 2050, a menos que se adopten medidas urgentes

|

## Anexos

### Anexo A

*Punto de recolección de residuos*



### Anexo B

*Método de cuarteo*



### Anexo C

|

*Pesaje de residuos*



**Anexo D**

*Modelo de reactor para fermentación oscura*



**Anexo E**

|

*Laguna anaerobia de PTAA*



**Anexo F**

*Adición de inóculo*



**Anexo G**

*Medición de pH*

|



## **Anexo H**

### *Montaje de reactores en piscina*

