

Producción de hidrógeno a partir del bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.): una revisión

Hydrogen production from sugarcane bagasse (*Saccharum officinarum* L.): a review

Produção de hidrogênio a partir do bagaço da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.): uma revisão

Autores: Orlando Castiblanco, María Benavides, Brayan Mancilla

Recibido: mayo 14 de 2024 – Aceptado: mayo 12 de 2024

Fecha de publicado: diciembre 27 de 2024

Resumen

El bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es una fuente de biomasa muy importante, ya que puede ser aprovechada de muchas formas en la industria. Así, mediante un proceso de molienda del bagazo y a través de la fermentación oscura, se puede obtener biohidrógeno utilizando microorganismos anaerobios. El hidrógeno, considerado un portador energético y alternativa progresiva a los combustibles fósiles, se analiza desde la perspectiva de los recursos y energías renovables, el abastecimiento energético y la sostenibilidad ambiental. El objetivo es evaluar su viabilidad como vector en la transición energética, mediante una metodología de revisión, articulando los ejes temáticos con la problemática del hidrógeno.

Palabras clave: energía renovable, hidrógeno, biomasa, bagazo de caña de azúcar, fermentación oscura.

Abstract: Sugarcane bagasse (*Saccharum officinarum* L.) is a highly important source of biomass, as it can be utilized in various ways within industry. Thus, through a bagasse milling process and dark fermentation, biohydrogen can be produced using anaerobic microorganisms. Hydrogen, considered an energy carrier and a progressive alternative to fossil fuels, is analyzed from the perspective of renewable resources and energies, energy supply, and environmental sustainability. The aim is to assess its viability as a vector in the energy transition, through a review methodology, linking these thematic axes with the challenges surrounding hydrogen.

Producto derivado del proyecto de investigación “Intensificación de procesos químicos y bioquímicos para la valorización de productos y servicios bajo un modelo sostenible de economía circular”. Grupo de investigación en procesos sostenibles (GPS). Departamento de Ingeniería Química, Universidad de América. Bogotá, Colombia.

1 O. Castiblanco, Universidad de América, Bogotá, Colombia, email: orlando.castiblanco@profesores.uamerica.edu.co.

2 M. F. Benavides, Universidad de América, Bogotá, Colombia, email: maria.benavides2@estudiantes.uamerica.edu.co

3 B. E. Mancilla, Universidad de América, Bogotá, Colombia, email: brayan.mancilla@estudiantes.uamerica.edu.co

Como citar este artículo: Castiblanco, O., Benavides, M. F., y Mancilla B.E. Producción de hidrógeno a partir del bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.):

Como citar este artículo: O. Castiblanco, M. Benavides y B. Mancilla “Producción de hidrógeno a partir del bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.): una revisión”, *Inventum*, vol. 19, no. 36, pp. 27-39, enero-junio año. DOI: 10.26620/uniminuto.inventum.19.36.2024.27-39.

Editorial: Corporación Universitaria Minuto de Dios – UNIMINUTO. ISSN: 1909-2520 eISSN: 2590-8219

Copyright:



Keywords: renewable energy, hydrogen, biomass, sugarcane bagasse, dark fermentation.

Resumo: O bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) é uma fonte de biomassa muito importante, pois pode ser aproveitado de diversas formas na indústria. Assim, por meio de um processo de moagem do bagaço e da fermentação escura, é possível obter bio-hidrogênio utilizando microrganismos anaeróbios. O hidrogênio, considerado um portador de energia e uma alternativa progressiva aos combustíveis fósseis, é analisado sob a perspectiva dos recursos e energias renováveis, do abastecimento energético e da sustentabilidade ambiental. O objetivo é avaliar sua viabilidade como vetor na transição energética, por meio de uma metodologia de revisão, articulando esses eixos temáticos com a problemática do hidrogênio.

Palavras-chave: energia renovável, hidrogênio, biomassa, bagaço de cana-de-açúcar, fermentação escura.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, uno de los desafíos para la ciencia consiste en asegurar la disposición de fuentes energéticas necesarias y suficientes para abastecer la comunidad, esto se debe a que con el crecimiento de la población se pueden agotar diversos recursos no renovables; y por esto, se deben establecer diversas alternativas para su sostenibilidad.

Por tal razón, es importante investigar acerca de nuevas tecnologías energéticas para evitar la dependencia de la costosa y ambientalmente insostenible economía del petróleo. No obstante, se tienen barreras difíciles de superar, ya que el 87,1% de la producción energética procede de combustibles fósiles: petróleo, gas natural y carbón; mientras que el 12,9% se produce a partir de energías renovables [1].

El hidrógeno es considerado como un vector energético para el futuro, puesto que su combustión no genera contaminación como lo hacen otros combustibles convencionales. Esto se debe a que el hidrógeno se enlaza con el oxígeno presente en el aire, liberando la energía química contenida en los enlaces de hidrógeno (H-H), y generando únicamente vapor de agua como producto de la combustión. Además, el hidróge-

no tiene un poder calorífico de 122 kJ/g, que es 2,75 veces mayor que los combustibles fósiles [2].

Por otro lado, el hidrógeno puede ser almacenado como gas comprimido o en forma líquida, además de distribuirse a través de gasoductos. Por estas características, se considera una alternativa viable para sustituir al gas natural en el mediano y largo plazo. Otro factor importante es que, al no tenerse una combustión contaminante, se tiene un gran potencial para reducir las emisiones de CO₂ que se generan normalmente durante la combustión de sus precursores de fuentes fósiles [3].

Sin embargo, lograr un desarrollo sostenible implica esfuerzos de todos los sectores de la sociedad y el gobierno, para implementar procesos de investigación, desarrollo e innovación que permitan el uso del hidrógeno como medio de almacenamiento de energía renovable. Por esta razón, se debe resaltar la importancia y el potencial de la biomasa como fuente para la producción de hidrógeno en procesos sostenibles para la sociedad y el planeta.

El objetivo de este documento consiste en analizar, de manera exhaustiva, la literatura científica sobre la producción de biohidrógeno a partir del bagazo de caña, con el fin de proporcionar una visión general de los avances tecnológicos, los desafíos y las perspectivas en este campo. Para esta revisión, se recurrió a una búsqueda exhaustiva en Internet, utilizando las bases de datos Scopus, Google Scholar y ResearchGate. La mayoría de las fuentes corresponden a artículos científicos recientes, libros y algunos reportes y boletines de entidades regionales. Entre los principales hallazgos se identifican avances significativos en las tecnologías de fermentación y pretratamiento del bagazo, aunque persisten retos relacionados con la eficiencia de conversión, los costos de implementación y la escalabilidad de los procesos, lo que evidencia tanto el potencial como las dificultades que enfrenta esta línea de investigación.

II. EL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR COMO FUENTE DE BIOMASA

En la última década, viene en aumento el desarrollo y aprovechamiento de la materia orgánica o lo que se

cataloga como biomasa para la generación de energía renovable y sustentable.

La biomasa tiene un escaso contenido térmico, pero presenta una gran disponibilidad y se considera un recurso renovable, lo que hace que sea una opción muy atractiva para la creciente demanda energética [2]. En esta investigación se va a considerar la utilización de una biomasa residual de origen vegetal, el bagazo de caña de azúcar, un subproducto de la caña de azúcar que se genera luego del proceso de extracción del jugo de caña mediante la utilización de un trapiche (el trapiche consiste en un equipo de dos cilindros que se mueven gracias a un mecanismo de ejes y engranajes impulsados por un motor). Posterior a este proceso se genera la biomasa de interés. Cabe resaltar que la importancia de esta biomasa radica en que la producción de azúcar y melaza es de gran importancia a nivel industrial, por lo que se llegaría a aprovechar de manera satisfactoria uno de los subproductos provenientes de estos procesos [4]. Adicionalmente, se trata de un cultivo que está prácticamente extendido por todas las regiones tropicales y subtropicales del planeta [5].

En Colombia, la caña de azúcar se cultiva de manera productiva desde el nivel del mar hasta altitudes superiores a los 2000 m.s.n.m., adaptándose a una amplia variedad de condiciones de temperatura, luminosidad, precipitación y calidad del suelo. Además, en los últimos años se ha notado un aumento en la tasa de crecimiento promedio anual en la producción de la caña de azúcar, lo cual se refleja en Figura 1 [4].

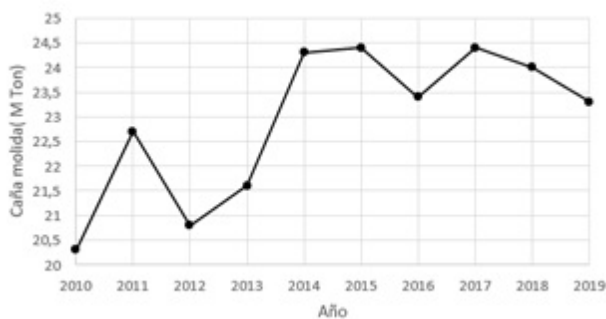


Fig 1. Producción anual de caña molida en Colombia de 2010 a 2019. Fuente: [4].

Al ser la caña de azúcar uno de los principales productos agrícolas permanentes después del café en la economía colombiana, y teniendo en cuenta su potencial, se establece que la obtención del bagazo de caña de

azúcar, como fuente de biomasa, tendrá un flujo constante para el desarrollo de muchas investigaciones; igualmente, será parte fundamental para el futuro del país a nivel medioambiental, económico y social [5].

Dentro de la agroindustria ya establecida en el país, se encuentran más de 50 empresas proveedoras especializadas en insumos, maquinaria y equipos para agricultores e ingenios azucareros. Se cuenta con cerca de 2750 agricultores propietarios de la tierra (75% del área sembrada) y 14 ingenios con el área restante. Adicionalmente, se tienen seis destilerías en donde se produce bioetanol [6].

Por otra parte, la caña de azúcar es uno de los motores de la economía colombiana, no solo de una gran región del país, como lo es el Valle de Cauca, sino de igual manera para las 1200000 familias que se benefician a través de la generación de 188000 empleos directos que la industria azucarera provee [7].

La caña de azúcar está compuesta básicamente por agua y carbohidratos. A nivel global, la caña de azúcar se compone esencialmente de jugo y fibra. La fibra, que es insoluble en agua, está formada principalmente por celulosa, la cual a su vez se constituye de azúcares simples como la glucosa (dextrosa). Los contenidos de cenizas, lípidos (extractos etéreos) y proteínas en la caña son prácticamente insignificantes. Las proporciones de cada componente varían según la variedad de la caña (familia), madurez, edad, suelo, clima, método de cultivo, riegos, abonos y muchos otros factores importantes en la producción de la planta [6].

En otros términos, la caña de azúcar contiene elevados niveles de azúcares solubles, principalmente sacarosa, así como azúcares insolubles de origen estructural, entre los que sobresalen la celulosa, la hemicelulosa y la lignina. [6].

En los últimos años, la industria azucarera en Colombia se ha dado cuenta que uno de los subproductos de la caña de azúcar que ha ganado importancia es el bagazo. Aunque fue considerado un desecho hasta hace unos cuantos años, hoy en día se valora ampliamente debido a su alto contenido de celulosa, utilizada en la fabricación de papel, plásticos y tableros, así como por su valor energético como combustible. La Tabla I presenta la composición del bagazo de caña de azúcar después del proceso de fraccionamiento [8],[9],[10],[11].

Composición general

Humedad	45-55%
Sólidos solubles	20-30%
Sólidos insolubles (fibra cruda)	70-80%

Composición química

Carbono	44-48%
Hidrógeno	6-7%
Oxígeno	38-42%
Cenizas	1-4%

Constitución

Celulosa	30-40%
Hemicelulosa	20-25%
Lignina	15-20%
Otros componentes	2-5%

TABLA I. COMPOSICIÓN DEL BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR
Fuente: elaboración propia

Actualmente, la industria papelera a nivel mundial utiliza aproximadamente el 5% del bagazo producido por las industrias azucareras para la elaboración de sus productos. En Colombia, de los seis millones de toneladas de bagazo que se generan anualmente en los ingenios, el 85% se destina como combustible, mientras que el 15% restante se emplea como materia prima en una industria local dedicada a la producción de papel [12].

Por razones medioambientales, como el cambio climático global, se necesita desarrollar tecnologías que permitan la implementación de desarrollos sostenibles en el aprovechamiento de la biomasa como precursor de energía limpia y renovable.

III. PRODUCCIÓN DE BIOHIDRÓGENO A PARTIR DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR

El bagazo de caña de azúcar es un recurso lignocelulósico natural que destaca por su renovabilidad, abundancia y bajo costo. Estas características le confieren un potencial creciente como materia prima para las industrias química y biotecnológica [13]. Además, el bagazo está constituido por celulosa y hemicelulosa, de donde se pueden extraer azúcares de cinco (pentosas) y seis carbonos (hexosas), y mediante un proceso

catalítico, se puede llegar a producir una molécula de hidrógeno [14].

En el campo de la hidrólisis de la celulosa en el bagazo de caña de azúcar, se están investigando diversas estrategias para mejorar la eficiencia y la sostenibilidad de los procesos. En cuanto a los tratamientos enzimáticos, se están desarrollando celulasas mejoradas y enzimas complementarias, como las hemicelulasas y las -glucosidasas, para aumentar la eficacia de la hidrólisis [15]. Por otro lado, los tratamientos ácidos, como el uso de ácido sulfúrico, se emplean para descomponer la lignina y hemicelulosa, facilitando la hidrólisis enzimática de la celulosa [16]. En contraste, los tratamientos alcalinos, como el uso de hidróxido de sodio o amoníaco, modifican la estructura de la lignina para facilitar su separación de la celulosa y mejorar la accesibilidad de las enzimas [17]. Estos tratamientos se encuentran en constante investigación y desarrollo para mejorar su eficiencia, reducir costos y hacerlos más sostenibles desde el punto de vista ambiental.

Posterior al pretratamiento se tienen los métodos biológicos de obtención de hidrógeno a partir del bagazo hidrolizado. Estos se presentan a continuación. Hay que aclarar que se han tomado como referencia otros tipos de biomasa con un potencial similar, como lo es el lactosuero y el bagazo de agave.

A. Fermentación oscura

La producción de hidrógeno mediante fermentación oscura se basa principalmente en la degradación de carbohidratos, como los azúcares [3]. Los monosacáridos suelen ser la principal fuente de carbono en este proceso, destacando especialmente la glucosa, seguida por la xilosa, el almidón, la celulosa y otras fuentes derivadas de la hidrólisis de polisacáridos, proteínas y lípidos, para posteriormente darse la reacción de biotransformación de la glucosa a ácido acético, H₂ y CO₂ [18]. La Figura 2 presenta las rutas metabólicas más importantes para la producción de bio-hidrógeno a partir de glucosa, por bacterias anaerobias facultativas y estrictamente anaerobias. En la Tabla II se presentan las condiciones de operación requeridas para diferentes microorganismos empleados en el proceso de fermentación oscura.

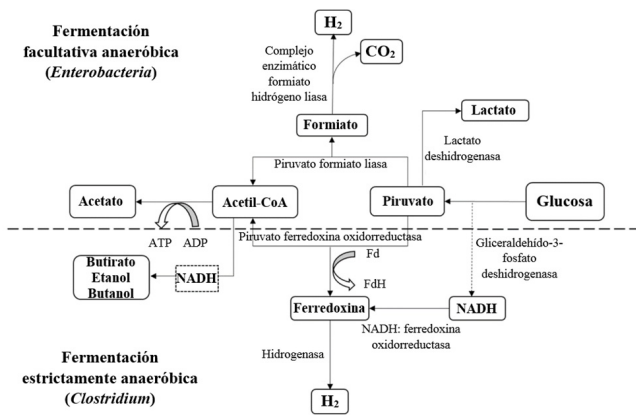


Fig 2. Principales rutas metabólicas para la producción de bio-hidrógeno a partir de glucosa. Fuente: [19].

Apéndice A. La TABLA II. Condiciones de Operación para los Microorganismos en el Proceso de Fermentación Oscura

La producción de biohidrógeno mediante la fermentación oscura se lleva a cabo principalmente por bacterias estrictamente anaerobias o anaerobias facultativas. [29]. En general, son especies del género *Clostridium* y *Enterobacter* formadoras de esporas, facultativas de los géneros *Enterobacter cloacae* y *Bacillus* [30].

Las *Enterobacter cloacae* enterobacterias Gram negativas, no esporulantes, anaerobias facultativas y capaces de fermentar glucosa. Las dos vías fermentativas presentas son la ácido-mixta y la 2-3 butanodiólica. Los productos son etanol, H₂ y CO₂ en ambos casos, más algunos ácidos en la primera y butanodiol en la segunda. La fermentación ácido-mixta genera menos CO₂ que la butanodiólica [31]. En la Tabla III se presentan los microorganismos más adecuados para la obtención de biohidrógeno y sus características.

Los microorganismos facultativos convierten el piruvato en formiato a través de la vía de la piruvato-formiato liasa (PFL), un proceso que no produce equivalentes reductores. Este formiato se transforma posteriormente en hidrógeno (H) en condiciones ligeramente ácidas, alcanzando un rendimiento molar de hidrógeno (RMH) de 2 mol de H₂/mol de glucosa en este tipo de fermentación. Por otro lado, los microorganismos anaerobios estrictos utilizan la vía piruvato-ferredoxina oxidorreductora (PFOR) para convertir el piruvato en acetil-CoA y CO₂, generando ferredoxina reducida (Fdred), la cual transfiere H⁺ a las enzimas Fe-Fe o Ni-Fe hidrogenasas para la formación de 2 mol H₂/

mol de glucosa consumida. Además, en condiciones específicas, estos microorganismos pueden integrar la oxidación del NADH producido durante la glucólisis con la reducción de Fdox para la producción de H₂ a través de la vía NADH-ferredoxina oxidorreductasa (NFOR), generando 2 mol H₂ adicionales, permitiendo un rendimiento máximo teórico de 4 mol H₂/mol de glucosa en el caso de los microorganismos anaerobios estrictos [49].

El pH es una de las variables más significativas en la fermentación oscura, ya que el valor ideal para cada proceso varía según la comunidad microbiana involucrada. Además, influye en el grado de reducción de los metabolitos producidos, lo que impacta directamente en la cantidad que se genera de hidrógeno, así como en la actividad y las especies de hidrogenasas. Durante la fase exponencial de su crecimiento, las bacterias producen H₂, lo que provoca una acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) y un descenso en el pH. Se ha determinado que el pH ideal para la producción de hidrógeno oscila entre 5,0 y 6,0. En la Tabla IV se presentan algunos resultados reportados sobre la obtención de biohidrógeno a partir de bagazo de caña de azúcar [50], [51], [52].

Tasa de producción de H ₂ (m ³ /kg de caña)	Tipo de reactor	THR (h)	Carga orgánica (g DQO/L.d)
0,5 - 1,0	Reactor de lecho fluidizado	6 - 8	20000 - 30000
0,2 - 0,5	Reactor UASB	12 - 24	10000 - 20000
0,3 - 0,7	Reactor de membrana anaerobia	10 - 20	15000 - 25000

Fuente: elaboración propia

B. Fotofermentación

A diferencia de los métodos en los que el hidrógeno se obtiene mediante cianobacterias, algas verdes o indirectamente del agua, las bacterias púrpuras fotosintéticas tienen la capacidad de producir hidrógeno desde sustratos orgánicos mediante el proceso de fotofermentación [3]. En contraste con las algas verdes,

las bacterias púrpuras fotosintéticas no pueden dividir el agua debido a la simplicidad de su estructura fotosintética. No obstante, bajo condiciones anaerobias, estas bacterias pueden emplear ácidos orgánicos simples o incluso hidrogenosulfato como donadores de electrones provenientes de sustratos orgánicos [53]. En el proceso de transformación de la biomasa en biohidrógeno, teniendo en cuenta el método intermedio entre la vía fotobiológica y la vía fermentativa, la enzima responsable de la producción de hidrógeno gaseoso es la nitrogenasa, que transforma el nitrógeno en amoníaco, captando protones y liberando hidrógeno molecular en el proceso. La nitrogenasa está inhibida por la presencia de amoníaco y oxígeno. Al contrario que en los mecanismos de biofotólisis [54].

Los microorganismos responsables de este proceso son principalmente bacterias púrpuras (PNS, del inglés purple non-sulfur) de los géneros Rhodospirillum y Rhodospirillum, organismos heterótrofos que requieren una fuente de carbono como donante de electrones, en contraste con los autótrofos que llevan a cabo la biofotólisis [55]. La principal fuente de electrones que se utiliza en este proceso son ácidos grasos orgánicos siguiendo mecanismos anaerobios, lo cual aporta una ventaja respecto a los métodos anteriores comparado con la versatilidad de las materias primas, siendo estos ácidos grasos un recurso abundante presente en corrientes residuales [56], [57].

Se ha observado que las tasas de producción de hidrógeno son significativamente mayores cuando las células están inmovilizadas en comparación con su suspensión en fase líquida. Para este sistema, se han desarrollado diversos tipos de fotobiorreactores, incluyendo configuraciones tubulares, paneles de platos y columnas de burbujeo, obteniéndose resultados variables en la producción de hidrógeno debido a diferencias en la agitación y la intensidad lumínica, parámetros clave en este método de producción. La mayoría de los procesos de fotofermentación se han realizado utilizando microorganismos del género Rhodospirillum, principalmente en cultivos por lotes (a veces con células inmovilizadas) y, en menor medida, en modo continuo. [58]. Por otra parte, existen varias configuraciones de reactores utilizadas en la fotofermentación para la producción de biohidrógeno, algunas de las más comunes incluyen reactores de lecho empacado, reactores de membrana y fotobiorreactores [59], [60],

[61]. Entre los resultados más destacados en cuanto a los rendimientos de producción de hidrógeno por este microorganismo se encuentran valores de 0,009 L/L-h y 0,008 L/L-h, obtenidos a un pH de 5,0 y una temperatura de 35 °C [58].

IV. IMPACTO AMBIENTAL Y TECNOLÓGICO

El uso de microorganismos junto con el bagazo de caña de azúcar permite reducir el desperdicio y generar un impacto positivo a corto plazo, ya que conlleva a tomar conciencia de las acciones que se pueden realizar a favor del medio ambiente; a mediano plazo, con la implementación parcial del biohidrógeno como combustible alternativo y el cumplimiento de uno de los Objetivos de Desarrollo Sostenible: “Energía asequible y no contaminante”; y por último, a largo plazo, al disminuir las emisiones de gases de efecto invernadero [62].

El método tradicional de fermentación anaeróbica es ampliamente conocido, ya que permite la obtención de metano, un importante portador de energía, mediante la descomposición de contaminantes orgánicos en dos fases: acidogénesis y metanogénesis. Cada una de estas etapas es realizada por microorganismos específicos que interactúan de manera sintrófica. Durante la primera etapa, se genera hidrógeno como un producto intermedio, el cual es posteriormente empleado como donador de electrones por los metanógenos en la segunda etapa del proceso. [63]. De acuerdo con lo anterior, se considera que la fermentación oscura es el principal método para la producción biológica de hidrógeno, donde se tiene que el microorganismo más apto y con la mayor tasa de rendimiento, en comparación con otros del mismo género Enterobacter, es el Enterobacter cloacae, bacterias sacarolíticas con las que se han podido obtener rendimientos en producción de hidrógeno de 3,3 mol H₂/mol glucosa [64].

V. CONCLUSIONES

El bagazo de caña de azúcar es una fuente de biomasa que se puede aprovechar como sustrato para la producción de biohidrógeno, ya que presenta altos contenidos sacarosa y azúcares insolubles de origen estructural, en especial celulosa, hemicelulosa y lignina. Además, durante todo el año se tiene una producción constante, lo que garantiza su viabilidad para la pro-

ducción de biohidrógeno.

Se encontró que la fermentación oscura es el método asociado con los mayores rendimientos en la producción de biohidrógeno en comparación con otros métodos biológicos, y también se determinó que el *Enterobacter cloacae* es el microorganismo más adecuado con un rendimiento aproximado de 3,3 mol H₂/mol glucosa.

Se estableció que se deben tener unas condiciones de operación adecuadas bajo las que debe operar el biorreactor, esto para garantizar el crecimiento del microorganismo y llegar a tener altos valores de rendimiento en la producción de hidrógeno.

Finamente, la conversión del bagazo de caña en biohidrógeno representa una oportunidad prometedora y sostenible para la producción de energía limpia en el país; ya que, al ser una fuente renovable, el biohidrógeno puede desempeñar un papel esencial en la transición hacia un futuro energético más sostenible.

REFERENCIAS

[1] O. Edenhofer, R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, K. Seyboth, P. Matschoss, S. Kadner, T. Zwickel, P. Eickemeier, G. Hansen, S. Schlömer, y C. von Stechow, “Informe especial sobre fuentes de energía renovables y mitigación del cambio climático”, Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático, Rep. 978-92-9169-331-3, 2011. [Online]. Disponible en: https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/03/srren_report_es-1.pdf

[2] D. Y. Cano, E. L. Moreno, “Incidence of operative parameters in the production of biohydrogen generated from urban organic waste”. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, vol. 72(2), pp. 8841-8853, 2019.

[3] J. A. Sandoval y O. Castiblanco, “Revisión del potencial de obtención de biohidrógeno a partir de microalgas en Colombia”. *Entre Ciencia e Ingeniería*, vol. 16(32), pp. 9-15, 2022.

[4] PROCAÑA, Asociación Colombiana de Productores y Proveedores de Caña de Azúcar, “Historia de la caña de azúcar”. [Online]. Disponible en: [https://](https://members.tripod.com/jas_multimedia_prod/procana/canazuc.htm#:~:text=La%20ca%C3%B1a%20de%20az%C3%BAcar%20se,precipitaci%C3%B3n%20y%20calidad%20de%20suelos)

members.tripod.com/jas_multimedia_prod/procana/canazuc.htm#:~:text=La%20ca%C3%B1a%20de%20az%C3%BAcar%20se,precipitaci%C3%B3n%20y%20calidad%20de%20suelos

[5] FINAGRO, Fondo para el desarrollo del sector agropecuario, “Ficha de inteligencia caña de azúcar”. [Online]. Disponible en: https://www.finagro.com.co/sites/default/files/node/basic-page/files/ficha_cana_de_azucar_version_ii.pdf

[6] A. Villarroel, “Aplicación de técnicas para la clarificación del jugo de caña (*Saccharum officinarum*) como mejorador de sus características organolépticas”. Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato, 2006.

[7] Caracol TV, “Caña de azúcar, el gran motor de la economía en el Valle del Cauca”. Noticia, 21 de julio, 2017. [Online]. Disponible en: <https://noticias.caracol-tv.com/valle/cana-de-azucar-el-gran-motor-de-la-economia-en-el-valle-del-cauca>

[8] ECURED, “Bagazo de caña”. [Online]. Disponible en: https://www.ecured.cu/Bagazo_de_ca%C3%ADmica%20es,Ox%C3%ADgeno:%2044%20%25

[9] A.V. Bridgwater, D. Meier, and D. Radlein, “An overview of fast pyrolysis of biomass”. *Organic Geochemistry*, vol. 30, pp. 1479-1493, 1999.

[10] C. Sanchez, “Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi”. *Biotechnology Advances*, vol. 27(2), pp. 185-194, 2009.

[11] A.B. Demirbas “Biorefineries: For Biomass Upgrading Facilities”. Springer, 2010.

[12] A. Carvajal, “Energía: la nueva agenda del sector azucarero”. *Asocaña: Sector agroindustrial de la caña*. [Online]. Disponible en: <https://www.asocana.org/StaticContentFull.aspx?SCid=167>

[13] M. Bustos et al., “Residuos de la industria azucarera: una alternativa para la obtención de ácido láctico”. *CienciaUAT.*, vol. 5(4), pp. 44-61, 2011.

- [14] UNL, "Buscan producir biohidrógeno a partir de residuos agrícolas". Noticia, 13 de marzo, 2017. [Online]. Disponible en: https://www.unl.edu.ar/noticias/news/view/buscan_producir_biohidr%C3%B3geno_a_partir_de_residuos_agr%C3%ADcolas#.YlmwjJMLIU
- [15] Y. H. Zhang, and L. R. Lynd, "Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulase systems". *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 88(7), pp. 797-824, 2004.
- [16] M. J. Taherzadeh, and K. Karimi, "Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review". *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 9(9), pp. 1621-1651, 2008.
- [17] N. Mosier, et al., "Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass". *Bioresource Technology*, vol. 96(6), pp. 673-686, 2005.
- [18] I. López, "Producción de hidrógeno a partir de hidrolizados de bagazo de Agave tequilana Weber var. azul: efecto del procesamiento de la piña y de la sacarificación del bagazo". Tesis de maestría. IPICYT, México, 2015.
- [19] E. L. N. Dzulkarnain, et al., "Microbiomes of biohydrogen production from dark fermentation of industrial wastes: current trends, advanced tools and future outlook". *Bioresources and Bioprocessing*, vol. 9(1), pp. 16, 2022.
- [20] A. C. Chang et al., "Hydrogen production by the anaerobic fermentation from acid hydrolyzed rice straw hydrolysate". *International journal of hydrogen energy*, vol. 36(21), pp. 14280-14288, 2011.
- [21] Z. Chen, et al., "Metabolic engineering of *Klebsiella pneumoniae* for the de novo production of 2-butanol as a potential biofuel". *Bioresource Technology*, vol. 197, pp. 260-265, 2015.
- [22] C. Ballardo, "Valorización de residuos sólidos orgánicos como sustrato para el crecimiento de *Bacillus thuringiensis* mediante fermentación en estado sólido: aplicación a la fracción orgánica de residuos municipales para la producción de compost con efecto biopesticida". Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, España, 2016.
- [23] S. Blanco y T. Rodríguez, "Producción de biohidrógeno a partir de residuos mediante fermentación oscura: una revisión crítica (1993-2011)". *Revista Chilena de ingeniería*, vol. 20(3), pp. 398-441, 2012.
- [24] K.Y. Show, D.J. Lee and J.S. Chang, "Bioreactor and process design for biohydrogen production". *Bioresource Technology*, vol. 102(18), pp. 8524-8533, 2011.
- [25] A. Bisailon, J. Turcot and P.C. Hallenbeck, "The effect of nutrient limitation on hydrogen production by batch cultures of *Escherichia coli*". *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 31(11), pp. 1504-1508, 2006.
- [26] J. Wang and W. Wan, "Factor influencing fermentative hydrogen production: a review". *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 34(2), pp. 799-811, 2009.
- [27] C.Y. Lin and C.H. Lay, "A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora". *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 30(3), pp. 285-292, 2005.
- [28] C. Contreras. "Producción de hidrógeno en sistemas continuos a partir de hidrolizados enzimáticos de bagazo de Agave tequilana Weber". Tesis de grado. IPICYT, México, 2015.
- [29] S.I. Maintinguer et al., "Fermentative hydrogen production with xylose by *Clostridium* and *Klebsiella* species in anaerobic batch reactors". *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 36(21), pp. 13508-13517, 2011.
- [30] A. Khalifa, "Enterobacter". *Benef. Microbes Agro-Ecology*, pp. 259-270, 2020.
- [31] V. Martínez y R. García, "Fermentación oscura, fotofermentación y biofotólisis: análisis de su aplicación en secuencia para la producción de hidrógeno biológico". *Dirección General de Investigación y Desarrollo Armada Argentina*, vol. 7, 2010.
- [32] Y. Shi et al., "Klebsiella". *Benef. Microbes*

Agro-Ecology, pp. 233–257, 2020.

[33] B. Gopalakrishnan, N. Khanna, and D. Das, “Dark-Fermentative Biohydrogen Production”. *Biohydrogen.*, pp. 79-122, 2019.

[34] A. Davin-Regli and J. M. Pagès, “Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment”. *Frontiers in microbiology.*, vol. 6, p. 392, 2015.

[35] N. Khanna et al., “Improvement of biohydrogen production by Enterobacter cloacae IIT-BT 08 under regulated pH”. *Journal of Biotechnology.*, vol. 152(1-2), pp. 9-15, 2011.

[36] R. Ramachandran and R. K. Menon, “An overview of industrial uses of hydrogen”. *International journal of hydrogen energy.*, vol. 23(7), pp. 593-598, 1998.

[37] J. Wang and Y. Yin, “Clostridium species for fermentative hydrogen production: an overview” *International journal of hydrogen energy.*, vol. 46(70), pp. 34599-34625, 2021.

[38] N. Cassir, S. Benamar, and B. La Scola, “Clostridium butyricum: from beneficial to a new emerging pathogen”. *Clinical Microbiology and Infection.*, vol. 22(1), pp. 37-45, 2016.

[39] P. Dias, P. Moura and C. de Carvalho, “Hydrogen production by Clostridium butyricum: improving production yields and assessing changes in the cell lipid profile during adaptation to furans and gallic acid”. November, 2015.

[40] D. Szymanowska-Powalowska, D. Orczyk, and K. Leja, “Biotechnological potential of Clostridium butyricum bacteria”. *Brazilian Journal of Microbiology.*, vol. 45(3), pp. 892-901, 2014.

[41] N. Srivastava et al., “Efficient dark fermentative hydrogen production from enzyme hydrolyzed rice straw by Clostridium pasteurianum (MTCC116)”. *Biore-source technology.*, vol. 238, pp. 552-558, 2017.

[42] J. Masset et al., “Fermentative hydrogen production from glucose and starch using pure strains and artificial co-cultures of Clostridium spp.”. *Biotechnolo-*

gy for biofuels., vol. 5(1), pp. 1-15, 2012.

[43] M. Gomez-Flores, G. Nakhla, and H. Hafez, “Hydrogen production and microbial kinetics of Clostridium termitidis in mono-culture and co-culture with Clostridium beijerinckii on cellulose”. *AMB Express*, vol. 7(1), p. 84, 2017.

[44] S. Wang et al., “Genome editing in Clostridium saccharoperbutylacetonicum N1-4 with the CRISPR-Cas9 system”. *Applied and environmental microbiology.*, vol. 83(10), pp. 1-44, 2017.

[45] W. M. Alalayah et al., “Hydrogen production using Clostridium saccharoperbutylacetonicum N1-4 (ATCC 13564)”. *International journal of hydrogen energy.*, vol. 33(24), pp. 7392-7396, 2008.

[46] S. E. Oh et al., “Hydrogen production by Clostridium acetobutylicum ATCC 824 and megaplasmid-deficient mutant M5 evaluated using a large headspace volume technique”. *International journal of hydrogen energy.*, vol. 34(23), pp. 9347-9353, 2009.

[47] P. E. H. Cruza, “Actividades celolíticas, utilización de carbohidratos y producción de etanol por clostridium thermocellum”. Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, España, 2015.

[48] E. Lalaurette et al., “Hydrogen production from cellulose in a two-stage process combining fermentation and electrohydrogenesis”. *International journal of hydrogen energy.*, vol. 34(15), pp. 6201-6210, 2009.

[49] S. Y. Wu, et al., “Fermentative hydrogen production and bacterial community structure in highrate anaerobic bioreactors containing siliconeimmobilized and selfflocculated sludge”. *Biotechnology and bioengineering.*, vol. 93(5), pp. 934-946, 2006.

[50] L. Mabutyana and RW. Pott, “Photo-fermentative hydrogen production by Rhodospseudomonas palustris CGA009 in the presence of inhibitory compounds”. *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 46(57), pp. 29088-29099, 2021.

[51] C.A.B.S. Rabelo, et al., “Optimization of hydrogen and organic acids productions with autochthonous and allochthonous bacteria from sugarcane bagasse in batch reactors”. *Journal of environmental*

management, vol. 223, pp. 952-963, 2018.

[52] A. Fangkum, and A. Reungsang, "Biohydrogen production from sugarcane bagasse hydrolysate by elephant dung: Effects of initial pH and substrate concentration". *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 36(14), pp. 8687-8696, 2011.

[53] K. Uyeda and J.C. Rabinowitz, "Pyruvate-Ferredoxin Oxidoreductase III. Purification and properties of the enzyme". *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 246(1), pp. 3111-3119, 1971.

[54] P. Doménech, "Tecnologías de producción de hidrógeno basadas en métodos biológicos". *Informes Técnicos Ciemat*. [Online]. Disponible en: <https://www.ciemat.es/portal.do?TR=A&IDR=1&identificador=848>

[55] S. K. Khanal et al., "Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products". *International journal of hydrogen energy*, vol. 29(11), pp. 1123-1131, 2004.

[56] C.Y. Chen et al., "Biohydrogen production using sequential two-stage dark and photo fermentation processes". *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 33(18), pp. 4755-4762, 2008.

[57] L. Montoya y J.E. Durán, "Producción de hidrógeno a partir de la fermentación de residuos agroindustriales de la piña". *Revista Tecnología en Marcha*, vol. 30(3), pp. 106-118, 2017.

[58] A. Bedoya et al., "Producción biológica de hidrógeno: una aproximación al estado del arte". *Dyna*, vol. 75(154), pp. 137-157, 2008.

[59] E. R. Mikheeva, et al., "The start-up of continuous biohydrogen production from cheese whey: comparison of inoculum pretreatment methods and reactors with moving and fixed polyurethane carriers". *Applied Sciences*, vol. 11(2), pp. 510, 2021.

[60] Z. Zhang, et al., "Influence of mixing method and hydraulic retention time on hydrogen production through photo-fermentation with mixed strains". *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 40(20), pp. 6521-6529, 2015.

[61] J. Wang and Y. Yin, "Fermentative hydrogen production using pretreated microalgal biomass as feedstock". *Microbial Cell Factories*, vol. 17(1), pp. 22, 2018.

[62] F. Herrera y S. Herrero, "ODS en Colombia: Los retos para 2030". Programa las Naciones Unidas para el Desarrollo. [Online]. Disponible en: https://www.undp.org/sites/g/files/zskgke326/files/migration/co/undp_co_PUBL_julio_ODS_en_Colombia_los_retos_para_2030_ONU.pdf

[63] K. Y. Show, Y. G. Yan and D. J. Lee, "Biohydrogen production: status and perspectives". *Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes for the Production of Liquid and Gaseous Biofuels*, Academic Press, pp. 693-713, 2019.

[64] D. Cadena y W. Córdoba. "Propuesta para la obtención de biohidrógeno por fermentación oscura a partir de un residuo agroindustrial". Tesis de grado, Fundación Universidad de América, Colombia, 2022.

APÉNDICE A. - TABLA I
CONDICIONES DE OPERACIÓN PARA LOS MICROORGANISMOS EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN OSCURA

Inóculo				
Tipo	Microorganismo	Descripción	Rendimiento teórico	Referencia
Cultivos puros	Clostridium spp.	Sigue la vía Fd-hidrogenasa en donde el microorganismo es estrictamente anaerobio. Consiste en la transferencia de electrones del piruvato a H ⁺ por Fdred como transportador de electrones y los H ⁺ son reducidos a H ₂ por la actividad de la enzima hidrogenasa.	4 mol H ₂ /mol glucosa	[20, 21]
	Enterobacter spp.	El microorganismo es anaerobio facultativo, donde la enzima formiato-hidrogenoliasa descompone el formiato a H ₂ y CO ₂ .	2 mol H ₂ /mol glucosa	
	Klebsiella pneumoniae	El microorganismo es anaerobio facultativo, sigue la vía Fd-hidrogenasa para producir H ₂ y Fdred.	1-3 mol H ₂ /mol glucosa	

Sustrato		
Tipo	Descripción	Referencia
Residuos orgánicos	Se utiliza la biomasa que está constituida por compuestos ricos en carbohidratos y su uso es sostenible.	[22]
Sustratos puros	La glucosa, la xilosa, el almidón, la celulosa y otras fuentes se generan a partir de la hidrólisis de polisacáridos, proteínas y lípidos, para luego producir ácido acético, H ₂ y CO ₂ .	[23]

pH del cultivo				
5,0 - 6,0	4,5 - 5,0	4,0 - 4,5	Descripción general	Referencia
pH óptimo para la producción de H ₂ .	Se ha evidenciado que operar a un pH menor que 5 lleva a cabo la producción de metano.	A estas condiciones se favorece la síntesis de etanol.	A pH alcalino la producción de H ₂ no es termodinámicamente favorable, mientras que en condiciones muy ácidas (pH < 4,0) puede darse la solventogénesis, disminuyendo la producción de H ₂ a causa del incremento de la proporción de ácidos no asociados y la reducción de ATP.	[24]

Temperatura				
Tipo de microorganismo	Temperatura óptima	Descripción	Descripción general	Referencia
Mesófilos	25 - 30 °C	Son más estables a cambios de temperatura.	La temperatura es una variable crucial que influye en la actividad de las bacterias formadoras de H ₂ y en la producción de H ₂ fermentativo. Es un parámetro selectivo, ya que afecta tanto la tasa de crecimiento como la ruta metabólica de los microorganismos. Las bacterias pueden generar H ₂ en un rango de temperatura desde 15 hasta 85 °C.	
Termófilos	40 - 65 °C	Suelen ser más inestables a cambios de temperatura.		
Hipertermofílicos	>80 °C	Presentan menor inhibición de producto.		

Nutrientes		
Tipo	Descripción	Referencia
Nitrógeno	El nitrógeno es un componente esencial de las proteínas, ácidos nucleicos y enzimas. No obstante, una concentración adecuada de nitrógeno favorece tanto el crecimiento de las bacterias formadoras de hidrógeno como la producción de H ₂ en el proceso fermentativo.	[25]
Fosfatos	Los fosfatos son esenciales para la producción de H ₂ debido a su importancia nutricional. Un aumento en la concentración de fosfatos incrementa la capacidad de las bacterias productoras de hidrógeno para generar H ₂ mediante el proceso fermentativo.	[26]
Iones metálicos	Los iones metálicos más relevantes en la producción de H ₂ fermentativo son Mg ²⁺ , Na ⁺ , Zn ²⁺ y Fe ²⁺ , ya que estos elementos son esenciales para los cofactores enzimáticos, los procesos de transporte y las deshidrogenasas.	[27]

Tiempo de retención hidráulico (THR)		
THR ≈ 6 h	THR ≤ 4 h	Referencia
En general, la producción de H ₂ se favorece a diluciones cercanas a TRH ~ 6 h. Al aumentar la retención celular puede incentivarse el crecimiento de microorganismos de desarrollo lento, como las bacterias metanogénicas y las bacterias del ácido propiónico.	Se puede llevar a cabo un lavado celular.	[28]

Presión parcial de hidrógeno			
P < 60 Pa	P > 60 Pa	P > 500 Pa	Referencia
La producción espontánea de H ₂ por la vía NFOR (NADH) requiere concentraciones bajas de H ₂ a diferencia de la producción por PFOR (Fdred).	Existe un cambio en la ruta metabólica hacia la generación de butirato, lo que disminuye el rendimiento a 2 mol H ₂ /mol glucosa.	Se favorece la actividad homoacetogénica en reactores anaerobios, por lo que se han evaluado diversas estrategias para disminuir la presión parcial de H ₂ . Técnicas como la agitación alta, la implementación de vacío, y el burbujeo de N ₂ y/o CO ₂ pueden mejorar ligeramente el rendimiento (40% - 70%), pero también implican un aumento en los costos de producción.	[28]

Fuente: elaboración propia

APÉNDICE B. - TABLA II - MICROORGANISMOS MÁS ADECUADOS PARA LA OBTENCIÓN DE BIOHIDRÓGENO Y SUS CARACTERÍSTICAS

Microorganismo	Descripción	Referencias
Enterobacter aerogenes	La mayoría de las cepas pueden desarrollarse en una amplia gama de azúcares y derivados del azúcar como única fuente de carbono y energía, utilizando estos sustratos para la producción de hidrógeno mediante fermentación oscura. Su temperatura de crecimiento ideal es de 35 a 37 °C, y su pH óptimo es cercano a 7,2. Se ha documentado un rendimiento de producción de hidrógeno de 1,1 mol H ₂ /mol de glucosa con este microorganismo.	[30] [32] [33]
Enterobacter cloacae	Este microorganismo es una bacteria establecida como productora de hidrógeno, cuyo crecimiento se ha estudiado a una temperatura de 37 °C y un pH en el rango de 5,5 a 7,5, con un valor óptimo de 6,5. Se ha reportado que el rendimiento en la producción de hidrógeno es de 3,3 mol H ₂ /mol de glucosa con este microorganismo.	[34] [35] [36]
Clostridium butyricum	Para la mayoría de este tipo de microorganismos la temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre 30 y 40 °C, mientras que el pH ideal está en el rango de 6,5 - 7,5. Los carbohidratos como la glucosa, la fructosa, la lactosa, la xilosa, el almidón y el glicerol pueden ser empleados para la producción de hidrógeno. Se ha reportado que el rendimiento en la producción de hidrógeno es de 2,28 mol H ₂ /mol glucosa.	[37] [38] [39]
Clostridium pasteurianum	Las bacterias del género Clostridium se distinguen por un metabolismo intensivo de fermentación. Pueden utilizar diversos compuestos orgánicos como fuentes de carbono y nitrógeno. Los productos de su metabolismo involucran CO ₂ y H ₂ , así como compuestos orgánicos como ácido butírico, láctico, acético y succínico, y disolventes como butanol, acetona e isopropanol. Se ha reportado que el rendimiento en la producción de hidrógeno es de 1,19 mol H ₂ /mol de glucosa.	[40] [41] [42]
Clostridium beijerinckii	Estos microorganismos crecen a una temperatura ideal de 37 °C, tienen forma de bacilo y poseen flagelo. Pertenecen a la familia Clostridiaceae y son bacterias sacarolíticas, lo que significa que pueden fermentar carbohidratos simples, generando productos como butirato (AGV), acetato, CO ₂ , lactato, H ₂ , acetona, etanol, acetilmetilcarbonilo y butanol. Se ha reportado que el rendimiento en la producción de hidrógeno es de 2,54 mol H ₂ /mol de glucosa.	[43]
Clostridium saccharoperbutylacetonicum	Aunque la producción de hidrógeno no ha sido estudiada en su totalidad, se han realizado algunos estudios que muestran su rendimiento. En uno de estos estudios, se encontró un rendimiento aproximado de 3,1 mol H ₂ /mol de glucosa, comenzando con una concentración inicial de glucosa de 10 g/L, un pH de 6,0 y a una temperatura de 37 °C. Otras fuentes han reportado que el rendimiento en la producción de hidrógeno es de 2,5 mol H ₂ /mol de glucosa con este microorganismo.	[44] [45] [33]
Clostridium acetobutylicum	Estas bacterias son mesófilas, con una temperatura de crecimiento ideal que varía entre 10 y 65 °C. Son organismos sacarolíticos, capaces de descomponer azúcares para producir acetona, etanol y butanol. Se ha reportado que el rendimiento en la producción de hidrógeno es de 1,5 mol H ₂ /mol de glucosa.	[46] [25]
Clostridium thermocellum	Este microorganismo puede metabolizar y crecer a partir de sustratos como celulosa, hemicelulosa, xilosa y celobiosa, pero no se ha documentado su capacidad para hacerlo con glucosa, fructosa u otros carbohidratos. Como resultado de la fermentación, se obtiene principalmente etanol, mientras que los subproductos incluyen H ₂ , ácido láctico, CO ₂ y ácido acético. Se ha reportado que el rendimiento en la producción de hidrógeno es de 1,67 mol H ₂ /mol de glucosa.	[47] [48]

Fuente: elaboración propia