

Evaluación de la producción de biogás a partir de la digestión anaerobia de paja de frijol: efecto de la relación sustrato/inóculo, concentración de inóculo y tamaño de partícula

Evaluation of biogas production from anaerobic digestion of bean straw: effect of substrate/inoculum ratio, inoculum concentration and particle size

Ana Gabriela Araujo Ortiz¹, Carolina González Ledesma¹, Carlos Eduardo Rodríguez Camacho¹, Saraí Camarena Martínez^{1*}, Juan Manuel López Gutierrez¹

¹ Departamento de Ciencias Ambientales, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato Salamanca, Universidad de Guanajuato. s.camarena@ugto.mx*

Resumen

El biogás es una fuente de energía renovable que se obtiene a partir de la descomposición de sustratos orgánicos en ausencia de oxígeno, esto en un proceso conocido como digestión anaerobia. Dentro de los distintos tipos de sustratos aprovechables, los residuos agrícolas representan una opción destacada. En el estado de Guanajuato, durante el año 2024 se generaron aproximadamente 51,648 toneladas de residuos derivados del cultivo de frijol, los cuales en su mayoría no cuentan con un manejo adecuado para su disposición final. Este estudio evaluó el potencial de producción de biogás a partir de paja de frijol (PF) sin pretratar mediante digestión anaerobia, considerando tres variables clave: la relación sustrato/inóculo (S/I) (0.5, 1.0, 2.0 y 4.0), la concentración del inóculo (250 y 500 g/L) y el tamaño de partícula de la paja (mallas #12 y #20). Los experimentos se realizaron en condiciones en lote durante 36 días a temperatura ambiente. Se observó que la mayor producción acumulada de biogás (582.1 mL/g SV) se obtuvo con la relación S/I de 0.5, concentración de inóculo de 500 g/L y malla #20. La producción disminuyó significativamente con relaciones S/I de 2.0 y 4.0, probablemente debido a la acumulación de ácidos grasos volátiles que inhiben la metanogénesis, reflejada en una caída del pH por debajo de 5.0. El análisis estadístico reveló que solo la relación S/I tuvo un efecto significativo en la producción de biogás ($p < 0.001$), mientras que la concentración de inóculo y el tamaño de partícula no mostraron diferencias estadísticas relevantes. Sin embargo, el uso de partículas más pequeñas resultó en una ligera mejora en la producción, aunque no significativa, por lo que se sugiere utilizar tamaños mayores en futuros estudios para reducir costos de molienda. Además, se concluyó que el aumento en sólidos totales por mayor concentración de inóculo no causó aglomeración del sustrato ni afectó negativamente el rendimiento, lo que permite utilizar cualquiera de las dos concentraciones sin comprometer la eficiencia del proceso, siempre que se mantenga una relación S/I baja (0.5 o 1.0). Los rendimientos obtenidos fueron similares o superiores a lo reportado en estudios previos para otros sustratos lignocelulósicos que fueron sometidos a pretratamientos. Estos hallazgos refuerzan la viabilidad de la PF como fuente sostenible para la generación de biogás.

Palabras clave: Biogás, Paja de Frijol, Relación S/I, Tamaño de Partícula, Concentración de Inóculo.

Abstract

Biogas is a renewable energy source obtained from the decomposition of organic substrates without oxygen, a process known as anaerobic digestion. Among the various types of usable substrates, agricultural waste represents a prominent option. In Guanajuato, approximately 51,648 tons of waste derived from bean cultivation were generated during 2024, most of which were not properly managed for final disposal. This study evaluated the biogas production potential from unpretreated bean straw (BS) through anaerobic digestion, considering three variables: substrate/inoculum ratio (S/I) (0.5, 1.0, 2.0 and 4.0), inoculum concentration (250 and 500 g/L), and straw particle size (#12 and #20 mesh). Experiments were conducted under batch conditions for 36 days at room temperature. The highest cumulative biogas production (582.1 mL/g VS) was observed with a S/I ratio of 0.5, an inoculum concentration of 500 g/L, and a #20 mesh size. Production decreased significantly with S/I ratios of 2.0 and 4.0, probably due to the accumulation of volatile

fatty acids that inhibit methanogenesis, reflected in a drop in pH below 5.0. Statistical analysis revealed that only the S/I ratio had a significant effect on biogas production ($p < 0.001$), while inoculum concentration and particle size did not show relevant statistical differences. However, the use of smaller particles resulted in a slight, although not significant, improvement in production, so it is suggested to use larger sizes in future studies to reduce milling costs. Furthermore, it was concluded that the increase in total solids due to higher inoculum concentration did not cause substrate agglomeration or negatively affect yield, allowing either concentration to be used without compromising process efficiency, provided a low S/I ratio (0.5 or 1.0) was maintained. The yields obtained were similar to or higher than those reported in previous studies for other lignocellulosic substrates that underwent pretreatment. These findings reinforce the viability of PF as a sustainable source for biogas generation.

Introducción

Los biocombustibles se han presentado como una opción viable para reducir la dependencia de los combustibles fósiles y mitigar las emisiones de gases de efecto invernadero (Demirbas, 2009). Su producción a partir de residuos agrícolas no solo proporciona una solución para la gestión de desechos, sino que también impulsa el desarrollo económico en áreas rurales (Mussatto *et al.*, 2010). El biogás es un biocombustible que se obtiene a partir de un proceso conocido como digestión anaerobia el cual consiste en la descomposición de materia orgánica llevada a cabo por microorganismos en ausencia de oxígeno. La composición típica del biogás es metano (CH_4) en un 50–70 %, dióxido de carbono (CO_2) en un 30–50 %, y trazas de gases como sulfuro de hidrógeno (H_2S), amoníaco (NH_3), vapor de agua y compuestos orgánicos volátiles (Deublein & Steinhauser, 2008). Se pueden emplear distintos sustratos orgánicos para la producción de biogás, entre ellos, residuos generados durante y después de las cosechas.

En el 2024, México se posicionó como el octavo productor mundial de frijol, con una producción de 723,642 toneladas, lo que representó el 3.9% del área global dedicada al cultivo y el 3.5% del volumen mundial (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2024). En particular, el estado de Guanajuato se encuentra dentro del top 10 en volumen de producción de frijol a nivel nacional con 37,426 toneladas (CESAVEG, 2022). Durante la cosecha del frijol se generan residuos agrícolas como paja, tallos y vainas secas. Estos residuos comúnmente se queman en el campo o se abandonan sin tratamiento, lo cual contribuye significativamente a la contaminación del aire, a la degradación del suelo y a problemas de salud pública. En el municipio de Irapuato, la quema a cielo abierto está prohibida conforme al Reglamento de Protección y Preservación del Ambiente, y puede ser sancionada con multas que van desde \$22,628.00 hasta \$5,657,000.00 pesos mexicanos (Gobierno Municipal de Irapuato, 2025). Se calcula que la generación de residuos procedentes del cultivo de frijol tan solo en el estado de Guanajuato fue de 51,648 toneladas en 2022. Para estimar la cantidad de residuos agrícolas generados se utilizó una proporción de vaina: rastrojo de 1:1.38 de acuerdo con el Plan de Manejo de residuos agrícolas en México publicado por la SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA], 2015). Cabe destacar que la paja de frijol contiene en promedio un 92% de materia seca (Escalante-Estrada *et al.*, 2021), lo que permite su potencial aprovechamiento como insumo agrícola o energético.

Para evaluar el potencial de producción de biogás, resulta esencial tener en cuenta factores como la relación sustrato-inóculo (S/I), la concentración del inóculo y el tamaño de partícula. La relación S/I constituye una medida de la cantidad de microorganismos presentes para degradar el sustrato adicionado y es uno de los factores más importantes en pruebas de degradación anaerobia en lotes (Elbeshbishy *et al.*, 2012). Por otro lado, el tamaño de la partícula del sustrato afecta en la disponibilidad de un sustrato a las enzimas que lo hidrolizan (Ward *et al.*, 2008). Las partículas pequeñas proveen de una mayor área superficial de contacto para aprovechar el sustrato lo que resulta en un mayor rendimiento de producción de biogás (Deublein & Steinhauser, 2008; Kumar *et al.*, 2013). En relación con la evaluación de la concentración de inóculo, al aumentar dicha concentración, también se incrementa proporcionalmente el contenido de sólidos totales en la mezcla. El contenido de sólidos totales puede influir en la producción de biogás, ya que un incremento puede provocar la aglomeración del sustrato, dificultando su degradación (Abbassi-Guendouz *et al.*, 2012).

Examinar estos parámetros proporciona una perspectiva general sobre la viabilidad de emplear un sustrato, ya sea en un proceso de mono-digestión o en co-digestión con otro residuo, con el fin de equilibrar la relación carbono/nitrógeno durante la digestión anaerobia. Además, la evaluación de dichos parámetros permite determinar si es necesario aplicar pretratamientos físicos, químicos o biológicos que faciliten la descomposición del residuo. En el presente trabajo de investigación, el objetivo fue evaluar el potencial de producción de biogás a partir de paja de frijol (PF) considerando distintos parámetros como la relación sustrato-inóculo (S/I), la concentración de inóculo y el tamaño de partícula, para con ello, analizar la viabilidad como fuente de producción de energía sostenible.

Metodología

Recolección del sustrato y del inóculo

La PF de la variedad de Flor de Junio se recolectó en una parcela de la comunidad Rincón de Centeno, del municipio de Juventino Rosas, Guanajuato, México. Las coordenadas de localización son 20°41'32.2"N 100°54'10.0"W.

La paja seca fue molida en un molino de granos y se tamizó hasta obtener un tamaño de partícula deseado. Las mallas usadas para el tamizado (W.S. Tyler®) fueron #12 y #20.

El inóculo fue extraído de un biodigestor ubicado en la División Ciencias de la Vida de la Universidad de Guanajuato (20°44'58.0"N 101°19'30.0"W).

Caracterización de sustrato y del inóculo

Respecto a la caracterización del sustrato y de inóculo, se procedió iniciando con la determinación de pH, esto de acuerdo con el método descrito por Kang *et al.*, 2014. La determinación de carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa y lignina) se hizo mediante la metodología reportada por van Soest *et al.* (1973) y el contenido de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) se determinó según los métodos estándares (APHA, 2005). En las Tablas 1 y 2 se indican la caracterización fisicoquímica de PF y de inóculo, respectivamente.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica de PF.

Parámetros	PF
Celulosa (%)	37.0 ± 8.4
Hemicelulosa (%)	15.9 ± 1.1
Lignina (%)	11.7 ± 2.6
ST (%)	91.5 ± 0.3
SV (%)	85.9 ± 0.5
pH	6.78 ± 0.08

Tabla 2. Caracterización física del inóculo.

Parámetro	Inóculo
ST (%)	3.655 ± 0.024
SV (%)	2.079 ± 0.037
pH	8.02 ± 0.11

Diseño experimental

Se probaron diferentes valores de relación S/I (0.5, 1.0, 2.0 y 4.0), concentración de inóculo (250 y 500 g/L) y tamaño de paja (malla #20 y #12) para evaluar su efecto sobre la producción de biogás (Tabla 3). En la Tabla 4 se indican los tratamientos incluidos en el diseño experimental. Se llevaron a cabo tres réplicas de cada tratamiento.

Tabla 3. *Diseño experimental para la producción de biogás a partir de PF.*

Variable	Nivel			
Tamaño de paja retenida (# malla) ¹	20	12		
Relación S/I	0.5	1.0	2.0	4.0
Concentración de inóculo (g/L)	250	500		

Nota. ¹El número de malla 20 retiene paja con un tamaño de partícula entre 0.35 a 0.84 mm y el número de malla 12 retiene paja con un tamaño de partícula entre 0.84 a 1.7 mm.

Tabla 4. *Tratamientos para evaluar la producción de biogás a partir de PF.*

Tratamiento	Tamaño de paja retenida (# malla)	Relación S/I	Concentración de inóculo (g/L)
A1	20	0.5	250
A2	20	0.5	500
A3	20	1.0	250
A4	20	1.0	500
A5	20	2.0	250
A6	20	2.0	500
A7	20	4.0	250
A8	20	4.0	500
B1	12	0.5	250
B2	12	0.5	500
B3	12	1.0	250
B4	12	1.0	500
B5	12	2.0	250
B6	12	2.0	500
B7	12	4.0	250
B8	12	4.0	500

Para analizar el efecto de las variables independientes sobre la producción de biogás y las diferencias significativas entre grupos se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y la prueba de Dunn con corrección de Bonferroni y Holm con un valor alfa de 5% utilizando el software de JASP (Versión 0.19.3).

Ensayos de biogás

Para los ensayos de producción de biogás se utilizaron botellas serológicas de un volumen de 120 mL, manejando un volumen de mezcla de 80 mL y un espacio libre de 40 mL. Los experimentos se llevaron a cabo en un régimen en lote durante un periodo de incubación de 36 días en condiciones estáticas a temperatura ambiente (25 ± 4 °C). A las mezclas se añadió la cantidad correspondiente de sustrato e inóculo con base en la relación S/I y concentración de inóculo indicado en cada tratamiento (Tabla 3). El control negativo consistió en la mezcla de inóculo en agua corriente sin añadir sustrato.

La cantidad de biogás se midió por el principio de desplazamiento de líquido usando solución acidificada con HCl a un pH < 2.0. El volumen desplazado se consideró igual a la producción de biogás. Los reactores se agitaban manualmente al momento de realizar la medición de gas. Se hizo triplicado por cada tratamiento.

Resultados y Discusión

Producción de biogás

En los ensayos de producción de biogás en los que se usó un tamaño de paja pequeño (malla #20), la máxima producción de biogás acumulada fue de 582.1 mL/g SV, obtenida a una relación S/I de 0.5 y una concentración de inóculo de 500 g/L (A2). La menor producción se obtuvo en el tratamiento A8 (22.0 mL biogás/ g SV) (Figura 1). Se observó que la producción fue mayor cuando se emplearon los valores más bajos de relación S/I (0.5 o 1.0). En cambio, a una relación S/I de 2.0 o 4.0, la producción de biogás disminuyó significativamente (Figura 2).

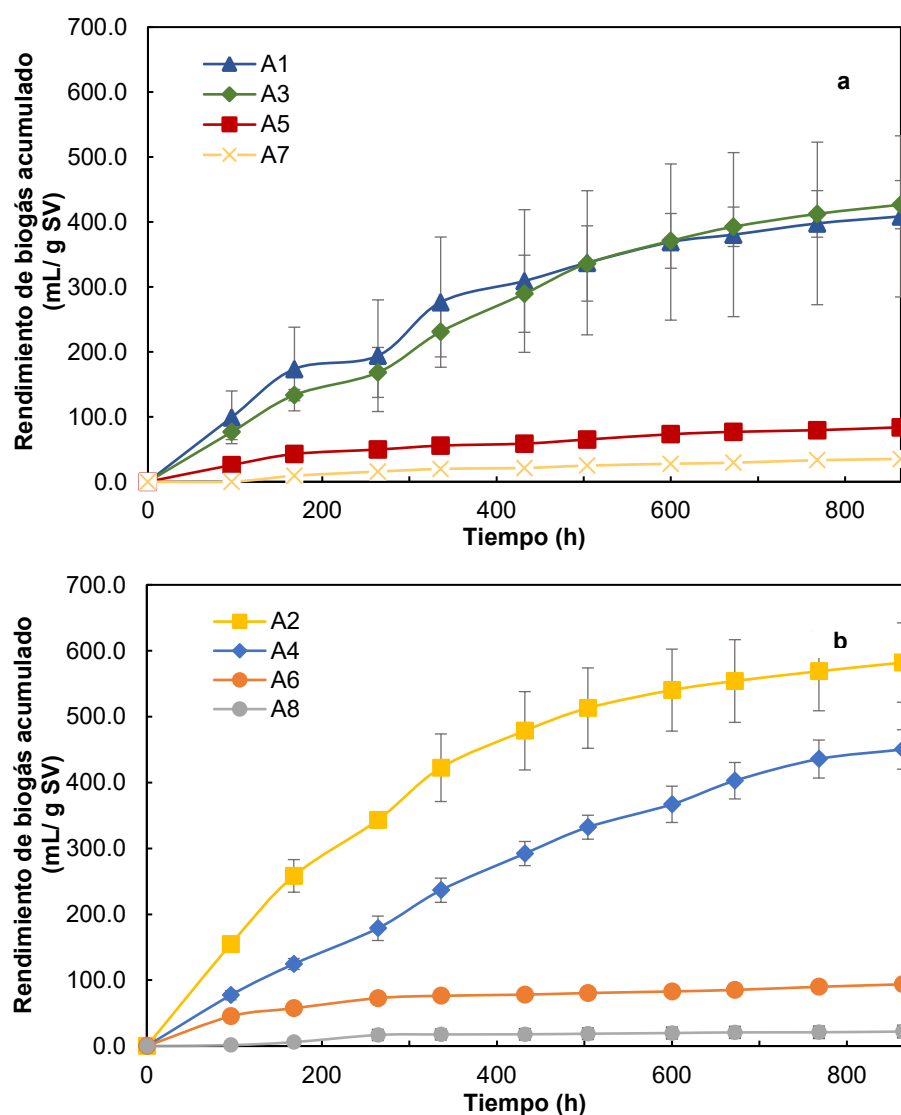


Figura 1. Producción de biogás acumulada a partir de PF agrupada de acuerdo con la concentración de inóculo: a) 250 g/L y b) 500 g/L usando el tamaño de paja retenida con malla #20.

Esto nos indica que conforme el contenido de sustrato aumenta en la mezcla, se inhibe la actividad enzimática de los microorganismos anaerobios probablemente por la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGVs), los cuales son compuestos inhibidores de la metanogénesis. El incremento de AGVs se ve reflejado en la disminución del pH de las mezclas. En las mezclas en las que se usó una relación S/I de 2.0 y de 4.0, el pH disminuyó por debajo de 5.0. En cambio, en las mezclas en las que se usó una relación S/I de 0.5 y 1.0, el pH se mantuvo por arriba de 6.5. Este fenómeno también fue reportado por nuestro equipo de investigación usando residuos de planta de jitomate y de pimiento (Camarena-Martínez *et al.*, 2020). Además, Camarena-Martínez *et al.*, (2020) indicaron que la mayor producción de metano ocurrió a una relación S/I de 0.5 al igual que en este estudio.

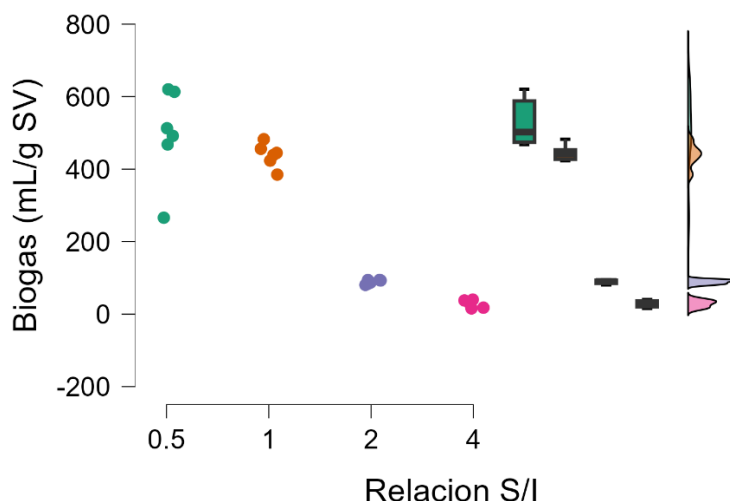


Figura 2. Gráfico de nube de puntos de la producción de biogás acumulada a partir de PF usando el tamaño de paja retenida con malla #20.

En los ensayos en los que se usó el tamaño de partícula mayor (malla #12), la máxima producción registrada fue de 447.5 mL biogás/g SV en el tratamiento B1 (relación S/I de 0.5 y concentración de inóculo de 500 g/L). La menor producción de biogás fue de 37.5 mL/g SV en el tratamiento B8 (relación S/I de 4.0 y concentración de inóculo de 500 g/L) (Figura 3). Como se puede apreciar en la Figura 4, también se observó el mismo efecto de la relación S/I sobre la producción de biogás cuando se utilizó el tamaño de partícula menor. La producción de biogás más alta fue obtenida al manejar valores de S/I 0.5 y 1.0. De igual forma, la producción de biogás disminuyó significativamente a una relación S/I de 2.0 o 4.0.

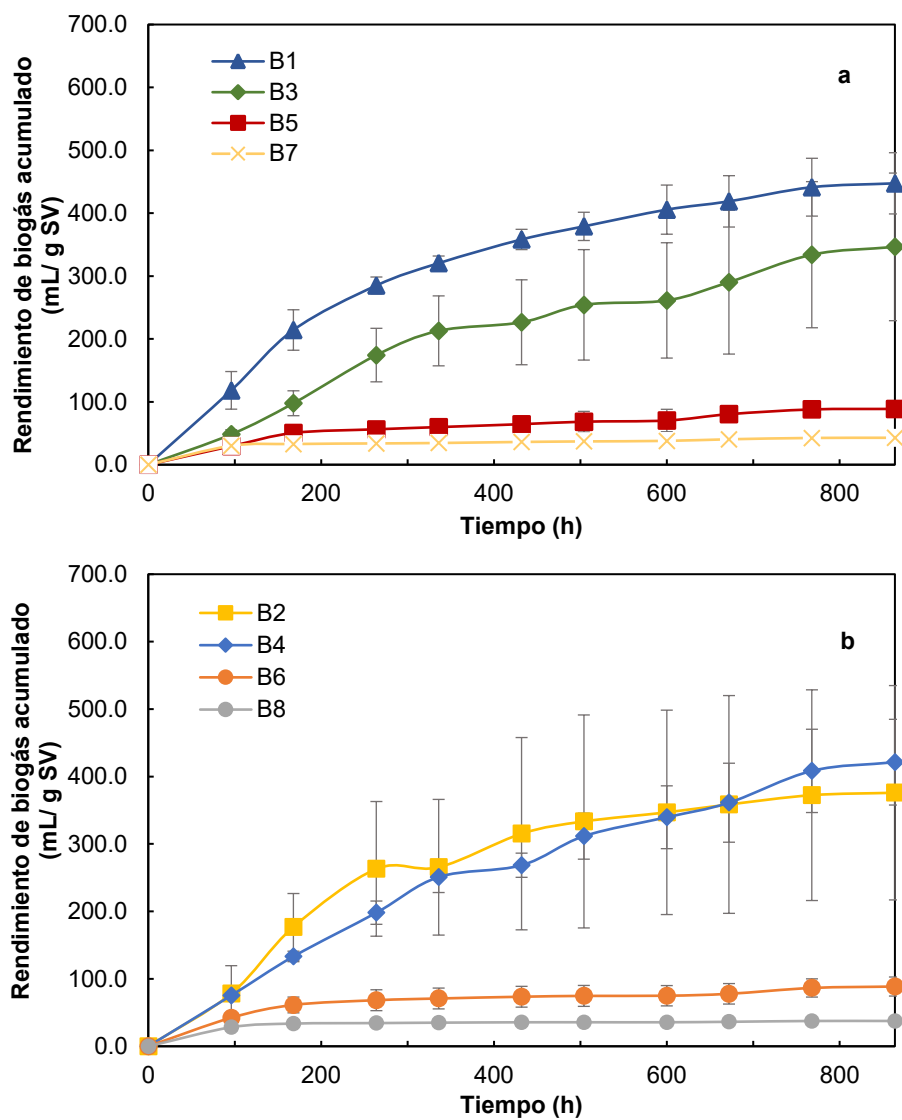


Figura 3. Producción de biogás acumulada a partir de PF agrupada de acuerdo con la concentración de inóculo: A) 250 g/L y b) 500 g/L usando el tamaño de paja retenida con malla #12.

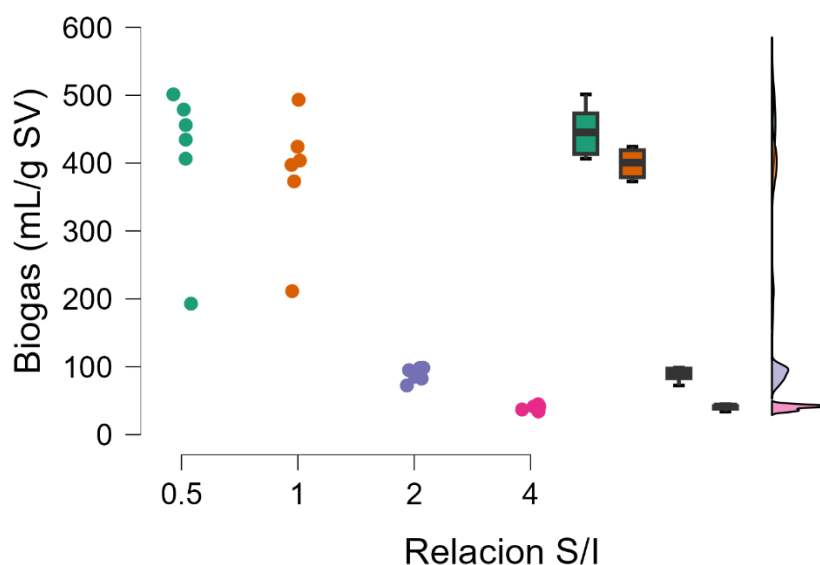


Figura 4. Gráfico de nube de puntos de la producción de biogás acumulada a partir de PF usando el tamaño de paja retenida con malla #12.

De acuerdo con los análisis estadísticos, la relación S/I tuvo un efecto significativo ($p < 0.001$) sobre la producción de biogás. En cambio, las variables tamaño de paja y concentración de inóculo no tuvieron un efecto significativo ($p = 0.813$ y $p = 0.718$, respectivamente). En la Tabla 5 se indican los valores obtenidos de la prueba de Dunn con corrección de Bonferroni y Holm con respecto a la variable relación S/I. Se puede observar que hay diferencias significativas entre todos los grupos, excepto entre los valores de la relación S/I de 0.5 y 1.0. Estos valores de relación S/I también han sido reportados como los más recomendables para llevar a cabo el proceso de digestión anaerobia de diferentes sustratos (Lesteur *et al.*, 2010; Raposo *et al.*, 2012).

Tabla 5. Prueba de Dunn para determinar las diferencias significativas entre los grupos de la variable relación S/I.

Comparación	z	W _i	W _j	r _{rb}	p	p _{bonf}	p _{holm}
0.5 - 1	0.860	38.958	34.042	0.410	0.390	1.000	0.390
0.5 - 2	3.580	38.958	18.500	1.000	< .001	0.002	0.001
0.5 - 4	5.679	38.958	6.500	1.000	< .001	< .001	< .001
1 - 2	2.719	34.042	18.500	1.000	0.007	0.039	0.020
1 - 4	4.819	34.042	6.500	1.000	< .001	< .001	< .001
2 - 4	2.100	18.500	6.500	1.000	0.036	0.215	0.072

Nota. Correlación biserial por rangos basada en pruebas individuales de Mann-Whitney.

La relación S/I influye de manera significativa en la producción de biogás o metano, especialmente durante la fase de puesta en marcha de la digestión anaerobia. Una relación adecuada permite equilibrar la oferta de materia orgánica del sustrato con la demanda microbiana del inóculo, lo cual favorece la actividad enzimática, evita la acumulación excesiva de AGVs y mantiene condiciones de pH estables (Bong *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2019). Estudios han demostrado que relaciones S/I demasiado altas (como 3:1 o 4:1) pueden conducir a la acidificación del sistema e inhibir la metanogénesis, mientras que relaciones más bajas (1:2, 1:3 o 1:4) tienden a estabilizar el proceso y mejorar la producción de metano (Ma *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2022; Demichelis *et al.*, 2022). Esta relación representa un parámetro crítico, no solo para el diseño de sistemas eficientes de digestión anaerobia, sino también para su aplicación práctica en el aprovechamiento de residuos orgánicos tanto convencionales como lignocelulósicos (Parra-Orobio *et al.*, 2015; Ma *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2022).

En fibras vegetales se ha reportado una mayor producción de biogás al macerar mecánicamente el sustrato entre 2 mm 100 mm (Mshandete *et al.*, 2006). Además, las partículas pequeñas evitan la obstrucción del biodigestor (Kumar *et al.*, 2013). En este estudio fue similar la producción de biogás entre el tamaño de paja mayor (#12) y el tamaño de paja menor (#20) por lo que para futuras investigaciones se recomienda el uso de paja de mayor tamaño ya que requiere menos molienda.

Debido a que la producción de biogás fue similar entre las diferentes concentraciones de inóculo evaluadas (250 y 500 g/L) se puede deducir que el aumento en los sólidos totales, asociado a una mayor concentración de inóculo en la mezcla, no generó aglomeración del sustrato. O bien, que el incremento de ST no fue la causante de la inhibición de la metanogénesis cuando se usaron valores de S/I de 2.0 y 4.0. Por lo tanto, cualquiera de las dos concentraciones de inóculo puede utilizarse empleando una relación S/I de 0.5 o 1.0 sin comprometer el rendimiento del proceso. El contenido de sólidos totales varió desde un 0.9 % en los tratamientos con menor concentración (relación S/I de 0.5 y 250 g/L de inóculo) hasta alrededor de un 4.9 % en aquellos con el mayor nivel de sólidos totales (relación S/I de 4.0 y concentración de inóculo de 500 g/L).

La producción de biogás obtenida a partir de PF en este estudio fue similar o incluso superior a la reportada para otros residuos lignocelulósicos. Por ejemplo, Amnuaycheewa *et al.* (2016) registraron un rendimiento de 322.1 mL de biogás/g SV utilizando paja de arroz pretratada con ácido cítrico a 35 °C. Lizasoain *et al.* (2017) reportaron 585 mL/g SV empleando rastrojo de maíz sometido a pretratamiento térmico mediante explosión de vapor (160 °C por 2 min) y digestión a 37.5 °C. Theuretzbacher *et al.* (2015) lograron 286 mL/g SV con paja de trigo tratada también por explosión de vapor. Por su parte, Abudi *et al.* (2020) alcanzaron un rendimiento de 644 mL/g SV utilizando hojas de mango tratadas alcalinamente con NaOH. Asimismo, Dai *et al.* (2018) obtuvieron entre 170 y 354 mL/g SV a partir de paja de arroz pretratada enzimáticamente con celulasa. Finalmente *et al.*, Tišma *et al.* (2018), lograron obtener 381 mL/g SV usando ensilado de maíz pretratado con el hongo *Trametes versicolor*.

Es importante destacar que, a diferencia de estos estudios donde se emplearon diversos métodos de pretratamiento físico, químico o biológico para mejorar la digestibilidad del sustrato, en el presente trabajo se alcanzaron rendimientos elevados utilizando paja de frijol sin pretratar. Este hecho resalta el potencial de la PF como una opción viable y eficiente para la producción de biogás, al reducirse los costos operativos y energéticos asociados a etapas adicionales de pretratamiento.

Conclusiones

Los resultados de este estudio demostraron que la PF sin pretratamiento tiene un potencial viable como sustrato para la producción de biogás mediante digestión anaerobia en condiciones en lote y a temperatura ambiente. Entre los factores evaluados, la relación sustrato/inóculo (S/I) fue el parámetro que más influyó en la eficiencia del proceso, siendo las relaciones de 0.5 y 1.0 las que generaron mayores volúmenes de biogás. En cambio, valores más altos de S/I (2.0 y 4.0) provocaron una disminución significativa en la producción, atribuida a la inhibición por acumulación de ácidos grasos volátiles y descenso del pH.

El tamaño de partícula del sustrato no tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la producción de biogás, aunque las partículas más pequeñas (malla #20) tendieron a favorecer una mayor liberación de gas. Debido al mayor requerimiento energético en la molienda, se recomienda el uso de partículas más grandes (malla #12) para optimizar el balance energético del proceso.

Por otro lado, la concentración de inóculo (250 y 500 g/L) tampoco mostró diferencias significativas en los rendimientos de biogás. Esto indica que el aumento de los sólidos totales en la mezcla, asociado a mayores concentraciones de inóculo, no provocó aglomeración ni inhibición del proceso, permitiendo el uso de cualquiera de las dos concentraciones sin afectar la eficiencia, siempre y cuando se mantenga una relación S/I adecuada.

En conjunto, estos resultados sugieren que la digestión anaerobia de PF es una alternativa prometedora para el aprovechamiento de residuos agrícolas, contribuyendo a la producción de energía renovable y a la gestión sustentable de desechos en regiones productoras de frijol como Guanajuato.

Bibliografía

- Abbassi-Guendouz, A., Brockmann, D., Trably, E., Dumas, C., Delgenès, J. P., Steyer, J. P., & Escudé, R. (2012). Total solids content drives high solid anaerobic digestion via mass transfer limitation. *Bioresource technology*, 111, 55-61.
- Abudi, Z. N., Hu, Z., Abood, A. R., Liu, D., & Gao, A. (2020). Effects of alkali pre-treatment, total solid content, substrate to inoculum ratio, and pH on biogas production from anaerobic digestion of mango leaves. *Waste and biomass valorization*, 11, 887-897.
- Amnuaycheewa, P., Hengaroonprasan, R., Rattanaporn, K., Kirdponpattar, S., Cheenkachorn, K., & Sriariyanun, M. (2016). Enhancing enzymatic hydrolysis and biogas production from rice straw by pretreatment with organic acids. *Ind Crops Prod*, 87, 247-254.
- APHA. (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st ed. APHA, Washington, DC.
- Bong, C. P., Lee, C. T., Ho, W. S., Hashim, H., Klemeš, J. J., & Ho, C. S. (2017). Mini-review on substrate and inoculum loadings for anaerobic co-digestion of food waste. *Chemical Engineering Transactions*, 56, 493-498.
- Camarena-Martínez, S., Martínez-Martínez, J. M., Saldaña-Robles, A., Nuñez-Palenius, H. G., Costilla-Salazar, R., Valdez-Vazquez, I., Lovanh, N., & Ruiz-Aguilar, G. M. L. (2020). Effects of experimental parameters on methane production and volatile solids removal from tomato and pepper plant wastes. *Bioresources*, 15, 4763-4780.
- CESAVEG, Gobierno de México, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, SENASICA & Gobierno del Estado de Guanajuato. (2022). Programa de trabajo integral del subcomponente Servicio Fitosanitario en apoyo a la producción para el bienestar y prevención, control o erradicación de plagas fitosanitarias en el estado de Guanajuato, del Programa de Sanidad e Inocuidad Agroalimentaria, ejercicio fiscal 2022, con recursos de origen federal. CESAVEG. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/761940/Guanajuato.pdf>
- Dai, B. L., Guo, X. J., Yuan, D. H., & Xu, J. M. (2018). Comparison of different pretreatments of rice straw substrate to improve biogas production. *Waste and Biomass Valorization*, 9, 1503-1512.
- Demichelis, F., Tommasi, T., Deorsola, F. A., Marchisio, D., & Fino, D. (2022). Effect of inoculum origin and substrate-inoculum ratio to enhance the anaerobic digestion of organic fraction municipal solid waste (OFMSW). *Journal of Cleaner Production*, 351, 131539.
- Demirbas, A. (2009). Biofuels: Securing the Planet's Future Energy Needs. Springer.
- Deublein, D. & Steinhauser, A. (2008). Biogas from waste and renewable resources: an introduction. Ed. Wiley-VCH. Weinheim.
- 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.
- EPA. (2021). Biofuels and the Environment.
- Escalante-Estrada, J. A. S., Rodríguez-González, M. T., & Escalante-Estrada, Y. I. (2021). Rendimiento de frijol y la aplicación de nitrógeno. *Exploratoris: Revista de la Realidad Global*, 10(1), 105-112. <https://static1.squarespace.com/static/55564587e4b0d1d3fb1eda6b/t/611c14e889f6807a0758ab76/1629230312715/M366EscalanteEstrada+---EXPV10N12021+--105-112.pdf>
- Gobierno Municipal de Irapuato. (2025). Multarán a quienes hagan quemas a cielo abierto. Consultado en mayo de 2025 en: <https://www.irapuato.gob.mx/2025/05/20/multaran-a-quienes-hagan-quemas-a-cielo-abierto/>
- 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., V. Sridevi, K., Rani, M., Sakunthala, C., & Santosh Kumar. (2013). A review on production of biogas, fundamentals, applications & its recent enhancing techniques. *Elixir Chem. Engg.*, 57, 14073-14079.

- 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.
- Li, Y., Chen, Z., Peng, Y., Huang, W., Liu, J., Mironov, V., & Zhang, S. (2022). Deeper insights into the effects of substrate to inoculum ratio selection on the relationship of kinetic parameters, microbial communities, and key metabolic pathways during the anaerobic digestion of food waste. *Water Research*, 217, 118440.
- Lizasoain, J., Trulea, A., Gittinger, J., Kral, I., Piringier, G., Schedl, A., et al. (2017). Corn stover for biogas production: effect of steam explosion pretreatment on the gas yields and on the biodegradation kinetics of the primary structural compounds. *Bioresour Technol*, 244, 949–956. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.042>
- Ma, X., Jiang, T., Chang, J., Tang, Q., Luo, T., & Cui, Z. (2019). Effect of substrate to inoculum ratio on biogas production and microbial community during hemi-solid-state batch anaerobic co-digestion of rape straw and dairy manure. *Applied biochemistry and biotechnology*, 189, 884-902.
- Mshandete, A., Bjornsson, L., Kivaisi, A., Rubindamayugi, M., & Mattiasson, B. (2006). Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste. *Renewable Energy*, 31(14), 2385–2392.
- Mussatto, S. I., et al. (2010). Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. *Biotechnology Advances*, 28(6), 817–830.
- Raposo, F., De la Rubia, M. A., Fernández-Cegri, V., & Borja, R. (2012). Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(1), 861–877.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2015). Plan de manejo de residuos generados en actividades agrícolas: Primera etapa, diagnóstico nacional. Consultado en mayo de 2025 en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/346963/Manejo_de_Residuos_Reporte_Ejecutivo.pdf
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2024). Panorama agroalimentario 2024. https://drive.google.com/file/d/1NXcDhaB63Z94wjRUVF6f_FK0Urv6cgvJ/view?usp=sharing
- Theuretzbacher, F., Lizasoain, J., Lefever, C., Saylor, M. K., Enguidanos, R., Weran, N., ... & Bauer, A. (2015). Steam explosion pretreatment of wheat straw to improve methane yields: Investigation of the degradation kinetics of structural compounds during anaerobic digestion. *Bioresource technology*, 179, 299-305.
- Tišma, M., Planinić, M., Bucić-Kojić, A., Panjičko, M., Zupančič, G. D., & Zelić, B. (2018). Corn silage fungal-based solid-state pretreatment for enhanced biogas production in anaerobic co-digestion with cow manure. *Bioresource technology*, 253, 220-226.
- 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.
- Ward, A. J., Hobbs, P. J., & Jones, D. L. (2008). Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources, review. *Bioresour Technol*, 19, 7928–7940.