

## **Obtención de Biogás a partir de la fermentación de los residuos del procesamiento de *Physalis Peruviana* L. (Aguaymanto)\***

Claudia F. Loarte Ruiz<sup>1</sup>

\*Investigación realizada dentro del estudio "Aprovechamiento energético de desechos de la industrialización de especies nativas", convenio entre AGRORET y UNC.

---

Autor de Correspondencia: claudiaflr@yahoo.es

---

### **Resumen:**

La industrialización de especies agrícolas autóctonas y orgánicas en Perú se ha incrementado y diversificado rápidamente últimamente, permitiendo que especies de alto valor nutricional y poco conocidas, como la *Physalis Peruviana* L. puedan llegar a ser accesibles en los mercados nacional e internacional. En consecuencia, es de interés el adecuado manejo y aprovechamiento de sus residuos agroindustriales, que se incrementan también, para conservar la calidad medioambiental y conseguir una economía circular.

La presente investigación experimental a nivel de laboratorio buscó determinar la capacidad que poseen los residuos sólidos provenientes de la industrialización del aguaymanto para generar biogás, obtener la fermentación y medición del biogás producido, comparando muestras pretratadas y pre-inoculadas, con muestras sin tratamientos previos. Mediante análisis fisicoquímicos iniciales se pudo reconocer los cambios estructurales en la biomasa y su potencial fermentativo, con pretratamiento de ác. acético a diferentes concentraciones comparativamente a ác. sulfúrico. Los análisis estadísticos evaluaron la significancia del pretratamiento, la pre-inoculación y las fermentaciones. Los resultados concluyeron que poseen potencial para producir biogás, que la concentración de ac. acético al 0,2 M brinda mayor ventaja frente a otras concentraciones y a un ác. mineral, y que las fermentaciones con pre-inóculo generan biogás en similar cantidad y calidad.

**Palabras clave:** Residuos agroindustriales, Aguaymanto, Biogás, Fermentación

## **Obtaining biogas from the fermentation of waste from the processing of *Physalis Peruviana* L. (Aguaymanto)\***

Claudia F. Loarte Ruiz<sup>3</sup>

\*Research conducted as part of the study 'Energy use of waste from the industrialisation of native species', an agreement between AGRORET and UNC.

### **Abstract:**

---

<sup>1</sup> Mg.Sc. Ecología Aplicada, Mg. Proyectos, Mg. Gestión Estratégica, Ingeniera y docente universitaria.

The industrialisation of native and organic agricultural species in Peru has increased and diversified rapidly, making lesser-known species with high nutritional value, such as *Physalis peruviana* L., accessible in national and international markets. Consequently, proper management and use of the increasing amount of agro-industrial waste is important in order to preserve environmental quality and achieve a circular economy.

This experimental, laboratory-level research aimed to establish the potential of using solid waste from the production of aguaymanto to generate biogas and to measure fermentation and biogas production, comparing pre-treated and pre-inoculated samples with untreated samples. Initial physicochemical analyses revealed structural changes in the biomass and its fermentation potential when treated with acetic acid at different concentrations compared to sulphuric acid. Statistical analyses evaluated the significance of pretreatment, pre-inoculation and fermentation. The results concluded that the waste has the potential to produce biogas, that a 0.2 M acetic acid concentration offers greater advantages than other concentrations and mineral acids, and that fermentations with pre-inoculum generate biogas of a similar quantity and quality.

**Key Words:** Agro-industrial waste, Aguaymanto, Biogas, Fermentation

## 1. INTRODUCCIÓN

El fruto de la planta perenne ***Physalis Peruviana L.***, conocida como aguaymanto o capulí, posee gran valor nutricional (altos índices en vitaminas A y C, potasio, fósforo y calcio) y propiedades organolépticas singulares (PUENTE, 2011). Estas características han impulsado su consumo e industrialización en el Perú, permitiendo el crecimiento en producción, cosecha, y rendimiento del 19%, 18%, y 10% respectivamente, en los últimos años. Asimismo, su comercialización, industrialización y exportación (principalmente en deshidratado y de tipo orgánico) ha presentado crecimiento de 12%, 15% y 8% respectivamente, durante el período 2015–2020. Simultáneamente, los residuos de su industrialización también se han incrementado, pero sin una data actualizada. (MIDAGRI, 2020). Sin embargo, se conoce que el rendimiento actual es de 10/12 Tn/Has. en la zona norte del país, obteniendo aproximadamente una tercera parte de residuos del procesamiento del fruto y este está compuesto por frutos no aptos, cáliz, cáscara, hojas y bagazo (según tratamiento industrial).

Se conoce que los residuos agroindustriales pueden llegar a generar problemas ambientales y sociales si no son manejados de manera adecuada. Este manejo no siempre es fácil por tratarse de residuos muy diversos y variables, tanto en

forma como en la localización de su generación. (ZAINUDIN et al., 2022). Dentro de las alternativas de un adecuado manejo y aprovechamiento de estos residuos se propone la generación de bioenergía, aprovechable por la propia agroindustria para el consumo energético de sus operaciones, supliendo la demanda energética de las fuentes tradicionales. (ZAINUDIN et al., 2022). Por ejemplo, el biogás que se obtiene de una fermentación metanogénica que es una digestión anaerobia, en donde bacterias transforman la biomasa en una mezcla de gases de alta capacidad calorífica y su rendimiento depende de la relación C/N de la biomasa (LEE, 2022). El proceso fermentativo considera cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis; en la primera se transforman los compuestos de alto peso molecular en sustancias que puedan ser utilizadas como fuente energética por los microorganismos y se obtienen compuestos de bajo peso molecular, como el ácido acético, mientras se generan gases como el metano y el hidrógeno, en un medio ácido. También, se tienen mayores valores de conductividad, para la demanda química de oxígeno (DQO) para oxidar los compuestos y la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) requerida por los microorganismos para metabolizar compuestos orgánicos. Por otro lado, en la fase acetogénica comienzan a actuar los microorganismos metanogénicos, que convierten el ácido acético y el hidrógeno en metano y dióxido de carbono, generando la neutralización del medio y disminuyendo los valores de conductividad, DQO y DBO. En la etapa de metanogénesis se termina de producir el metano a partir de material biodegradable que no estaba disponible anteriormente (AMBIENTUM, 2015). Estos procesos bacterianos y enzimáticos requieren de azúcares presentes (HERNÁNDEZ, 2012) y siempre es un desafío la accesibilidad de la mayor cantidad de azúcares en la biomasa por sus complejas estructuras poliméricas; por tanto, se investigan diversas estrategias de pretratamiento para liberarlas. (YANG, 2008). Diferentes ácidos (como sulfúrico, clorhídrico, fluorhídrico, etc.) y sus derivados se investigan activamente como catalizadores para valorizar residuos agroindustriales, especialmente para producir biocombustibles; entre estos, el ác. acético que comparativamente es débil (pKa: 4,75) pero es un

adecuado agente en biomásas con bajo contenido de lignina. (OROZCO et al, 2014).

El presente trabajo se desarrolló buscando el aprovechamiento de residuos provenientes de la industrialización de la ***Physalis Peruviana L.*** en las regiones Cajamarca y Ancash (zona norte del país) mediante la obtención de biogás como alternativa energética aprovechable por las mismas agroindustrias. La investigación experimental se centró en determinar su capacidad de generar biogás, definir un pretratamiento adecuado con un ác., obtener la fermentación comparando muestras con o sin pre-inóculo y medir el biogás producido.

## 2. MATERIALES y MÉTODO

*Desarrollo de muestras, pretratamiento y los análisis respectivos:*

### 2.1. Preparación de muestras

Se obtuvieron residuos de las empresas industrializadoras de aguaymanto de las regiones Cajamarca y Ancash. Se cortaron de manera uniforme (entre 3 - 5 mm), para homogeneizar los tamaños de las partículas para sus posteriores tratamientos. Se secó esta biomasa a 45°C durante 30 horas mediante convección forzada y posteriormente se utilizó un desecador para reducir su temperatura que facilite los procesos de molienda y tamizado, con el uso de mallas 75 #/pulg. lineal y 15 #/pulg. lineal. Después de esta preparación, las muestras se mantuvieron almacenadas en bolsas selladas a no más de 4°C hasta su uso.

### 2.2. Pretratamiento con ácido

Se utilizaron tubos de vidrio borosilicato de tipo I de alta calidad para colocar las muestras con diferentes concentraciones (0,2, 0,4 y 0,7 M) de ác. acético, con una relación de sustrato al 10 % (p/v). Las muestras se incubaron a 25°, 50° y 100°C durante 24h, 12h y 1h respectivamente, con ayuda de una autoclave Priorclave, para determinar condiciones óptimas de este pretratamiento. La

solución obtenida se filtró por succión, aspirando la fase líquida con ác. acético a través del filtro hacia un matraz conectado a una bomba de vacío y separándolo del residuo tratado con este. Los filtrados se almacenaron a 4°C para un análisis posterior y los residuos sólidos se secaron a 65 °C durante 2 h y se almacenaron en bolsas de polietileno. Para comparar la eficiencia de hidrólisis se usó ác. sulfúrico (0,2 M) como agente de pretratamiento a 100°C por 1h. Se seleccionó el ác. sulfúrico para esta parte, ya que su acción ya ha sido bien establecido en las últimas décadas (MOSSIER, et al. 2005)

## 2.3. Análisis Composicional

Siguiendo normas de la AOAC International, se realizaron las pruebas fisicoquímicas para analizar las muestras con y sin pre- tratamiento.

- 2.3.1. Sólidos totales: Las muestras se secaron en un horno a 100°C durante 24 h. Los sólidos volátiles y el contenido de cenizas de las muestras se lograron mediante un procedimiento seguido donde la biomasa seca obtenida se quemó completamente a 550°C por 16 h en un horno de mufla (Muffle Furnace) y para calcular el carbono fijado se utilizó: **Peso total Carbono fijado (%) = 100 – (sól. Volátiles (%)) + Ceniza (%)**
- 2.3.2. Poder calorífico de cada muestra se calculó respecto al carbono fijado hallado: **Valor Calorífico (MJ kg<sup>-1</sup>) = (0.196 x Carbono Fijado) + 14.12**
- 2.3.3. El pH inicial de cada muestra se halló con un medidor de pH Mettler y se midió de la muestra seca (5 g) reconstituida con agua destilada (1:5).
- 2.3.4. Análisis de azúcares reductores totales y carbohidratos: Se evaluaron los hidrolizados obtenidos del pretratamiento a través del método colorimétrico de ácido dinitrosalicílico, donde el ácido 3,5-dinitrosalicílico se reduce a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico, en presencia de pentosas y hexosas. Se tomaron 0,3 ml de muestra hidrolizada, se mezcló con 0,3 ml del ácido y se hirvió por 15 min en un baño de agua. La mezcla obtenida de color rojo anaranjado oscuro

se enfrió a temperatura ambiente antes de ser medida en un espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific a 540 nm.

Para el contenido total de carbohidratos de las muestras se usó el método colorimétrico de fenol-ácido sulfúrico, donde el ác. sulfúrico concentrado transforma los polis/oligosacáridos en monosacáridos, las pentosas en furfural y las hexosas en 5-hidroximetil furfural, dando un color amarillo dorado por sus reacciones con el fenol. Se procedió mezclando en tubos de ensayo las muestras secas (25 mg) con 2 ml de agua destilada y se agregaron 5ml de ácido sulfúrico (98%) y 1ml de fenol (5%) y se agitó durante 25 min hasta obtener el color. Se midió la absorbancia a 490 nm. Se realizaron estos análisis a las muestras con y sin pretratamientos.

#### 2.4. Análisis de los efectos catalíticos

Los efectos catalíticos de las diversas condiciones de pretratamiento se cuantificaron en función del tiempo de tratamiento  $t$ , la temperatura  $T$  y el pH a temperatura ambiente de los agentes de pretratamiento (CHUM, et al. 1990). Es así como se calculó un factor de severidad combinada de los tratamientos con ácidos usando las condiciones pre- estandarizadas para cada tratamiento: ác. acético: 1h, 100°C y pH - 2,61, y ác. sulfúrico: 1h, 100°C y pH - 1,21 y según:  **$CS = (\log t \times e^{(t-100/14.75)}) - pH$** ; (factores a T.a.)

#### 2.5. Evaluación de la eficiencia de la hidrólisis con ácido acético

Se realizó para muestras con y sin pretratamiento y se prepararon colocando en un pulverizador catódico en frío, FEI Company, las muestras deshidratadas en una plataforma con cinta conductora de carbono y recubiertas con platino por 2 min. Se usó un microscopio electrónico de barrido Thermo Fisher Scientific, para la visualizaron los cambios morfológicos con un voltaje de aceleración de 5,00 kV en una atmósfera de bajo vacío.

## **2.6. Caracterización de los cambios en las composiciones químicas de la biomasa**

Se prepararon pellets con mezclas de 1mg de muestra (con y sin pretratamiento) con KBr espectroscópicamente puro en una proporción de 5:95 para el análisis espectroscópico infrarrojo por transformada de Fourier (Thermo Fischer Scientific). Se usó un rango de longitud de onda infrarrojo medio de 4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$  y con una velocidad de escaneo de 64 a una resolución de 2  $\text{cm}^{-1}$  para obtener grupos funcionales que indiquen los componentes estructurales como celulosa, hemicelulosa y lignina.

## **2.7. Análisis para determinar los cambios en la composición de la biomasa**

Se colocaron muestras con y sin pretratamiento, 10mg de cada una, en una bandeja de aluminio en el horno en un analizador simultáneo termogravimétrico Thermostep de ELTRA hasta 600°C (desde los 20°C) en una atmósfera de nitrógeno (100  $\text{ml}/\text{min}^{-1}$ ) para determinar la pérdida de peso de ambas muestras para determinar sus perfiles térmicos y la degradación de diferentes componentes.

## **2.8. Desarrollo de Fermentación Anaeróbica**

Se inocularon muestras pretratadas con ác. acético (0.2M) y sin pretratamiento, se hizo seguimiento y medición.

## **2.9. Pre-inoculación**

Se trabajó el medio nutritivo con extracto de levadura (ST), cloruro de sodio y peptona bacteriológica en una proporción de 1-1-2 con agua caliente y homogeneizando dicha solución en un Erlenmeyer que se selló posteriormente para evitar la contaminación del inóculo.

La muestra de inóculo en el medio se preparó en una concentración 1% p/v (1g de cada muestra/100ml de medio), el día 0 (primer día experimental) y los 5 días siguientes se tomaron muestra del medio preparado. La experimentación se

realizó en la cámara UV, con el soplador de aire y el mechero encendidos, y donde se incorporó el residuo de la industrialización del aguaymanto y el medio inoculado en un tubo falcón, en una relación de 5mg/5ml. Los tubos de experimentación se sellaron con parafina, se les marcaron los volúmenes iniciales y permanecieron en la incubadora por 7 días a una temperatura de 37 °C. Al 8vo día se reconoció el volumen desplazado de parafina determinando la mayor producción de biogás.

Se utilizó como esterilizante el alcohol isopropílico al 70% (IPA) para la cámara UV y en ella se procedió a la esterilización de todos los materiales (tubos, micropipetas completas y guantes) por 15 min., antes de iniciar.

## **2.10. Fermentación**

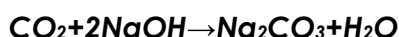
Para esta fase se prepararon 6 fermentadores para: 2 controles del residuo con pretratamiento y sin pretratamiento, 2 para el residuo sin pretratamiento con su réplica y 2 para el residuo pretratado con su respectiva réplica. Entre los materiales utilizados se tuvieron frascos para centrifuga Nalgene de 750 ml, como fermentadores, con tapones de caucho de tornillo en medio y rosca plástica aseguradora; una incubadora rotatoria para laboratorio con control térmico preciso Memmert, para llevar a cabo la fermentación.

Para cada frasco fermentador la carga fue de 15% de sólidos totales, (90% de sustrato y 10% de medio nutritivo preparados en 20ml del líquido de pre-inoculación en adición de peptona bacteriológica, extracto de levadura y cloruro de sodio). Para completar el sustrato se adicionaron 50 ml de agua desoxigenada y durante 27 días se mantuvo en la incubadora a 37°C. Para garantizar condiciones anaeróbicas controladas, se utilizó gas nitrógeno bombeado a un flujo de 3L/min y se realizaron mediciones semanales de pH.

## **2.11. Volumetría del biogás**

La cuantificación fue mediante la técnica de captura de gas utilizando una columna con solución de NaOH (0.2M) como fase dispersa, conectada a otra columna de agua y ambas conectadas a una bomba al vacío para medir el

desplazamiento del agua de la última columna, por parte del biogás producido. Los gases ácidos reaccionan con la solución de NaOH, según la ecuación:



Mediante una doble titulación se calculó el volumen de CO<sub>2</sub> presente en el biogás generado. La primera titulación de la solución de hidróxido de sodio de la primera columna se realizó con HCL (0.15M) como solución valorante y fenolftaleína como marcador y con una alícuota de 25mL de la solución. Según las ecuaciones:  **$\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{HCL} \rightarrow \text{NaCl} + \text{NaHCO}_3$**  y  **$\text{NaOH} + \text{HCL} \rightarrow \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$**

La segunda titulación se realizó con el indicador anaranjado de metilo, según la siguiente reacción:  **$\text{NaHCO}_3 + \text{HCL} \rightarrow \text{NaCl} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$**

El gas metano que no reacciona con la solución NaOH llega a la columna de agua y la desplaza, por su insolubilidad (moléculas no polares) y menor densidad respecto al agua (más ligero que el agua) por esta razón, las burbujas de metano que se forman tienden a subir, desplazando el agua y permitiendo registrar el volumen de metano generado (NEILSON, et al, 1987).

Las mediciones de control inicialmente fueron diarias y después Inter diarias.

## 2.12. Análisis Estadístico

Se realizaron análisis estadísticos de varianza (ANOVA), unidireccional, seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, para examinar las diferencias entre tratamientos individuales y condiciones óptimas de los pretratamientos, para evaluar la significancia de la pre-inoculación en la producción de biogás (considerando un análisis por factor) y la significancia del pretratamiento para la producción de metano en las fermentaciones producidas. Las diferencias entre las variables se consideraron significativas con un nivel de confianza de  $p < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS

- *Sobre la Caracterización fisicoquímica:* indicó existencia significativa de sustratos fermentables (Tabla N°1), con alto contenido orgánico (92%), adecuada cantidad de humedad (76%). Adecuado para fermentación en estado sólido (sólidos totales >15%). Bajo rango de cenizas (1.97%), que brindaría poca eficiencia en la fermentación. Presencia de celulosa y hemicelulosa como carbohidratos fermentables, un alto contenido de carbono y un bajo contenido de nitrógeno (<1%) Los valores caloríficos fueron casi tan grandes como los de los azúcares estándar, lo que proporciona más evidencia de relaciones C/N altas. Se encontró que el pH inicial era ácido (2.95).

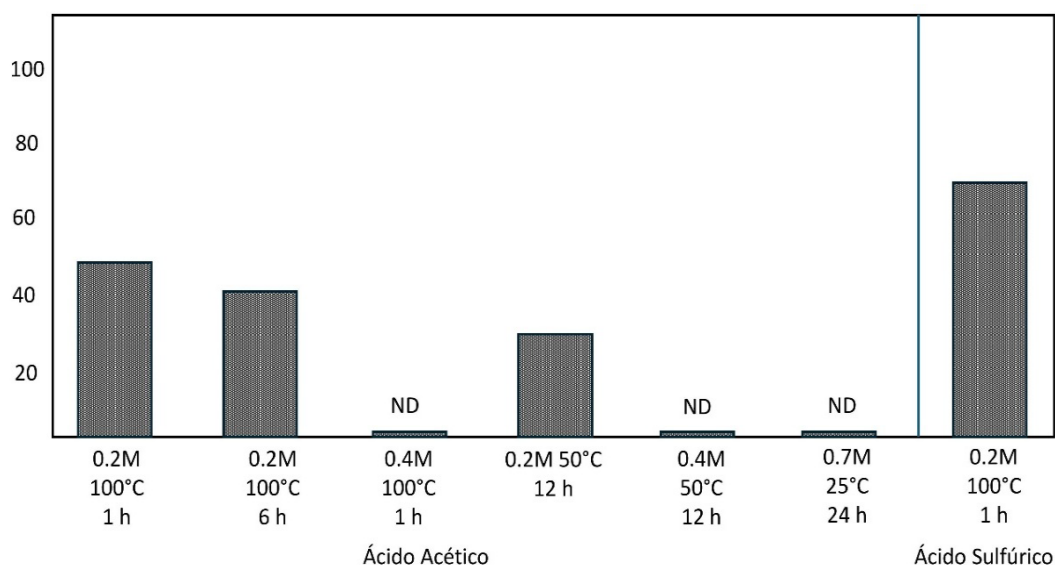
**Tabla N°1: Análisis Composicional**

<b>Análisis Aproximado</b>	<b>Resíduos de Aguaymanto</b>
Sólidos Totales (%)	23.74 ± 0.87
Sólidos Volátiles (%)	92.06 ± 0.42
Ceniza (%)	1.97 ± 0.10
Carbono fijo (%)	5.64 ± 0.21
Carbohidratos Totales (mg g <sup>-1</sup> )	573 ± 6.94
<b>Análisis Final</b>	
Carbono Total (%)	41.07 ± 0.30
Nitrógeno Total (%)	0.87 ± 0.10
Hidrógeno Total (%)	3.90 ± 0.10
S Total (%)	ND
O Total (%) *	47.91 ± 0.33
C/N	47.21
<b>Propiedades Físicas</b>	
pH	2.95 ± 0.01
Valor Calorífico (MJ kg <sup>-1</sup> )	14.99 ± 0.04

Nota: Se expresan como media ± error estándar de resultados triplicados. ND: no determinado. \* Por diferencia.

**Tabla 1.** Análisis composicional

- *Sobre el Pretratamiento:* El contenido de azúcares liberados en los hidrolizados varió según las diversas condiciones de pretratamiento. Entre todas las condiciones probadas con ácido acético, el pretratamiento con ácido acético 0.2 M a 100°C por 1h mostró mayor liberación de azúcares reductores solubles, produciendo 42.9 mg g<sup>-1</sup> de azúcares reductores.

Figura N°1: PRETRATAMIENTO - CONTENIDO TOTAL DE AZÚCARES REDUCTORES (mg g<sup>-1</sup>)**Figura 1.** Pretratamiento – Contenido total de azúcares reductores (mg g<sup>-1</sup>)

Al incrementar el tratamiento a 6h para ác. acético 0,2 M, el azúcar reductor en el hidrolizado disminuyó (2.4%) con respecto al tratamiento de 1h. Al incrementar el tiempo de tratamiento a 12h, incluso disminuyendo la temperatura a 50°C, continuó la disminución de azúcares reductores. El aumento de la concentración de ácido a 0.7M y el aumento del tiempo de tratamiento a 24h a baja temperatura dieron como resultado la eliminación completa del azúcar reductor soluble. También se observó que la alta temperatura fue perjudicial para el contenido de azúcar liberado, ya que los azúcares en los hidrolizados se deterioraron totalmente a 100°C en presencia de ác. acético al 0.4M en 1h de tratamiento. El aumento de la concentración de ác. acético de 0.4 a 0.7M influyó significativamente en el contenido de carbohidratos después de 24 h de pretratamiento, con temperatura de 25°C. Los cambios en el contenido de carbohidratos fueron proporcionales a la pérdida de azúcares reductores en todos los métodos de tratamiento y el tiempo de tratamiento afectó solo al azúcar reductor liberado y no al contenido de carbohidratos restante. Sin embargo, entre todos los tratamientos realizados, fue con el ác. sulfúrico 0.2 M, donde se dio la mayor liberación de azúcar reductor, azúcar no necesariamente fermentable, ( $72,32 \pm 1,52 \text{ mg g}^{-1}$ )

dejando solo el 34 % de carbohidratos intactos en los residuos sólidos. La recuperación total de azúcar fermentable fue más del doble cuando se utilizó el tratamiento con ácido acético 0.2 M ( $566 \text{ mg g}^{-1} \approx 97.6 \%$ ) en lugar del tratamiento con ácido sulfúrico ( $234 \text{ mg g}^{-1}$ ).

- *Sobre el Análisis de los efectos catalíticos de los agentes de pretratamiento:* Se observó que el tratamiento con ácido sulfúrico diluido fue de +0.59, el mayor índice obtenido lo que indica su fuerte efecto catalítico en la destrucción de la biomasa (valores cercanos a 1 o mayores indican alto efecto catalítico).

- *Sobre la eficiencia de la hidrólisis del ácido acético:* Se evaluó comparando la concentración de azúcar reductor liberado con el pretratamiento con ácido sulfúrico convencional en iguales condiciones. Con ácido sulfúrico mostró una mayor liberación de azúcar reductor soluble ( $72.32 \pm 1.52 \text{ mg g}^{-1}$ ).

- *Sobre el análisis FTIR:* El pretratamiento con ácido acético fue el más adecuado porque mostró que la mayoría de los grupos funcionales presentes en las muestras sin tratar se encontraron intactos posterior al pretratamiento, indicando una alteración menor de los grupos funcionales, mayor protección de las porciones fermentables de la biomasa y la mejora de su biodisponibilidad para la fermentación.

Figura N°2: Espectros FTIR

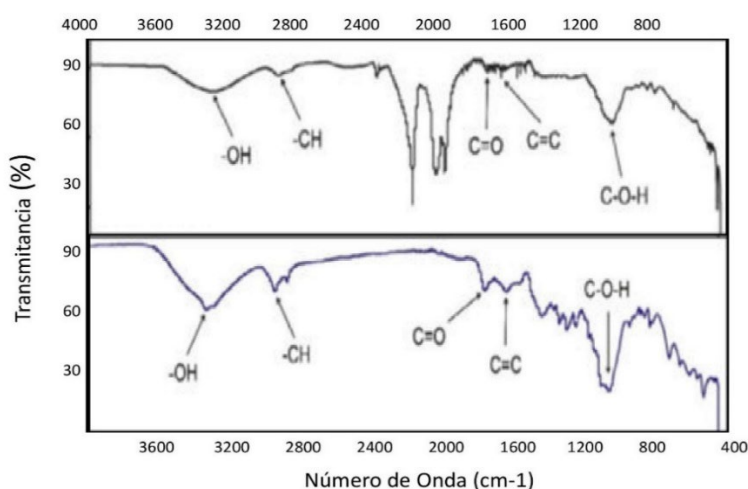
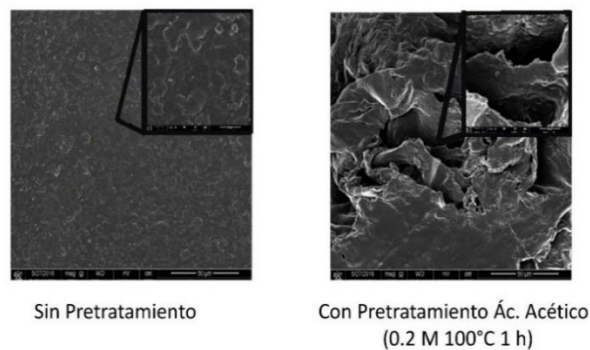


Figura 2. Espectros FITR

- *Sobre la caracterización SEM:* En la comparación de las micrografías SEM de muestras tratadas y no tratadas se obtuvo que el pretratamiento con ác. acético alteró la integridad estructural y aumentó la rugosidad superficial. (Fig. N°3). Sin embargo, durante el pretratamiento con ác. sulfúrico diluido las alteraciones fueron mayores. La integridad estructural de la muestra se vio alterada a manera de formación de poros en la superficie, que evidenció la severidad del tratamiento y mostró que el realizado con ác. acético era suficiente para aumentar la biodisponibilidad con poca pérdida de azúcares fermentables.

Figura N°3: MICROGRAFÍAS ELECTRÓNICAS DE BARRIDO DE MUESTRAS DE BIOMASA



Nota: Las originales muestran una ampliación de 700  $\mu\text{m}$ . Las superpuestas una ampliación de 5000  $\mu\text{m}$  de regiones de 5  $\mu\text{m}$

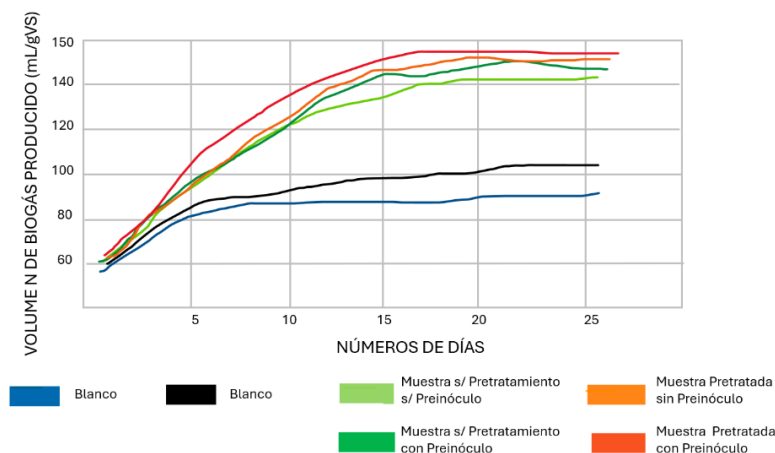
**Figura 3.** Micrografías electrónicas de barrido de muestras de biomasa.

- *Sobre el tratamiento de Pre-inóculo en las fermentaciones:* Del análisis estadístico de los resultados en laboratorio, se obtuvo que la pre-inoculación fue significativa en la producción de biogás, con un Valor p de 0,024, con una definición de  $\alpha = 0.05$ , por lo cual se puede rechazar la hipótesis nula. Con lo que se obtiene que es un factor significativo el tiempo de pre-inoculación.

- *Sobre la Producción de metano producido en las fermentaciones:* Se observó una producción de biogás ligeramente mayor en los fermentadores con muestras con pretratamiento, respecto a aquellas sin pretratamiento de ácido acético. Mientras que, las menores producciones de biogás, en comparación al resto de las muestras, se han dado en los fermentadores con muestras sin pre-

inóculo. También, se comprueba que la máxima producción de biogás en los fermentadores se presenta durante los primeros días de la fermentación. Los valores obtenidos fueron: para los blancos entre 95-108 mL/g<sub>VS</sub>, los de aguaymanto sin pre-inóculo fueron entre 140-144 mL/g<sub>VS</sub> y los de aguaymanto con preinóculo estuvieron entre 143-147 mL/g<sub>VS</sub>.

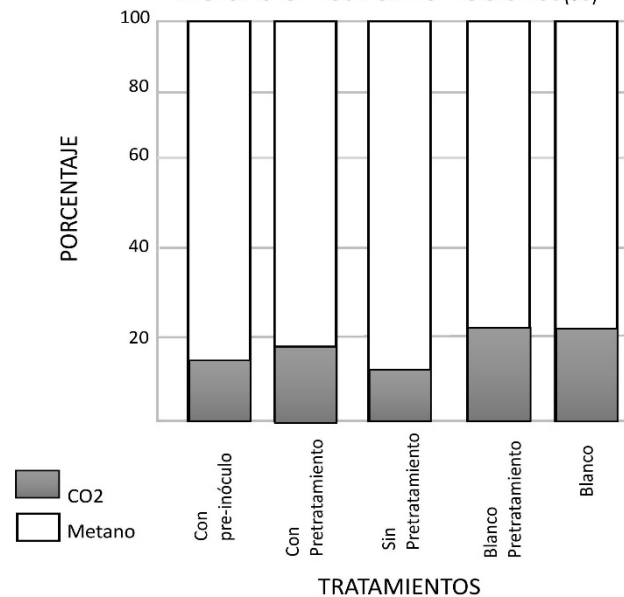
Figura No. 4: RESUMEN DEL VOLUMEN ACUMULADO DEL BIOGÁS PRODUCIDO



**Figura 4.** Resumen del volumen acumulado del biogás producido.

Del análisis estadístico se determinó que el pretratamiento es significativo en la producción de biogás, con un Valor - p obtenido de 0,0483. Posteriormente, la prueba HSD de Tukey corrobora el análisis de varianza y determina que las muestras pretratadas y sin pretratamientos son significativamente diferentes. Por tanto, es factible realizar el pretratamiento con ác. acético 0.2M por 1h.

- *Sobre la Concentración de CO<sub>2</sub> en el biogás producido:* Se obtuvieron mayores concentraciones de dióxido de carbono en los fermentadores con pretratamiento, con valores entre el 16 – 18%, respecto a los fermentadores sin pretratamiento donde se obtuvieron valores entre el 8 -12%.

Figura No. 5: Resumen de Producción CO<sub>2</sub> y de Metano en las Fermentaciones (%)

**Figura 5.** Resumen de producción CO<sub>2</sub> y de metano en las fermentaciones (%).

#### 4. DISCUSIÓN

Los análisis mostraron que los residuos de la industrialización del aguaymanto poseen bajo contenido de nitrógeno para mantener estable el proceso de digestión anaerobia a largo plazo; el desarrollo de una codigestión, mezclando ese residuo pobre en nitrógeno con otro rico en él (como estiércol o lodos) para balancear la relación Carbono/Nitrógeno (C/N), podría optimizar la actividad microbiana, aumentando la producción de biogás y estabilizando el proceso para una operación continua y eficiente en la implementación del proceso. (Borowski et al., 2013).

Para obtener sustento sobre los cambios en las muestras mediante los pretratamientos se consideraron diferentes análisis. El análisis de los efectos catalíticos de los agentes de pretratamiento es un indicador importante que determina la degradabilidad de la biomasa lignocelulósica (CHUM, et al. 1990); en el estudio, determinó que el ac. sulfúrico tuvo un efecto fuerte, inadecuado, sobre la biomasa que no presenta un contenido de lignina alto, afectando negativamente a los azúcares fermentables. Mediante el análisis SEM se indicó

la eficacia del pretratamiento con ác. acético diluido para esta biomasa con contenido de lignina. El ác. acético permitió que se liberaran cantidades notorias de azúcares reductores en los hidrolizados debido a la alteración estructural y la pérdida de integridad de la biomasa. Esta alteración de la estructura celular con mayor porosidad mejora la vulnerabilidad de la biomasa permitiendo mejor accesibilidad microbiana para su fermentación. Las micrografías mostraron la adecuada y suficiente severidad del tratamiento con este ácido, que incrementó el área superficial promoviendo la adhesión microbiana, con menor pérdida de azúcares fermentables. (SAHA, et al., 2016)

A través del análisis FTIR se identificó la estructura molecular, donde los picos en la región de alta energía ( $3500\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ ) mostraron la presencia de grupos hidroxilo (OH) provenientes de carbohidratos; los picos a  $2920\text{--}2916\text{ cm}^{-1}$  mostraron enlaces simples (CH); los picos a  $1735\text{--}1726\text{ cm}^{-1}$  presentaron grupos carbonilo aldehído (C=O). Las marcaciones  $1605$ ,  $1604$  y  $1599\text{ cm}^{-1}$  corresponden a lignina (C=C) y en la región  $1412\text{--}1275\text{ cm}^{-1}$  se marcaron las cadenas alifáticas estructurales de los carbohidratos. La región de  $1033\text{--}1011\text{ cm}^{-1}$  mostró monómeros de azúcar y compuestos fenólicos (C-O-H), en este rango los picos fueron los más anchos y fuertes indicando el predominio de los grupos C-O. El valor calorífico indicó la riqueza de carbohidratos proveniente de azúcares comunes post pretratamiento con ác. acético. (OROZCO, et al., 2014).

De los resultados obtenidos de los análisis, corroboramos que su composición previa y post pretratamiento con ác. acético (0.2M,  $100^{\circ}\text{C}$  1h) definiría a la biomasa como un sustrato óptimo para la producción de biogás. (LI, et al., 2011).

El pretratamiento con ác. acético de concentración más diluida mostró resultados favorables en la producción del biogás para estos ensayos. Podría deberse a que implicó una degradación de la celulosa poco significativa durante el pretratamiento y permitió obtener resultados composicionales similares entre los residuos con pretratamiento y sin este. (SAHA, et al., 2016). Por tanto, en el caso de la producción de biogás mediante fermentación de

residuos industriales de aguaymanto, un pretratamiento de los residuos generaría mayor producción de biogás.

El pre-inóculo utilizado en las fermentaciones realizadas se mostró que fue favorable para la producción de metano, según los resultados de los volúmenes obtenidos frente a las fermentaciones no inoculadas. (SPANGHERO, et al. 2009).

La concentración de CO<sub>2</sub> en el biogás producido fue mayor y mejor en las fermentaciones de muestras pretratadas. Sin embargo, podría tenerse en consideración alguna alteración producida por el nitrógeno adicionado en las fermentaciones realizadas, porque durante las mediciones periódicas de pH habría surgido una ligera variación frente a los días en donde se medía solo la producción de biogás, pudiendo deberse a que el uso de nitrógeno que no reacciona con la solución alcalina NaOH permitiría que aumentara el desplazamiento del biogás producido que se mide en la segunda columna. (PAEZ, 2017). Cabe resaltar que se utilizó una columna lo suficientemente grande para el desplazamiento del gas producido y su dispersión en la solución alcalina y un sensor que permitió conocer la composición de CO<sub>2</sub> en el biogás y permitieron una mayor exactitud en los datos. (GARCÍA, et. al., 2016).

## REFERENCIAS

- AMBIENTUM. (2015). Suelos y residuos. Mecanismos de la fermentación anaerobia. [http://www.ambientum.com/enciclopedia\\_medioambiental/suelos/mecanismos\\_fermentacion\\_anaerobia.asp](http://www.ambientum.com/enciclopedia_medioambiental/suelos/mecanismos_fermentacion_anaerobia.asp)
- AOAC. (2006). Official Methods of Analysis. Gaithersburg: AOAC International
- BOROWSKI, S. y WEATHERLEY, L. (2013). Co-digestion of solid poultry manure with municipal sewage sludge. *Bioresource Technol*, 142(1), 345-352. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.05.047>.
- CHUM, H. L., JOHNSON, D. K. y BLACK, S. K. (1990) Organosolv pretreatment for enzymic hydrolysis of poplars. 2. Catalyst effects and the combined severity parameter. *Ind Eng Chem Res*, 29(1), 156–62. doi: <http://dx.doi.org/10.1021/ie00098a003>.
- GARCÍA, M. A. y GÓMEZ, J.D. (2016). Evaluación de la producción de biogás a partir de residuos vegetales obtenidos en la central de abastos de Bogotá mediante digestión anaerobia. Recuperado de: <https://repository.uamerica.edu.co/items/46778e23-2085-48c8-a7ef-b8fc700c791b>
- HERNÁNDEZ, H. A. (2012). Diseño de un biodigestor instrumentado electrónicamente para la generación de biogás en casa habitación. Recuperado de: [https://repositorio.unam.mx/contenidos/disenio-de-un-biodigestor-instrumentado-electronicamente-para-la-generacion-de-biogas-en-casa-habitacion-1?c=Ezg0Qn&d=false&q=\\*&i=2&v=1&t=search\\_0&as=0](https://repositorio.unam.mx/contenidos/disenio-de-un-biodigestor-instrumentado-electronicamente-para-la-generacion-de-biogas-en-casa-habitacion-1?c=Ezg0Qn&d=false&q=*&i=2&v=1&t=search_0&as=0)
- LEE, D., NAM, H., WON, M., LEE, V.H., TORMUNZIN, D., WANG, S. y YONG, P. (2022). Recent progress in the catalytic thermochemical conversion process of

- biomass for biofuels. *Chemical Engineering Journal*, 447 (1), 137501. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137501>
- LI Y. B., PARK S. Y. ZHU, J. Y. (2011) Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. *Renewable Sustainable Energy Reviews*, 15(1), 821–826. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2010.07.042>.
- Mosier N., Wyman C., Dale B., Elander R., Lee Y. y Holtzapple M. (2005) Características de las tecnologías prometedoras para el pretratamiento de la biomasa lignocelulósica. *Bioresour Technol*, 96 (1), 673-686. doi: [10.1016/j.biortech.2004.06.025](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025)
- NEILSON, R. y THORNTON, R. (1987). *Organic Chemistry*. Boston: Pearson Education.
- OROZCO, R. S., HERNANDEZ, P. B., MORALES, G. R., NUNEZ, F. U., VILLAFUERTE, J. O. y LUGO, V. L. (2014). Characterization of lignocellulosic fruit waste as an alternative feedstock for bioethanol production. *BioResources*, 9(1), 1873–1885.
- PÁEZ, J.S. (2017). Análisis de la capacidad de fermentación de los residuos de uchuva para la obtención de biogás. Recuperado de: <https://repositorio.uniandes.edu.co/entities/publication/25a3ed32-ba90-48d3-8866-746d075e8208>
- PUENTE, L. A., PINTO, C. A., CASTRO, E. S. Y CORTÉS, M. (2011). *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*, 44(7), 1733-1740. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.034>.
- SAHA, S., KURADE, M. B., EL-DALATONY M. M., CHATTERJEE, P. K., SUNG, D., y JEON, B. (2016). Improving bioavailability of fruit waste using organic acid: An

exploratory study of biomass pretreatment for fermentation. *Energy Conversion and Management*, 127 (1), 256–264. doi: <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2016.09.016>

SIERRA Y SELVA EXPORTADORA. (2020). Análisis de Mercado Aguaymanto 2015 - 2020. Lima: MINISTERIO DESARROLLO AGRARIO Y RIEGO.

SPANGHERO, M., SALEM, A. Z. M. y ROBINSON, P.H. Chemical composition, including secondary metabolites, and rumen fermentability of seeds and pulp of Californian (USA) and Italian grape pomaces. *Animal Feed Science Technology*.152(1), 243–255. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.04.015>

YANG, B. y WYMAN, C. E. (2008) Pretreatment: the key to unlocking low-cost cellulosic ethanol. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2,26–40. doi: <http://dx.doi.org/10.1002/bbb.49>.

ZAINUDIN, M. H. M., ZULKARNAIN, A., AZMI, A. S., MUNIANDY, S., S., SAKAI, K., SHIRAI, Y., y HASSAN, M. A. (2022). Enhancement of Agro-Industrial Waste Composting Process via the Microbial Inoculation: A Brief Review. *Agronomy*, 12(1), 198-250. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy12010198>