

Digestión anaerobia de residuos de planta de jitomate para la producción de biogás.**Anaeroby digestion of tomato's plant waste for biogas production.**

¹Saraí Camarena Martínez, ¹Graciela M.L. Ruiz Aguilar, ¹Adriana Saldaña Robles, ²Juan Humberto Martínez Martínez, ¹Vicente Javier Álvarez Villafaña, ³Nanh Lovanh, ¹Héctor Gordon Núñez Palenius.

¹División Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato. Domicilio Institucional: Universidad de Guanajuato. Carretera Irapuato-Silao Km. 9; C.P. 36500; Irapuato, Gto. México. §Autor para correspondencia: saraicamarena12@gmail.com

²Instituto Tecnológico Superior de Abasolo.

³United States Department of Agriculture.

RESUMEN. En Guanajuato la producción de jitomate tiene un gran impacto socioeconómico al ser el principal cultivo que se produce mediante agricultura protegida en el estado. Los residuos derivados de este cultivo carecen de valor comercial y de una adecuada disposición y hasta el momento la información disponible sobre la producción de biogás usando como sustrato la parte aérea de la planta de jitomate es muy limitada. La relación Sustrato/Inóculo (S/I) y la temperatura son dos parámetros considerados muy importantes en pruebas de degradación anaerobia, por lo cual en este estudio se evaluó la producción de metano a diferentes temperaturas (25, 29 y 39°C) y a diferentes relaciones S/I (0.5, 1.0 y 2.0 en peso de sólidos volátiles) a partir de tallos y hojas de la planta de jitomate. A pesar de que los rendimientos de producción de energía a la relación S/I de 0.5 y de 1.0 fueron estadísticamente similares, se recomienda manejar una relación S/I de 0.5 por ocupar una menor cantidad de sustrato para producir energía. El rendimiento de producción de biogás más alto se alcanzó a una relación S/I de 0.5 a 39°C generando 266.1 mL CH₄/g SV. La utilización de planta de jitomate para la producción de biogás puede ser una alternativa viable para generar energía limpia y a su vez darle una adecuada disposición a dichos residuos.

Palabras claves: Biogás, Energía Renovable, Jitomate, Metano, Residuos Agrícolas.

INTRODUCCIÓN

Al cierre del primer semestre de 2017, en México se generó el 20.8 % de su energía eléctrica con fuentes limpias y la capacidad instalada para generar energías renovables creció un 6.9 % con respecto al año anterior. A pesar de ello, surge la necesidad de impulsar tecnologías amigables con el medio ambiente para el cumplimiento de las metas establecidas en la Ley de Transición Energética (LTE) promulgada por el gobierno mexicano. En esta ley se estableció una participación mínima de las energías renovables en la generación de energía eléctrica de 25% para el año 2018 y del 35% para el año 2024. (SENER, 2017). A pesar de ello, el sector energético en México sigue dependiendo en gran manera de los hidrocarburos, los cuales son recursos no renovables y a su vez el consumo de energía en México se mantiene al alza (AIE, 2013).

Otra problemática ambiental a nivel nacional es la generación de residuos procedentes de la actividad agrícola. En particular, los residuos que se derivan de este sector lo constituyen principalmente frutos en mal estado y plantas que culminaron su ciclo de vida (Valdez-Vazquez et al., 2010). En el estado de Guanajuato, el cultivo de jitomate tiene un amplio rubro en la economía estatal y nacional, sin embargo, desde su cultivo hasta su procesamiento se generan desechos tales como plántulas, hojas, cascaras, frutos en mal estado y semillas que carecen de valor comercial y no tienen una adecuada disposición (SAGARPA, 2011; SAGARPA 2017).

El desarrollo de nuevas tecnologías que buscan el aprovechamiento de residuos agrícolas en la producción de biocombustibles promueve el uso racional de estos recursos y reducen el impacto negativo sobre el ambiente. Una tecnología prometedora para el aprovechamiento de estos desechos es la producción de biogás por medio de la digestión anaerobia en el cual se descomponen los residuos mediante la acción microbiana. Este biogás está compuesto principalmente por metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂), y posee un poder calorífico suficiente como para sustituir otros combustibles cuando contiene una proporción de metano superior al 45% (Deublein y Steinhäuser, 2008; Varnero y col., 2011). De esta manera es posible aprovechar los residuos agroindustriales para darles una adecuada disposición y a su vez el biogás generado utilizarlo para la producción de energía (Mao y col., 2015).

La mayoría de los estudios que consideran los residuos de jitomate para la producción de biogás se enfocan en la utilización del fruto y no de la planta (Calabro y col., 2015; Dinuccio y col., 2010; Ferrer y col., 2013; Gil y col., 2014;). Hasta donde sabemos, solo se han reportado los trabajos realizados por Akman y col. (2015) y Li y col. (2016) en los cuales se evaluó la codigestión de planta de jitomate con estiércol vacuno, el estudio

realizado por Oleszek y col. (2015) en el cual se llevó a cabo la producción de biogás a partir de ensilado de planta de jitomate y el estudio realizado Jagadabhi y col. (2011) en el cual se utilizó tallos y hojas de cultivo de jitomate.

Por otro lado, la relación S/I y la temperatura son dos parámetros considerados muy importantes en pruebas de degradación anaerobia (Angelidaki y col., 2009; Elbeshbishy y col. 2012; Raposo y col. 2006;), sin embargo, no se ha encontrado referencia alguna sobre cómo influyen en la producción de metano a partir de residuos de planta de jitomate. Por lo tanto en este estudio se pretende aportar información acerca del efecto de la relación S/I y la temperatura sobre la producción de biogás a partir de este sustrato no convencional.

METODOLOGÍA

Recolección del sustrato

El sustrato empleado consistió en hojas y tallos de planta de jitomate las cuales fueron recolectadas en los invernaderos ubicados en los planteles de la División Ciencias de la Vida de la Universidad de Guanajuato. El sustrato se secó a temperatura ambiente durante 15 días hasta llegar a una humedad de 7.0 ± 0.5 %. La planta seca se molió en un molino marca SURTEK y se tamizó hasta conseguir un tamaño de partícula de 0.85 mm.

Caracterización del sustrato

Se determinó el contenido de carbono orgánico por el método de ignición (Dean, 1974), nitrógeno total y proteína mediante el método Kjeldahl, carbohidratos estructurales (Van Soest y col., 1973), azúcares reductores (Ajani, 2011), demanda química de oxígeno mediante el método de reflujo cerrado (APHA 5220D), pH (Kang y col., 2014), sólidos totales y sólidos volátiles de acuerdo a la NMX-AA-034-SCFI-2001, todos ellos para la caracterización del sustrato.

Producción de biogás

Los experimentos de producción de metano se realizaron en botellas serológicas de 120 mL de volumen total y un volumen de trabajo de 80 mL en un régimen en lote durante 30 días sin agitación.

Se manejó una concentración de inóculo del 20% (p/p) el cual se recolectó de un biodigestor activo alimentado con estiércol vacuno que opera a temperatura ambiente y se encuentra ubicado en el Área Experimental para la Sustentabilidad de la División Ciencias de la Vida. Posteriormente se añadió la cantidad de sustrato correspondiente a las diferentes relaciones S/I evaluadas (0.5, 1.0, 2.0 y 3.0). Las mezclas se ajustaron a un volumen de 80 mL con medio mineral cuya composición por litro fue KH_2PO_4 4.8g, K_2HPO_4 6.98g, NH_4Cl 6.0 g, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1g, CaCl_2 0.02 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.015g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.025g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.005g, $\text{CoCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.125mg (Lara y col., 2014). El sustrato utilizado para el control positivo fue estiércol vacuno a una relación S/I 2.0 y al control negativo no se le añadió sustrato.

El volumen de biogás producido en los experimentos llevados a cabo se determinó por desplazamiento de agua utilizando una bureta invertida de 50 mL. El total de gas correspondió a la sumatoria de cada colecta.

Los análisis de cromatografía de gases se realizaron tomando 30 μL del gas presente en el “headspace” de cada botella. Este se analizó en un cromatógrafo PerkinElmer® modelo Clarus 580, con una columna capilar Elite CG GS-MOSIEVE 52 (30m x 0.53 mm x 50 μm) y utilizando un detector tipo TCD. Las temperaturas del inyector, horno y detector fueron 150, 50 y 200 °C respectivamente. Se utilizó argón como fase móvil a una presión de 14 psi.

Método estadístico

Para evaluar la producción de gas metano se llevaron a cabo dos experimentos. En el “Experimento 1” se consideró únicamente la influencia del factor “relación S/I” (0.5, 1.0 y 2.0) sobre la producción de metano manejando una temperatura ambiente ($25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$). Posteriormente se realizó el “Experimento 2” en el cual se incluyeron los factores “relación S/I” (0.5 y 1.0) y “temperatura” (29 y 39°C) en un diseño factorial 2^2 . Los tratamientos correspondientes al Experimento 1 y Experimento 2 se muestran en a Tablas 1 y 2 respectivamente.

Para analizar las diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos se aplicó el método de Tukey con un valor alfa de 5% utilizando el software de Statgraphics Centurion XVI.

Tabla 1. Tratamientos incluidos en el Experimento 1 para la producción de biogás a partir de residuos de planta de jitomate (J).

Tratamiento	S/I (g SV/g SV)
J 0.5	0.5

J 1	1.0
J 2	2.0

Tabla 2. Tratamientos incluidos en el Experimento 2 para la producción de biogás a partir de residuos de planta de jitomate (J).

Tratamiento	S/I (g SV/g SV)	Temperatura (°C)
J 0.5-29°C	0.5	29
J 0.5-39°C	0.5	39
J 1-29°C	1.0	29
J 1-39°C	1.0	39

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de sustrato

Los resultados de la caracterización del sustrato se encuentran resumidos en la Tabla 3.

Tabla 3. Caracterización de residuos de planta de jitomate (J).

Parámetro	J
C/N	19.86 ± 0.67
ST (%) ¹	90.74 ± 0.14
SV (%) ²	73.59 ± 0.14
Celulosa (%) ²	28.57 ± 1.40
Hemicelulosa (%) ²	8.42 ± 1.08
Lignina (%) ²	7.49 ± 1.13
Azúcares reductores	1.70 ± 0.18

(%) ²	
DQO (mg/g SV)	787.96 ± 26.97
pH	6.60 ± 0.06

¹ Porcentaje base húmeda, ² Porcentaje base seca

En base a la literatura la relación C/N de las muestras de planta se encuentran cerca del rango óptimo (entre 20 y 30) para llevar a cabo una degradación del sustrato (Varnero, 2011), por lo que no se esperaría una inhibición de la actividad bacteriana por la acumulación de amonio o bien, falta de nitrógeno que promueva el crecimiento celular. El contenido de SV dentro del rango de 70 al 95% indica que este sustrato es adecuado para la digestión anaerobia debido a que presenta una cantidad de material fermentable adecuada (Kumar y col, 2013).

La cantidad de hemicelulosa, celulosa y lignina es similar a lo reportado para residuos vegetales de alfalfa y caña de azúcar (Varnero, 2011), mientras que la cantidad de azúcares reductores coincide con lo reportado por Avila y colaboradores (2012) para hojas de *Agave cocui* Trelease.

Producción de biogás

a) Experimento 1

En base al análisis de varianza de una sola vía se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos J 0.5 y J 1.0 ($P = 0.0001$), en cambio, el tratamiento J 2.0 resultó ser estadísticamente muy inferior con respecto a los otros dos tratamientos.

En la Figura 1 se muestran los mililitros de metano acumulados durante un periodo de 30 días para cada uno de los tratamientos evaluados y los controles. Se puede observar que en los tratamientos J 0.5 y J 1.0 se obtuvo un rendimiento mayor que en el control (+). En el tratamiento J 2.0 se observa una inhibición del proceso a partir de la medición realizada a las 165 h.

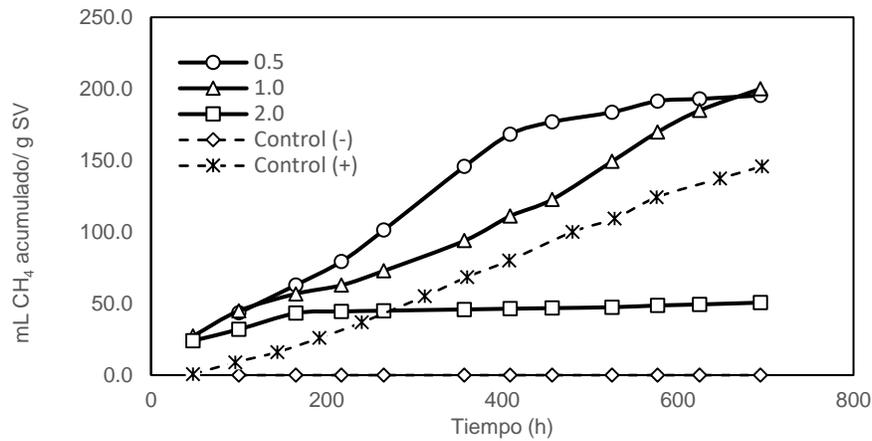


Figura 1. Producción de gas metano (mL CH₄ acumulado/ g SV) obtenida en los tratamientos incluidos en el Experimento 1.

En la Figura 2 se indica el rendimiento de producción de metano de cada uno de los tratamientos. En los tratamientos J 0.5 y J 1.0 se obtuvo alrededor de 200 mL CH₄/ g SV, esto representa casi tres veces el rendimiento de producción de energía con respecto al tratamiento J 2.0.

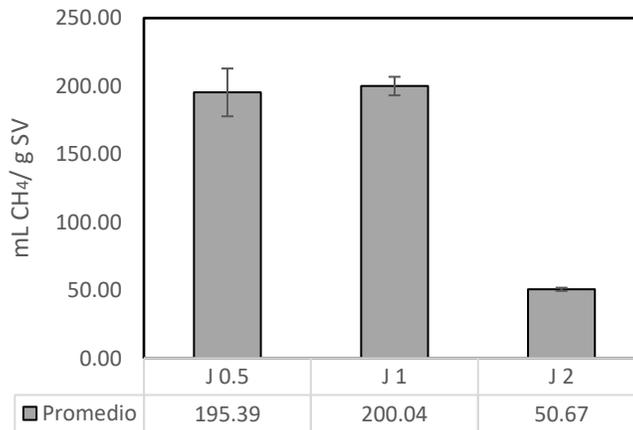


Figura 2. Rendimiento de producción de CH₄ (mL/g SV) obtenido en los tratamientos incluidos en el Experimento 1.

Estos resultados concuerdan con lo reportado en la literatura, en la cual se mencionan que valores entre 0.3 y 1 g SV sustrato/g SV inóculo son recomendables con el fin de evitar posibles sobrecargas del sistema que provoca una inhibición de la metanogénesis (Lesteur y col. 2010; Neves y col. 2004; Zhou y col., 2011). Se estima que a menores valores de S/I la degradación será más rápida sobre todo cuando se trata de sustratos de difícil biodegradación esto debido a que la cantidad de microorganismos presentes para degradar el sustrato sería mayor (Nielsen y Feilberg, 2012).

b) Experimento 2

En base a los resultados obtenidos en el Experimento 1 se determinó que al llevar a cabo un proceso de digestión anaerobia a una relación S/I de 2.0 se presenta una inhibición de la metanogénesis, por lo cual se procedió a evaluar el efecto de la temperatura considerando únicamente los valores de relación S/I de 0.5 y 1.0 en el Experimento 2.

El rendimiento de producción de CH₄ por g SV a una relación S/I 0.5 fue estadísticamente similar ($P = 0.5434$) con respecto a una relación S/I de 1.0 como se obtuvo en el experimento anterior.

El valor de P arrojado por el análisis estadístico para el factor de temperatura fue de 0.0037, siendo la temperatura de 39°C en la que se presenta un mayor rendimiento de producción de energía independientemente del valor S/I tal y como se muestra en el gráfico de interacciones (Figura 3).

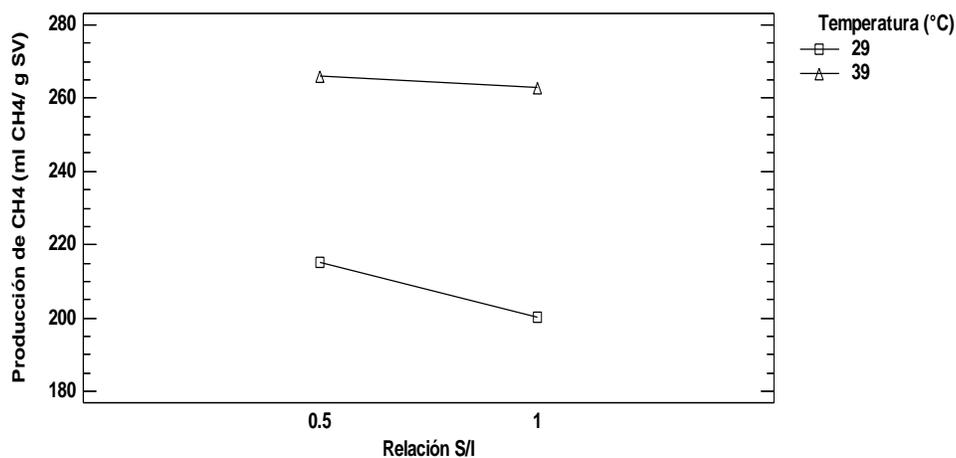


Figura 3. Gráfico de interacciones para el factor “Relación S/I” en la producción de CH₄ a partir de la digestión anaerobia de residuos de planta de jitomate (F).

Los resultados obtenidos de este experimento coinciden con lo reportado por otros autores en los cuales reportan una mayor producción de gas a un rango de temperatura en 35 a 39°C (van Haandel y Lettinga 1994; Lettinga et al., 2001;). A mayor temperatura se presenta un aumento de la solubilidad de compuestos orgánicos y un incremento de las tasas de reacción química y biológica, por lo tanto, ocurre una mayor degradación del sustrato aumentando la producción de biogás (Kumar y col., 2013; Mao y col., 2015).

No se detectó un cambio significativo de pH, lo cual es congruente ya que no se presentó inhibición del sistema en ninguno de los tratamientos (Tabla 4).

Tabla 4. Medición de pH al inicio y final de la DA para cada uno de los tratamientos incluidos en el Experimento 2.

Muestra	pH Inicial	pH Final*
J 0.5-30°C	6.92 ± 0.04	6.86 ± 0.04
J 0.5-40°C	6.93 ± 0.06	6.92 ± 0.05
J 1-30°C	6.80 ± 0.03	6.95 ± 0.03
J 1-40°C	6.79 ± 0.04	6.95 ± 0.04
C (+)	6.83 ± 0.14	6.88 ± 0.04
C (-)	7.02 ± 0.06	6.94 ± 0.06

*Medición de pH después de 30 días de retención.

En la siguiente figura se puede observar que en todos los tratamientos se obtuvo un rendimiento similar o mayor con respecto al control (+).

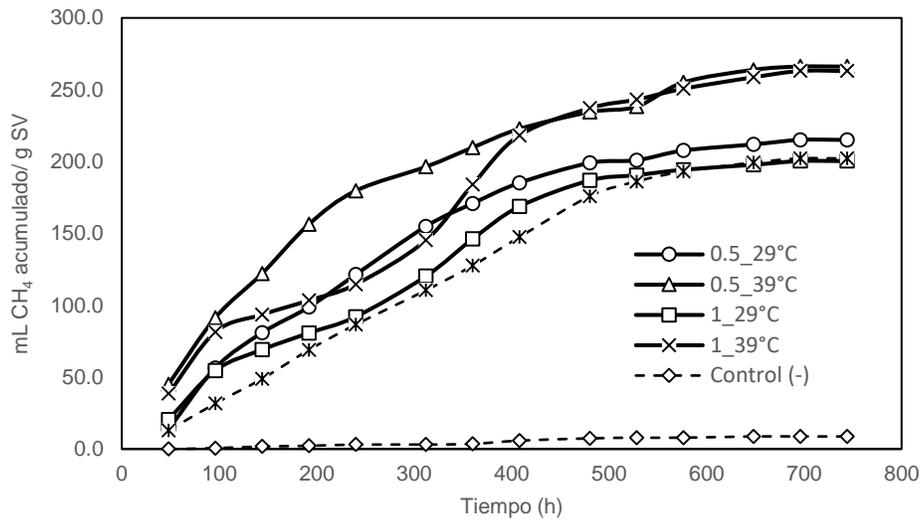


Figura 4. Producción de gas metano (mL CH₄ acumulado/ g SV) obtenida en los tratamientos incluidos en el Experimento 2.

En la siguiente figura se indica el rendimiento de producción de metano para cada uno de los tratamientos incluidos (Figura 5). El rendimiento en mL CH₄/ g SV fue muy similar entre los tratamientos J 0.5-39°C y J 1-39°C y entre J 0.5-29°C y J 1-29°C.

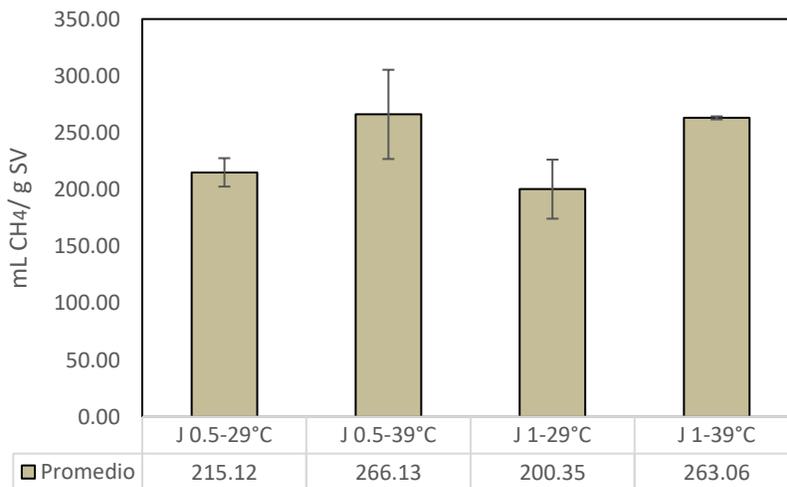


Figura 5. Rendimiento de producción de CH₄ (mL/g SV) obtenido en los tratamientos incluidos en el Experimento 2.

Al comparar el rendimiento de producción de gas metano de los tratamientos J 0.5 y J 1 del Experimento 1 con respecto a los tratamientos que se llevaron a cabo a 39°C del Experimento 2 (J 0.5-39°C y J 1-39°C) se obtuvo alrededor de 30% más producción de energía. En otras palabras, el incremento de temperatura a 39°C produjo alrededor del 30% más producción de metano con respecto a los tratamientos que se mantuvieron a temperatura ambiente.

De acuerdo a lo reportado por otros autores como Akman y col. (2015), se obtuvo un rendimiento de 52.64 mL CH₄/g SV a partir de la codigestión de estiércol vacuno con planta de jitomate en una proporción 10:90 (planta:estiércol). El experimento se llevó a cabo a una relación S/I de 0.5 a 37°C. A esta misma relación S/I, se obtuvo un rendimiento de 266.13 mL CH₄/g SV (J 0.5-39°C) en este estudio, por lo cual el rendimiento de producción de gas a partir de este sustrato fue mucho mayor con respecto a lo reportado por Akman y colaboradores.

Jagadabhi y col. (2011) y Oleszek y col. (2015) reportaron un rendimiento de 320 mL CH₄/g SV a 35°C y 301 mL CH₄/g SV a 37°C, respectivamente, manejando una relación S/I de la partir de planta de jitomate en ambos estudios.

En la caracterización del sustrato realizada por Jagadabhi y colaboradores indican que el contenido de lignina fue de 1.4% (ST) mientras que en este estudio se obtuvo un valor de 7.5 % (ST). A pesar de ser el mismo sustrato presentan diferente contenido de lignina, esto pudo deberse a que se manejó diferente variedad de especie de planta de jitomate. La lignina es muy resistente a la degradación por parte de los microorganismos anaeróbicos afectando la biodegradabilidad de otros hidratos de carbono lo que provoca una disminución de la producción de metano (Mao et al., 2015). El contenido más alto de lignina en el sustrato empleado para esta investigación pudo provocar un menor rendimiento de producción de biogás con respecto a lo reportado en el estudio Jagadabhi y colaboradores.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en este estudio, el mejor tratamiento se considera que fue J 0.5-39°C para fines de producción de energía ya que permite obtener una cantidad similar de biogás a partir de la mitad de sustrato cargado en un reactor con respecto al tratamiento J 1-39°C. Si se busca consumir lo más pronto posible el sustrato, el tratamiento más

adecuado será J 1-39°C ya que permitirá cargar el reactor con el doble de sustrato con respecto al tratamiento J 0.5-39°C.

La producción de metano a partir de residuos de planta de jitomate parece ser una alternativa viable para el aprovechamiento de estos residuos que hasta el momento no tienen ningún valor comercial.

BIBLIOGRAFÍA

Agencia Internacional de Energía (AIE). Extraído en abril de 2017 desde: <http://datos.bancomundial.org/indicador/EG.USE.ELEC.KH.PC?locations=MX>

Ajani A.O., Agarry S.E., Agbede O.O. (2011). *A comparative kinetic study in acid hydrolysis of wastes cellulose from agricultural derived biomass*. Journal of Applied Science of Environmental Management. 15: 531-537.

Akman H. E., Akman E., Ciggin A. S., Perendeci N. A., Yaldız O.. (2015). *Effects of mixture ratio of cow manure and greenhouse wastes on anaerobic co-digestion process*. Agricultural Engineering International: The CIGR e-journal 2015:160-167 .

Angelidaki I, Alves M, Bolzonella D, Borzacconi L, Campos JL, Guwy a J, Kalyuzhnyi S, Jenicek P, van Lier JB (2009). *Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays*. Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research 59(5): 927–934.

Ávila R., Rivas B., Hernández R., Chirinus M. (2012). *Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en Agave cocui Trelease*. Multiciencias, 12 (2): 129-135.

Calabro P.S., Greco R., Evangelou A., Komilis D. (2015). *Anaerobic digestion of tomato processing waste: Effect of alkaline pretreatment*. Journal of Environmental Management. 163:49-52

Dean, W. (1974). *Determination of Carbonate and Organic Matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: Comparison with other methods*. Journal of Sedimentary. Petrology. 44 (1): 242-248.

Deublein D., Steinhauser A. (2008). *Biogas from waste and renewable resources: An Introduction*. Ed. Wiley-VCH. Verlag GmbH & Co KGaA, P. 443 Weinheim, Germany.

Dinuccio, E., Balsari, P., Gioelli, F., Menardo, S. (2010), *Evaluation of the biogas productivity potential of some Italian agro-industrial biomasses*. *Bioresource Technol.*, 101: 3780–3783.

Elbeshbishy E, Nakhla G, Hafez H (2012). *Biochemical methane potential (BMP) of food waste and primary sludge: influence of inoculum pre-incubation and inoculum source*. *Bioresource technology* 110: 18–25.

Ferrer P., Cambra-López M., Cerisuelo A., Peñaranda D.S., Moset V. (2014). *The use of agricultural substrates to improve methane yield in anaerobic co-digestion with pig slurry: Effect of substrate type and inclusion level*. *Waste Management* 34: 196–203

Gil A., Siles J.A., Serrano A., Martin M.A., (2015) *Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste*. *Journal Environmental Technology* 36 (20): 2628-2636.

Van-Haandel A. y Lettinga G. (1994) *Tratamiento Anaeróbico de Esgotos-Um Manual para Regioes de Clima Quente*, EpGraf, Campina Grande-PB.

Jagadabhi PS, Kaparaju P, Rintala J. (2011). *Two-stage anaerobic digestion of tomato, cucumber, common reed and grass silage in leach-bed reactors and upflow anaerobic sludge blanket reactors*. *Bioresource Technology* 102: 4726–4733

Journal of Environmental Management. 63: 49-52.

Kang J., Kim K., Oh G., Rhee S. (2013). *Analysis on biochemical methane potential of agricultural byproducts with different types of silage storage*. *Journal of Material Cycles and Waste Management* 16(3): 468-474.

Kumar V., Sridevi V., Rani K., Sakunthala M., Santosh Kumar C. (2013). *A review on production of biogas, fundamentals, applications & its recent enhancing techniques*. *Elixir Chem. Engg.* 57: 14073-14079

Lara A.R., Sánchez A., Vázquez I. (2014) *Hydration treatments increase the biodegradability of native wheat straw for hydrogen production by a microbial consortium*. *International Journal of Hydrogen Energy* 39: 19899-19904.

Lesteur M., Bellon-Maurel V., Gonzalez C., Latrille E., Roger J.M., Junqua G., Steyer J.P. (2010) *Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review*. *Process Biochemistry* 45(4): 431–440.

Lettinga G.; Rebac S.; Zeeman G. (2001) *Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment*. *Trends in Biotechnology* 19 (9): 363-370.

Li Y, Li Y, Zhang D, Li G, Lu J, Li S. (2016). *Solid state anaerobic co-digestion of tomato residues with dairy manure and corn stover for biogas production*. *Bioresour Technol.* 217:50-55.

Mao C., Feng Y., Wang X., Ren G. 2015. *Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45: 540–555

Neves L., Oliveira R., Alves M.M. (2004) *Influence of inoculum activity on the biomethanization of a kitchen waste under different waste/inoculum ratios*. *Process Biochemistry* 39(12): 2019–2024.

Nielsen A.M., Feilberg A. (2012) *Anaerobic digestion of energy crops in batch*. *Biosystems Engineering*, 112(3): 248–251.

Oleszek M., Tys J., Wiącek D., Król A., Kuna J. (2016). *The Possibility of Meeting Greenhouse Energy and CO₂ Demands Through Utilisation of Cucumber and Tomato Residues*. *Bioenerg. Res.* 9:624–632

Raposo F., Banks C.J., Siegert I., Heaven S, Borja R. (2006). *Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests*. *Process Biochemistry* 41(6), 1444–1450.

SAGARPA, (2011). *Agenda de Innovación Tecnológica: análisis prospectivo de la investigación, innovación y transferencia tecnológica para el sector agropecuario del estado de Guanajuato*. Extraído en abril de 2017 desde: https://www.cofupro.org.mx/cofupro/agendas/agenda_guanajuato.pdf

SAGARPA, (2017). Atlas agroalimentario. Extraído en abril de 2017 desde:

<https://www.gob.mx/siap/prensa/atlas-agroalimentario-2017>

SENER, (2017). , Reporte de Avances de Energías Limpias Primer Semestre 2017. Extraído en abril de 2017 desde: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/279723/Informe_Renovables_2017_1112_2017.pdf

Van Soest, P.J., Robertson J, B., Lewis B.A. (1991). *Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition*. *Journal of Dairy Sciences*. 74: 3583-3597.

Valdéz-Vázquez I., Acevedo-Benítez J.A., Hernández-Santiago C. (2010) *Distribution and potential of bioenergy resources from agricultural activities in Mexico*. *Renew Sustain Energy Rev.*, 14: 2147–2153

Varnero M. T., (2011). *Manual de biogás*. Editado por: Proyecto CHI/00/G32 “Chile: Remoción de Barreras para la Electrificación Rural con Energías Renovables”. E Extraído en abril de 2017 desde: <http://www.fao.org/docrep/019/as400s/as400s.pdf>

Zhou Y, Zhang Z, Nakamoto T, Li Y, Yang Y, Utsumi M, Sugiura N (2011) *Influence of substrate-to-inoculum ratio on the batch anaerobic digestion of bean curd refuse-okara under mesophilic conditions*. Biomass and Bioenergy, 35(7): 3251–3256.