

Efecto de la relación C/N y C/P sobre la producción de biohidrógeno a partir de la fermentación de paja de trigo en reactores lote

G. Torres-Aguirre¹, A. Lara-Vazquez¹, C. Molina-Guerrero¹, A. Sánchez Carmona², I. Valdez-Vazquez^{1*}

¹ Departamento de Ciencias Ambientales, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato – Salamanca, Ex Hacienda El Copal Km. 9, Carretera Irapuato-Silao, C.P. 36500, A.P 311, Irapuato, Guanajuato, México. Mail: valdez_idania@yahoo.com

² CINVESTAV, Unidad Guadalajara de Ingeniería Avanzada

RESUMEN

Guanajuato es uno de los estados de la República Mexicana con mayor generación de paja de trigo, un residuo agrícola con suficientes carbohidratos para su fermentación a biohidrógeno. Sin embargo, de acuerdo con la composición química de la paja de trigo, ésta no posee los nutrientes necesarios para su eficiente conversión biológica por lo que es importante ajustar el contenido de nitrógeno y fósforo. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la relación C/N y C/P sobre la producción de biohidrógeno mediante la fermentación de paja de trigo utilizando la metodología del diseño central compuesto. Los niveles para la relación C/N (factor A) fueron 2, 31, 101, 171 y 200 C/P (factor B) fueron 5, 77, 253, 428 y 500. Los resultados muestran que ambos factores tuvieron un efecto significativo sobre la producción de hidrógeno ($p < 0.5$) teniendo una interacción altamente significativa ($p < 0.0001$). Es decir, a una relación C/N de 200 el máximo de producción de hidrógeno se logró a una relación C/P de 5, y por el contrario a una relación C/N de 2 el máximo de producción de hidrógeno se obtuvo a una relación C/P de 500. De esta forma, el diseño muestra dos máximos de producción de hidrógeno (60 mL H₂/L) localizados a una alta relación C/N y baja relación C/P o bien a una baja relación C/N y una alta relación C/P.

Palabras clave: C/N, C/P, paja de trigo.

1. Introducción

Entre los sustratos que pueden ser utilizados para la producción de H₂ vía fermentación oscura se encuentra la paja de trigo la cual tiene una composición química de 29-35% de celulosa, 26-32% de hemicelulosa y 16-21% de lignina [1]. Este sustrato es una fuente barata, la cual tiene una importante producción en México con 10 millones de toneladas de materia seca anuales y particularmente en el Estado de Guanajuato se estima se generan entre 280,320 a 560,640 toneladas de materia seca/año [2]. La paja de trigo es una fuente rica en biopolímeros (azúcares) los cuales pueden ser degradados por microorganismos como hongos y bacterias a través de complejos enzimáticos extracelulares que rompen el biopolímero en segmentos hasta obtener monosacáridos (pentosas y hexosas) que posteriormente puedan ser asimilados por la célula para sus funciones metabólicas [3-5].

La fermentación anaerobia de la glucosa para la producción de H₂ está acompañada de otros productos principalmente ácidos acético y butírico, según las ecuaciones 1 y 2 [6].



Uno de los retos de la producción de H₂ a partir de la fermentación de paja de trigo es maximizar su conversión en H₂. Para ello, es imprescindible la presencia de macro y micronutrientes esenciales para el crecimiento microbiano. Los principales macronutrientes son el nitrógeno y fósforo que deben estar en cantidades suficientes para que los microorganismos puedan realizar sus funciones metabólicas básicas. Los niveles de carbono, nitrógeno y fósforo (C:N:P) deben guardar una relación óptima en la cual los microorganismos pueden aprovechar al máximo el sustrato [7-8]. Por otro lado, según la composición química de la paja de trigo podría tener una deficiencia de estos nutrientes lo que tendría como consecuencia una baja conversión en H₂ [9]. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo fue ajustar las relaciones C/N y C/P mediante la adición de una fuente externa de nitrógeno y fósforo para incrementar su conversión en biohidrógeno.

2. Sección Experimental

2.1 Sustrato modelo

Se utilizó como sustrato paja de trigo (*Triticum aestivum* L.) recolectado en el municipio de Irapuato, Guanajuato. La paja de trigo fue secada al sol, molida en un molino de martillos y tamizada con una malla de 3 mm. La composición química de la paja de trigo se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química de la paja de trigo.

Componente	
Carbono (g/Kg)	419
Fósforo (g/Kg)	0.46
Nitrógeno total Kjeldahl (g/Kg)	4.4
Sólidos volátiles (% ST)	86
Cenizas (%ST)	8.6
Contenido de fibra (% ST)	38.7
Proteína (g/Kg)	30.6

2.2 Inóculo

El inóculo se tomó de un reactor metanogénico el cual fue tratado térmicamente a 92°C en baño María por 60 min. Este inóculo fue utilizado al 25% en una pre-fermentación con un volumen útil de 1 L con medio mineral (composición por litro: 10g NaHCO₃, 10g peptona, 0.1g L-cisteína) y 30 g/L de paja de trigo a pH 5.5.

2.3 Procedimiento experimental.

Los experimentos se realizaron en reactores de 250 mL de capacidad con 200 mL de volumen útil. Los reactores fueron cargados con paja de trigo (20 g/L), 170 mL de medio mineral pH 6.5 (composición por litro, 10g NaHCO₃,

0.1g MgCl_2 , 0.02g CaCl_2 , 0.015g MnSO_4 , 0.025g FeSO_4 , 0.005g CuSO_4 y 0.000125g CoCl_2) y 30 mL del pre-inóculo. Los reactores se incubaron a 37°C sin agitación.

2.4 Diseño experimental.

Para estudiar el efecto del nitrógeno y fósforo sobre la producción de H_2 a partir de paja de trigo, se tomaron como variables independientes la relación C/N (X1) y C/P (X2). El contenido de nitrógeno fue ajustado con urea y el contenido de fósforo con fosfato monopotásico de acuerdo al diseño experimental. El contenido de N y P en la paja de trigo no se consideró en el ajuste de nutrientes. Se utilizó una de las metodologías de superficie de respuesta, el diseño central compuesto DCC [10]. Para el DCC, los dos factores (A y B) fueron estudiados a 5 niveles cada uno, incluyendo 5 repeticiones del punto central y dos repeticiones en el resto de puntos experimentales teniendo un total de 21 experimentos (Tabla 2).

Tabla 2. Diseño experimental del diseño central compuesto.

Corrida	Factor A C/N	Factor B C/P
1	2	253
2	171	428
3	101	253
4	200	253
5	171	77
6	101	5
7	171	428
8	200	253
9	101	253
10	101	253
11	31	77
12	31	77
13	101	500
14	101	500
15	101	253
16	101	5
17	101	253
18	31	428
19	31	428
20	171	77
21	2	253

Se utilizó la versión de prueba del programa Design-Expert 8.0.7.1 para el análisis de los resultados y el análisis de varianza ANOVA con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Como controles se tuvieron: a) medio mineral con inóculo, b) medio mineral con sustrato sin ajuste de C o P.

2.5 Métodos analíticos.

El volumen de biogás se midió diariamente mediante el desplazamiento del émbolo de una jeringa lubricada. El contenido de H_2 en el biogás se determinó en un cromatógrafo de gases modelo Perkin Elmer Clarus 580 con un detector de conductividad térmica equipado con una columna capilar Elite-GC GS Molesieve.

3. Resultados y discusión

La Figura 1 muestra la cinética de producción de hidrógeno en los tratamientos réplicas centrales (C/N de 101 y C/P de 253). La producción de hidrógeno alcanza un valor máximo de 61 ml/l a los 18 días de incubación, y de acuerdo a lo observado en la Figura 1 encontrándose aún en fase exponencial.

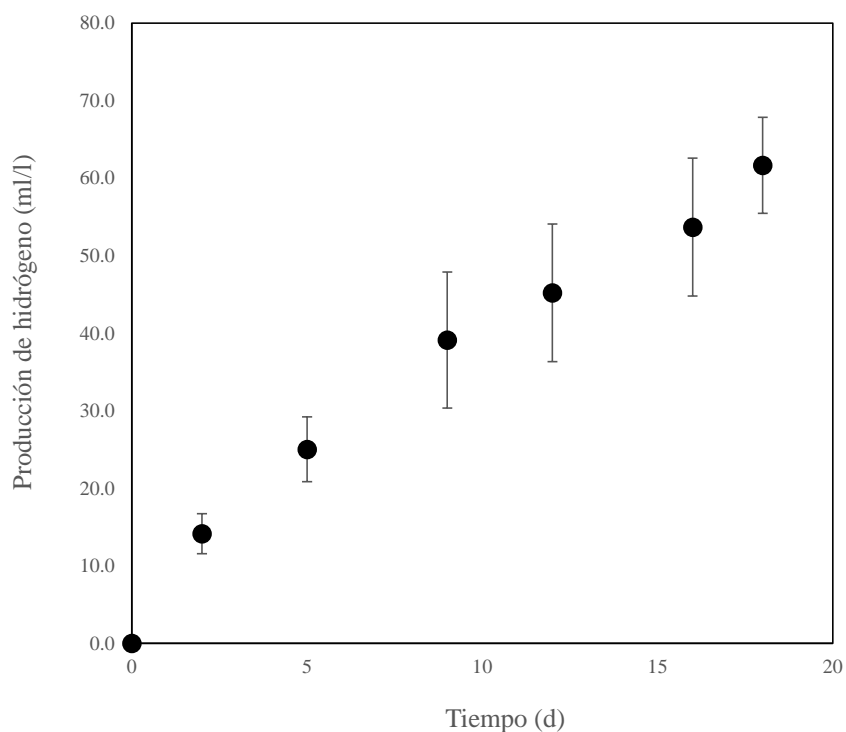


Figura 1. Cinética de producción de hidrógeno por la fermentación de paja de trigo (C/N=101 y C/P=253).

A los 18 días de incubación, los valores de hidrógeno de todos los tratamientos fueron analizados para determinar el efecto de la relación C/N y C/P sobre la producción de H₂ (Figura 2). Para el ajuste de los datos experimentales se utilizó una ecuación cuadrática con un R² de 0.7.

$$H_2 \text{ (ml(l))} = -43.6 + 0.33 * C/P + 0.84 * C/N - 1.86 \times 10^{-3} * C/P * C/N - 2.63 \times 10^{-4} * C/P^2 - 1.64 \times 10^{-3} * C/N^2 \quad (3)$$

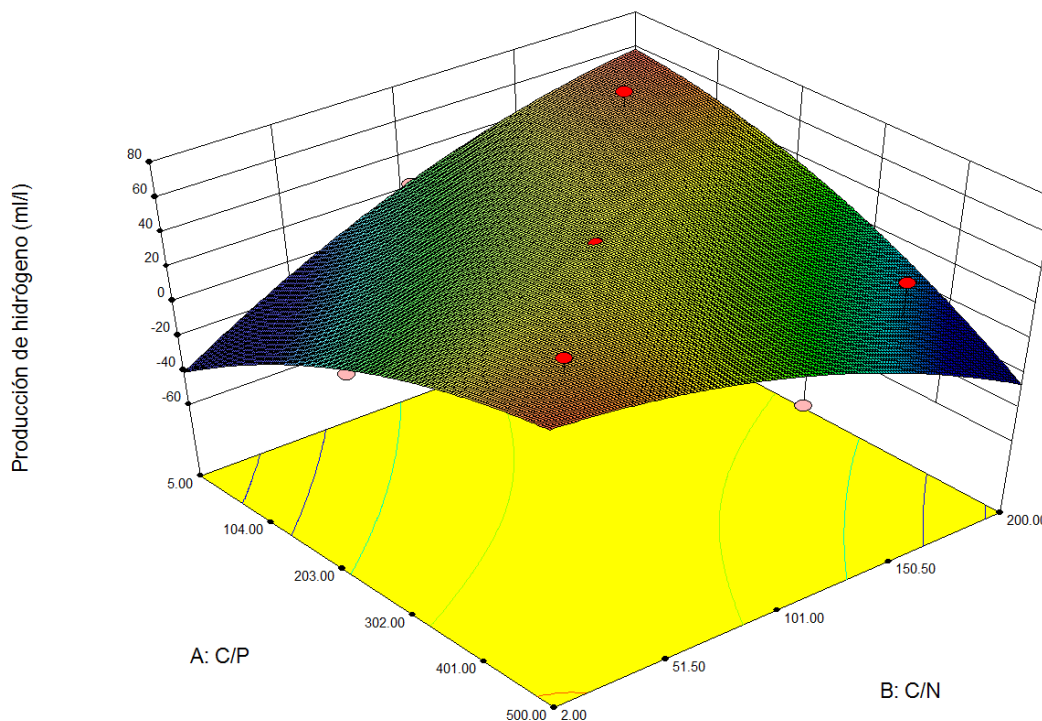


Figura 2. Variación de la producción de hidrógeno a diferentes relaciones C/N y C/P.

De acuerdo con el análisis de ANOVA tanto la relación C/P como C/N tuvieron un efecto significativo sobre la producción de hidrógeno ($p < 0.5$), teniendo una interacción altamente significativa ($p < 0.001$). De la Figura 2, se observa que existen dos máximos de producción de hidrógeno localizados en los extremos correspondientes a una alta relación C/N y baja relación C/P y por el contrario a una baja relación C/N y alta relación C/P. Esto pudiera deberse a que la deficiencia de uno de los nutrientes es recompensada por el exceso de la concentración del otro nutriente. Mientras que los mínimos estuvieron localizados a elevadas concentraciones de nitrógeno y fósforo (correspondientes a bajas relaciones C/N y C/P) o bien, a bajas concentraciones de nitrógeno y fósforo (correspondientes a altas relaciones C/N y C/P).

4. Conclusiones

Se encontró que la relación C/N y C/P tuvieron un efecto significativo sobre la producción de hidrógeno, presentando una interacción altamente significativa. La mayor producción de hidrógeno se logró a una alta concentración de uno de los nutrientes pero en deficiencia del otro nutriente (ya sea N o P). El exceso o deficiencia de ambos nutrientes ocasionó bajos valores de producción de hidrógeno.

5. Agradecimientos

El presente proyecto fue financiado por CONACYT mediante los proyectos N° 150001 del Fondo Sectorial “CONACYT-SENER – Sustentabilidad Energética” y N° 188432 del Fondo para el “Apoyo al Fortalecimiento y Desarrollo de la Infraestructura Científica y Tecnológica”.

6. Referencias

- [1] Sánchez C. (2009). *Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi*. Biotechnology Advances 27, 185-194.
- [2] Valdez-Vazquez I, Acevedo-Benítez JA, Hernández-Santiago C. (2010). *Distribution and potential of bioenergy resources from agricultural activities in Mexico*. Renew Sustain Energy Reviews 14(7): 2147–2153.
- [3] Beg QK, Kapoor M, Mahajan L, Hoondal GS (2001). “*Microbial xylanases and their industrial applications: a review*”, Applied Microbiology and Biotechnology, 56(3): 326-338.
- [4] Lynd LR, Weimer PJ, Van-Zyl WH y Pretorius IS (2002). “*Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology*”. Microbiol Mol Biol Rev. 66: 506-577
- [5] Rojas-Rejón OA, Poggi-Varaldo HM, Ramos-Valdivia AC, Martínez-Jiménez A, Cristiani-Urbina E, de la Torre M, Ponce-Noyola MT (2010). “*Production of cellulases and xylanases under catabolic repression conditions from mutant PR-22 of Cellulomonas flavigena*”. Ind Microbiol Biotechnol. En prensa.
- [6] Kapdan IK, Kargi F (2006). *Bio-hydrogen production from waste materials*. Enzyme Microbiol Technol. 38: 569-582.
- [7] Lin CY, Lay CH (2004). *Carbon/nitrogen ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora*. International Journal of Hydrogen Energy. 29: 41-45.
- [8] Argun H, Kargi F, Kapdan I.K, Oztekin R (2008). *Biohydrogen production by dark fermentation of wheat powder solution: Effects of C/N and C/P ratio on hydrogen yield and formation rate*. International Journal of Hydrogen Energy. 33: 1813 – 1819.
- [9] Kaboneka S., Nivyiza J.C., and Sibomana L. *Effects of Nitrogen and Phosphorus Fertilizer Addition on Wheat Straw Carbon Decomposition in a Burundi Acidic Soil*. 152-162.
- [10] Box, G.E.P., Hunter, W.G., Hunter, J.S., (1978). *Statistics for experiments*, Chap. 15. Wiley, New York.