

Modelo matemático de la producción de Biohidrógeno en procesos de co-digestión anaeróbica

Mathematical model of biohydrogen production in anaerobic co-digestion processes

Presentación: xx/10/2024

Nadia Dietrich

Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Bahía Blanca, Argentina.

dietrichnadia@gmail.com

Ariel Airasca

Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Bahía Blanca, Argentina.

airasca@frbb.utn.edu.ar

Horacio Campaña

Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Bahía Blanca, Argentina.

hcampana@frbb.utn.edu.ar

Resumen

En Argentina, se generan grandes cantidades de desechos orgánicos provenientes de la producción agroindustrial. La gestión deficiente de estos residuos puede ocasionar grandes perjuicios en el medioambiente. Por lo que existen varios métodos biológicos que permiten tratarlos de manera adecuada, como la co-digestión anaeróbica. El tratamiento anaerobio es una tecnología limpia y sustentable, a partir del cual se obtiene subproductos de valor agregado (biol, biogás y digesto). En una de las primeras etapas de este proceso, se genera el Biohidrógeno. En este trabajo se evaluó la generación de Biohidrógeno mediante fermentación oscura (termofílica) a partir de la co-digestión de estiércol bovino con un tipo de bagazo (pera), y se realizó un ajuste matemático, mediante un modelo adaptado, para describir el progreso acumulativo de producción de Hidrógeno en un proceso discontinuo. El estiércol de origen vacuno fue utilizado como inóculo y co-sustrato, y permitió el arranque del proceso de producción de Hidrógeno biológico. Los resultados obtenidos ajustaron al modelo cinético propuesto, con un coeficiente de correlación de más del 0,90.

Palabras clave: Biohidrógeno, Residuos Agroindustriales, Bagazo de Pera, Fermentación Oscura, Modelamiento matemático

Abstract

In Argentina, large quantities of organic waste are generated from agro-industrial production. Poor management of this waste can cause great damage to the environment. Therefore, there are several biological methods that allow for proper treatment, such as anaerobic co-digestion. Anaerobic treatment is a clean and sustainable technology, from which value-added by-products are obtained (biol, biogas and digest). In one of the first stages of this process, Biohydrogen is generated. In this work, the generation of Biohydrogen through dark fermentation (thermophilic) from the co-digestion of bovine manure with a type of bagasse (pear) was evaluated, and a mathematical adjustment was made, using an adapted model, to describe the cumulative progress of Hydrogen production in a discontinuous process. Bovine manure was used as inoculum and co-substrate, and allowed the start of the biological Hydrogen production process. The results obtained fit the proposed kinetic model, with a correlation coefficient of more than 0.90.

Keywords: Biohydrogen, Agroindustrial waste, Pear bagasse, Dark fermentation, Mathematical Modeling.

Introducción

La co-digestión anaeróbica involucra la mezcla de sustratos ricos en carbohidratos, con otros sustratos que poseen una alta carga microbiológica, como son los residuos agrícolas con el estiércol bovino. La aplicación de la co-digestión anaeróbica de residuos agroindustriales con estiércol bovino permite obtener subproductos de valor agregado, tales como biogás (CH_4 , H_2), además de biol y digesto con fines agronómicos (Campaña et ál., 2020). La tecnología de tratamiento anaeróbico es sustentable, y resuelve el pasivo económico y ambiental que supone la generación y gestión de residuos agroindustriales (Campaña et ál., 2020). El proceso de digestión anaeróbica está formado por etapas consecutivas con los productos gaseosos finales de metano y dióxido de carbono. La producción de Biohidrógeno es característica de la primera etapa de la digestión anaeróbica (acidogénica-acetogénica), por medio de la fermentación oscura (bacterias anaerobias facultativas y/o estrictas). La producción de Biohidrógeno ha adquirido mayor interés por tratarse de un tipo de energía cuya utilización no genera gases de efecto invernadero, y puede obtenerse a partir de biomasa (Ntaikou et ál., 2010).

El proceso de producción de Hidrógeno es llevado a cabo por los microorganismos de cultivos fermentativos, que se pueden hallar en los lodos anaerobios, los barros de plantas de tratamiento, el compost, el suelo y el estiércol (Wang y Yin, 2017). El estiércol actúa como inóculo, ya que aporta una fuente primaria de microorganismos necesarios que permiten el inicio de reacción para la realización de la digestión anaeróbica y la estabilización de nutrientes (FAO, 2019). Una de las formas más sencillas de obtener inóculo para aplicar en un biodigestor es la utilización de estiércol de animales (en especial de rumiantes), ya que se encuentra enriquecido con microorganismos anaeróbicos (FAO, 2019). Se prefieren los cultivos mixtos de productores de Hidrógeno debido a su viabilidad para aplicaciones de ingeniería ambiental, beneficios económicos en la operación (ya que puede economizar costos de asepsia), facilidad de control en función de la cinética diferencial de los subgrupos microbianos y una elección más amplia de materias primas (Ghimire et ál., 2015). Varios autores (Fan et ál., 2006; Yokoyama et ál., 2007; Ren et ál., 2010; Wang et ál., 2013) han investigado la generación de Biohidrógeno a partir de la co-digestión de residuos orgánicos con estiércol vacuno.

El modelado de los parámetros cinéticos y la producción de Biohidrógeno es importante para el diseño, análisis y operación de los procesos fermentativos (Ghimire et ál., 2015). Se han propuesto varios modelos para describir la producción de Biohidrógeno, el crecimiento de las bacterias productoras de Hidrógeno, el consumo de sustratos y los procesos bioquímicos intermedios (Wang y Wan, 2009; Gadhamshetty et ál., 2010; Arudchelvam et ál., 2010). El ajuste del proceso de producción de Biohidrógeno es importante para lograr una mejor comprensión de las vías de fermentación oscura y el control del proceso. Los parámetros como la concentración de sustrato, el pH, la temperatura y el tiempo de retención hidráulico, afectan el rendimiento y la tasa de producción de Hidrógeno, y las especies de los productos finales (Ghimire et ál., 2015). Wang y Wan (2009) inspeccionaron los modelos matemáticos existentes, como el modelo de Gompertz modificado para la formación de productos (producción de Hidrógeno), el modelo logístico para el crecimiento de la biomasa (Mu et ál., 2006), la utilización del sustrato basada en la ecuación de Monod, el modelo de Arrhenius para los efectos de la temperatura, los modelos de inhibición del pH basados en el modelo de digestión anaeróbica IWA n° 1 (ADM1) (Batstone et ál., 2009) y los modelos de Luedeking-Piret modificados para la formación de subproductos (Mu et ál., 2006).

En base a la experiencia previa de investigación de los procesos de fermentación oscura midiendo la producción de Biohidrógeno, el objetivo principal de este trabajo es evaluar el ajuste matemático mediante un modelo cinético de la formación de Hidrógeno biológico mediante el proceso de fermentación oscura, partir de la co-digestión de bagazo de pera y estiércol.

Metodología

Los sustratos empleados fueron: desechos de pera de la variedad *Packham's Triumph* (bagazo) y el estiércol de origen vacuno. El modo de operación fue discontinuo, con un tiempo de retención de 48 horas, en condiciones termofílicas (55°C) y en ausencia de luz (fermentación oscura). La metodología de los ensayos y las condiciones

de realización de las experiencias fueron llevadas a cabo según Campaña et ál., (2020). Los reactores se denominan como PBA (Reactor para bagazo A), PBB (Reactor para bagazo B) y PBC (Reactor para bagazo C).

Las mediciones fisicoquímicas fueron determinadas según los métodos estándar (APHA, AWWA, WPCF, 2005). El Fraccionamiento de la Materia Orgánica (FMO) se realizó por el método de Kononova (1961) y por Stevenson (1965). La caracterización inicial de los sustratos incluyó los siguientes parámetros: pH, conductividad eléctrica (mS/cm), % Materia Seca (MS), % Materia Orgánica (MO), % Carbono Orgánico, % Sólidos volátiles (SV), % Sólidos fijos, FMO (%), % Nitrógeno total Kjeldahl (NTK) y Fósforo (mg fosfato/g MS). La extracción de biogás para determinar composición se realizó con jeringa (septum de la probeta graduada). La composición de biogás fue determinada por medio de cromatógrafo gaseoso, Perkin Elmer Clarus 500 CG, con columna Hysep N 80/100-6'x 1/8" SS, y flujo de nitrógeno (19.0 PSI, flujo 25.0 ml/minuto). El detector de conductividad térmica operó a 130°C, el horno a 65°C, y la columna a 100°C.

La ecuación de Gompertz modificada ha sido ampliamente utilizada para describir el progreso de la producción acumulada de Biohidrógeno en procesos discontinuos (Wang y Yin, 2017), que se muestra a continuación:

$$H = H_{max} \times \exp \left\{ - \exp \left(\frac{R_m \times e}{H_{max}} (\lambda - t) + 1 \right) \right\} \quad (1)$$

Donde, H es el volumen acumulativo de Hidrógeno producido (mL), H_{max} es el valor máximo de producción de Hidrógeno (mL), R_m es la tasa de producción máxima de Hidrógeno (mL/h), λ es la fase de latencia(h), t el tiempo de incubación (h) y de la constante de Euler (2,718). Los datos experimentales se ajustaron usando Solver (Microsoft Excel 365) mediante la minimización de la sumatoria de errores residuales cuadrados (Khanal et ál., 2004).

Los ensayos experimentales se realizaron por triplicado y los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas fueron procesados estadísticamente utilizando el programa InfoSat/L. Los datos analizados con distribución normal utilizaron la prueba, análisis de la varianza, ANOVA, y en los casos de diferencias entre grupos, se utilizó la prueba Post-Hoc de Tukey. Como alternativa no paramétrica, se empleó la Prueba de Kruskal-Wallis.

Resultados y Discusión

Las caracterizaciones fisicoquímicas del estiércol bovino y el bagazo de pera, así como de las mezclas de los biodigestores PB (Pera Bagazo), forman parte del trabajo, que se describen en Dietrich et ál.(2023). A modo de ejemplo, se muestran en la Tabla 1, la caracterización química de sustrato e inóculo con el análisis estadístico correspondiente.

Parámetro	Unidades	Estiércol	Bagazo pera
pH	-	7,17(0,22)	4,04(0,05) ^a
Materia orgánica (MO)	%MS	58,17(5,51)	97,38(0,43) ^a
Carbono orgánico	%MS	33,74(3,20)	56,48(0,32) ^a
Sólidos Volátiles (SV)	%MS	59,12(6,92)	97,60(0,23) ^a
Nitrógeno total Kjeldahl (NTK)	%MS	0,26(0,08)	0,21(0,06) ^a
Materia seca (MS)	%MS	18,72(5,47)	15,59(1,11) ^a

Tabla 1: Caracterizaciones fisicoquímicas del estiércol bovino y el bagazo de pera. Observaciones: DS (Desviación Estándar). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Los valores de pH, conductividad, sólidos volátiles, materia seca y NTK del estiércol son similares a los hallados por Pettygrove et ál.(2010). El bagazo de pera presenta valores característicos de pH, conductividad, materia seca, sólidos volátiles y NTK, de los residuos frutales (Stefanello y Rosa, 2012).

El pH inicial de los biodigestores fue de aproximadamente de 8,50. Las mezclas de los reactores PB, obtuvieron una producción promedio máxima de biogás de 1152 ± 116 mL, a un pH promedio de $5,17 \pm 0,09$, a 23,5 horas del inicio del ensayo. La máxima producción de Hidrógeno para residuos orgánicos de alimentos ocurre en el intervalo de pH de 4,5 a 7 (Ghimire et ál., 2015).

El pH promedio final fue de $4,62 \pm 0,02$ en los reactores PB. La caída de la producción de Hidrógeno podría estar relacionada a la acidificación observada durante los experimentos, como menciona Pascualone (2019) por una inhibición de las bacterias productoras de Hidrógeno.

Las composiciones de biogás producidos en los biodigestores fueron obtenidas mediante un cromatógrafo gaseoso. El volumen acumulado promedio de biogás producido en los reactores PB fue de 2496 ± 257 mL. En las primeras horas de operación de las mezclas en los reactores PB, el cromatógrafo gaseoso no detectó presencia de Hidrógeno en la composición de biogás. En los muestreos siguientes, la medición cromatográfica del contenido de Hidrógeno en el biogás fue de 10-34 % (PB) y fue completada con el dióxido de carbono, sin presencia detectable de metano en ninguno de los casos.

Varios autores observaron comportamientos similares, como la ausencia de producción de metano, generación de Biohidrógeno, y acidificación del medio en biodigestores, durante el proceso de fermentación oscura a partir de residuos frutales y vegetales (Tenca et ál., 2011; Pascualone, 2019; Abubackar et ál., 2019a; Abubackar et ál., 2019b; Cieciora-Włoch y Borowski, 2019; Cieciora-Włoch et ál., 2020).

Los datos experimentales se aplicaron a la ecuación de Gompertz modificada, obteniéndose los parámetros cinéticos que se muestran en la Tabla 2.

Biodigestores	H_{\max} (mL H_2)	R_m (mL H_2 /h)	λ (h)	R^2
PBA	363,96	44,71	5,57	0,9998
PBB	373,35	45,31	4,92	0,9976
PBC	344,25	36,43	4,81	0,9957

Tabla 2: Coeficientes de la ecuación de Gompertz para la producción de Biohidrógeno. Observaciones: PBA (Reactor para bagazo A). PBB (Reactor para bagazo B). PBC (Reactor para bagazo C). H_{\max} = cantidad máxima de Hidrógeno producido.

R_m = velocidad máxima de producción de Hidrógeno. λ = tiempo de la fase lag.

Los datos experimentales han sido ajustados adecuadamente por el modelo de Gompertz, mostrando coeficientes de correlación (R^2) superiores a 0,99. Se verificó que los valores obtenidos de las velocidades de obtención de Biohidrógeno y las fases de adaptación son similares. El tiempo de adaptación al medio requerido por las bacterias productoras de Hidrógeno fueron similares entre los reactores PBB y PBC, siendo menores que en el reactor PBA. El biodigestor B obtuvo la mayor producción de Biohidrógeno siendo H_{\max} de 373,35 mL de H_2 , con la mayor velocidad de producción de Hidrógeno ($R_m = 45,31$ mL H_2 /h); mientras que el reactor C obtuvo menor producción de Biohidrógeno (344,25 mL de H_2) a menor tasa de producción de Hidrógeno ($R_m = 36,43$ mL de H_2 /h). En la Figura 1, se ajustaron los datos experimentales al modelo de Gompertz para la producción de Hidrógeno en mezclas en reactores PBA (Reactor para bagazo A), PBB (Reactor para bagazo B) y PBC (Reactor para bagazo C).

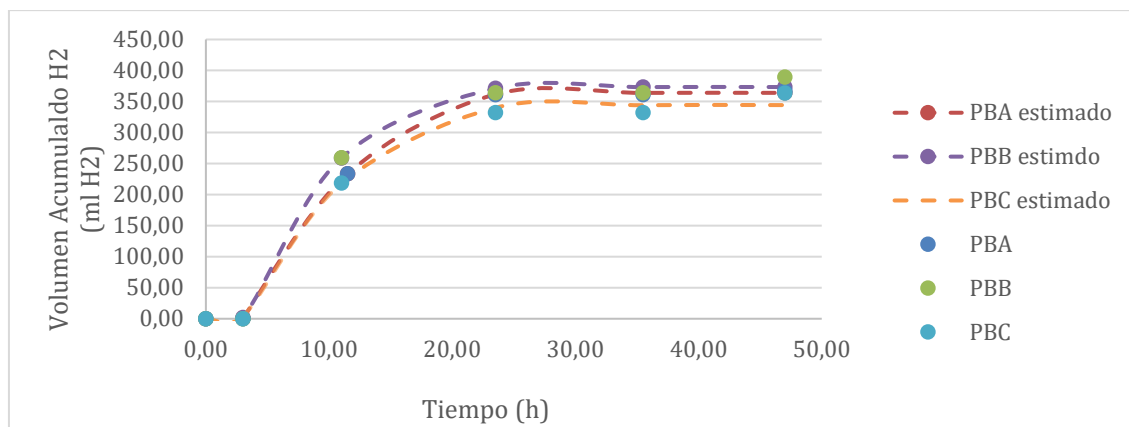


Figura 1: Ajuste de datos experimentales y modelo de Gompertz para la producción de Hidrógeno en mezclas en reactores PBA,PBB, PBC. Observaciones: PBA (Reactor pera bagazo A). PBB (Reactor pera bagazo B). PBC(Reactor pera bagazo C)

En la Tabla 3, se puede observar el volumen acumulado de biogás y el volumen total de Hidrógeno por gramos de sólidos totales de bagazo para cada reactor. Además, se encuentran registrados los volúmenes acumulados finales de Hidrógeno, volúmenes totales de Hidrógeno por litro de biogás y máxima producción alcanzada de Hidrógeno para mezclas en reactores PBA, PBB y PBC.

Reactores	PBA	PBB	PBC
Inóculo	Estiércol bovino	Estiércol bovino	Estiércol bovino
Sustrato	Bagazo Pera	Bagazo Pera	Bagazo Pera
Volumen acumulado de biogás (mL)	2714	2213	2562
mL H₂/ g ST bagazo	10,15	10,41	9,6
Volumen acumulado final (mL) H₂	363,96	373,35	344,25
Volumen (L H₂ total/L biogás)	0,134	0,169	0,134
Máxima Producción alcanzada (mL) H₂	127,44	109,93	118,67

Tabla 3: Volumen acumulado de biogás producido, volumen de Hidrógeno por gramo de sólidos totales de bagazo, volumen de Hidrógeno por litro de biogás, volumen acumulado final de Hidrógeno, volumen total de Hidrógeno por litro de biogás y máxima producción alcanzada de Hidrógeno. Observaciones: PBA (Reactor bagazo pera A). PBB (Reactor bagazo pera B). PBC (Reactor bagazo pera C)

Los resultados de los volúmenes obtenidos de producción de Hidrógeno de este trabajo fueron similares a los encontrados por otros autores en distintas condiciones de fermentación oscura, como se puede observar en la Tabla 4. En esta investigación, el volumen acumulado promedio final de mezclas en reactores PB fue de 360 ± 15 mLH₂ ($10,05 \pm 0,41$ mL H₂/g_{MS} bagazo pera). La máxima producción alcanzada de mezclas en reactores PB a las 23,5 hr, fue de 119 ± 9 mL H₂ ($0,103 \pm 0,003$ L H₂/L biogás), con composición de biogás 10 % H₂ (v/v).

Sustrato	Inóculo	Condiciones FO	Producción de H ₂	Autores
Residuos vegetales	Sin inóculo	28°C pH:6,8	24 mL/g SV (28% H ₂)	Marone et ál. (2014)
Residuos vegetales de supermercado	Barros anaeróbicos c/ tratamiento ácido	32°C pH:6,0	89 mL/g DQO	Venkata Mohan et ál. (2009)
Desechos alimenticios	Barros anaeróbicos	50°C	57 mL/g SV (37% H ₂)	Pan et ál. (2008)
Desechos alimenticios	Barros anaeróbicos	35°C	39 mL/g SV (35% H ₂)	Pan et ál. (2008)

Residuos vegetales frutales	Barros anaeróbicos	55°C pH:7,0	76 mL/g SV (28 % H ₂)	Keskin et ál. (2018)
Residuos vegetales frutales	Barros anaeróbicos	55°C pH:5,5-6,75	20,81 NmL H ₂ / g SV	Abubackar et ál., (2019a)
Residuos vegetales frutales	Barros anaeróbicos	35°C pH:5,5-6,75	10,77 NmL H ₂ / g SV	Abubackar et ál., (2019b)

Tabla 4: Trabajos de Producción de Hidrógeno publicados en la bibliografía. Observaciones. FO (Fermentación oscura).

Conclusiones

De los resultados obtenidos (Dietrich et ál., 2023), se concluyó que los reactores de bagazo de pera alcanzaron la conversión en Hidrógeno durante la primera etapa de la co-digestión anaeróbica. El modelo de Gompertz modificado permitió ajustar los resultados al modelo cinético propuesto, constituyendo una herramienta confiable y precisa en la predicción de la producción de biohidrógeno para los sustratos evaluados. Los residuos de bagazo son recomendables como sustratos con alta concentración de compuestos biodegradables. Además, el estiércol vacuno no solo aportó los microorganismos necesarios para permitir el arranque del proceso de producción biológica de Hidrógeno (actuando como inóculo), sino que también permitió estabilizar el medio y amortiguar los cambios de pH.

Referencias

- Abubackar, H. N., Keskin, T., Arslan, K., Vural, C., Aksu, D., Yavuzylmaz, D. K., Azbar, N. (2019a). Effects of size and autoclavation of fruit and vegetable wastes on biohydrogen production by dark dry anaerobic fermentation under mesophilic condition. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(33), 17767-17780.
- Abubackar, H. N., Keskin, T., Yazgin, O., Gunay, B., Arslan, K., Azbar, N. (2019b). Biohydrogen production from autoclaved fruit and vegetable wastes by dry fermentation under thermophilic condition. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(34), 18776-18784.
- APHA, AWWA and WPCF (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st Edition, American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Washington DC, 2005.
- Arudchelvam Y., Perinpanayagam M., Nirmalakhandan N. (2010). Predicting VFA formation by dark fermentation of particulate substrates. *Bioresour Technol* 2010; 101:7492–9.
- Batstone D.J.J., Keller J., Angelidaki I., Kalyuzhnyi S.V., Pavlostathis S.G.G., Rozzi A. (2002). The IWA Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1). *Water Sci Technol* 2002;45:65–73.
- Campaña, H., Airasca, A., Dietrich, N. (2020). Efectos del tratamiento alcalino de biomasa residual en la producción de Biohidrógeno – Resultados preliminares. *RedBioLAC*, 4, 60-64.
- Cieciura-Włoch, W., Borowski, S., & Otlewska, A. (2020). Biohydrogen production from fruit and vegetable waste, sugar beet pulp and corn silage via dark fermentation. *Renewable Energy*, 153, 1226-1237.
- Cieciura-Włoch, W., Borowski, S., (2019). Biohydrogen production from wastes of plant and animal origin via dark fermentation. *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management*, 27(2), 101-113.
- Dietrich N., Airasca A., Campaña H., (2023). Hidrógeno verde a partir de residuos agroindustriales, *Congreso de Energías Sustentables de Bahía Blanca*, 4, 29-34.
- Fan, Y. T., Zhang, G. S., Guo, X. Y., Xing, Y., & Fan, M. H. (2006). Biohydrogen-production from beer lees biomass by cow dung compost. *Biomass and Bioenergy*, 30(5), 493-496.
- FAO, 2019. “Guía teórico-práctica sobre el biogás y los biodigestores,” Colección Doc. Técnicos, p. 104, 2019. Available: <http://www.probiomasa.gob.ar/pdf/GuiaDeBiogasyBiodigestores-19-07-10.pdf>. (consultado el 14 de marzo de 2024)
- Gadhamshetty V. Arudchelvam Y., Nirmalakhandan N., Johnson D.C. (2010). Modeling dark fermentation for biohydrogen production: ADM1-based model vs. Gompertz model. *Int J Hydrogen Energy* 2010; 35:479–90.
- Ghimire, A., Frunzo, L., Pirozzi, F., Trably, E., Escudie, R., Lens, P. N., Esposito, G. (2015). A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: process parameters and use of by-products. *Applied Energy*, 144, 73-95.

- Keskin, T., Arslan, K., Abubackar, H. N., Vural, C., Eroglu, D., Karaalp, D., ... & Azbar, N. (2018). Determining the effect of trace elements on biohydrogen production from fruit and vegetable wastes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 43(23), 10666-10677.
- Khanal, S. K., Chen, W. H., Li, L., Sung, S. (2004). Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. *International journal of hydrogen energy*, 29(11), 1123-1131.
- Kononova M.M. Soil Organic Matter. Its nature, its role in soil formation and in soil fertility, p 49-51. Pergamon Press, Oxford, 1961.
- Marone, A., Izzo, G., Mentuccia, L., Massini, G., Paganin, P., Rosa, S., & Signorini, A. (2014). Vegetable waste as substrate and source of suitable microflora for bio-hydrogen production. *Renewable Energy*, 68, 6-13.
- Mu Y., Wang G., Yu H-Q. Kinetic modeling of batch hydrogen production process by mixed anaerobic cultures. *Bioresour Technol* 2006; 97:1302-7.
- Ntaikou I., Antonopoulou G., Lyberatos G. (2010). Biohydrogen Production from Biomass and Wastes via Dark Fermentation: A Review. *Waste Biomass Valor* v.1, p.21-39, 2010. doi:10.1007/s12649-009-9001-2
- Pan, J., Zhang, R., El-Mashad, H. M., Sun, H., Ying, Y., (2008). Effect of food to microorganism ratio on biohydrogen production from food waste via anaerobic fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(23), 6968-6975.
- Pascualone, M. J. (2019). Fermentative biohydrogen production from a novel combination of vermicompost as inoculum and mild heat-pretreated fruit and vegetable waste. *Biofuel Research Journal*, 6(3), 1046.
- Pettygrove G.S., Heinrich A.L., Eagle A.J., (2010). Dairy Manure Nutrient Content and Forms. *Manure Technical Guide Series*. University of California Cooperative Extension. Disponible en: <http://manuremanagement.ucdavis.edu/> (Fecha de Consulta: 5 de setiembre 2023).
- Ren, N. Q., Xu, J. F., Gao, L. F., Xin, L., Qiu, J., & Su, D. X. (2010). Fermentative bio-hydrogen production from cellulose by cow dung compost enriched cultures. *International journal of hydrogen energy*, 35(7), 2742-2746.
- Stefanello C. L., Rosa, C. (2012). Composición aproximada de las cáscaras de diferentes frutas. *Revista de Ciencia y Tecnología*, (17), 0-0.
- Stevenson F.J., (1965). Gross Chemical Fractionation of Organic Matter In: *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. C.A. Black, D.D. Evans, L.E. Ensminger & F.E. Clark. (ed.) American Society of Agronomy. Madison, WI., p 1409-1414, 1965.
- Tenca A., Schievano A., Perazzolo F., Adani F., Oberti, R. (2011). Biohydrogen from thermophilic co-fermentation of swine manure with fruit and vegetable waste: maximizing stable production without pH control. *Bioresource technology*, 102(18), 8582-8588.
- Venkata Mohan, Mohanakrishna G., Goud R.K., Sarma P.N.,(2009). Acidogenic fermentation of vegetable based market waste to harness biohydrogen with simultaneous stabilization. *Bioresour Technol*. 2009; 100: 3061- 68.
- Wang J. y Yin Y., (2017). *Biohydrogen production from organic wastes*. Green Energy and Technology. Springer Nature, Singapore.
- Wang J., Wan W. (2009). Kinetic models for fermentative hydrogen production: a review. *Int J Hydrogen Energy* 2009; 34:3313-23.
- Wang, K. S., Chen, J. H., Huang, Y. H., & Huang, S. L. (2013). Integrated Taguchi method and response surface methodology to confirm hydrogen production by anaerobic fermentation of cow manure. *International journal of hydrogen energy*, 38(1), 45-53.
- Yokoyama, H., Waki, M., Ogino, A., Ohmori, H., & Tanaka, Y. (2007). Hydrogen fermentation properties of undiluted cow dung. *Journal of bioscience and bioengineering*, 104(1), 82-85.