

	GESTIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS Y BIBLIOTECARIOS		CÓDIGO	FO-GS-15
			VERSIÓN	02
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN		FECHA	03/04/2017
			PÁGINA	1 de 1
ELABORÓ		REVISÓ	APROBÓ	
Jefe División de Biblioteca		Equipo Operativo de Calidad	Líder de Calidad	

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTORES:

NOMBRE(S) ASTRID ELIANA APELLIDOS DURAN CONTRERAS

NOMBRE(S) KAREN MAYURLEIN APELLIDOS PARRA CARRILLO

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S) MARIANA APELLIDOS PEÑUELA VÁSQUEZ

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): COMPARACIÓN DEL POTENCIAL METANOGÉNICO DE LA PORCINAZA COMO SUSTRATO A PARTIR DE DIFERENTES INÓCULOS

RESUMEN. En esta investigación se comparó el potencial metanogénico de un sustrato llamado porcinaza utilizando dos tipos de inóculos: lodo de codigestión y lodo de San Fernando. Se caracterizaron tanto el sustrato como los inóculos para establecer las condiciones iniciales. Los resultados mostraron que la concentración de demanda química de oxígeno en el sustrato fue de 56 g/L. El inóculo de lodo de San Fernando (LS) alcanzó un valor de 240,6 NmL CH₄/ gSV en el día 30 de fermentación, mientras que el inóculo de lodo de codigestión (LC) obtuvo un valor de 415,9 NmL CH₄/ gSV en el mismo período, siendo 1.75 veces más eficiente que LS. Además, se analizaron los ácidos grasos volátiles presentes en el biogás. En resumen, el lodo LC demostró un mayor potencial metanogénico en las condiciones estudiadas, alcanzando un rendimiento de 415,9 NmL/ gSV en el día 30.

PALABRAS CLAVES: biogas, metano, inóculo, metanogenesis, digestión anaerobia

CARACTERÍSTICAS

PÁGINAS: 73 **PLANOS:** **ILUSTRACIONES:** **CD ROOM:**

COMPARACIÓN DEL POTENCIAL METANOGÉNICO DE LA PORCINAZA COMO
SUSTRATO A PARTIR DE DIFERENTES INÓCULOS

ASTRID ELIANA DURAN CONTRERAS
KAREN MAYURLEIN PARRA CARRILLO

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA
2023

COMPARACIÓN DEL POTENCIAL METANOGÉNICO DE LA PORCINAZA COMO
SUSTRATO A PARTIR DE DIFERENTES INÓCULOS

ASTRID ELIANA DURAN CONTRERAS
KAREN MAYURLEIN PARRA CARRILLO

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de Ingeniera Biotecnológica

Director

MARIANA PEÑUELA VÁSQUEZ

PhD

Codirector:

JUAN ESTEBAN VÁSQUEZ

PhD

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA
2023



ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 08 de septiembre del 2023

HORA: 10:00 A.M.

LUGAR: UFPS - CUCUTA, NORTE DE SANTANDER

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "COMPARACIÓN DEL POTENCIAL METANOGÉNICO DE LA PORCINAZA COMO
SUSTRATO A PARTIR DE DIFERENTES INÓCULOS."

MODALIDAD: PASANTIA

JURADO: JOHN HERMOGENES SUAREZ GELVEZ
DANNY WALDIR IBARRA VEGA
EDWIN JAVIER DUARTE GÓMEZ

ENTIDAD: Universidad de Antioquia

DIRECTOR: Mariana Peñuela Vásquez

CODIRECTOR: Juan Esteban Vásquez

NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
Astrid Eliana Duran Contreras	1611508	4.5
Karen Mayurlein Parra Carrillo	1611524	4.5

OBSERVACIONES: MERITORIA.

FIRMA DE LOS JURADOS

John Hermógenes Suárez Gélvez

Danny Waldir Ibarra Vega

Edwin Javier Duarte Gómez

Vo. Bo Coordinador Comité Curricular

Tabla de contenido

	pág.
Resumen	11
Introducción	12
1. Problema	15
1.1 Título	15
1.2 Planteamiento de la investigación	15
1.3 Formulación del problema	16
1.4 Justificación	16
1.5 Objetivos	17
1.5.1 Objetivo general	17
1.5.2 Objetivos específicos	17
1.6 Alcances y limitaciones	18
1.6.1 Alcance	18
1.6.2 Limitaciones	18
1.7 Delimitaciones	19
1.7.1 Espacial	19
1.7.2 Temporal	19
1.7.3 Conceptual	19
2. Marco referencial	20
2.1 Antecedentes	20
2.1.1 Internaciona	20
2.1.2 Antecedentes nacionales	21

2.1.3 Antecedentes regionales	23
2.2 Marco teórico	24
2.3 Marco contextual	28
2.4 Marco legal	28
3. Metodología	30
3.1 Tipo de investigación	30
3.2 Etapas metodológicas	31
4. Resultados y análisis	55
5. Conclusiones	65
Referencias bibliográficas	67

Lista de tablas

	pág.
Tabla 1. Marco operativo: descripción por etapas del proyecto a desarrollar	30
Tabla 2. Análisis de sólidos del sustrato e inóculos	43
Tabla 3. Volúmenes de trabajo	44
Tabla 4. Análisis fisicoquímico	55
Tabla 5. Concentraciones iniciales de solidos volátiles para el montaje LC (lodo codigestión)	57
Tabla 6. Concentración inicial de BLC	57

Lista de figuras

	pág.
Figura 1. Etapas de una DA	27
Figura 2. Mufla	31
Figura 3. Desecador	31
Figura 4. Probeta	32
Figura 5. Balanza	32
Figura 6. Registro de peso	32
Figura 7. Horno	33
Figura 8. Balanza	33
Figura 9. Desecador	33
Figura 10. Centrifuga	34
Figura 11. Termoreactor	34
Figura 12. Agitar	35
Figura 13. Muestra problema	35
Figura 14. Blanco	35
Figura 15. Tubo	36
Figura 16. Agitar	36
Figura 17. Termoreactor	36
Figura 18. Termoreactor	37
Figura 19. Gradilla	37
Figura 20. Tubo falcon	38
Figura 21. Probeta con tubo falcon	38
Figura 22. Centrifuga	39

Figura 23. Gradilla con tubos falcon	39
Figura 24. Agitador magnético	40
Figura 25. Agitador	40
Figura 26. Titulador 1	41
Figura 27. Titulador 2	41
Figura 28. Titulador 3	42
Figura 29. Montaje experimental del lodo san Fernando y lodo codigestión.	45
Figura 30. ontaje experimental para LC4 y LC5	46
Figura 31. Medidor de temperatura	46
Figura 32. Montaje experimental 1	47
Figura 33. Montaje experimental 2	47
Figura 34. Bolsa Tedla para medición de biogas	48
Figura 35. Medición de biogas	48
Figura 36. Prueba de biogas	49
Figura 37. Nevera de -80	49
Figura 38. Gradillas	50
Figura 39. Tubos eppendorf	50
Figura 40. Filtrado	51
Figura 41. Filtrado en ubos ambar	51
Figura 42. Filtro	51
Figura 43. H ₂ SO ₄ 0.1N	52
Figura 44. Calibración	52
Figura 45. Fase movil	53
Figura 46. Inyección de muestra	53
Figura 47. Detección	54

Figura 48. Porcentaje de ST y SV en cada inóculo y sustrato	56
Figura 49. Comportamiento de la producción de Biogás en el tiempo	58
Figura 50. Rendimiento de metano en condiciones normales	61
Figura 51. Análisis de HPLC y Rendimiento de LC	63
Figura 52. Análisis de HPLC y Rendimiento de LS	63

Resumen

La producción de biogás a partir de residuos agrícolas, agroindustriales o urbanos, ha sido desarrollada y adoptada para la estabilización de residuos, principalmente residuos orgánicos, estiércoles y lodos de aguas residuales y aguas residuales industriales. Del mismo modo, en los últimos años, el proceso de biodigestión anaerobia ha sido ampliamente adoptado para la producción de fertilizantes, combustibles y múltiples productos bioamigables. Con base en lo anterior, el objetivo principal de esta investigación fue comparar el comportamiento del potencial metanogénico de un sustrato (porcinaza) con diferentes inóculos (lodo codigestión y lodo de san Fernando). A nivel metodológico se realizó la caracterización del sustrato e inóculos, con la finalidad de conocer las condiciones iniciales. Luego se realizaron los montajes experimentales para la producción de biogás y el análisis de cromatográfica líquida de alta resolución. Como resultados se obtuvo que la concentración de la demanda química de oxígeno en el sustrato fue de 56 g/L. Por otra parte, LS alcanzó un valor de $240,6 \pm 5$ NmL CH₄/ gSV en el día 30 de fermentación. A diferencia de LS, que reportó un valor de $415,9 \pm 5$ NmL CH₄/ gSV, es decir, 1.75 veces más que en el montaje experimental con LS. Finalmente, se logró determinar cuáles ácidos grasos volátiles se encontraban en cada muestra de biogás obtenido de la digestión anaerobia. En conclusión, el lodo bajo las condiciones estudiadas que mostró mayor potencial metanogénico fue LC, alcanzando un valor de rendimiento en el día 30 igual a 415,9 NmL/ gSV.

Introducción

La creciente problemática en torno a los efectos del calentamiento global por la utilización de combustibles fósiles actual y acumulada en las últimas décadas, al igual que, el aumento en las emisiones de CO₂ de los combustibles convencionales e industriales contribuyeron en 2019 en un 64% al cambio climático siendo el resto debido a las emisiones de metano (18%), de CO₂ por cambios en los usos del suelo (11%), de óxido nitroso (4%) y de gases fluorados (2%). (Jusmet, 2022). Desde una perspectiva a largo plazo, se puede asegurar que la etapa de la humanidad de uso masivo de los combustibles fósiles es corta. Sin embargo, desde el punto de vista ambiental los combustibles fósiles incluso limitándonos a los que hoy se consideran reservas probadas y explotables económicamente son demasiado abundantes y quemarlos en su totalidad llevaría a escenarios catastróficos para la humanidad. (Endara, Heinert, & Solórzano, 2020).

Por otra parte, el crecimiento de los centros urbanos es un sector que impulsa las emisiones de gases de efectos invernadero, la carga contaminante en los ríos y rellenos sanitarios perjudicando masivamente el medio ambiente, por lo tanto, se ha hecho propicio buscar alternativas que ayuden a la obtención de combustibles alternativos y disminuya el impacto del desabastecimiento de los combustibles fósiles como el Gas natural, del cual se espera que presente desabastecimiento para el año 2023. (Jurado Gómez & Torres Chinome, 2022). Una de las alternativas para suplir las futuras demandas energéticas yace en el aprovechamiento de los rellenos sanitarios y residuos orgánicos de diferentes industrias ya que los biocombustibles se han convertido en una alternativa interesante, como una solución de desarrollo sostenible en

diferentes países, cuando se habla de la sustitución del petróleo y sus derivados, a la vez que se da solución a la creciente problemática de la disposición final de los residuos urbanos a partir del aprovechamiento de los rellenos sanitarios.

La producción de biogás a partir de residuos agrícolas, agroindustriales o urbanos, ha sido desarrollada y adoptada para la estabilización de residuos, principalmente residuos orgánicos, estiércoles y lodos de aguas residuales y aguas residuales industriales. Del mismo modo, en los últimos años, el proceso de biodigestión anaerobia ha sido ampliamente adoptado para la producción de fertilizantes, combustibles, productos químicos, calor y electricidad, dentro de concepto de biorrefinería que garantiza la sostenibilidad energética. (Mortola et al., 2022).

Lastimosamente, la producción de biogás por sí sola podría no ser económicamente competitiva; principalmente, debido a la volatilidad de mercado y los índices de precios de los combustibles fósiles. (Sawatdeenarunat, Surendra, Takara, Oechsner, & Khanal, 2015). Una manera para evitar este problema es identificar y explorar productos alternativos diferentes a la producción de bioenergía adoptando el desarrollo de una biorrefinería. Entre los posibles productos, es importante resaltar la posibilidad que se tiene de formular fertilizantes orgánicos (enmiendas de suelo, fertilizantes mineral orgánicos, biofertilizantes) que facilitan el cierre del ciclo biológico, garantizando la sostenibilidad de nuestros recursos naturales. (Guzmán Gutiérrez, 2019).

Con base en lo anterior, y teniendo en cuenta la importancia del metano como combustible, el desarrollo de procesos de producción de este combustible por medio de comunidades microbianas y procesos químicos (gasificación y metanación) a partir de residuos sólidos

urbanos y agrícolas como la porcina se presenta como una alternativa muy interesante para la reducción de contaminantes y obtención de múltiples subproductos; gracias a su composición química es un sustrato alternativo que se presenta como una oportunidad de recuperación y valorización para la producción de biogás, ya que posee una amplia concentración de nutrientes, minerales, materia orgánica y agua, que favorecen el desarrollo metabólico de múltiples comunidades microbianas. (Mosquera Mena, 2021; Nevárez, Murillo, Correa & Baquerizo, 2022).

Por otro lado, para la producción de biogás un componente importante es el tipo de inóculo con el que se va a iniciar la digestión anaerobia, debido a que, un inóculo adecuado tiene un impacto significativo en la velocidad, la eficiencia y la estabilidad del proceso, lo que lleva a una mayor producción de biogás y una gestión más efectiva de los residuos orgánicos. (Pérez & Ferrer, 2010).

El objetivo de la presente investigación fue comparar el comportamiento del potencial metanogénico de un sustrato (porcina) con diferentes inóculos. Partiendo de la determinación del perfil fisicoquímico del sustrato y de cada uno de los inóculos, evaluando el potencial de producción de metano de la porcina al utilizar los diferentes inóculos. Finalizando con el análisis del comportamiento de las cinéticas de los procesos de digestión anaerobia involucrados en los procesos estudiados.

1. Problema

1.1 Título

Inventario y diagnóstico general de la infraestructura vial para El Tramo Cáchira– Primavera
– Norte De Santanader

1.2 Planteamiento de la investigación

La contaminación ambiental por el uso de combustibles fósiles, rellenos sanitario saturados y el daño a los ecosistemas acuáticos contribuyen a un aumento en los efectos del calentamiento global sobre la tierra. (Winkel et al., 2015). La constante exploración por la búsqueda de materia prima para la producción de los combustibles convencionales como la gasolina y el diesel han generado un impacto negativo en diversos ecosistemas. (Ranville et al., 2010). Además, la sobreutilización de los combustibles fósiles proyecta un desabastecimiento de gas natural para el 2025 en territorio colombiano. (Carreño Quintero, 2021). Asimismo, estudios reportan que para el 2025 la vida útil de la gran mayoría de los rellenos sanitarios en Colombia llegará a su fin, por ello, la importancia de aprovechar estos reservorios energéticos para la producción de combustibles alternativos y así lograr prolongar la utilidad de estos. (Martin-Calvo & Castañeda-Gomez, 2021). De acuerdo a lo anterior, la producción de biogás y gas natural a partir de residuos agrícolas (estiércoles) se presenta como una gran alternativa para obtener energía y combustible vehicular. Sin embargo, existen factores que afectan la digestión anaerobia de los residuos sólidos de la agricultura, por lo tanto, la importancia de caracterizar fisicoquímicamente los posibles sustratos e inóculos es indispensable para obtener un proceso adecuado. Para lograr caracterizar y evaluar la utilidad de un sustrato frente a los procesos de digestión anaerobia se

puede realizar pruebas del potencial metanogénico; la principal variable a evaluar en este proceso es la medición del metano obtenido bajo condiciones controladas. Otro punto importante para este proceso es el inóculo que se emplea en esta prueba, el cual no está estandarizado mundialmente. Por ello, es posible que al usar inóculos diferentes los resultados de la prueba sean diferentes.

1.3 Formulación del problema

¿Qué cambios se pueden obtener en el potencial metanogénico de la porcínaza a partir de diferentes inóculos en procesos de digestión?

1.4 Justificación

La producción de biogás por digestión anaerobia a partir de residuos agrícolas, agroindustriales o urbanos ha sido desarrollada y adoptada para la estabilización de residuos, principalmente residuos orgánicos, como estiércoles y lodos de aguas residuales domésticas e industriales. (Martínez Figueroa, 2020). Del mismo modo, el proceso de biodigestión anaerobia ha sido ampliamente adoptado para la producción de fertilizantes, combustibles, productos químicos, calor y electricidad, dentro del concepto de biorrefinería, para garantizar la sostenibilidad energética a nivel mundial. (Ayala, Jijón, & Chacha, 2022; Castro-Molano, Parrales-Ramírez, & Escalante-Hernández, 2019). Sin embargo, para lograr un proceso de digestión adecuado se deben tener en cuenta múltiples parámetros de la cinética inherentes del proceso (concentración de sustrato, concentración de inóculo, composición química del estiércol) y factores de producción (pH, temperatura y tiempo de operación) (Llerena Saavedra & Vasquez

Solis, 2022; Moreno, Herrera, & Reina, 2022), por ello, la caracterización fisicoquímica de los sustratos e inóculos es indispensable para lograr una buena obtención de metano.

Una de las principales mediciones que se deben realizar es la del potencial metanogénico del sustrato, ya que este permite conocer la capacidad de producción de biogás de la porcinaza y también a identificar los sustratos más adecuados para su digestión anaerobia. Asimismo, evaluar el potencial metanogénico de la porcinaza utilizando diferentes sustratos para asegurarse de que se están utilizando las mejores condiciones para la digestión anaerobia y que se están obteniendo los resultados correctos en términos de producción de biogás y calidad del digestato. Esto puede ayudar a mejorar la eficiencia del proceso de digestión anaerobia y reducir los costos de operación. Finalmente, esta investigación pretende comparar el comportamiento del potencial metanogénico de un sustrato (porcinaza) con diferentes inóculos.

1.5 Objetivos

1.5.1 *Objetivo general*

Comparar el comportamiento del potencial metanogénico de un sustrato (porcinaza) con diferentes inóculos.

1.5.2 *Objetivos específicos*

✓ Determinar el perfil fisicoquímico del sustrato y de cada uno de los inóculos utilizados en los montajes experimentales.

✓ Evaluar el potencial de producción de metano de la porcinaza al utilizar los diferentes inóculos seleccionados.

✓ Analizar el comportamiento de las cinéticas de los procesos de digestión anaerobia involucrados en los montajes experimentales realizados.

1.6 Alcances y limitaciones

1.6.1 Alcance

Este trabajo de investigación pretende determinar el perfil fisicoquímico del sustrato (porcinaza) y cada uno de los diferentes inóculos seleccionados, al igual que, el análisis del comportamiento de las cinéticas de los procesos de digestión anaerobia y así comparar el comportamiento del potencial metanogénico de porcinaza como sustrato a partir de diferentes inóculos.

1.6.2 Limitaciones

Una de las limitaciones que genera mayor riesgo en este tipo de investigaciones son los procesos experimentales, ya que los resultados de estos validan el potencial metanogénico del sustrato seleccionado a partir de los diferentes inóculos, por lo tanto, es de suma importancia mantener los parámetros de operación que favorezcan al caso de estudio.

1.7 Delimitaciones

1.7.1 *Espacial*

La pasantía se desarrollará en las instalaciones del laboratorio de bioprocesos de la Facultad de química de la Universidad De Antioquia.

1.7.2 *Temporal*

El proyecto se realizará en un periodo de 4 meses.

1.7.3 *Conceptual*

Los términos más relevantes relacionados con esta investigación son: porcinaza, bioproceso, lodos no activados, combustibles alternativos, perfil fisicoquímico, potencial metanogénico y digestión anaerobia.

2. Marco referencial

2.1 Antecedentes

2.1.1 *Internaciona*

De acuerdo con Veroneze et al. (2019), la biodigestión del estiércol porcino se puede mejorar la producción de biogás y fertilizantes bioestabilizado con la suplementación del cultivo anaerobio con glicerina. Según el estudio la concentración óptima de glicerina es de 5% peso/peso en relación con el estiércol porcino; para garantizar la calidad del biocombustible se monitorio diariamente por un gasómetro, del mismo modo, al biofertilizante se le realizaron mediciones constantes de los parámetros físico-químicos (temperatura, pH, turbidez , serie de sólidos, fósforo total, nitrógeno total y DQO) cada siete días. Con la finalidad de mantener los rendimientos del proceso. Se encontró que la mejoría en la producción de biogás es dependiente a la concentración de glicerina. Por otra parte, la evaluación de los fertilizantes obtenidos mostro niveles significativos de macronutrientes como lo son el nitrógeno, el fósforo, potasio y calcio, haciendo estos compuestos muy prometedores para el uso en la agricultura.

Otra investigación realizada por Xiao et al. (2019), tuvo como objetivo principal evaluar los efectos integrales de dos tratamientos en la producción de biogás y la estabilización del sistema, al igual que, los mecanismos responsables de los efectos de estos tratamientos en la producción del biocombustible. El primer tratamiento fue la mezcla de carbón activado granular envuelto (GAC) y lodo aclimatado; la adición de GAC envuelto aumentó significativamente la tasa volumétrica de biogás en un 10,6%, y las eficiencias en la eliminación de solidos totales y volátiles en un 5,3% y 6,6 %, respectivamente. Por otra parte, la inoculación con lodo aclimatado

ayudó al sistema a sobrevivir en condiciones desfavorables, donde los contenidos de TAN (el nitrógeno amoniacal total) y TVFA (total de ácidos grasos volátiles) estaban alrededor de 5200 mg/L y 8800 mg/L, respectivamente, pero no logró mejorar la eficiencia de producción de biogás. Este estudio demostró que el GAC envuelto mejora los procesos de hidrólisis y adhesión microbiana lo que conlleva a optimizar la producción de biogás.

Finalmente, Lendormi et al. (2022), realizaron un estudio por nueve meses donde evaluaron el inicio de la digestión anaerobia (DA) mediante el seguimiento de la producción de biogás, los intermediarios metabólicos de la DA y la dinámica de la comunidad microbiana, esto con la finalidad de establecer una metodología de DA para fincas de pequeña escala que demuestran una acumulación de porcínaza. Para establecer dicha metodología se probaron cuatro estiércoles diferentes como inóculo para un digestor mesófilo. A nivel de resultados, el inóculo que mostró mayor eficiencia fue un estiércol almacenado durante dos meses previo a la puesta en marcha del reactor. Luego del tiempo de cultivo se obtuvo, un rendimiento máximo de metano de 42L de CH_4 /kg Sustrato Volátil Sólido /día y un volumen de CH_4 de 125L de CH_4 /kg-Demanda Química de Oxígeno añadida. Por otra parte, el seguimiento de la dinámica de la comunidad microbiana mediante la secuenciación de ADNr 16S de alto rendimiento mostró la adaptación fluida de las especies microbianas del estiércol, lo cual estimulo la producción de metano a partir de estas comunidades.

2.1.2 *Antecedentes nacionales*

El estudio realizado por Vega Martínez y Silva Ariza (2020), se evaluó el potencial de biometanización del estiércol de búfalo producido en la finca “Si Dios Quiere”, ubicada en

Rionegro, Santander mediante la digestión anaerobia con la finalidad de obtener biogás que supla su demanda mensual de GLP (Gas Licuado de Petróleo) para uso doméstico. Para la evaluación se diseñó el siguiente proceso que constó de tres reactores con relaciones de estiércol-agua diferentes (1:1, 1:2 y 1:3) y una temperatura promedio de 26,7 y 23,9°C durante 27 días de operación. Luego de obtenido el biogás, se concentraba por el método del potencial de biometanización (PBM), de igual manera, los autores resaltan la importancia evaluar cada cierto tiempo los parámetros fisicoquímicos tales como: sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), nitrógeno total, carbono orgánico total (COT) y relación carbono/nitrógeno (C/N). De acuerdo con los resultados, la mejor relación estiércol-agua es 1:2 debido a que el PBM promedio muestra que tuvo una mayor producción y evidencia valores superiores de PBM (273,197 PBM de sustrato ml CH₄/ g SV) frente a las demás relaciones propuestas por los autores.

Por otra parte, Quiroga Rueda, Vargas Delgado y Osorio Flórez (2022) determinaron el potencial de la excreta de pollo producida en una granja avícola del municipio de Los Santos para la cogeneración de energía eléctrica y biogás para uso interno de la granja. Para lograr la puesta en marcha del digestor anaerobio se realizó la caracterización fisicoquímica y un análisis de prefactibilidad para identificar las tecnologías comerciales de mayor potencial para la cogeneración de energía eléctrica y biogás a partir de la excreta de pollo a pequeña escala. Como resultado de la investigación se propuso un sistema de generación de biogás a partir de un reactor tipo balón de flujo continuo con capacidad para producir todo el biogás que se requiere para el sostenimiento de un galpón con capacidad para 2500 pollos de engorde, ahorrando al productor el costo de adquisición de propano al que se ve sometido constantemente, mientras que la cogeneración de electricidad se ve limitada debido al alto costo inicial para la adquisición del motor de generación. Sin embargo, las estrategias de auto aprovechamiento de los desechos

agrícolas se presentan como una de las mejores opciones para cerrar la cadena productiva y a su vez disminuir la contaminación por este tipo de desecho.

2.1.3 *Antecedentes regionales*

De acuerdo con Mosquera Mena (2021), los balances de masa y el análisis energético del proceso de digestión anaerobia para la producción de biogás a partir de porcinoza en un reactor UASB presentan otra perspectiva para mejorar el proceso de obtención de metano. Por ello, realizó una caracterización de las corrientes de entrada y salida del proceso de DA el cual se alimentó con una carga orgánica de 1.27% de sólidos volátiles en la alimentación, tiempo de retención hidráulica de 20 días, volumen de reacción de 24 L y flujo de alimentación de 1.2 L/día. A nivel de resultados, la corriente de salida del reactor muestra una composición volumétrica de metano y dióxido de carbono de 64.96% y 30.04%, respectivamente, encontrándose dentro de los rangos definidos teóricamente. Así mismo, un modelo matemático propuesto por los autores de este estudio a partir de las variables como el sustrato, el tipo de inóculo y el tiempo de retención hidráulica predice en un 72.72% la producción de biogás específica (L biogás/g SV) respecto a los resultados experimentales. Por otra parte, el análisis energético encontró que el proceso es viable para la generación de energía a partir de biogás al obtener un rendimiento energético neto de 65934 kJ. Finalmente, se demuestra que para la producción de biogás es de suma importancia el tipo de sustrato que se someterá a la DA.

2.2 Marco teórico

Porcinaza

La porcinaza es un término que se refiere a los excrementos y la orina de los cerdos. Es un residuo generado en la producción porcina que contiene nutrientes valiosos como nitrógeno, fósforo y potasio, pero también puede contener patógenos y compuestos químicos que pueden tener efectos negativos en el medio ambiente si no se manejan adecuadamente. El manejo adecuado de la porcinaza incluye la recolección, almacenamiento y tratamiento de los residuos para minimizar el impacto ambiental. Se pueden utilizar diversas técnicas para tratar la porcinaza, como la compostación, el lodo activado, la digestión anaerobia y la separación de sólidos y líquidos. El tratamiento adecuado de la porcinaza puede reducir la contaminación del agua, el suelo y el aire, y también puede producir subproductos útiles como fertilizantes y biogás. (Deviney, Classen, Bruce, & Sharara, 2020).

Un bioproceso es un proceso industrial que utiliza microorganismos, células animales o vegetales, o enzimas para producir productos biológicos o bioquímicos de valor comercial, tales como alimentos fermentados, productos farmacéuticos, biocombustibles, entre otros. Los bioprocursos involucran una variedad de técnicas de cultivo y producción, incluyendo fermentación, cultivo celular, purificación, y otras técnicas biotecnológicas. Los bioprocursos se han vuelto cada vez más importantes en la industria moderna debido a la creciente demanda de productos sostenibles y respetuosos con el medio ambiente. (Scheper et al., 2021).

Combustibles alternativos

Un biocombustible es un combustible renovable hecho a partir de materia orgánica, como cultivos agrícolas, residuos orgánicos o madera. Se produce mediante procesos de conversión química o biológica de la materia prima, y puede utilizarse como una alternativa más limpia y sostenible a los combustibles fósiles como el petróleo y el gas natural (Severo et al., 2019). Los biocombustibles se utilizan principalmente en el transporte, como combustible para motores de automóviles, camiones y aviones. Los dos tipos principales de biocombustibles son el bioetanol, que se produce a partir de cultivos como el maíz y la caña de azúcar, y el biodiésel, que se produce a partir de aceites vegetales o grasas animales. Los biocombustibles son considerados una alternativa más sostenible a los combustibles fósiles porque son renovables y producen menos emisiones de gases de efecto invernadero cuando se queman. Sin embargo, también pueden tener efectos negativos en el medio ambiente y la seguridad alimentaria si se producen a gran escala y compiten con la producción de alimentos. (Zhao, Wang, Zhang, Chang, & Hao, 2021). Por lo tanto, es importante considerar cuidadosamente los beneficios y riesgos de los biocombustibles antes de promover su uso a gran escala.

Perfil fisicoquímico

Un perfil fisicoquímico es un conjunto de pruebas y análisis que se realizan para evaluar las características físicas y químicas de una sustancia o muestra. Se utiliza en una amplia gama de aplicaciones, desde el control de calidad de alimentos y productos farmacéuticos hasta el monitoreo de la calidad del agua y el suelo. En un perfil fisicoquímico, se pueden medir una variedad de propiedades físicas y químicas, como la densidad, la viscosidad, el pH, la

conductividad eléctrica, la turbidez, la temperatura, la presión, la tensión superficial, entre otras. Además, se pueden realizar análisis químicos para determinar la composición y concentración de los componentes químicos presentes en la muestra, como proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas, minerales, contaminantes y otros compuestos específicos. La información obtenida a través de un perfil fisicoquímico es útil para caracterizar y evaluar la calidad de la muestra, detectar la presencia de contaminantes y determinar si la muestra cumple con los requisitos o especificaciones necesarios para su uso previsto. Los resultados del perfil fisicoquímico se comparan con estándares establecidos para determinar si la muestra es aceptable o si se requiere acción correctiva. (Beniche, 2021).

Digestión anaerobia

La digestión anaerobia se caracteriza por una reacción en la que el biogás se produce a partir de materiales biodegradables en condiciones anaeróbicas (ausencia de oxígeno). La composición del biogás producido depende del sustrato utilizado y de las condiciones de digestión. El biogás se constituye básicamente de metano y dióxido de carbono, con cantidades menores de otros gases, incluidos nitrógeno, hidrógeno, sulfuro de hidrógeno, amoníaco y vapor de agua. La evolución del biogás se produce mediante la actividad de varios microorganismos en tres pasos; a saber: hidrólisis, acidogénesis (también llamada fermentación) y metanogénesis (Alisawi, 2020; Basak, 2022); aunque, algunas referencias describen la progresión de la digestión anaeróbica (DA) en cuatro pasos que incluyen hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis.

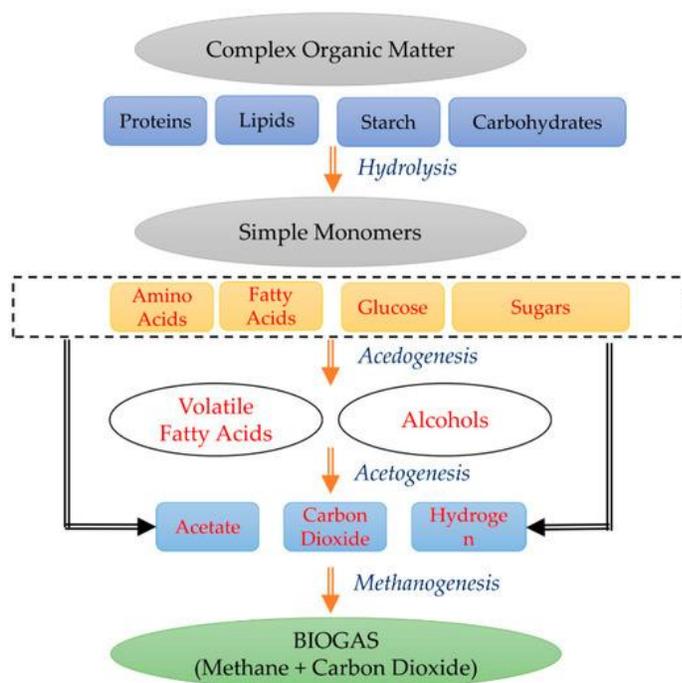


Figura 1. **Etapas de una DA.** Fuente: (Bhatt & Tao, 2020)

Potencial metanogénico

El potencial metanogénico es la capacidad de un sustrato para producir metano bajo condiciones anaeróbicas, es decir, en ausencia de oxígeno. El metano (CH_4) es un gas de efecto invernadero y también una fuente de energía renovable, por lo que evaluar el potencial metanogénico de diferentes materiales orgánicos es importante en varias áreas, como la gestión de residuos, la producción de biogás y la investigación ambiental. El potencial metanogénico se expresa generalmente en términos de la cantidad de metano que puede ser producida por unidad de masa de sustrato. Por lo tanto, se mide en unidades como mililitros de metano por gramo de materia orgánica volátil ($\text{ml CH}_4/\text{g MOv}$). (Saif et al., 2021).

2.3 Marco contextual

El laboratorio de bioprocesos de la facultad de ingeniería de la Universidad De Antioquia está ubicado en la ciudadela universitaria bloque 18-438 en la ciudad de Medellín en la calle 67 No. 53 – 108, es un centro de investigación e innovación para la formación de recursos humanos, beneficio social y aplicación productiva por medio de la generación y transferencia del conocimiento en el área Biotecnológica.

2.4 Marco legal

En la siguiente lista se enuncian las principales leyes, decretos y resoluciones que regulan la generación de combustibles alternativos en Colombia:

✓ Ley 693 de 2001: Esta ley establece la obligatoriedad de mezclar biocombustibles con los combustibles fósiles en Colombia. En la actualidad, la mezcla es del 10% de etanol en gasolina y del 8% de biodiesel en diésel.

✓ Decreto 1609 de 2002: Este decreto regula la producción, comercialización y uso de biocombustibles en Colombia. En él se establecen los requisitos y estándares técnicos para la producción de etanol y biodiesel.

✓ Ley 1739 de 2014: Esta ley establece una serie de incentivos fiscales y tributarios para la producción y uso de biocombustibles en Colombia. Además, se crea el Fondo Nacional de Biocombustibles, encargado de fomentar el desarrollo de esta industria en el país.

✓ Resolución 0236 de 2018: Esta resolución establece los requisitos para la producción de biogás y biometano en Colombia. En ella se establecen los estándares técnicos y de calidad que deben cumplir estos combustibles.

✓ Decreto 2645 de 2019: Este decreto establece los lineamientos para la producción de hidrógeno como combustible alternativo en Colombia. En él se establecen los requisitos y estándares técnicos que deben cumplir los productores de hidrógeno.

✓ Decreto 2555 de 2010: este decreto reglamenta la producción, comercialización y uso de biocombustibles líquidos en Colombia. Se establecen los requisitos técnicos y de calidad que deben cumplir los biocombustibles, así como las obligaciones de los productores y comercializadores.

Decreto 1076 de 2015: Este decreto establece el régimen de licencias, permisos y trámites ambientales en Colombia. En el artículo 2.2.6.1.6 se establecen las condiciones y requisitos para el tratamiento y disposición final de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas residuales.

3. Metodología

3.1 Tipo de investigación

La presente investigación de acuerdo con los objetivos trazados se considera según su estrategia de tipo experimental, debido a que esta investigación científica se encarga de estudios en laboratorio para comprobar que condiciones o variables afectan directamente el comportamiento del potencial metanogénico de un sustrato (porcinaza) con diferentes inóculos.

Tabla 1. Marco operativo: descripción por etapas del proyecto a desarrollar

PLAN OPERATIVO			
Objetivos	Actividades	Metas	Recursos físicos y humanos
Determinar el perfil fisicoquímico del sustrato y de cada uno de los inóculos utilizados en los montajes experimentales	-Recogida de material. -Medición de propiedades fisicoquímicas (pH, DQO, ST, SV, %humedad). Construcción de gráficas y análisis de resultados.	Conocer las propiedades fisicoquímicas y estructurar el orden de los montajes para la evaluación del potencial metanogénico. -Informe Parcial 1	2 practicantes, 1 asesor, equipo de potencial metanogénico, equipos de laboratorio como horno, mufla, HPLC, balanza. Reactivos varios.
Evaluar el potencial de producción de metano de la porcinaza al utilizar los diferentes inóculos Seleccionados	-Montaje de los ensayos de potencial metanogénico -Seguimiento en el tiempo durante 1 mes, de la producción de metano.	Construcción de gráficas y análisis de resultados para conocer el potencial metanogénico del sustrato. -Informe Parcial 2	
Analizar el comportamiento de las cinéticas de los procesos de digestión anaerobia involucrados en los montajes experimentales realizados	-Toma de muestras del contenido del reactor cada 4 días. -Análisis de muestras por HPLC -Construcción de gráficas y análisis de resultados.	-Informe final	

3.2 Etapas metodológicas

Etapa 1: en el desarrollo de esta etapa de la investigación se realizó la caracterización fisicoquímica del sustrato (porcinaza) y los dos tipos de inóculo con los que se trabajó (Lodo codigestión o LC y lodo San Fernando o LS). Para conocer la concentración de sólidos suspendidos totales, volátiles y fijos se empleó la siguiente metodología:

Se tomaron los crisoles y se llevaron a una mufla a 150°C durante 10 minutos



Figura 2. **Mufla**

Se colocaron a enfriar en un desecador.

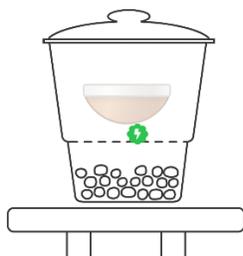


Figura 3. **Desecador**

Se midieron cada una de las muestras en una probeta, hasta tener un volumen de 15ml

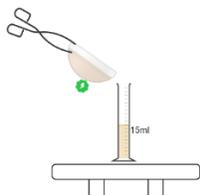


Figura 4. **Probeta**

El crisol se pesó vacío en una balanza analítica y registrar dicho peso



Figura 5. **Balanza**

Seguidamente, se taró y se agregó la muestra según correspondía (lodo San Fernando, porcinaza, lodo codigestión) registrando dicho peso

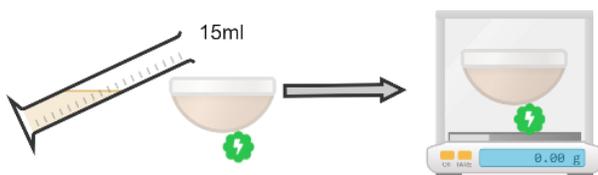


Figura 6. **Registro de peso**

Con ayuda de una pinza se llevaron los crisoles al horno a 110°C durante toda la noche.

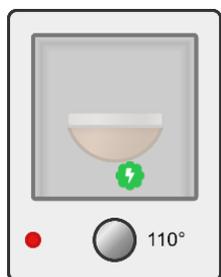


Figura 7. **Horno**

Pasadas las 24 horas, se retiraron los crisoles del horno y se registró nuevamente su peso.



Figura 8. **Balanza**

Luego, se llevaron los crisoles a la mufla a una temperatura de 550°C durante 2 horas, después, se enfriaron en un desecador hasta temperatura ambiente y se registraron los pesos.

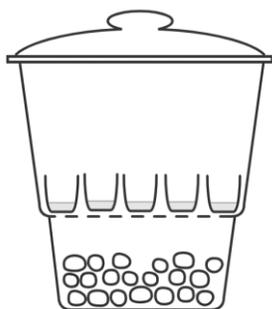


Figura 9. **Desecador**

Por otra parte, para la medición de concentración de la demanda química de oxígeno en las muestras de interés (S, LC y LS) se utilizó la metodología descrita a continuación:

Se midieron 40 ml de muestra en un tubo falcon, luego se llevaron a la centrifuga durante 10 minutos ó hasta que se homogenizó



Figura 10. **Centrifuga**

Se precalentó el termo-reactor a una temperatura de 150°C



Figura 11. **Termoreactor**

Se prepararon las muestras a medir, agitando fuertemente el vial que contenía la solución codigestora en donde se evitó la acumulación de sales.

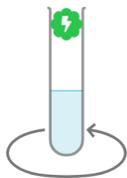


Figura 12. **Agitar**

Fuera de la solución, posteriormente se agregaron 200 μ L de la muestra problema (cada una de las muestras de manera individual) al vial, se empleó una micropipeta de 200 μ L.



Figura 13. **Muestra problema**

Posteriormente, se preparó el blanco; se retiró la tapa de un segundo frasco para el rango seleccionado.



Figura 14. **Blanco**

Luego, se verificó que el vial se encontrara limpio y seco en la parte exterior.

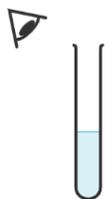


Figura 15. **Tubo**

El vial se agitó suavemente mezclando adecuadamente sin dejar sales fuera de la solución.

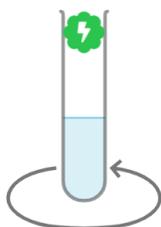


Figura 16. **Agitar**

Se generó una reacción exotérmica dentro del vial, por lo tanto, se tuvo precaución al realizarlo.

Se Introdujo todos los viales a evaluar en el termo-reactor previamente calentado y se dejó reaccionar durante 2 horas.



Figura 17. **Termoreactor**

Luego del tiempo de reacción se apagó el termo-reactor y se dejaron los viales dentro de este hasta que su temperatura fue menor a 120°C (20 minutos).



Figura 18. **Termoreactor**

Se agitaron los viales suavemente con su temperatura caliente, posteriormente se dejaron en una gradilla fuera de la luz hasta que estos alcanzaron la temperatura ambiente.



Figura 19. **Gradilla**

Finalmente, para conocer la alcalinidad de los inóculos y el sustrato se llevó a cabo la siguiente metodología:

- ✓ Se tomó una muestra del efluente a analizar (porcinaza, lodo Codigestión y lodo San Fernando) (mínimo 50 mL si no se va a realizar replica).



Figura 20. **Tubo falcon**

✓ Probeta con tubo falcon

✓ Se colocaron los 50 mL de las muestras en un tubo Falcon en donde se cercioró de que estuviera bien cerrado.



Figura 21. **Probeta con tubo falcon**

✓ Se ubicaron los tubos falcón en la centrifuga a una velocidad de 5000 rpm por 10 minutos (se aseguró de que los pesos de los tubos sean muy parecidos para evitar daños de la centrifuga).



Figura 22. **Centrifuga**

✓ Se ubicaron los tubos falcón luego de la centrifugación en una gradilla y se midieron los 40 mL del sobrenadante en una probeta graduada.



Figura 23. **Gradilla con tubos falcón**

✓ Se colocó un agitador magnético en el vaso de precipitado donde se va realizó la titulación.

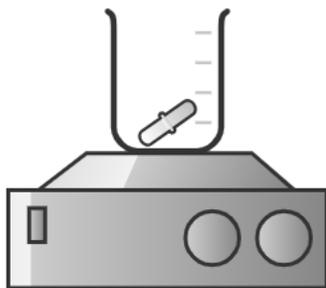


Figura 24. **Agitador magnético**

- ✓ Agregar los 40 mL de sobrenadante en el vaso de precipitado con el agitador.

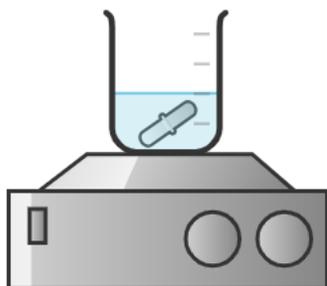


Figura 25. **Agitador**

- ✓ Se colocó la solución de H_2SO_4 0.1 N con la que se tituló.



Figura 26. **Titulador 1**

✓ Posteriormente, se seleccionó la opción de purgar en el titulador y se oprimió start, en donde se aseguró que en las mangueras de la línea ya se encontraba el H_2SO_4 .



Figura 27. **Titulador 2**

✓ Se seleccionó el programa que se encuentra en el titulador para el método “Kapp” y se oprimió Start.



Figura 28. **Titulador 3**

Etapa 2: en este punto se planeó como se iban a realizar los montajes experimental en los que se emplearon dos tipos de inóculo: el primer inóculo a evaluar junto con la porcিনaza como sustrato es un lodo proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales de San Fernando ubicada en Medellín, Antioquia (LS) y el otro inóculo que se utilizó para evaluarse junto con la porcিনaza como sustrato se recolectó de un reactor anaerobio tipo UASB el cual opera con POME y porcিনaza como sustratos, este reactor se encuentra ubicado en el laboratorio de Bioprocesos de la Universidad de Antioquia (LC), y como sustrato para todo el montaje se utilizó la porcিনaza. De igual manera, se montaron blancos de LS (LS4) y LC (LC4), los cuales no contenían sustrato para poder calcular el potencial metanogénico, por otro lado, para proporcionar los volúmenes específicos de los inóculos y el sustrato se realizó una relación de inóculo/sustrato la cual fue de 2 en términos de sólidos volátiles, (tabla 1) con un volumen total de trabajo de 400 mL y aproximadamente 150mL de espacio de volumen de cabeza, (tabla 2).

Tabla 2. Análisis de sólidos del sustrato e inóculos

	Sólidos Totales (gSV/Kg muestra)	Sólidos Volátiles (gSV/Kg muestra)
Porcinaza	32.2	24.8
Lodo Codigestión (LC)	42.2	23.8
Lodo San Fernando (LS)	9.1	4.9

$$V_i + V_s = 0.4L \quad \rightarrow \text{Ecuación 1.}$$

$V_i = \text{Volumen Inóculo}$

$V_s = \text{Volumen Sustrato}$

$$\frac{g \text{ Sólidos volátiles inóculo}}{g \text{ Sólidos volátiles sustrato}} = 2 \rightarrow \text{Relación inóculo sustrato}$$

$$gSV \text{ inóculo} = V_i * C_i$$

$$gSV \text{ sustrato} = V_s * C_s$$

$$\text{Remplazamos en la relación inóculo sustrato} = \frac{V_i * C_i}{V_s * C_s} = 2 \rightarrow \text{Ecuación 2}$$

$C_i = \text{Concentración inóculo}$

$C_s = \text{Concentración Sustrato}$

$$\frac{V_i \cdot C_i}{V_s \cdot C_s} = 2 \quad \rightarrow \quad V_i = \frac{2V_s \cdot C_s}{C_i} \quad \rightarrow \quad \frac{2V_s \cdot C_s}{C_i} + V_s = 0.4L \quad \rightarrow \quad V_s \left(\frac{2C_s}{C_i} + 1 \right) =$$

0.4l

$$V_s = \frac{0.4l}{\frac{2C_s}{C_i} + 1} \quad V_i = 2 \left(\frac{0.4l}{\frac{2C_s}{C_i} + 1} \right) * \left(\frac{C_s}{C_i} \right)$$

$$V_s (\text{Lodo codigestión}) = \frac{0.4l}{2 \left(\frac{24.8 \frac{gSV}{kg}}{23.8 \frac{g}{kg}} + 1 \right)} = 0.130l \quad V_i (\text{lodo Codigestión}) =$$

$$2 \left(\frac{0.4l}{2 \left(\frac{24.8 \frac{gSV}{kg}}{23.8 \frac{g}{kg}} + 1 \right)} \right) * \left(\frac{24.8 \frac{gSV}{kg}}{23.8 \frac{gSV}{kg}} \right) = 0.27l$$

$$V_s (\text{Lodo codigestión}) = \frac{0.4l}{2 \left(\frac{24.8 \frac{gSV}{kg}}{4.9 \frac{g}{kg}} + 1 \right)} = 0.036l \quad V_i (\text{lodo San fernando}) =$$

$$2 \left(\frac{0.4l}{2 \left(\frac{24.8 \frac{gSV}{kg}}{4.9 \frac{g}{kg}} + 1 \right)} \right) * \left(\frac{24.8 \frac{gSV}{kg}}{4.9 \frac{gSV}{kg}} \right) = 0.36l$$

Tabla 3. Volúmenes de trabajo

	SV inóculo (gSV/Kg muestra)	SV sustrato (gSV/Kg muestra) (Porcinaza)	Volumen total (L)	Volumen de sustrato (L)	Volumen de inóculo (L)
Lodo Codigestión (LC)	23,8	24,8	0,4	0,130	0,27
Lodo San Fernando (LS)	4,9	24,8	0,4	0,036	0,36

La concentración de sustrato (Porcinaza) utilizada fue de 24,8 g SV/L con una relación inóculo/sustrato de 2 g SV inóculo/g SV sustrato. Posteriormente, al tener los volúmenes establecidos, para la evaluación de potencial de biogás (Montaje) se llevó a cabo ensayos por triplicado del lodo san Fernando (LS) y del lodo codigestión (LC) junto con la porcinaza como sustrato para la medición de biogás y adicionalmente una réplica para la toma de muestras, los cuales son los blancos (LS4 y LC4), con un volumen de trabajo de 0,4 L y la temperatura se mantuvo en condiciones mesofílicas a 26° C.



Figura 29. **Montaje experimental del lodo san Fernando y lodo codigestión**

El montaje de los ensayos por lotes constó de 12 recipientes de vidrio de 500 ml, tapones de caucho, aguja de un calibre 14, llave de tres pasos, manguera siliconada y bolsa Tedlar (ver Figura 1). Para las tomas de muestra (LC4 y LS4) se tuvieron en cuenta otro tipo de configuración empleando una tapa con doble salida (ver Figura 29)



Figura 30. **ontaje experimental para LC4 y LC5**

Para la medición de Biogás se empleó el siguiente paso a paso:

✓ 1. Inicialmente, se midió la temperatura de todo el montaje, en donde se tomó un promedio de todas las mediciones.



Figura 31. **Medidor de temperatura**

✓ Posteriormente, se mezclaron todos los recipientes del montaje para tener una homogeneidad a la hora de medir el biogás y se esperó cinco minutos antes de la medición.



Figura 32. **Montaje experimental 1**

✓ Seguidamente, se tomó el recipiente, se cerró la válvula por donde salía el biogás hacia la bolsa de almacenamiento. Se cerró igualmente la válvula que conectó el recipiente con la bolsa de almacenamiento de biogás y posteriormente esta se retira.



Figura 33. **Montaje experimental 2**

✓ Con un conducto se conectó la bolsa de almacenamiento con la parte cilíndrica de una jeringa y se abrió la válvula de la bolsa para que pueda pasar el biogás



Figura 34. **Bolsa Tedla para medición de biogas**

- ✓ Seguidamente, se tiró del embolo de la jeringa para succionar el biogás de la bolsa.



Figura 35. **Medición de biogas**

- ✓ Finalmente, para ratificar la producción de biogás, se colocó un encendedor en la parte superior de la jeringa en donde se empujó el embolo para extraer el biogás, y si este generaba combustión, se confirmaba la existencia de biogas generando un fuego constante.



Figura 36. **Prueba de biogas**

Etapa 3: luego de realizar los montajes experimentales y corroborar la presencia biogás en los reactores posterior al tiempo de duración de la digestión anaerobia se procedió a realizar el análisis de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), para la cual se realizó la siguiente metodología:

Metodología de medición de HPLC

✓ Las muestras almacenadas cada 2 días en la nevera de -80° , se retiraron de la nevera para realizar su posterior proceso de preparación para la prueba de HPLC



Figura 37. **Nevera de -80**

- ✓ Inicialmente, se retiraron y descongelaron en una gradilla



Figura 38. **Gradillas**

- ✓ Se realizó una dilución 2 en 1 con ayuda de una micropipeta y agua destilada



Figura 39. **Tubos eppendorf**

- ✓ Con la dilución realizada se filtraron cada una de las muestras y se almacenó en nuevos tubos eppendorf. El filtrado se realizó con ayuda de una jeringa nueva para cada muestra, y asimismo un filtro de acetato de celulosa de 0.2 μm para cada una.



Figura 40. **Filtrado**

Las muestras filtradas se guardaron en un recipiente color ámbar



Figura 41. **Filtrado en ubos ambar**

Preparación corrida HPLC

✓ Preparación de la muestra: se aseguró que la muestra esté adecuadamente preparada para la inyección en el sistema HPLC. (diluida y filtrada)



Figura 42. **Filtro**

✓ Preparación de la fase móvil de H_2SO_4 0.1N: se preparó el solvente filtrando con filtro de acetato de celulosa de $0.2\mu\text{m}$. en donde se aseguró de que estén debidamente purificados y libres de burbujas.



Figura 43. H_2SO_4 0.1N

✓ Calibración del equipo: se revisó el detector de índice de refracción (DIR), la bomba, la columna y otros componentes del equipo estuvieran calibrados y funcionando correctamente.



Figura 44. Calibración

✓ Preparación de la columna CarboSep Coregel 87H3: se cargó la columna HPLC en el sistema, rectificando de que esté correctamente conectada y equilibrada con la fase móvil que se va a utilizar.

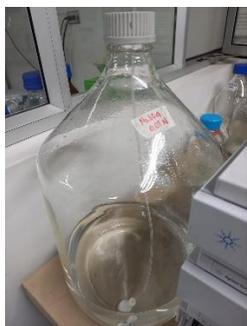


Figura 45. **Fase móvil**

✓ **Configuración del método:** se ingresó los parámetros específicos en el software del HPLC, inyección de 20 μ L, velocidad de flujo de 0.6ml/min, temperatura de la columna de 80°C y temperatura del detector de IR de 55°C.

✓ **Inyección de muestra:** se cargó 20 μ L de muestra en el inyector automático y se seleccionó la opción para inyectarla en la columna.



Figura 46. **Inyección de muestra**

✓ **Elución:** La fase móvil comenzó a pasar a través de la columna, separando los componentes de la muestra en función de sus interacciones con la fase estacionaria. Los componentes se separaron en el tiempo en función de sus afinidades físicas.

✓ **Detección:** A medida que los componentes eluidos salieron de la columna, pasaron a través del detector IR (Detector de índice de refracción). Esto generó un cromatograma que muestra las señales en función del tiempo.



Figura 47. **Detección**

✓ **Análisis de datos:** se utilizó el software del HPLC para analizar los datos y determinar los tiempos de retención, las áreas de pico y cualquier otro parámetro necesario para cuantificar y caracterizar los componentes de la muestra.

✓ **Limpieza y mantenimiento:** Después de completar la corrida, se limpió adecuadamente el sistema, enjuagando la columna y purgando las líneas para evitar la contaminación cruzada.

4. Resultados y análisis

En primer lugar, se midió el pH de la porcinaza (sustrato) y de los inóculos (ver Tabla 3); el rango de valores que se obtuvo fue de 7.19 a 7.78. Estos valores están por debajo de los reportados por otras investigaciones, donde reportan valores por encima de 7.90 e incluso ensayos donde el pH es más alcalino. (Oyola Torres & Nogales Chacón, 2019; Rodríguez Rodríguez & Sánchez Camargo, 2017).

Tabla 4. Análisis fisicoquímico

	Unidad	Porcinaza	Lodo San Fernando	Lodo Codigestión
pH	-	7.78	7.28	7.19
ST	%	4,16 ± 0,11	2,24 ± 0,01	1,27 ± 0,05
SV	%	3,62 ± 0,29	1,05 ± 0,01	0,72 ± 0,06
Humedad	%	95,8 ± 0,01	97,8 ± 0,01	98,7 ± 0,02
DQOt	g/L	56,2 ± 0,1	18,2 ± 0,3	10,7 ± 1,3
DQOs	g/L	26,9 ± 0,3	5,4 ± 0,1	3,2 ± 0,4
Alcalinidad total	g/L	2,51 ± 0,04	4,11 ± 0,03	3,52 ± 0,08
AGVs total	g/L	3,19 ± 0,04	0,24 ± 0,13	0,28 ± 0,02

En segundo lugar, la concentración de sólidos totales en las diferentes muestras analizadas muestran datos muy interesantes para nuestra investigación (ver Figura 4), ya que se puede observar una relación aceptable entre el sustrato y los inóculos para la evaluación del potencial metanogénico, en cuestión de la relación de alcalinidad y los procesos de digestión (ver Tabla 3) (Aguilar Badillo, Méndez Contreras, & Hernández Aguilar, 2019). Adicionalmente, los valores de DQO (demanda química de oxígeno) y humedad permiten estimar la adaptabilidad de lodos al

sustrato de estudio, al igual que, la tasa de oxidación de los compuestos orgánicos entre las muestras estudiadas.

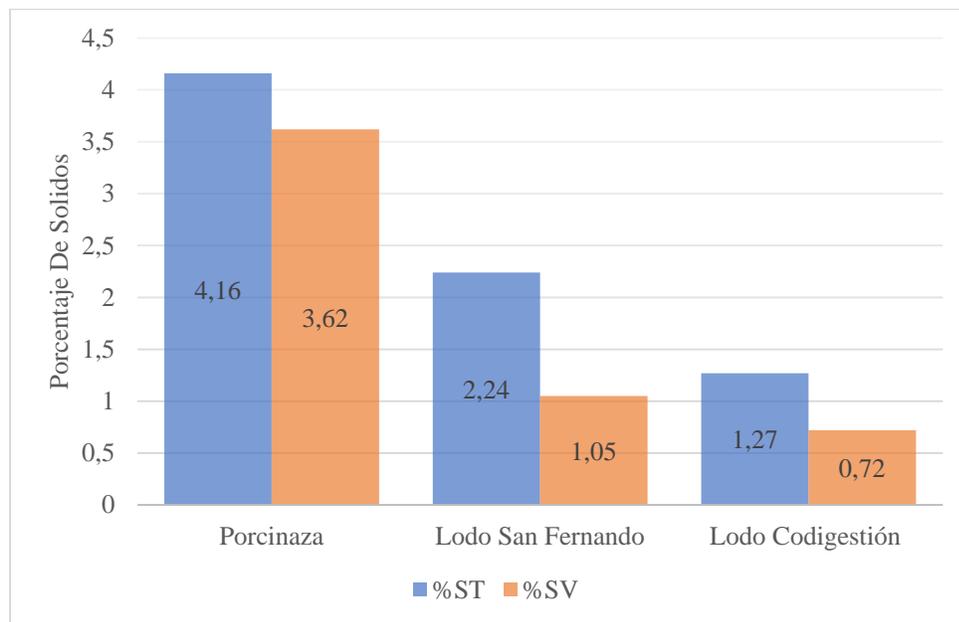


Figura 48. **Porcentaje de ST y SV en cada inóculo y sustrato**

De acuerdo a la literatura los porcentajes de sólidos totales y sólidos volátiles en la porcinaza se encuentran en un rango deseable (3% a 7%) para la evaluación del potencial metanogénico (Gallo Guarín; Pozuelo, 2005) (ver Figura 2). Al mismo tiempo, la relación entre los ácidos grasos volátiles de la porcinaza y los dos tipos de lodos analizados muestran una diferencia importante respecto a la concentración de los mismos, lo cual, presenta una oportunidad para ayudar a controlar la digestión anaerobia (DA) bajo este importante parámetro.

Por otro lado, la evaluación del potencial metanogénico de la porcinaza y el comportamiento de las cinéticas de los procesos DA empleando dos tipos de inóculo LC y LS. Esto permitió obtener los parámetros de arranque necesarios para el montaje experimental triplicado del

inóculo LC (ver Tabla 4 y 5), al igual que, el tiempo de análisis que para este caso de estudio consistió en tomar muestras cada dos días por 30 días de proceso para la medición de biogás.

Tabla 5. Concentraciones iniciales de solidos volátiles para el montaje LC (lodo codigestión)

	Concentración (g SV/L)	Cantidades (L)	g SV
Inóculo (Lodo Codigestión)	23.6	0.27	6.372
Sustrato (Porcinaza)	24.8	0.13	3.224
Volumen Total		0.4	

Tabla 6. Concentración inicial de BLC

	Concentración (g SV/L)	Cantidad (L)	g SV
Inóculo (Lodo codigestión)	23.6	0.4	9.44

Luego de obtener la muestra de cada montaje experimental, se realizó la medición de la concentración de biogás producida cada dos días. Durante los primeros 8 días de análisis las réplicas LC1 y LC3 se alcanzaron los valores máximos de producción siendo de 220 y 250 mL de biogás/día respectivamente. A diferencia del montaje LC2 que alcanzo el valor máximo (220 mL biogás/día) al día 10 de fermentación. Después del día 15 se observó en las tres replicas una baja en la producción de biogás pasando de un valor promedio de 150 mL de biogás/día a un valor por debajo de 10 mL de biogás/día después de los 25 días de proceso (ver Figura 5). Comparando los resultados obtenidos con el estudio realizado por (Flores-Hidalgo, 2014), se puede observar la importancia del porcentaje de solidos del inoculo y el sustrato que se emplea

para la DA. Ya que para la DA de residuos vegetales en un reactor de 2,5 litros con porcentaje de solidos igual a 5% es exitosa, a diferencia de un proceso con 8% de solidos donde ocurre una inhibición por AGVs, es decir que, las comunidades microbianas presentes en el lodo anaerobio con un sustrato con una concentración elevada de solidos tienen una tasa de adaptabilidad metabólica compleja que se ve afectada por el exceso de nutrientes para el crecimiento microbiano y la producción de biogás.

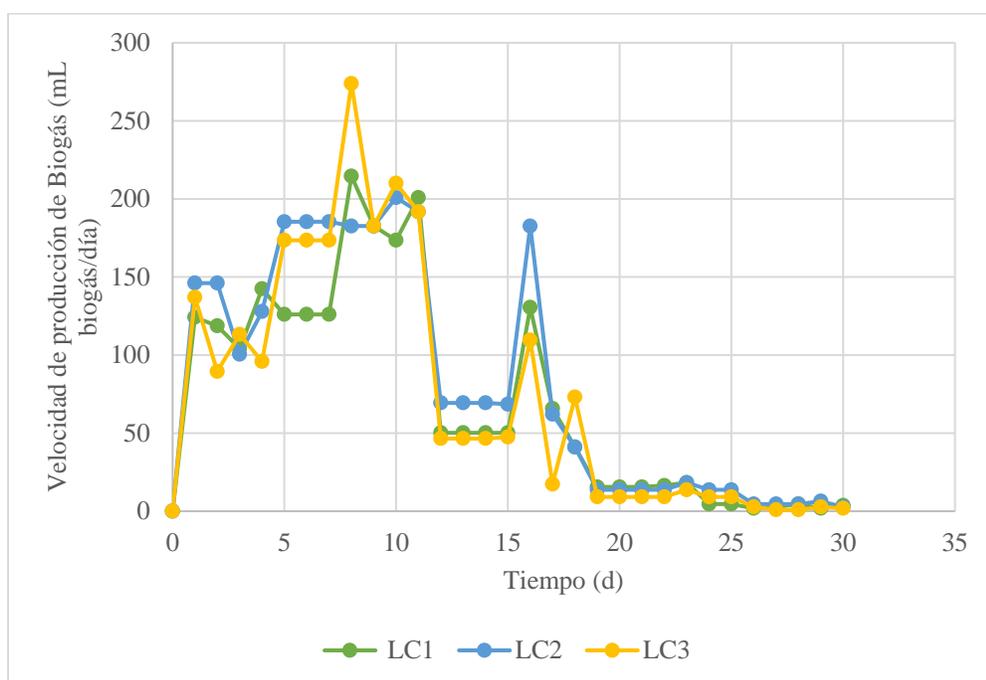


Figura 49. Comportamiento de la producción de Biogás en el tiempo

Para realizar la comparación del potencial metanogénico de la porcinoza respecto a los dos lodos empleados (LC y LS). Se tomaron los resultados de LS de un estudio preliminar realizado en el laboratorio de Bioprocesos de la Universidad de Antioquia. Las ecuaciones empleadas para medir la producción específica de biogás de LC y LS fue:

$$RB = \frac{\left(LC - \left(BLC * \frac{gSViLC}{gSViBLC} \right) \right)}{gSVs}$$

RB= Producción específica de biogás (mL biogás/ g SV)

LC= Volumen promedio de biogás acumulado de LC

BLC= Volumen promedio de biogás acumulado de BLC

g SVi BLC= g SV del inóculo en BLC

g SVi LC= g SV del inóculo en LC

g SVs LC= g SV del sustrato en LC

$$RB = \frac{\left(LS - \left(BLS * \frac{gSViLS}{gSViBLS} \right) \right)}{gSVs}$$

RB= Producción específica de biogás (mL biogás/ g SV)

LS= Volumen promedio de biogás acumulado de LS

BLS= Volumen promedio de biogás acumulado de BLS

g SVi BLS= g SV del inóculo en BLS

$g\ SV_i\ LS = g\ SV\ del\ in\acute{o}culo\ en\ LS$

$g\ SV_s\ LS = g\ SV\ del\ sustrato\ en\ LS$

Una vez obtenido los datos de RB en mL biogás/gSV se convierten a unidades de mL de CH₄/gSV, teniendo en cuenta una relación de concentración de metano de 60% en el combustible.

En la figura 6, se puede observar los rendimientos obtenidos luego del proceso de DA. El rendimiento de LS alcanzó un valor de 240,6 + 5 NmL CH₄/ gSV en el día 30 de fermentación. A diferencia de LS, el lodo de codigestión o LC reporta valores de 415,9 + 5 NmL CH₄/ gSV, es decir, 1.75 veces más que en el montaje experimental con LS. Esta diferencia de potencial metanogénico se puede adjudicar al origen y composición de cada lodo empleado en los experimentos, debido a que, LS se obtuvo de una planta de tratamiento de agua residual, es decir, las comunidades bacterianas existentes en este inóculo tienen condicionado su metabolismo de acuerdo con la composición fisicoquímica de las aguas residuales que se tratan ahí. De este modo, la adaptación de LS a la porcina requiere un gasto energético mayor, ya que, las comunidades microbianas no solo van a producir biogás, sino que necesitan esta energía para generar nuevas células y asimilar el nuevo sustrato para lograr estabilizar los procesos metabólicos.

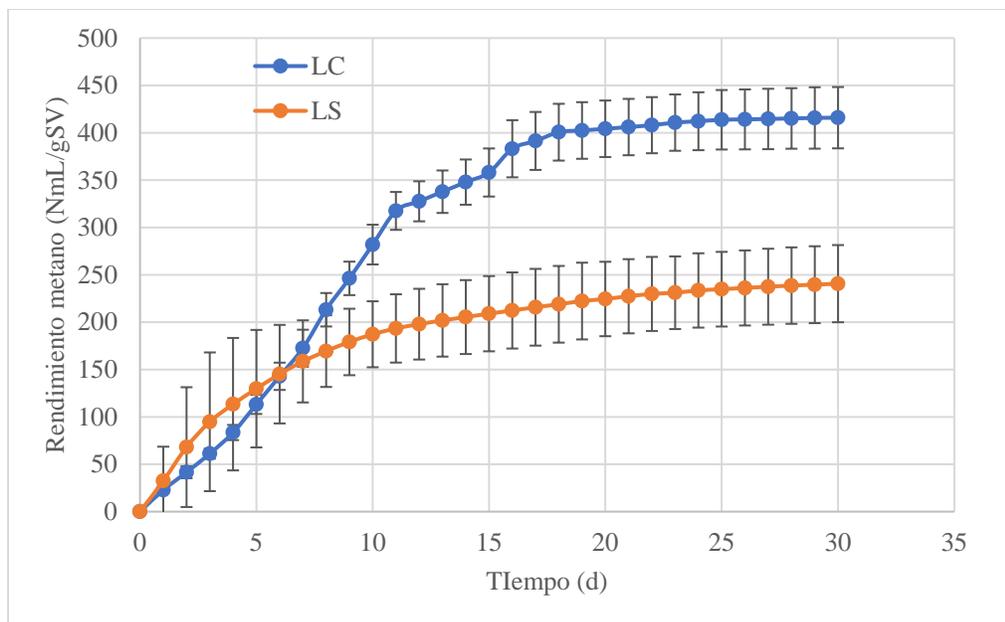


Figura 50. **Rendimiento de metano en condiciones normales**

Por otra parte, LC al estar compuesto por comunidades microbianas adaptadas a utilizar como fuente de nutrientes la porcínaza y los efluentes de aceite de palma (POME) no requieren un gasto energético importante para mantener un óptimo desarrollo metabólico, por lo tanto, la producción de biogás va a hacer mayor a la obtenida empleando cualquier lodo anaerobio que no esté adaptado a la composición fisicoquímica de la porcínaza. Los datos obtenidos en esta investigación son similares a los reportados por Vanegas et al. (2023), donde se obtuvo un rendimiento de 465 y 240 Nml CH₄/ gSV utilizando POME y estiércol de cerdo respectivamente después de 30 de fermentación. De acuerdo a lo anterior, se puede evidenciar la importancia del tipo de inóculo a utilizar y el origen de este, al igual que, el tipo de sustrato que se quiere analizar.

Respecto a, la técnica de cromatográfica líquida de alta resolución o HPLC se obtuvo como resultado un análisis detallado de los ácidos grasos volátiles presente en el lodo codigestión (LC)

y en el lodo San Fernando (LS), al igual que, la concentración de los mismos. En primer lugar, los ácidos grasos volátiles presentes en LC y LS fueron ácido acético (AA), ácido propiónico (AP), ácido butírico (AB), ácido isobutírico (AIB) y ácido valérico (AV) en diferentes proporciones. En LC durante los primeros 5 días de análisis se registraron las concentraciones máximas alcanzadas donde el AA registro un valor por encima de 0.16 g/L, otro ácido con una concentración alta fue el AIB el cual alcanzó un valor por encima de 0.06 g/L aproximadamente (ver Figura 7). No obstante, después del día 7 de análisis la concentración de ácidos disminuyó hasta llegar a cero, es decir que, las arqueobacterias presentes en LC tiene una gran actividad metanogénica. Del mismo modo, el rendimiento durante los primeros 10 días presentó un crecimiento exponencial pasando de 0 a 281 NmL de metano/ gSV manteniendo un aumento hasta el día 30. Por otra parte, el comportamiento de la acumulación de AGVs en LS en el tiempo fue muy diferente al lodo de codigestión, debido a que, la concentración máxima de AA se obtuvo en el día 2 de análisis con un valor de 0.136 g/L aproximadamente (ver Figura 8). Sin embargo, el rendimiento de LS fue menor al obtenido en LC.

Un análisis más detallado del comportamiento de los AGVs y la producción de biogás tanto en LC como en LS, permite observar que cada uno de los inóculos posee una muy buena relación respecto a las comunidades de bacterias y arqueobacterias, debido a que, la concentración de ácidos grasos volátiles no superó los 0,2 g/ L en ningún de los dos casos. Por lo tanto, la diferencia de rendimientos se debe principalmente a la adaptación metabólica de LS a la porcínaza y no a la composición microbiológica del lodo, ya que no se observa una inhibición en la actividad metanogénica con la acumulación de AGVs.

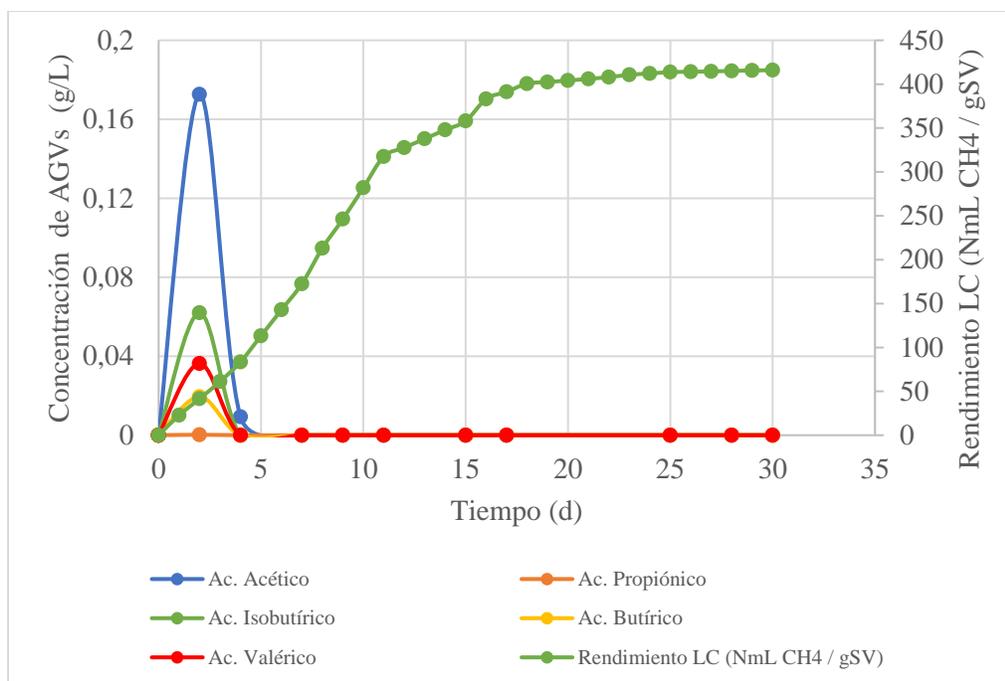


Figura 51. Análisis de HPLC y Rendimiento de LC

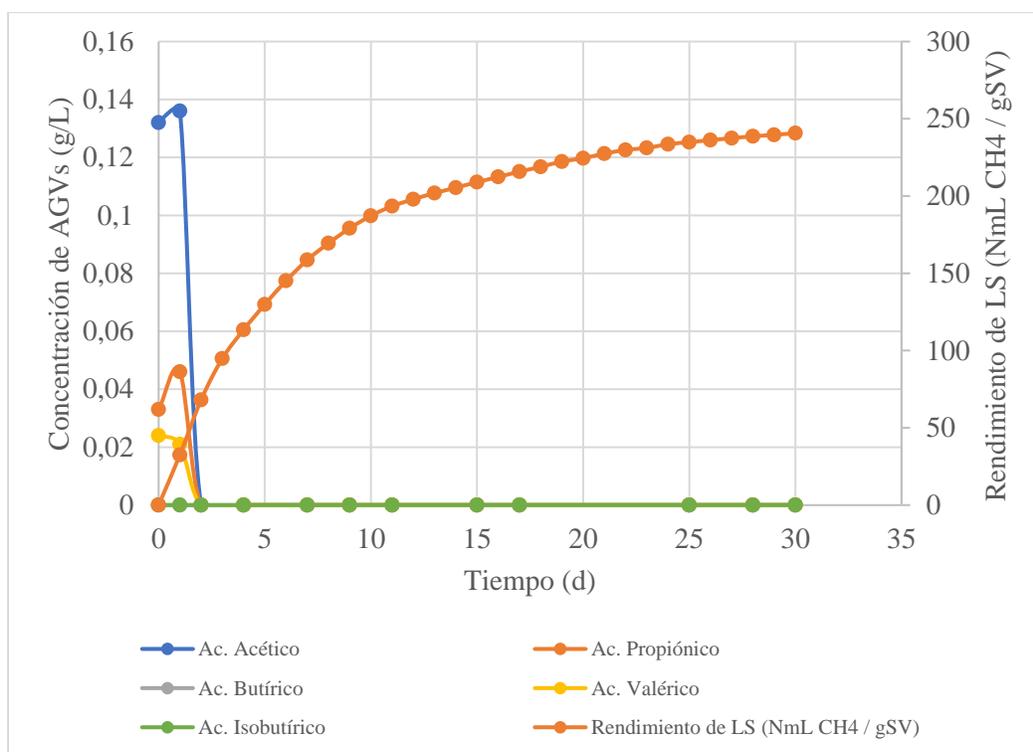


Figura 52. Análisis de HPLC y Rendimiento de LS

Finalmente, la influencia de los AGVs durante la DA puede ser beneficiosa o perjudicial, dependiendo de las concentraciones y proporciones que se encuentren. Si se logra una concentración que los microorganismos presentes en los lodos anaerobios puedan asimilar la producción de biogás aumentara, debido a, la gran fuente de energía que representan estos compuestos para dichos microorganismos. (Herrera Suarez, 2020). En contraste, las concentraciones elevadas de AGVs pueden tener un efecto inhibitorio sobre los microorganismos responsables de la digestión anaerobia llevando a una disminución en la producción de biogás y en la eficiencia del proceso de digestión. Asimismo, los AGVs en exceso pueden reducir el pH del ambiente de digestión ocasionando condiciones ácidas que son perjudiciales para los microorganismos metanogénicos, que son responsables de la producción de metano. Por ello, un equilibrio entre la concentración de estos ácidos y el inóculo es primordial para una adecuada digestión anaerobia. (Olivera López, 2020)

5. Conclusiones

En conclusión, el perfil fisicoquímico del sustrato mostró una composición con una alta concentración de ácidos grasos volátiles (3.19 ± 0.04 g/L) y un pH de 7,78. A diferencia, los lodos empleados como inóculos mostraron una concentración significativamente menor a la de la porcina reportando valores de 0.24 ± 0.13 g/L en LS y 0.28 ± 0.02 g/L en LC. Del mismo modo, la concentración de la demanda química de oxígeno en el sustrato fue superior reportando un valor por encima de 56 g/L. Sin embargo, los datos de humedad en las tres muestras analizadas fueron similares entrando en un rango de 95 a 99%.

Por otra parte, la evaluación del potencial de producción de metano de la porcina permitió observar que los picos de la velocidad de producción específica de cada replica (LC1, LC2 y LC3) que se alcanzaron en el día 8 y 10, los valores alcanzados fueron de 250, 220 y 180 mL de biogás/ día respectivamente. Respecto al rendimiento, LS alcanzó un valor de $240,6 \pm 5$ NmL CH₄/ gSV en el día 30 de fermentación. A diferencia de LS, que reportó un valor de $415,9 \pm 5$ NmL CH₄/ gSV, es decir, 1.75 veces más que en el montaje experimental con LS. Esta diferencia de potencial metanogénico se puede adjudicar al origen y composición de cada lodo empleado en los experimentos

Finalmente, se logró determinar cuáles ácidos grasos volátiles se encontraban en cada muestra de biogás obtenido de la digestión anaerobia, los cuales fueron el acético (AA), ácido propiónico (AP), ácido butírico (AB), ácido isobutírico (AIB) y ácido valérico (AV). La concentración más alta de AA se obtuvo en el combustible de LC el cual alcanzó un valor de 0,16 g/L. Asimismo, la acumulación máxima de AA fue de 0,136 g/L en LS en los primeros 5

días de análisis de HPLC, es decir que, los lodos estudiados presentan una relación muy buena de bacterias acidogénicas y arqueobacterias metanogénicas. Sin embargo, el lodo bajo las condiciones estudiadas que mostro mayor potencial metanogénico fue LC, alcanzando un valor de rendimiento en el día 30 igual a 415,9 NmL/ gSV.

Referencias bibliográficas

- Aguilar Badillo, J., Méndez Contreras, J. & Hernández Aguilar, E. (2019). Determinación de parámetros reológicos durante la producción de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de un residuo de origen porcícola.
- Alisawi, H. (2020). Performance of wastewater treatment during variable temperature. *Applied Water Science*, 10(4), 89.
- Ayala, S., Jijón, P. & Chacha, P.(2022). Estudio de un sistema de energía renovable para la producción de biogás a partir del estiércol de ganado en la hacienda Nueva Esperanza (Cotopaxi, Ecuador). *Espacios*, 43(05).
- Basak, K. (2022). Scale-up challenges: Wastewater. (pp. 351-353): Elsevier.
- Bhatt, A. & Tao, L. (2020). Economic perspectives of biogas production via anaerobic digestion. *Bioengineering*, 7(3), 74.
- Carreño Quintero, D. (2021). Estudio del mercado del gas natural para el abastecimiento de combustible mediante el análisis de oferta y demanda en Colombia.
- Castro-Molano, L., Parrales-Ramírez, Y. & Escalante-Hernández, H. (2019). Co-digestión anaerobia de estiércoles bovino, porcino y equino como alternativa para mejorar el potencial energético en digestores domésticos. *Ion*, 32(2), 29-39.

- Deviney, A., Classen, J., Bruce, J., & Sharara, M. (2020). Sustainable swine manure management: A tale of two agreements. *Sustainability*, 13(1), 15.
- Endara, A. d. I. M. G., Heinert, M. E. J., & Solórzano, H. X. P. (2020). Contaminación del agua y aire por agentes químicos. *Recimundo*, 4(4), 79-93.
- Flores-Hidalgo, D. (2014). Potencial metanogénico de residuos lignocelulósicos específicos disponibles en las fincas agrícolas costarricenses para cogeneración. Cartago: Instituto Tecnológico De Costa Rica
- Gallo Guarín, J. (2021) Manejo de biol Porcino obtenido por medio de Biodigestor en Rionegro– Antioquia. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Obtenido de <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/43508/Jigallog.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
- Guzmán Gutiérrez, E.; Noriega Rodríguez, J (2019). Proyección de la producción de biogas y biofertilizante orgánico a partir de efluentes agroindustriales en biodigestores anaeróbicos. s.f.: Universidad de Sonora
- Herrera Suarez, E. (2020). *Definición de las condiciones de operación que maximizan la producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGVs), a partir del proceso de digestión anaeróbica, empleando aguas residuales mediante pruebas a escala de laboratorio.*

Gómez, E., & Torres Chinome, A. (2022). Análisis de la seguridad en el abastecimiento de gas natural en Colombia en un medio plazo (2032).

Universidad de los Andes. Obtenido de

<https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/63882/An%c3%a1lisis%20de%20la%20seguridad%20del%20abastecimiento%20de%20gas%20natural%20en%20Colombia%20en%20un%20medio%20plazo%20%282032%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

Jusmet, J. (2022). La política climática y los combustibles fósiles: una perspectiva desde la oferta. *Economía Crítica* (34), 9-25.

Lendormi, T., Jaziri, K., Béline, F., Le Roux, S., Bureau, C., Midoux, C., Dabert, P. (2022).

Methane production and microbial community acclimation of five manure inocula during psychrophilic anaerobic digestion of swine manure. *Journal of cleaner production*, 340, 130772.

Llerena Saavedra, A. & Vasquez Solis, J. (2022). *Modelos cinéticos aplicados en la Co-digestión anaerobia usando estiércol y residuos orgánicos para la producción óptima de metano. Revisión sistemática*. s.l.: Universidad Cesar Vallejo. Obtenido de:

<https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/96943>

Martin-Calvo, J., & Castañeda-Gomez, J. (2021). Estimación de metano, dióxido de carbono y compuestos orgánicos en el relleno de Doña Juana en Bogotá, Colombia. *Ciencias Ambientales*, 55(2), 307-320.

- Martínez Figueroa, K. (2020). *Producción de biogás a partir de los residuos orgánicos generados por el estiércol de ganado en una finca ubicada en el municipio de Ipala, departamento de Chiquimula*. s.l: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Moreno, J., Herrera, A. & Reina, A. (2022). Cinética de la digestión anaeróbica de excretas porcinas para la obtención de biogás en laboratorio. *Ingeniería Agrícola*, 12(4).
- Mortola, N., Romaniuk, R., Cosentino, V., Carfagno, P., Eiza, M., Otero Estrada, E., Sainz, D. S. (2022). Uso de digeridos derivados de la producción de biogás como biofertilizante y enmienda del suelo. *Retrieved from*
- Mosquera Mena, A. M. (2021). *Balances de masa y análisis energético de un proceso de digestión anaerobia desarrollado en un reactor UASB para la generación de biogás a partir de porcinoza*. Medellín: Universidad de Antioquia. Obtenido de:
https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/23104/6/MosqueraAna_2021_ProcesoDigestionAnaerobia.pdf
- Nevárez, E., Murillo, S., Correa, W. & Baquerizo, J. (2022). Sistemas aplicados al cambio de matriz productiva de combustibles fósiles por Biocombustibles en el Ecuador. *Ibérica de Sistemas e Tecnologias de Informação* (E53), 413-423.
- Olivera López, Y. (2020). *Optimización de la hidrólisis en la digestión anaerobia de paja de arroz mediante pretratamientos alcalinos*. s.l: Universidad de Gramma

Oyola Torres, M. A., & Nogales Chacón, M. J. (2019). Análisis de calidad del suelo debido a la irrigación de residuo líquido de Porcinaza en una granja porcícola en la vereda Arracachal.

Pérez, H., & Ferrer, Y. (2010). Los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás. Consideraciones en la elección del inóculo para el mejoramiento de la calidad y el rendimiento. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 43(1), 9-20.

Pozuelo, E. C. (2005). *Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria*. Universitat de Lleida,

Quiroga Rueda, J., Vargas Delgado, L. & Osorio Flórez, J. (2022). *Determinación del potencial de la excreta de pollo producida en una granja avícola del municipio de los santos para la cogeneración de energía eléctrica y biogás para uso interno de la granja*. Bucaramanga: Unidades Tecnológicas De Santander. Obtenido de:

<http://repositorio.uts.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/9865/F-DC-125%20%20Informe%20Final.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ranville, M., Cutter, G., Buck, C., Landing, W., Cutter, L., Resing, J. & Flegal, A. (2010). Aeolian contamination of Se and Ag in the North Pacific from Asian fossil fuel combustion. *Environmental science & technology*, 44(5), 1587-1593.

Rodríguez Rodríguez, G. & Sánchez Camargo, Á. (2017). *Evaluación ambiental de los usos potenciales de la porcinaza posterior a su tratamiento de estabilización*. Universidad de La Salle. Obtenido de:

https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1494&context=ing_ambiental_sanitaria

- Saif, I., Salama, E., Usman, M., Lee, D., Malik, K., Liu, P. & Li, X. (2021). Improved digestibility and biogas production from lignocellulosic biomass: Biochar addition and microbial response. *Industrial Crops and Products*, 171, 113851.
- Scheper, T., Beutel, S., McGuinness, N., Heiden, S., Oldiges, M., Lammers, F. & Reardon, K. (2021). Digitalization and bioprocessing: promises and challenges. *Digital Twins: Tools and Concepts for Smart Biomanufacturing*, 57-69.
- Severo, I., Siqueira, S., Depra, M., Maroneze, M., Zepka, L. & Jacob-Lopes, E. (2019). Biodiesel facilities: What can we address to make biorefineries commercially competitive?. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 112, 686-705.
- Vanegas, A., Vásquez, J., Delgado, J., Domínguez-Carvajal, D., Mosquera-Mena, A., Molina, F. & Peñuela-Vásquez, M. (2023). Evaluation of Potential Substrates for Biogas Production in Colombia using Anaerobic Digestion Systems. *Ingeniería e Investigación*, 43(2), e100834-e100834.
- Vega Martínez, D. & Silva Ariza, F. (2020). *Estudio para la producción de biogás a partir de residuos orgánicos de búfalo mediante la biodigestión en el municipio de Rionegro, Santander*. Bucaramanga: Universidad Autónoma De Bucaramanga (UNAB)

- Veroneze, M., Schwantes, D., Goncalves Jr, A., Richart, A., Manfrin, J., Da Paz Schiller, A., & Schuba, T. (2019). Production of biogas and biofertilizer using anaerobic reactors with swine manure and glycerin doses. *Journal of cleaner production*, 213, 176-184.
- Winkel, L., Vriens, B., Jones, G., Schneider, L., Pilon-Smits, E., & Bañuelos, G. (2015). Selenium cycling across soil-plant-atmosphere interfaces: a critical review. *Nutrients*, 7(6), 4199-4239.
- Xiao, Y., Yang, H., Yang, H., Wang, H., Zheng, D., Liu, Y., Deng, L. (2019). Improved biogas production of dry anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology*, 294, 122188.
- Zhao, Y., Wang, C., Zhang, L., Chang, Y. & Hao, Y. (2021). Converting waste cooking oil to biodiesel in China: Environmental impacts and economic feasibility. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 140, 110661.