

Proceso Integral para la Gestión y Valorización de Aguas Residuales del Beneficio Bovino  
Mediante Digestión Anaerobia

Zamir Sánchez Castro

Tesis presentada para optar el título de Doctor en Ingeniería Química

Director

Humberto Escalante Hernández  
Ph.D. Ingeniería Química

Codirector

Liliana del Pilar Castro Molano  
Ph.D. Ingeniería Química

Universidad Industrial de Santander  
Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas  
Escuela de Ingeniería Química  
Doctorado en Ingeniería Química  
Bucaramanga

2026

*Dedicado a los que están y a los que ya partieron.*

*A mi esposa, por su invaluable paciencia y compañía; por ser ese ser de luz que guío mi camino en los momentos de incertidumbre.*

*A mi madre, por haberme enseñado a construirme cada día y a perseverar en mis metas sin importar los obstáculos.*

*A mi hermana, quien con su admiración me inspira a ser un ejemplo a seguir y me recuerda que todo esfuerzo vale la pena.*

*A mi padre, quien, sin haber terminado la primaria, me dio las enseñanzas más importantes de mi vida: la honradez, el trabajo honesto y el valor de la palabra.*

*A mi nono, quien, con su carácter fuerte, pero alegre, me enseñó el don de la responsabilidad y el deber cumplido.*

### **Agradecimientos**

A mis directores por su guía y apoyo constante; por su disposición permanente para orientarme en cada etapa de este proceso.

A los Doctores Davide Poggio y Jaime Martí-Herrero por su valioso aporte al desarrollo de mi investigación.

A mis compañeros de laboratorio por hacer de mi estancia una experiencia enriquecedora y muy agradable.

A la escuela de Ingeniería Química en cuyas aulas y laboratorio cultivé mi conocimiento y fortalecí mi experiencia investigativa.

A Colbeef por el suministro de muestras, datos e información relevante para esta investigación.

A MINCIENCIAS por su apoyo económico en el marco del programa de Doctorados Nacionales Convocatoria 785 de 2016.

**Tabla de Contenido**

	<b>Pág.</b>
Introducción .....	18
1. Sinergia Simultánea en el Rendimiento y la Cinética de Producción de CH <sub>4</sub> : Criterios para Seleccionar las Mejores Mezclas durante la Codigestión de Aguas Residuales y Estiércol del Beneficio Bovino .....	36
1.1. Resumen.....	36
1.2. Introducción.....	37
1.3. Materiales y métodos .....	41
1.3.1. Evaluación de la codigestión anaerobia (CoDA) .....	41
1.3.2. Modelo cinético .....	49
1.3.3. Evaluación de los efectos sinérgicos .....	51
1.3.4. Potencial de producción de estruvita.....	52
1.3.5. Análisis estadístico .....	53
1.4. Resultados y discusión .....	53
1.4.1. Máximo rendimiento específico experimental de CH <sub>4</sub> (B <sub>0</sub> ) de sustratos individuales .....	53
1.4.2. Máximo rendimiento específico experimental de CH <sub>4</sub> en AcoD.....	57
1.4.3. Selección del modelo cinético .....	63
1.4.4. Evaluación de los efectos sinérgicos .....	68
1.4.5. Potencial de producción de estruvita de la CoDA.....	71
1.5. Conclusiones .....	72
1.6. Productos de la Investigación .....	72

2. CoDA de Mezclas Sinérgicas de Aguas Residuales y Estiércol de una Planta de Beneficio Bovino en Digestores Tubulares: Estudio del Efecto de la Composición Mediante ADM1 .....	74
2.1. Resumen.....	74
2.2. Introducción.....	75
2.3. Materiales y métodos.....	80
2.3.1. CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB en digestores tubulares .....	80
2.3.2. Implementación del ADM1.....	88
2.3.3. Efecto de la composición sobre los parámetros bioquímicos del modelo ADM1 .....	92
2.4. Resultados y discusión.....	93
2.4.1. Efecto CoDA de aguas residuales y estiércol de una PBB en digestores tubulares .....	93
2.4.2. Análisis de sensibilidad del modelo ADM1.....	102
2.4.3. Calibración y validación del modelo ADM1.....	105
2.4.4. Análisis del efecto de la composición sobre el proceso de CoDA.....	120
2.4.5. Análisis estadístico .....	128
2.5. Conclusiones .....	130
2.6. Productos de la Investigación .....	131
3. Producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGV's): Alternativa de Valorización de Aguas Residuales del Beneficio Bovino .....	132
3.1. Resumen.....	132
3.2. Introducción.....	133
3.3. Materiales y métodos.....	136
3.3.1. Sustrato e inóculos.....	137
3.3.2. Efecto del inóculo y el TRH sobre el proceso de FA .....	139

3.3.3. Efecto del ajuste del pH sobre el proceso de FA.....	141
3.3.4. Análisis estadístico .....	141
3.3.5. Procedimientos analíticos .....	142
3.4. Resultados y discusión .....	143
3.4.1. Producción de AGV's totales de la FA de la fracción sólida de las AV .....	143
3.4.2. Variación en la concentración de los AGV's individuales durante la FA de la fracción sólida de las AV.....	148
3.4.3. Bioconversión y tasa de acidificación de la fracción sólida de AV .....	153
3.4.4. Efecto del ajuste del pH sobre la FA de la fracción sólida de las AV.....	156
3.5. Conclusiones .....	159
3.6. Productos de la Investigación .....	160
4. Integración de la Tecnología de Digestión Anaerobia en una Planta de Beneficio Bovino: Estudio Tecno-Económico de una Biorrefinería.....	161
4.1. Resumen.....	161
4.2. Introducción.....	162
4.3. Materiales y métodos.....	170
4.3.1. Planta de beneficio bovino (PBB) caso de estudio.....	171
4.3.2. Escenarios de CoDA de mezclas sinérgicas .....	172
4.3.3. Escenarios de integración del proceso de CoDA en la PBB caso de estudio.....	173
4.3.4. Evaluación económica de los escenarios de CoDA .....	175
4.3.5. Integración del proceso de fermentación acidogénica en la PBB .....	179
4.4. Resultados y discusión .....	179
4.4.1. Descripción de las condiciones actuales de la PBB caso de estudio.....	179

4.4.2. Análisis técnico de la integración del proceso de CoDA en la PBB caso de estudio.....	184
4.4.3. Análisis económico de la integración del proceso de CoDA en la PBB caso de estudio..	201
4.4.4. Integración del proceso de fermentación acidogénica para la producción de AGV's .....	206
4.5. Conclusiones .....	210
4.6. Productos de la Investigación .....	211
5. Objetivos y Conclusiones Generales.....	213
5.1. Objetivo Específico 1 .....	213
5.2. Objetivo Específico 2.....	213
5.3. Objetivo Específico 3.....	215
5.4. Objetivo Específico 4.....	216
5.5. Objetivo General.....	218
Referencias Bibliográficas .....	221
Apéndice A: Comparativo entre las curvas de PBM experimentales y predictivas .....	264
Apéndice B: Ajuste de los modelos cinéticos de primer orden y Gompertz modificado .....	267
Apéndice C: Cálculo de equilibrio $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$ .....	274
Apéndice D: CAPEX y OPEX de la integración de la CoDA en la PBB caso de estudio .....	275

**Lista de Tablas**

	<b>Pág.</b>
Tabla 1 <i>Características de las corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB</i> .....	42
Tabla 2 <i>Diseño de mezclas aplicado en la evaluación del proceso de CoDA</i> .....	45
Tabla 3 <i>Ecuaciones aplicadas para evaluar los factores sinérgicos (<math>\phi</math>) en la CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB</i> .....	52
Tabla 4 <i>Evaluación de la CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB</i> .....	61
Tabla 5 <i>Parámetros cinéticos de los modelos ajustados a las curvas de los ensayos de PBM</i> ...	64
Tabla 6 <i>Potencial de producción de estruvita de las mezclas sinérgicas en la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB</i> .....	71
Tabla 7 <i>Caracterización fisicoquímica de los cosustratos y el inóculo</i> .....	81
Tabla 8 <i>Composición de las mezclas seleccionadas para las pruebas de CoDA</i> .....	83
Tabla 9 <i>Condiciones de operación del diseño experimental</i> .....	84
Tabla 10 <i>Parámetros del modelo ADMI</i> .....	90
Tabla 11 <i>Resultados experimentales de la CoDA de aguas residuales y estiércol de una PBB en digestores tubulares</i> .....	94
Tabla 12 <i>Recuperación de fósforo y nitrógeno y producción de estruvita a partir del digerido de la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB</i> .....	99
Tabla 13 <i>Índice de sensibilidad (IS) del ADMI para la CoDA de aguas residuales y EB procedentes de una PBB.</i> .....	103
Tabla 14 <i>Parámetros óptimos del ADMI</i> .....	107

Tabla 15 <i>Estadísticos de prueba de la calibración (Cal.) y validación (Val.) del modelo ADMI</i> .....	114
Tabla 16 <i>Error de validación del modelo ADMI ajustado con respecto a la PEB, %CH<sub>4</sub> del biogás, SV del digerido, pH, NAT, NH<sub>3</sub> y AGV's totales</i> .....	116
Tabla 17 <i>Análisis estadístico de relación entre los parámetros del modelo ADMI y la composición lípidos (<math>x_{Lip}</math>), proteínas (<math>x_{Pro}</math>) y material lignocelulósico (<math>x_{Lign}</math>) y el contenido de sólidos totales (<math>x_{ST}</math>) con un nivel de confianza del 95%</i> .....	129
Tabla 18 <i>Caracterización fisicoquímica de los cosustratos y el inóculo</i> .....	138
Tabla 19 <i>Factores de conversión para la DQO de los AGV's individuales (Morais et al., 2020)</i> .....	141
Tabla 20 <i>Comparativo de la bioconversión y la tasa de acidificación de la FA de la fracción sólida de las AV, en relación con los resultados de otros estudios</i> .....	154
Tabla 21 <i>Comparativo entre los resultados de la FA de la fracción sólida de AV inoculada con LR con ajuste y sin ajuste de pH</i> .....	157
Tabla 22 <i>Regulación ambiental de las concentraciones para vertimientos de PBB en algunas regiones del mundo</i> .....	163
Tabla 23 <i>Desempeño de la DA de aguas residuales del beneficio animal en procesos continuos y semi-continuos a escala laboratorio</i> .....	165
Tabla 24 <i>Escenarios de CoDA evaluados para la integración en la PBB caso de estudio</i> .....	173
Tabla 25 <i>Escenarios de integración de la CoDA en la PBB caso de estudio</i> .....	174
Tabla 26 <i>Parámetros económicos para la integración del proceso de CoDA en la PBB caso de estudio</i> .....	175

Tabla 27 <i>Estructura de costos para la integración del proceso de CoDA en la PBB caso de estudio</i> .....	176
Tabla 28 <i>Características operacionales de la PBB seleccionada para este estudio</i> .....	180
Tabla 29 <i>Resultados de la simulación de la CoDA de mezclas sinérgicas de aguas residuales y estiércol de PBB</i> .....	185
Tabla 30 <i>Resumen de las mejores condiciones de TRH para cada CoDA</i> .....	187
Tabla 31 <i>Ahorros de gas natural, energía eléctrica e insumos químicos en la integración de la CoDA de aguas residuales y estiércol en la PBB</i> .....	200
Tabla 32 <i>CAPEX, OPEX y beneficios para diferentes los diferentes escenarios de integración de la CoDA de aguas residuales y estiércol en la PBB</i> .....	202
Tabla 33 <i>Comparativo de los indicadores económicos del presente estudio con estudios anteriores (se excluyen los datos correspondientes a la precipitación de estruvita)</i> .....	205
Tabla 34 <i>CAPEX, OPEX y Beneficios de la integración del proceso de producción de AGV's a partir de la FA de la fracción sólida de las AV</i> .....	208

## Lista de Figuras

	<b>Pág.</b>
Figura 1 <i>Difusión pasiva del NH<sub>3</sub> a través de la membrana celular (Spratt &amp; Patel, 1986)</i> .....	23
Figura 2 <i>Diseño de mezclas tipo simplex-lattice utilizado para la codigestión anaerobia (CoDA) de corrientes de aguas residuales de PBB y estiércol bovino.</i> .....	44
Figura 3 <i>Producción acumulada de CH<sub>4</sub> de las corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB</i> .....	54
Figura 4 <i>Composición bioquímica de las diferentes mezclas de CoDA (eje izquierdo) y el máximo rendimiento específico de CH<sub>4</sub> (eje derecho)</i> .....	58
Figura 5 <i>Remoción de DQO durante los ensayos de PBM de las mono DA's y CoDA's de aguas residuales y estiércol de PBB.</i> .....	62
Figura 6 <i>Producción acumulada de CH<sub>4</sub> a partir de los datos experimentales (B<sub>m</sub>) y del modelo calibrado (B<sub>s</sub>) de las mezclas con las menores desviaciones (a–c) y las mayores desviaciones (d–f) con respecto al modelo de primer orden</i> .....	66
Figura 7 <i>Efectos sinérgicos de la CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB.</i> 68	
Figura 8 <i>Esquema de los digestores tubulares utilizados en la experimentación</i> .....	82
Figura 9 <i>Producción específica de biogás (PEB) para los digestores a) R1, b) R2, c) R3 y d) R4</i> .....	95
Figura 10 <i>Composición de los AGV's de la CoDA de aguas residuales y EB de una PBB en digestores tubulares</i> .....	101
Figura 11 <i>Producción específica de biogás (PEB) experimental y simulada: a) R1, b) R2, c) R3 y d) R4</i> .....	113

Figura 12 <i>Validación de la composición de los AGV's (Exp: experimental)</i> .....	119
Figura 13 <i>Variación de los parámetros del ADMI en los digestores a) R1, b) R2, c) R3 y d) R4</i> .....	122
Figura 14 <i>Concentración de sólidos totales (ST) simulada en de los digestores</i> .....	123
Figura 15 <i>Esquema de los digestores utilizados para la FA de la fracción sólida de las AV</i> ....	139
Figura 16 <i>PEM durante la FA de la fracción sólida de las AV utilizando como inóculos el LR y el LEB a diferentes TRH</i> .....	143
Figura 17 <i>Variación de a) el pH, b) la relación AGV'st/AT y c) la concentración AGV's totales en función del TRH y el tipo de inóculo durante la FA de la fracción sólida de las AV</i> .....	145
Figura 18 <i>Análisis de varianza de la concentración de AGV'st con respecto a a) el tipo de inóculo y b) el TRH</i> .....	147
Figura 19 <i>Concentración de los AGV's individuales durante la FA de la fracción sólida de AV utilizando como inóculo a) LEB y b) LR</i> .....	150
Figura 20 <i>Concentración de los AGV's individuales durante la FA de la fracción sólida de AV utilizando como inóculo LR con ajuste de pH inicial a 8.0</i> .....	158
Figura 21 <i>Balances de masa y energía de la PBB caso de estudio</i> .....	181
Figura 22 <i>Esquema del tratamiento fisicoquímico utilizado en la PBB caso de estudio</i> .....	183
Figura 23 <i>Desempeño de cada escenario de CoDA</i> .....	188
Figura 24 <i>Distribución de los digestores para la integración de la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB</i> .....	189
Figura 25 <i>Sistema de digestores anaerobios implementados en SuperPro Designer</i> .....	190
Figura 26 <i>Alternativas de aprovechamiento del biogás: a) precalentamiento del agua de caldera; b) sistema CHP</i> .....	191

Figura 27 <i>Opciones de tratamiento del digerido: a) fisicoquímico, b) precipitación de estruvita y c) compostaje</i> .....	192
Figura 28 <i>Indicadores económicos de los escenarios evaluados para la integración de la CoDA de aguas residuales y estiércol en la PBB</i> .....	204
Figura 29 <i>Integración del proceso de producción de AGV's a partir de la fermentación acidogénica de la fracción sólida de las AV</i> .....	207
Figura 30 <i>Planta piloto de biogás implementada por Colbeef</i> .....	212

**Lista de Apéndices**

	<b>Pág.</b>
Apéndice A: Comparativo entre las curvas de PBM experimentales y predictivas .....	264
Apéndice B: Ajuste de los modelos cinéticos de primer orden y Gompertz modificado .....	267
Apéndice C: Cálculo de equilibrio $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$ .....	274
Apéndice D: CAPEX y OPEX de la integración de la CoDA en la PBB caso de estudio .....	275

**Glosario**

**AE:** Aguas de lavado estomacal

**AGV's:** Ácidos grasos volátiles

**AHE:** Actividad hidrolítica específica

**AME:** Actividad metanogénica específica

**AS:** Aguas de sacrificio

**AT:** Alcalinidad total

**AV:** Aguas de lavado de vísceras

**CO:** Carga orgánica

**DQO:** Demanda química de oxígeno

**EB:** Estiércol bovino

**LEB:** Lodo de estiércol bovino

**LR:** Líquido ruminal

**NAT:** Nitrógeno amoniacal total

**PBB:** Planta de beneficio bovino

**PBM:** Potencial bioquímico de metano

**PEB:** Producción específica de biogás

**PEM:** Producción específica de metano

**PES:** Potencial de producción de estruvita

**PES<sub>Tubular</sub>:** Producción de estruvita a partir del digerido del digester tubular

**TPM:** Tasa de producción de metano

**TRH:** Tiempo de retención hidráulica

## Resumen

**Título:** Proceso Integral para la Gestión y Valorización de Aguas Residuales del Beneficio Bovino Mediante Digestión Anaerobia\*

**Autor:** Zamir Sánchez Castro\*\*

**Palabras Clave:** Codigestión anaerobia, Aguas residuales del beneficio animal, Estruvita, ADM1, Fermentación acidogénica, Ácidos grasos volátiles, biorrefinería.

### Descripción:

Las aguas residuales del beneficio bovino generalmente son consideradas como una única corriente durante su tratamiento mediante digestión anaerobia (DA), lo que ha conducido recurrentemente a problemas de inhibición y baja biodegradabilidad. Sin embargo, estas están conformadas por cuatro corrientes con características fisicoquímicas particulares, lo que les confiere un potencial diferenciado para su aprovechamiento como sustratos individuales o en procesos de co-digestión anaerobia (CoDA). Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la gestión y valorización de las aguas residuales de plantas de beneficio bovino mediante CoDA y fermentación acidogénica (FA) bajo un enfoque de biorrefinería. Se identificaron sinergias en la CoDA de diferentes corrientes de aguas residuales y estiércol bovino, alcanzándose producciones de biogás entre 0.140 y 0.442 m<sup>3</sup>/kg SV, contenidos de CH<sub>4</sub> entre 65 y 75%, y remociones de DQO entre 56 y 76% en digestores tubulares. Un modelo ADM1 modificado predijo adecuadamente el desempeño de la CoDA, con errores inferiores al 15%. La precipitación de estruvita permitió recuperar entre 73 y 86% del fósforo presente en los digeridos, mientras que la FA de las aguas residuales produjo concentraciones de AGV's y tasas de acidificación superiores a las reportadas en estudios previos. La biorrefinería propuesta resultó técnica y económicamente viable, excepto en los escenarios que incluyeron la precipitación de estruvita. Estos resultados respaldan el potencial de implementación de biorrefinerías basadas en CoDA en plantas de beneficio bovino, particularmente en países en desarrollo como Colombia.

---

\* Tesis Doctoral

\*\* Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Humberto Escalante Hernández. Ingeniero Químico Ph.D. Codirector: Liliana del Pilar Castro Molano. Ingeniera Química P.hD.

### Abstract

**Title:** Integrated Process for the Management and Valorization of Bovine Slaughterhouse Wastewater through Anaerobic Digestion\*

**Author:** Zamir Sánchez Castro\*\*

**Key Words:** Anaerobic co-digestion, Slaughterhouse wastewater, Struvite, ADM1, Acidogenic fermentation, Volatile fatty acids, Biorefinery.

#### Description:

Bovine slaughterhouse wastewater is generally treated as a single stream during anaerobic digestion (AD), which has repeatedly led to inhibition problems and low biodegradability. However, it is composed of four streams with distinct physicochemical characteristics, giving them differentiated potential for use as individual substrates or in anaerobic co-digestion (AcoD) processes. Therefore, this study aimed to assess the management and valorization of bovine slaughterhouse wastewater (WW) through AD and acidogenic fermentation (AF) within a biorefinery framework. Synergies in AcoD of WW streams and manure were identified, achieving biogas yields of 0.140–0.442 m<sup>3</sup>/kg VS, CH<sub>4</sub> contents of 65–75%, and COD removals of 56–76% in tubular digesters. A modified ADM1 accurately predicted AcoD performance (<15% error). Struvite recovered 73–86% of the phosphorus from digestates, while AF of WW produced higher volatile fatty acids concentrations and acidification rates than previous studies. The biorefinery was technically and economically feasible, except for scenarios involving struvite precipitation. These results support the potential implementation of AcoD-based biorefineries in slaughterhouses, particularly in developing countries like Colombia.

---

\* Doctoral Thesis

\*\* Faculty of Physicochemical Engineering, Chemical Engineering School. Director: Humberto Escalante Hernández, Chemical Engineer, Ph.D. Co-director: Lilibiana del Pilar Castro Molano, Chemical Engineer, Ph.D.

## Introducción

### Contextualización

El organismo humano requiere de aminoácidos esenciales para su funcionamiento; sin embargo, existen 8 de ellos que no puede sintetizar. Cultural y tradicionalmente, los aminoácidos esenciales son aportados por la ingesta regular de carne. Según la FAO entre los años 2000 y 2023 la producción mundial de carne aumentó un 60%, llegando a 370 millones de toneladas (FAO, 2025). Se estima que el consumo mundial per cápita de carne aumentará en 0.9 kg per cápita/año hasta finales del 2034 (OCDE-FAO, 2025).

El proceso de beneficio bovino involucra las etapas de: (a) descanso en corrales, (b) sacrificio, (c) retiro de patas, cabeza y cuero, (d) retiro de vísceras, (e) lavado de vísceras, (f) división de la canal y (g) refrigeración. Durante el proceso de beneficio bovino se debe realizar limpieza constante de las diferentes zonas de la planta, para garantizar la inocuidad del proceso. Se estima que el procesamiento de carne consume en promedio el 24% del agua destinada a la industria mundial de alimentos (Bustillo-Lecompte & Mehrvar, 2016), generando aguas residuales, las cuales se pueden clasificar en: aguas de sacrificio, aguas de lavado de vísceras, aguas de lavado estomacal y aguas de corral (Jensen *et al.* 2014). Las aguas de sacrificio (AS) son las aguas sanguinolentas recolectadas en la zona de degüello de animales. Las aguas de lavado de vísceras (AV) se obtienen del lavado de las vísceras blancas del animal. Las aguas de lavado estomacal (AE) corresponden a las obtenidas durante el retiro del contenido ruminal. Las aguas de corral (AC) son aquellas recolectadas en el lavado de los corrales, camiones y animales antes del sacrificio.

En el contexto colombiano, el sector ganadero es de gran importancia en el desarrollo económico dado que representa el 1.4%, 20% y 46% del PIB nacional, PIB agropecuario y PIB

pecuario, respectivamente. Y genera más de 1.07 millones de empleos (Presidencia de Colombia, 2025). Para el año 2024, el consumo de carne per cápita en Colombia se estimó en 79.1 kg/año (La República, 2025). Para mantener la demanda de carne nacional en el año 2024 se sacrificaron más de 3.2 millones de bovinos, más de 6.2 millones de porcinos, 53 mil bufalinos, 25 mil caprinos y 33 mil ovinos (DANE, 2025). Asimismo, las exportaciones de carne Colombia han venido incrementando en los últimos años. Durante enero de 2025, Colombia registró un récord en sus exportaciones de carne, alcanzando los 19.2 millones de dólares en ventas a más de una decena de países (Portafolio, 2025).

En Colombia las plantas de beneficio animal se clasifican en dos categorías: nacional y autoconsumo (decreto 2270 de 2012). La primera categoría se encuentra autorizada por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), para la comercialización de carne dentro del país y, las que lo soliciten, también para exportaciones. La segunda categoría se encuentra autorizada para abastecer de carnes al respectivo municipio donde se encuentra ubicada. En este sentido, debido a su capacidad y exigencias sanitarias las plantas de categoría nacional son las que presentan mayor consumo de agua.

Particularmente en el área metropolitana de Bucaramanga se encuentra ubicada la planta de beneficio bovino (PBB) Colbeef S.A.S (latitud: 7°3'14.82" N y longitud: 73°7'55.82" O), la cual es de categoría nacional autorizada para exportar. Colbeef presentó en el 2024 un sacrificio promedio de 12765 bovinos/mes. En el proceso de beneficio bovino se obtiene como producto principal carne en canal (cuerpo del animal desangrado, desollado, eviscerado, sin cabeza y sin extremidades), subproductos comestibles, subproductos no comestibles y residuos líquidos y sólidos. Los subproductos y residuos sólidos son comercializados por la PBB a diversas industrias, incluyendo la de alimentos para animales, farmacéutica y cosmética.

Con respecto a los residuos líquidos, Colbeef genera 1.12 m<sup>3</sup> de aguas residuales por cada bovino sacrificado. Las AS, AV, AE y AC corresponden el 13%, 32%, 40% y 15% del caudal total generado en la PBB. Estas aguas se caracterizan por tener alta carga orgánica, por lo cual deben ser tratadas antes de ser vertidas. Para el año 2024, Colbeef generó en promedio 14292 m<sup>3</sup>/mes de aguas residuales, las cuales fueron gestionadas mediante un tratamiento fisicoquímico, el cual generó entre 384 y 720 t de lodos al año. Estos lodos son sometidos a un proceso no estandarizado de compostaje, para luego ser distribuido a las fincas cercanas. El tratamiento fisicoquímico implementado por la PBB permite cumplir con la norma ambiental de vertimientos líquidos (resolución 631 de 2015). Sin embargo, presenta un costo elevado (USD\$ 23,000 al mes) y podría ser insuficiente para futuras expansiones de la PBB. Por otra parte, la PBB consume mensualmente 273 MWh, 23011 m<sup>3</sup> y 292 galones de energía eléctrica, gas natural y Diesel, respectivamente, lo cual equivale a una demanda energética total de 534 MWh/mes.

De acuerdo con lo anterior, se puede afirmar que Colbeef presenta un alto consumo energético y una elevada generación de residuos líquidos, cuya gestión no genera ningún tipo de valor agregado, por el contrario, es costoso y posiblemente resulte limitada ante futuros crecimientos operativos de la PBB. En Colombia se estima que el 69% de las plantas de beneficio animal en Colombia no cuentan con un sistema de tratamiento de aguas residuales eficiente (Solanilla-Duque *et al.* , 2024). Asimismo, en países en desarrollo las aguas residuales del beneficio animal son tratadas generalmente mediante tratamientos fisicoquímicos (Llerena *et al.* , 2022; Rivera-Castellanos *et al.* , 2023). Por lo tanto, es apremiante investigar la viabilidad de un tratamiento a estas aguas, que permitan tanto su gestión ambiental como su valorización. En este sentido, la tecnología de digestión anaerobia (DA) es atractiva dado que *i)* es de menor costo comparada con otras tecnologías (Sadr & Saroj, 2015), *ii)* permite la remoción y estabilización de

la materia orgánica (Arenas Sevillano et al., 2021), *iii*) valoriza energéticamente el residuo a través de la producción de biogás (Rajakumar *et al.*, 2012), *iv*) facilita la recuperación de nutrientes presentes en el digerido (subproducto líquido) como fósforo y nitrógeno, en forma de cristales (estruvita), los cuales son utilizados como fertilizantes (Jensen *et al.*, 2016) y *v*) produce ácidos grasos volátiles (AGVs), productos intermedios del proceso, los cuales son utilizados en diversas aplicaciones (Vázquez-Fernández *et al.*, 2022).

### **Digestión Anaerobia (DA) de Residuos del Beneficio Animal**

La DA es un proceso aplicado ampliamente en el tratamiento de residuos sólidos y líquidos. Diversos estudios han evaluado el rendimiento máximo de CH<sub>4</sub> de residuos sólidos animales, mediante ensayos de potencial bioquímico de metano (PBM), reportando valores de 0.840 m<sup>3</sup>/kg de sólido volátil (SV) (Ortner *et al.*, 2014; Rodríguez-Abalde *et al.*, 2017), 0.250 – 0.512 m<sup>3</sup>/kg SV (Yoon *et al.*, 2014) y 0.229 m<sup>3</sup>/kg SV - 0.651 m<sup>3</sup>/kg SV (Ware & Power, 2016), para residuos de cerdos, pollos y bovinos, respectivamente. Con respecto a los efluentes líquidos, Jensen *et al.* (2014) realizaron pruebas de PBM de las diferentes corrientes de aguas residuales encontradas en una PBB, hallando potenciales para AC entre 0.216 y 0.283 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg SV, para AS entre 0.433 y 0.466 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg SV, para AV entre 0.716 y 0.933 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg SV y para AE entre 0.233 y 0.533 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg SV. Asimismo, Castro-Molano *et al.* (2016) evaluaron la biodegradabilidad anaerobia de aguas residuales de una PBB colombiana, encontrando un potencial de metano de 0.700 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/ kg SV, cuyo uso podría representar un ahorro energético del 40 al 50 % en el proceso.

En cuanto a la aplicación de la tecnología de DA en procesos continuos o semicontinuos, McCabe *et al.* (2014) evaluaron la degradación anaerobia de aguas residuales combinadas de una PBB (suma de todas las corrientes) en lagunas cubiertas, obteniendo remociones de DQO de 73 a 84%, de DBO<sub>5</sub> entre 61 y 74% y de grasas de 77 a 85%, pero con baja conversión de materia

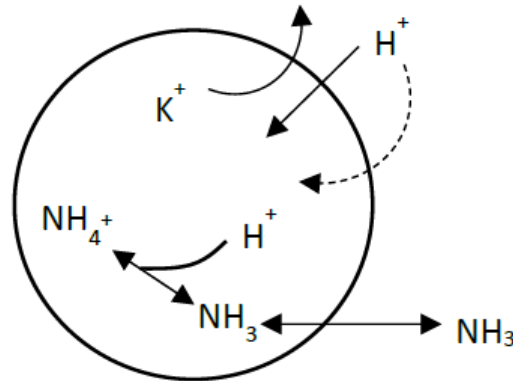
orgánica a  $\text{CH}_4$  (solo 30% del DQO de entrada). Resultados similares fueron reportados por Martínez *et al.* (2014) quienes encontraron remociones de DQO entre 65% y 80%, pero rendimientos de metano bajos (entre 0.030 y 0.130  $\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg DQO}$ ) al utilizar filtros anaerobios. Lo anterior se debe principalmente a problemas inhibitorios o de baja biodegradabilidad, los cuales no se detectan con facilidad durante las pruebas de PBM (Koch *et al.* , 2020).

A pesar de las ventajas presentadas por la tecnología de DA, estudios anteriores han demostrado la presencia de problemas bioquímicos, microbiológicos y operacionales, durante el tratamiento de aguas residuales del beneficio animal, los cuales pueden llegar a limitar el proceso, e incluso, a causar la falla total de los digestores. Los anteriores problemas se relacionan principalmente con el contenido de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) (Wang *et al.* , 2018), la acumulación de lípidos (Harris & McCabe, 2015) e hidrólisis lenta (Jensen *et al.* , 2016).

Durante el proceso de DA las proteínas se descomponen en nitrógeno amoniacal, el cual se puede presentar en dos formas: ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y amoníaco libre ( $\text{NH}_3$ ). Esta última forma es la que presenta un mayor efecto inhibitorio durante la DA, debido a que se difunde de forma pasiva a través de la membrana celular de las arqueas metanogénicas (Wang, et. al., 2016). El  $\text{NH}_3$  puede inhibir directamente enzimas importantes para la producción de  $\text{CH}_4$  y/o generar desbalance o deficiencia de potasio en las células. El ingreso del  $\text{NH}_3$  ocasiona un cambio en el pH intracelular debido a su conversión a  $\text{NH}_4^+$ . Este efecto estimula el antiporte  $\text{K}^+/\text{H}^+$  para reemplazar los protones consumidos, causando la salida de cerca del 98% del  $\text{K}^+$ , como se indica en la Figura 1 (Sprott & Patel, 1986).

**Figura 1**

*Difusión pasiva del NH<sub>3</sub> a través de la membrana celular (Sprott & Patel, 1986)*



### **Codigestión Anaerobia (CoDA) de Residuos del Beneficio Animal**

Se ha evidenciado que los microorganismos acetoclásticos son más sensibles al  $NH_3$ , comparados con los hidrogenotróficos (Wang *et al.* , 2022). Generalmente, la inhibición del proceso de DA por nitrógeno amoniacal se refleja en producciones de  $CH_4$  inestables y acumulación de AGV's.

La relación en la concentración de  $NH_3$  y  $NH_4^+$  depende del pH y la temperatura, según su equilibrio químico (Rajagopal *et al.* , 2013).



Estudios recientes enfatizan en la necesidad de considerar tanto los efectos del  $NH_3$  como del  $NH_4^+$ , dado que el primero, por sí solo, no explica completamente las inhibiciones observadas (Astals *et al.* , 2018). En este sentido, es conveniente expresar la inhibición en términos del nitrógeno amoniacal total ( $NAT = NH_3 + NH_4^+$ ). Para digestores anaerobios operando a condiciones mesófilas y pH cercano a la neutralidad, la concentración de  $NH_3$  corresponde a menos del 1% del NAT. Sin embargo, al mantener la misma temperatura y elevar el pH a un valor de 8.0 la concentración del  $NH_3$  puede aumentar hasta un 10% del NAT (Rajagopal *et al.* , 2013). Por lo

tanto, el incremento del pH conlleva a una inhibición más intensa del proceso de DA, dado el mayor efecto del  $\text{NH}_3$  sobre las arqueas metanogénicas. Asimismo, los procesos de DA termófilos (entre 45 y 65°C) tienen ciertas ventajas sobre los mesófilos dado que alcanzan altas tasas de digestión, una gran conversión de residuos orgánicos a biogás, una rápida separación de sólidos-líquidos y minimización de patógenos bacteriales y virales. Sin embargo, suele presentar digeridos de menor calidad y procesos de DA inestables (Yenigün y Demirel, 2013]. El incremento en la temperatura aumenta la cinética de degradación de las proteínas, lo cual incrementa notablemente la concentración del NAT y los riesgos de inhibición en el digestor (Yang *et al.* , 2024). La concentración de  $\text{NH}_3$  en condiciones termófilas (55 °C) resulta ser hasta seis veces mayor que bajo condiciones mesófilas (Rajagopal *et al.* , 2013).

Para el caso de la DA de residuos sólidos del beneficio animal a condiciones mesófilas (temperatura entre 30 y 40 °C) en digestores batch y semicontinuos bajo pH de 7.5 a 7.8, se han evidenciado inhibiciones leves por NAT desde los 1200 mg/L (70 mg  $\text{NH}_3$ /L) hasta los 2900 mg/L (116 mg  $\text{NH}_3$ /L) (Buendía *et al.* ,2009; Borowski y Kubacki, 2015). Concentraciones superiores a los 3000 mg/L (230 mg  $\text{NH}_3$ /L) pueden causar inhibiciones de hasta el 85% de la actividad metanogénicas (Buendía *et al.* ,2009). En el caso de la DA de aguas residuales del beneficio animal bajo condiciones mesófilas, se han evidenciado operaciones estables bajo concentraciones de NAT y  $\text{NH}_3$  de hasta 1239 mg /L (Adou *et al.* , 2020) y 500 mg/L (Ali Musa *et al.* , 2018). Sin embargo, los valores específicos de los umbrales de inhibición dependen no solo del pH y la temperatura, sino también del consorcio microbiano presente en el inóculo. La adaptación gradual del inóculo a concentraciones crecientes de NAT puede incrementar significativamente la tolerancia de los microorganismos a este inhibidor. Se han reportado digestores operando con concentraciones de NAT de hasta 20 g/L sin colapsar ni reducir su producción de  $\text{CH}_4$ , cuando el inóculo ha sido

sometido a un proceso de adaptación de 20 meses (Bucci *et al.* , 2024). Esto se debe a cambios en las poblaciones microbianas, que tienden a desplazarse hacia perfiles metanogénicos hidrogenotróficos (Puig-Castellví *et al.* , 2020). Experimentalmente, el potencial de inhibición de un componente se caracteriza mediante un coeficiente de inhibición ( $K_{150}$ ), que representa la concentración del inhibidor a la cual la actividad metanogénica es la mitad de la máxima (Astals *et al.* , 2015).

El término lípidos es utilizado para describir las grasas y aceites contenidos en corrientes de aguas residuales. Los ácidos grasos de cadena larga (AGCL) se unen al glicerol, u otros alcoholes, por medio de enlaces éster, dando lugar a la formación de lípidos; predominantemente en forma de triglicéridos. Las grasas contienen AGCL saturados, mientras que a los aceites los conforman insaturados (Alves *et al.* , 2009). Los lípidos presentan un mayor rendimiento de metano ( $0.990 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ ), comparado con los carbohidratos ( $0.415 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ ) y las proteínas ( $0.634 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ ) (Rasit *et al.* , 2015). Sin embargo, durante la DA de lípidos se han identificado una serie de inconvenientes como: *i*) obstrucción de tuberías, *ii*) flotación y lavado de la biomasa e *iii*) inhibición de bacterias acetogénicas y las arqueas metanogénicas (Jeganathan *et al.* , 2006; Alves *et al.* , 2009; Rasit *et al.* , 2015).

Los lípidos suelen acumularse y reducir el diámetro de las tuberías. Este problema ocasiona desbordamientos en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, los cuales se traducen en problemas sanitarios (Long *et al.* , 2012). Por otra parte, durante la DA los lípidos son degradados a AGCL tales como: ácido oleico, ácido esteárico y ácido palmítico, los cuales pueden inhibir y desestabilizar el proceso (Rodríguez-Méndez *et al.* , 2017). En general, la hidrólisis de lípidos procede rápidamente, resultando en una acumulación de AGCL, los cuales a pH neutro actúan como surfactantes, reduciendo la tensión superficial. Los microorganismos acetogénicos se

caracterizan por ser hidrófobos, por lo cual una baja tensión superficial ocasiona desprendimiento del inóculo y lavado selectivo de la biomasa. Adicionalmente, los AGCL son absorbidos por la pared celular de los microorganismos metanogénicos, restringiendo la transferencia de masa entre las células y el medio y afectando la función de protección de las células. Las arqueas acetoclásticas han demostrado ser más sensibles a los AGCL comparado con los microorganismos hidrogenotróficos. Así mismo, los efectos de los AGCL insaturados son más severos que los saturados (Jeganathan *et al.* , 2006; Alves *et al.* , 2009).

Los efectos inhibitorios de los AGCL se suelen manifestarse en los ensayos de PBM, como periodos de latencia, es decir, retrasos en el inicio de la producción de CH<sub>4</sub>. En la DA de residuos sólidos del beneficio de cerdos se han evidenciado tiempos de latencia de hasta 7 días (Rodríguez Abalde *et al.* , 2016). Por su parte, en procesos continuos o semicontinuos la inhibición por AGCL se evidencia por caídas en la producción de CH<sub>4</sub>. El tratamiento de residuos sólidos del beneficio bovino en digestores CSTR a 35 ° C, demuestra inhibición con cargas orgánicas iguales o superiores a 1.6 kg SV/m<sup>3</sup> d o 1.7 kg de AGCL/kg SV de biomasa, con caídas de entre 87% y 98% en la producción de CH<sub>4</sub> (Escudero *et al.* , 2014; Rodríguez-Méndez *et al.* , 2017). Esta inhibición se encuentra relacionada con una fuerte acumulación de ácido palmítico (Jeganathan *et al.* , 2006). Asimismo, la inhibición por AGCL en procesos de DA de aguas residuales del beneficio animal, se refleja en reducciones en la producción de CH<sub>4</sub> y en la remoción de la DQO (Rajakumar *et al.* (2012), acumulación de capas de grasa en el digestor, lo cual reduce su volumen útil (McCabe *et al.* , 2014) y bajas cinéticas de degradación anaerobia (Jensen *et al.* , 2015).

El contenido ruminal es el residuo de mayor producción en una planta de beneficio de bovinos. Este residuo se compone de pasto parcialmente digerido y corresponde a cerca del 10% del peso del animal en pie. Durante el proceso de beneficio el contenido ruminal es separado del

estómago del bovino y diluido con agua, formando una corriente con contenido de sólidos entre 2-5% (AE) (Jensen et al, 2016). El contenido ruminal se compone de celulosa, hemicelulosa y lignina. Las fibras de celulosa se estabilizan lateralmente mediante enlaces de hidrógeno que permanecen entre los grupos hidroxilo y producen cadenas lineales. La hemicelulosa es una estructura compleja de carbohidratos con diferentes tipos de polímeros, compuesta de pentosas/hexosas y glucosa. La lignina es un polímero fenólico, el cual actúa como una barrera para las enzimas durante la degradación de los carbohidratos (Paul y Dutta, 2018). La hidrólisis es la etapa limitante durante la DA del contenido ruminal, debido al carácter recalcitrante de la lignina. Ensayos de PBM sobre este residuo han resultado en rendimientos máximos de CH<sub>4</sub> entre 0.233 y 0.300 m<sup>3</sup> /kg SV (Jensen *et al.* , 2014), con constatación de hidrólisis de 0.10 d<sup>-1</sup> (Astals et al, 2014; Jensen *et al.* , 2016). Adicionalmente, el contenido ruminal puede formar mallas en los digestores, las cuales atrapan las burbujas de biogás y, por ende, tienden a flotar, reduciendo el rendimiento del proceso de DA (López *et al.* ,2006).

### **Codigestión Anaerobia (CoDA) de Residuos del Beneficio Animal**

La relación Carbono/Nitrógeno (C/N) del sustrato, es una de las variables que más influye en su degradación anaeróbica. El nitrógeno es un nutriente importante utilizado por los microorganismos metalogénicos, por lo cual un valor alto de la relación C/N es indicativo de su deficiencia. Por su parte, un valor bajo de esta relación genera un exceso de nitrógeno y, por ende, inhibición por NH<sub>3</sub> (Moukazis et al, 2018). Estudios anteriores han encontrado que la relación C/N óptima para la DA se encuentra entre 20 y 30 (Wang *et al.* , 2013). Cuando la relación C/N de un sustrato no es adecuada para su DA, a menudo se utiliza la CoDA con otros sustratos para mejorarla. Adicionalmente, la CoDA permite la interacción positiva entre sustratos, balance entre macro y micronutrientes, dilución de componentes tóxicos, incrementa la producción de metano

(al permitir mayores cargas orgánicas) y mejora la estabilidad del digerido (Astals et al, 2014; Ebner *et al.* , 2016). Estos efectos positivos de la CoDA se denominan sinergismo, mientras que los efectos negativos antagonismo (Pagés-Díaz et al, 2014; Dennehy et al, 2016).

Se han evidenciado efectos sinérgicos durante la CoDA de residuos sólidos del beneficio animal con residuos sólidos municipales (Pagés Díaz *et al.* , 2011), residuos de cultivos (Pagés Díaz *et al.* , 2014), glicerol (Andriamanohiarisoamanana *et al.* , 2017), lodos de depuración de aguas residuales (Salehiyoun *et al.* , 2020). De igual manera, la CoDA de aguas residuales de plantas de beneficio animal han sido sinérgicas con lactosuero (Abdallah *et al.* , 2022), residuos del procesamiento del tomate y estiércol de cerdo (Monou *et al.* , 2008), lodos residuales del procesamiento de azúcar (Anyango *et al.* , 2022). Estudios sobre CoDA de diferentes proporciones de residuos del beneficio animal (contenido ruminal, sangre y grasa) como fuentes de carbohidratos, lípidos y proteínas, han evidenciado que la sinergia se presenta principalmente en el incremento de la cinética de degradación anaerobia (Astals *et al.* , 2014). No obstante, la implementación del proceso de CoDA está limitado por la disponibilidad de los cosustratos y los costos asociados a su transporte (Bacenetti *et al.* , 2015; González *et al.* , 2022). En este contexto, las PBB en Colombia se ubican principalmente en las zonas periféricas de las ciudades, lo que limita el acceso a una diversidad de cosustratos en su entorno cercano, lo que demandaría transportarlos una gran distancia, reduciendo la viabilidad y el atractivo del proyecto.

### **Digestores Tubulares Low-Cost**

Los digestores tubulares de bajo costo han sido ampliamente utilizados en países en desarrollo tales como: Colombia, Etiopía, Tanzania, Vietnam, Camboya, China, Costa Rica, Bolivia, Perú, Ecuador, Argentina Chile y México (Martí-Herrero y Cipriano, 2012), como fuente de combustible para la cocción de alimentos (Kinyua *et al.* , 2016) y comúnmente alimentados con

estiércol (Castro *et al.* , 2017). Estos digestores se caracterizan por ser de construcción fácil y económica, fáciles de operar y presentan bajos costos de mantenimiento y operación (no requieren equipos mecánicos ni eléctricos) (Kinyua *et al.* , 2016). Adicionalmente, no requieren de sistemas de mezclado o calentamiento, ni sistemas sofisticados de monitoreo (Martí-Herrero y Cipriano, 2012; Escalante-Hernández *et al.* , 2017). Asimismo, los digestores tubulares pueden ser fácilmente inoculados con estiércol bovino (Castro *et al.* , 2017). Cada año se instalan numerosos digestores tubulares en la región para el tratamiento de residuos agroindustriales, para lo cual se cuenta con el conocimiento técnico (know-how) y proveedores locales especializados.

Los digestores tubulares de bajo costo han demostrado ser adecuados incluso en condiciones psicrófilas, como las presentadas en las altitudes de los Andes Bolivianos (Martí-Herrero *et al.* , 2015). Su desempeño mejora al aumentar el área superficial específica mediante la introducción de anillos de PET (Martí-Herrero *et al.* , 2014).

Los estudios sobre la DA de aguas residuales del beneficio animal en digestores tubulares o Plug Flow son limitados. En este sentido, Martín-Herrero *et al.* (2018) hallaron producciones de biogás entre 0.25 y 1.24 m<sup>3</sup>/kg SV, con fracciones de CH<sub>4</sub> entre 49.9 y 57.7%, al tratar aguas residuales de una planta de beneficio animal en tres digestores tubulares piloto conectados en serie. El primero de los reactores fue empacado con anillos de PET para aumentar su área interna de 27.19 m<sup>2</sup> a 68.95 m<sup>2</sup>. Los digestores alcanzaron remociones de DQO entre 32.1% y 80.5%. Los autores resaltan que los digestores tubulares de bajo costo presentan desempeño comparable a otros tipos de tecnologías anaerobias (UASB, CSTR, filtros anaerobios, y batch secuenciales). Guamán-Marquines *et al.* (2023) estudiaron la remoción de DQO durante la DA de aguas residuales de una planta de beneficio animal en un digestor tubular a escala de laboratorio, se

lograron eficiencias de eliminación de DQO del 70% y 93% con tiempos de retención hidráulica de 6 y 11 d, respectivamente.

### **Estruvita**

El fósforo es esencial en el metabolismo de todas las formas de vida. En este sentido, la demanda de fósforo de la agricultura mundial se suple principalmente con la explotación de roca fosfórica. Debido a su carácter no renovable, se espera que la disponibilidad de fósforo se agote en los próximos 50-125 años. Por este motivo, la recuperación de fósforo de residuos humanos e industriales ha ganado un gran interés en años recientes (Tao *et al.* , 2016).

El método de recuperación de fósforo más utilizado es a través de la precipitación de minerales tales como la estruvita; magnesio-amonio-fosfato ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). La estruvita es un fertilizante alternativo ideal debido a que no posee olor, no es lodoso, libera nutrientes de forma lenta y no es soluble en agua, evitando problemas de eutrofización. Para la precipitación del mineral se requiere la presencia de los iones de magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y ortofosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) en condiciones alcalinas en una relación molar mínima de 1:1:1. Los factores que gobiernan la precipitación de estruvita incluyen: pH, la concentración de iones, la presencia de impurezas iónicas, la energía de mezclado, el tiempo de residencia durante la cristalización y la naturaleza del reactor donde se realiza la cristalización (Kataki *et al.* , 2016).

Kataki *et al.* (2016) definieron un índice de idoneidad (FSI, por sus siglas en inglés) para la recuperación de estruvita, basado en las concentraciones de  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ . En el ranking elaborado por los autores de 18 residuos analizados, las aguas residuales del beneficio animal se encuentran en el último puesto, debido principalmente a la baja concentración de fósforo soluble. Sin embargo, la aplicación de pretratamientos biológicos, como la DA, permite mejorar la solubilidad del fósforo (Kabdasli *et al.* , 2009). En este sentido, investigaciones anteriores

demuestran la solubilización del 78 al 90% del nitrógeno (N) y el 74% del fósforo (P) durante la DA de aguas residuales de PBB en digestores de membrana (Jensen *et al.* , 2015). En cuanto a la dosificación de reactivos, relaciones Mg/P superiores a 2.0 permiten recuperar hasta el 80% del P y 15% del N (Jensen *et al.* , 2016; Hakimi *et al.* ;2020). Sin embargo, la presencia de impurezas de calcio, tales como la apatita pueden afectar el proceso de precipitación de estruvita (Jensen *et al.* , 2016). En este contexto, relaciones  $Mg^{2+}/Ca^{2+}$  menores o iguales a 0.8 son desfavorables, mientras que relaciones  $Mg^{2+}/Ca^{2+} > 2$  pueden garantizar remociones de fósforo superiores al 80% (Hakimi *et al.* , 2020).

### **Producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGV's)**

Los ácidos grasos volátiles (AGV's) son compuestos monocarboxílicos alifáticos lineales de cadena corta, los cuales se constituyen desde dos (ácido acético) hasta seis (ácido capríónico) átomos de carbono. Los AGV's son utilizados como sustratos para la producción de biocombustibles ( $CH_4$  y  $H_2$ ) y biopolímeros, tales como polihidroxialcanoatos (PHA). La producción de AGV's se lleva a cabo mediante la fermentación acidogénica (FA), la cual consiste en la interrupción de la ruta metabólica de la DA en las dos primeras etapas (hidrólisis y acidogénesis) (Strazzeria et al, 2018). Parámetros operacionales tales como el pH y la temperatura afectan la producción de AGV's. El pH es de gran importancia para la producción de AGVs, porque los microorganismos acidogénicos no pueden sobrevivir en condiciones de extrema acidez (pH=3) o alcalinidad (pH=12). En general el pH óptimo se encuentra entre 5.25 y 11.0, pero el valor específico depende del tipo de residuo. Por ejemplo, en el caso de lodos la producción de AGV's se favorece a pH altos (8-11) (Zhang *et al.* 2018), mientras que para residuos de frutas y vegetales se ha determinado que el pH óptimo se encuentra cerca a la neutralidad (Shi *et al.* , 2022). Referente a la temperatura, en forma general se ha encontrado que su incremento conlleva a

mejorar la concentración, el rendimiento y la tasa de producción de AGV's durante la FA de diferentes tipos de aguas residuales (Garcia-Aguirre *et al.* , 2017). No obstante, aguas las condiciones mesófilas han demostrado ventajas durante la FA de aguas residuales ricas en proteínas, dado que se logran operaciones más estables (Yu y Fang, 2002; Yu y Fang, 2003).

### **Integración Energética y Biorrefinería**

Las energías renovables se han convertido una estrategia importante para mitigar el cambio climático y la crisis energética. Actualmente existe una tendencia mundial hacia una economía circular, en la cual los residuos ganan valor, a la vez que se reduce la disposición de desechos. El biogás es una fuente energética que se puede enmarcar en este contexto (Chen et al, 2017). El alto precio de la energía y el cambio climático global han incrementado la necesidad de un uso eficiente de energía en la industria de alimentos. En el caso de las PBB, los mayores consumos energéticos se encuentran en el sistema de refrigeración, la producción de vapor, el calentamiento de agua y el sistema de compresión de aire. Adicionalmente, las PBB contribuye a la generación de gases de efecto invernadero por tres fuentes directas de emisión: combustión de combustibles fósiles, pérdida de refrigerantes y la generación de metano por la incorrecta disposición de aguas residuales (Ashrafi et al, 2015).

Así las cosas, los principales costos operacionales de una PBB son, a parte del personal, la disposición de residuos y los costos energéticos (electricidad y combustibles). Para reducir estos costos se requieren nuevas estrategias en términos de fuentes de energía y disposición sostenible de residuos (Ortner et al, 2015). De acuerdo con esto, los proyectos de recuperación de energía a partir de residuos no solo son benéficos para las empresas alimenticias, sino también para el ambiente, ya que permiten reducir las emisiones de gases de efecto invernadero. En este sentido,

la integración energética es un método usado en el diseño o rediseño de procesos industriales, en orden para optimizar el uso de energía (Ashrafi et al, 2015).

Los estudios sobre la integración del proceso de DA en plantas de beneficio animal han sido escasos. Gonzalez-Gonzalez *et al.* (2014) proponen un sistema híbrido biogás-cedas fotovoltaicas para cubrir el 100% de la demanda energética de una planta de beneficio de cerdos. Ortner *et al.* (2015) implementaron un sistema de cogeneración en una planta de beneficio animal, logrando reducir en un 63% los costos energéticos y de disposición de residuos. KC y Ale (2015) Evaluaron la implementación de la DA de residuos del beneficio bovino en Nepal. El uso del biogás para la cocción de alimentos presentó un potencial de ahorro equivalente a 71 cilindros de GLP mensualmente. Gato (2019) plantea la integración del proceso de DA para la gestión de aguas residuales del beneficio animal mediante un sistema CHP, con un potencial eléctrico y térmico de 2.90 y 4.47 kWh/m<sup>3</sup> de agua residual tratada. Los anteriores estudios, además, presentan indicadores económicos favorables: valor presente neto (VPN) mayor a cero, tasa interna de retorno de 9-21% y tiempos de retorno de la inversión de 6.0 a 10.0 años.

En los últimos años, el concepto de biorrefinería ha ganado importancia por su alineación con la bioeconomía circular y los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) (Alvarez-Castillo *et al.* , 2023). De acuerdo con la IEA (2007), las biorrefinerías implican el procesamiento sostenible de biomasa para obtener productos comercializables y energía. Estas instalaciones utilizan tecnologías que fraccionan la biomasa en componentes básicos que pueden transformarse en biocombustibles, compuestos químicos y productos de valor agregado, en un proceso análogo al de las refinerías de petróleo (Cherubini, 2010). La biorrefinería se ha aplicado a distintas materias primas, como residuos lignocelulósicos, algas, residuos alimentarios y estiércoles (Ubando *et al.* , 2020). En el caso de las plantas de beneficio animal, el enfoque actual se centra en el

aprovechamiento de subproductos como sangre y huesos para la producción de alimentos (Limeneh *et al.* , 2022). No obstante, estudios exploratorios han ampliado este concepto, integrando procesos como la digestión anaerobia (DA) para la recuperación de energía y nutrientes (Sganzerla *et al.* , 2021), el cultivo de microalgas para biocombustibles (Kumar *et al.* , 2021; Medrano- Barboza *et al.* , 2022), la producción de polihidroxicanoatos (PHA) (Shahzad *et al.* , 2017), ácidos grasos volátiles (AGV) (Schwede *et al.* , 2016; Bułkowska y Zielinska, 2024), bioplásticos (Alvarez-Castillo *et al.* , 2023), y la recuperación de proteínas, hierro hemo y biopéptidos (Bułkowska y Zielinska, 2024). Sin embargo, aún se requieren estudios tecnoc-económicos que respalden su viabilidad, especialmente en países en desarrollo como Colombia, donde su implementación aún es incipiente.

Teniendo en cuenta lo anterior, la pregunta que motivó la presente investigación fue: ¿Es posible integrar los procesos de producción de biogás, precipitación de estruvita y producción de ácidos grasos volátiles, en una biorrefinería técnica y económicamente viable, que permita la gestión y valorización de aguas residuales de una planta de beneficio bovino mediante digestión anaeróbica?

La respuesta al anterior interrogante se va desarrollando a través de los cuatro capítulos de la presente tesis. En el capítulo 1 se evalúan los efectos sinérgicos y antagónicos de la CoDA de aguas residuales y estiércol de planta de beneficio bovino mediante ensayos de potencial bioquímico de metano y se seleccionan las mejores mezclas. En el capítulo 2, las mezclas sinérgicas identificadas en el capítulo 1 son evaluadas mediante pruebas de CoDA en digestores tubulares a escala de laboratorio. Adicionalmente, se calibra y valida el modelo ADM1 para la simulación del proceso de CoDA de aguas residuales y estiércol de planta de beneficio bovino. En el capítulo 3 se analiza la producción de AGV's a partir de la FA de la fracción sólida de las

AVAV, considerando dos inóculos diferentes (lodo de estiércol bovino y líquido ruminal) y operación con ajuste y sin ajuste de pH. Finalmente, en el capítulo 4 se plantea la integración del proceso de CoDA mediante el concepto de biorrefinería, considerando dos alternativas de aprovechamiento del biogás (precalentamiento de agua de caldera y CHP: Combined Heat and Power System) y tres opciones de tratamiento del digerido (físicoquímico, precipitación de estruvita y compostaje), además de la producción de AGV's a partir de la FA de las AV. Se incluye en este capítulo el análisis tecno económico.

# **1. Sinergia Simultánea en el Rendimiento y la Cinética de Producción de CH<sub>4</sub>: Criterios para Seleccionar las Mejores Mezclas durante la Codigestión de Aguas Residuales y Estiércol del Beneficio Bovino**

## **1.1. Resumen**

Usualmente, las aguas residuales del beneficio animal han sido consideradas como un único sustrato cuya digestión anaerobia puede generar problemas de inhibición y baja biodegradabilidad. Sin embargo, el proceso de beneficio bovino genera diferentes corrientes de aguas residuales con características fisicoquímicas particulares: aguas residuales del sacrificio (AS), aguas residuales del lavado de vísceras (AV) y aguas residuales del lavado estomacal (AE). Por lo tanto, esta investigación tiene como objetivo evaluar la co-digestión anaerobia (CoDA) de AS, AV, AE y estiércol bovino (EB) mediante pruebas de potencial bioquímico de metano, con el fin de reducir el riesgo de inhibición y aumentar la biodegradabilidad. Se desarrolló una metodología basada en modelos para evaluar los efectos sinérgicos considerando simultáneamente el rendimiento de CH<sub>4</sub> y la cinética. La CoDA de AE y EB con AV y AS mejoró el grado de degradación (0.64–0.77) por encima de la mono-DA de AE (0.34) y EB (0.46). La mono-DA de AS presentó riesgo de inhibición por NH<sub>3</sub>, el cual fue reducido mediante CoDA con AE y AV. La combinación de corrientes con bajo potencial de CH<sub>4</sub> (AE y EB) con corrientes de alto potencial (AV y AS) presentó efectos sinérgicos más fuertes que las mezclas EB-AE y AS-AV. Asimismo, las mezclas multicomponente tuvieron un mejor desempeño general que las mezclas binarias. A partir de la metodología desarrollada se seleccionaron las mejores mezclas, las cuales se evaluarán en los posteriores capítulos.

## 1.2. Introducción

La industria mundial de la carne consume el 24% del total del agua utilizada para la producción de alimentos y bebidas (Bustillo-Lecompte *et al.* , 2015). La producción de carne de res tiene una de las mayores huellas hídricas entre todos los alimentos (15,400 m<sup>3</sup> por tonelada de carne) (Mekonnen *et al.* , 2012). El sacrificio de animales y el procesamiento de la carne son los principales contribuyentes a esta huella, tanto en términos de uso de agua como de generación de aguas residuales. Se ha reportado que los volúmenes de aguas residuales de plantas de beneficio bovino (PBB) varían entre 0.57 m<sup>3</sup>/ bovino (Geraghty,2009= y 4.22 m<sup>3</sup>/bovino (Jensen *et al.* , 2014). Estas aguas residuales se caracterizan por una demanda química de oxígeno (DQO) entre 2000 mg/L (Caixeta *et al.* , 2002) y 20,400 mg/L (Saddoud *et al.* , 2007).

El proceso de sacrificio de bovinos varía según las tecnologías disponibles; sin embargo, en general, consta de cuatro etapas y genera corrientes de aguas residuales similares: (i) aguas de corrales (AC), generadas por el lavado preliminar del ganado y de los corrales, que contienen orina y heces; (ii) aguas de sacrificio (AS), que contienen sangre, rica en proteínas; (iii) aguas de lavado de vísceras (AV), provenientes de la limpieza de las vísceras blancas, por lo tanto, contienen partículas de carne y grasa y (iv) aguas de lavado estomacal (AE), generadas durante la extracción del contenido del tracto digestivo, con carbohidratos estructurales en forma de material lignocelulósico. En los países de ingresos medios y altos, las corrientes de aguas residuales de plantas de beneficio bovino (PBB) generalmente se tratan antes de su descarga en cursos de agua locales o en sistemas de alcantarillado. Los tratamientos primarios son los más comunes; sin embargo, son costosos y, a veces, insuficientes (Llerena *et al.* , 2022; Rivera-Castellanos *et al.* , 2023).

La digestión anaerobia (DA) es una tecnología eficiente para el tratamiento y valorización de residuos, dado que los compuestos se degradan en biogás (55–70% en volumen de  $\text{CH}_4$ ) y un lodo rico en nutrientes (digerido) (Bustillo-Lecompte *et al.*, 2015]. La precipitación de estruvita ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) es uno de los métodos más efectivos para la recuperación de fósforo y nitrógeno (P y N) de aguas residuales del beneficio animal (Ramaswamy *et al.*, 2022). La estruvita es un mineral cristalino que se caracteriza por ser un fertilizante de liberación lenta, de baja solubilidad en agua, lo cual reduce los problemas de eutrofización (Siciliano *et al.*, 2020).

En los países en desarrollo, los digestores tubulares son los más utilizados en hogares rurales, granjas y empresas del sector rural (agrícola y ganadero) debido a su construcción y operación sencillas (Kinyua *et al.*, 2016). Además, se ha demostrado que los digestores tubulares son adecuados para la DA de aguas residuales de PBB (Martí-Herrero *et al.*, 2018). Sin embargo, dada la composición bioquímica de los residuos del sacrificio animal (ricos en lípidos, proteínas y material lignocelulósico), la DA de estos sustratos puede generar varios problemas. Durante este proceso, las proteínas se descomponen en  $\text{NH}_3$  (Wang *et al.*, 2016), mientras que la hidrólisis de los lípidos produce ácidos grasos de cadena larga (AGCL) (Zonta *et al.*, 2013), los cuales pueden inhibir el proceso y reducir la producción de biogás y la eficiencia del tratamiento de residuos. La tolerancia del consorcio microbiano a estos inhibidores se caracteriza mediante un coeficiente de inhibición ( $K_{150}$ ), que indica la concentración en la cual la tasa de actividad microbiana es la mitad de la máxima (Astals *et al.*, 2014). Asimismo, el material lignocelulósico proveniente del contenido ruminal presenta un coeficiente de hidrólisis bajo (entre 0.10 y 0.12  $\text{d}^{-1}$ ) (Astals *et al.*, 2014, Jensen *et al.*, 2016), lo que provoca tasas lentas de degradación anaerobia. Esta cinética de degradación lenta requiere tiempos de retención hidráulica (TRH) prolongados (Kafle *et al.*, 2012) y, para una carga orgánica determinada, se traduce en un mayor volumen del reactor a escala real

(Fogler *et al.* , 2016). Esto conlleva generalmente a un aumento en la inversión, ya que más del 50% de los costos fijos corresponden al digestor (Devuyst *et al.* , 2011). Estos problemas pueden limitar el uso generalizado de los digestores tubulares para el tratamiento de aguas residuales de PBB.

La codigestión anaerobia (CoDA) se ha utilizado como una estrategia para mitigar las desventajas mencionadas anteriormente, debido a las posibles sinergias entre co-sustratos que permiten reducir la inhibición y aumentar la tasa de biodegradación. En este sentido, la mayoría de los estudios sobre DA consideran las aguas residuales de PBB como un único sustrato (una mezcla de AC, AS, AV y AE en la proporción en que se generan). Sin embargo, en un estudio realizado por Jensen *et al.* (2014), se evidenció que cada corriente tiene características particulares y puede tratarse como un sustrato individual. Además, el estiércol bovino (EB) es un excelente sustrato base (transportador) (Andriamanohiarisoamanana *et al.* , 2017). Por lo tanto, una mezcla adecuada de estos sustratos puede mejorar el rendimiento del proceso de DA, sin necesidad de añadir sustratos adicionales. No obstante, hasta donde se tiene conocimiento, la CoDA de las diferentes corrientes de aguas residuales de PBB no ha sido explorada en estudios previos.

Por lo general, los estudios de CoDA han evaluado la sinergia entre co-sustratos enfocándose en la producción de CH<sub>4</sub> (Ara *et al.* , 2015; Wang *et al.* , 2013), mientras que la cinética (tasa de degradación), en la mayoría de los casos, se evalúa mediante modelos matemáticos, sin determinar si existe sinergia en los factores cinéticos (Andriamanohiarisoamanana, *et al.* , 2017; Dennehy *et al.* , 2016). Hasta ahora, se han publicado tres metodologías para evaluar la sinergia en los parámetros cinéticos. Pagés-Díaz *et al.* (2014) implementaron un diseño de mezclas para evaluar un proceso de CoDA, luego ajustaron los resultados a modelos estadísticos y estimaron la significancia de los coeficientes de regresión. Esta

metodología es extensa y su precisión depende de la correcta selección del modelo estadístico para evaluar la sinergia. Ebner *et al.* (2016) propusieron un índice de tasa de codigestión (CRI) basado en la razón entre el coeficiente de tasa de hidrólisis aparente experimental y su valor esperado. Los autores demostraron, mediante una estimación numérica, cómo la media geométrica ponderada de las tasas de hidrólisis de los sustratos individuales es la mejor estimación para la tasa esperada de CoDA combinada. El procedimiento numérico sumó las curvas de pares de sustratos, ajustó el modelo de primer orden a los datos experimentales de CoDA y comparó el coeficiente de hidrólisis resultante con diferentes medias estadísticas de los sustratos individuales. Por lo tanto, la aplicación de esta metodología a otros modelos cinéticos (con más parámetros en comparación con el modelo de primer orden) podría ser demasiado compleja. Donoso-Bravo *et al.* (2019) presentaron un método más simple que consiste en la combinación lineal (media aritmética ponderada) de los parámetros cinéticos, el cual podría aplicarse a cualquier modelo. Sin embargo, esta metodología no considera la complejidad de la interacción cinética ni el error introducido por una aproximación con la media aritmética. Por lo tanto, los enfoques anteriores pueden resultar tediosos o generar incertidumbres en la evaluación de la sinergia cinética.

Con base en la revisión anterior, el objetivo del presente capítulo fue determinar los efectos sinérgicos y antagónicos durante la CoDA de mezclas de aguas residuales y estiércol de PBB, con relación a la reducción de la carga orgánica (biodegradabilidad), la producción de CH<sub>4</sub> y el potencial de producción de estruvita (recuperación de nutrientes). Por lo tanto, las principales contribuciones del presente estudio son: (i) la evaluación del desempeño de la CoDA de mezclas novedosas de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB, con énfasis en la reducción de la inhibición potencial y los problemas de biodegradabilidad; (ii) el desarrollo de una metodología para evaluar la sinergia entre co-sustratos, que considera tanto la producción de CH<sub>4</sub> como la

cinética de manera práctica y precisa; (iii) la aplicación de la metodología para seleccionar las mejores mezclas entre las corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB.

### 1.3. Materiales y métodos

El presente estudio empleó una metodología de cuatro partes: (1) evaluación experimental de la CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB, (2) implementación y evaluación de modelos cinéticos, (3) evaluación de efectos sinérgicos y (4) determinación del potencial de producción de estruvita. Para la primera parte, se recolectaron los sustratos y el inóculo. Luego, se aplicó un diseño estadístico de mezclas para preparar diferentes combinaciones de corrientes de aguas residuales y EB, las cuales fueron evaluadas mediante ensayos de potencial bioquímico de metano (PBM) para obtener el máximo rendimiento específico experimental de  $\text{CH}_4$  ( $B_o$ ). El rendimiento específico teórico de  $\text{CH}_4$  ( $B_{\text{oth}}$ ) se calculó a partir de la composición de las mezclas; posteriormente, se calculó el grado de degradación ( $f_d$ ) a partir de los valores de  $B_o$  y  $B_{\text{oth}}$ . En la segunda parte, se calibraron los modelos cinéticos de primer orden y Gompertz modificado utilizando los datos experimentales de los ensayos PBM y se seleccionó el modelo cinético más adecuado en función del ajuste. En la tercera parte, se evaluaron los efectos sinérgicos de la CoDA sobre la producción de  $\text{CH}_4$  y la cinética, mediante la comparación entre los valores experimentales y los valores esperados basados en los modelos. Por último, se calculó el potencial de producción de estruvita a partir de las concentraciones de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  del digerido de cada CoDA sinérgica.

#### 1.3.1. Evaluación de la codigestión anaerobia (CoDA)

##### Origen de los sustratos e inóculo

Las muestras de EB y aguas residuales (AS, AV y AE) se obtuvieron de la PBB Colbeef ubicada en Floridablanca, Santander (Latitud  $7^{\circ}30'14.82''$  N y Longitud  $73^{\circ}70'55.82''$  W). Las muestras fueron almacenadas en contenedores plásticos y mantenidas a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ .

Los sustratos fueron caracterizados mediante la medición del pH, contenido de sólidos totales (ST), contenido de sólidos volátiles (SV), demanda química de oxígeno (DQO), alcalinidad total (AT), ácidos grasos volátiles totales (AGV's) y composición bioquímica (carbohidratos, lípidos y proteínas) (Tabla 1).

**Tabla 1**

*Características de las corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB*

Parámetro	Unidad	AS	AV	AE	EB
pH	---	6.72± 0.08	6.90 ± 0.08	7.80± 0.08	7.38 ± 0.06
ST	kg/m <sup>3</sup>	8.28± 0.12	12.53± 0.22	18.23± 0.93	242.14± 1.04
SV	kg/m <sup>3</sup>	7.63± 0.21	10.96± 0.23	15.99± 0.98	154.22± 1.50
DQO	kg/m <sup>3</sup>	9.39± 0.04	9.75± 0.08	8.35± 0.14	37.06± 1.66
AGV's	kg CH <sub>3</sub> COOH /m <sup>3</sup>	0.72± 0.00	0.88± 0.07	1.25± 0.07	2.40± 0.00
AT	kg CaCO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup>	0.80± 0.00	1.38± 0.18	1.75± 0.05	3.25± 0.35
Lípidos	%SV	26.5	38.6	4.1	3.3
Proteínas	%SV	69.3	36.1	11.6	12.1
Carbohidratos	%SV	4.2	12.0	8.8	21.4
Celulosa	%SV	--	2.3	21.9	24.8
Hemicelulosa	%SV	--	6.4	32.0	22.1
Lignina	%SV	--	4.6	21.6	16.3

*Nota.* Los resultados se presentan como un promedio de tres mediciones ( $\pm 95$  % de intervalo de confianza). AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino

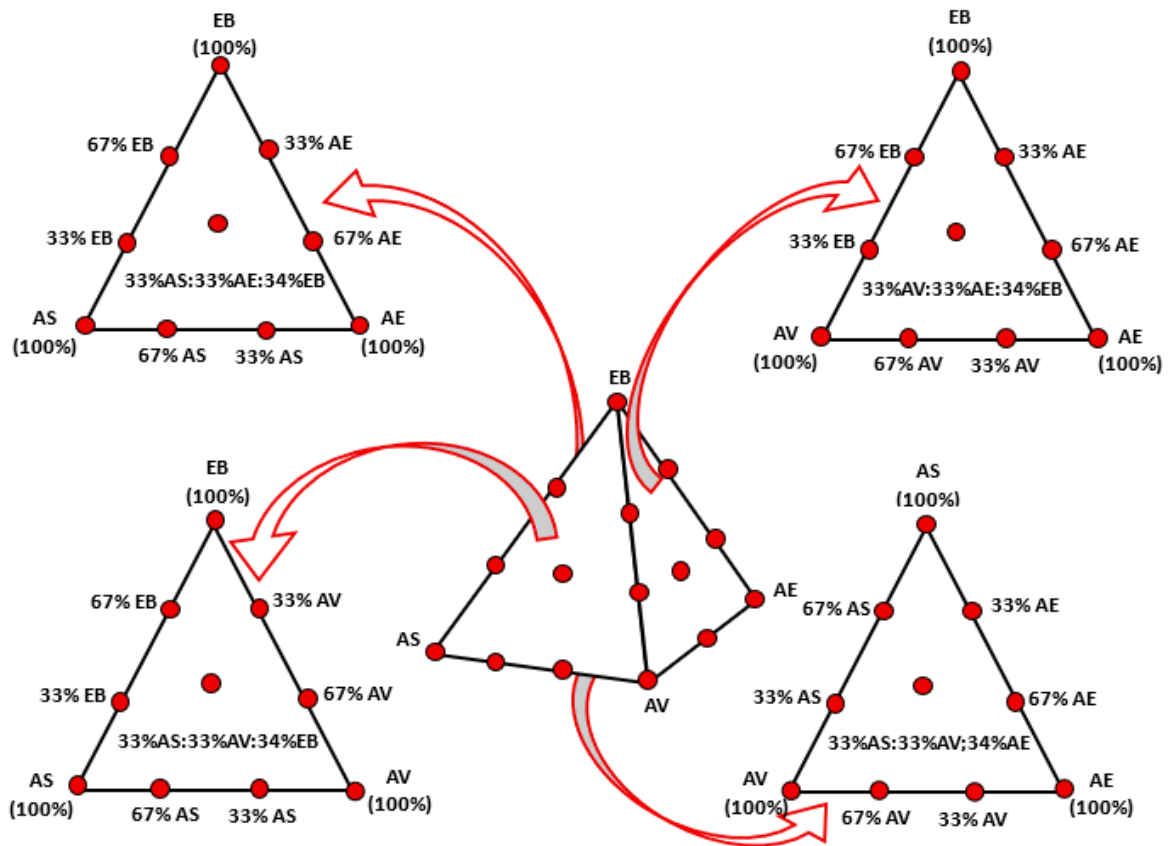
Los digestores fueron inoculados con lodo mesófilo proveniente de una pequeña planta de biogás ubicada en una finca de Floridablanca, Santander, Colombia (Latitud 7°01'00.07" N y Longitud 73°08'13.3" W). Las principales características del inóculo utilizado fueron:  $33.70 \pm 0.11$  kg TS/m<sup>3</sup>,  $19.95 \pm 0.14$  kg SV/m<sup>3</sup>, pH de  $8.09 \pm 0.03$ , AT de  $2.57 \pm 0.10$  kg CaCO<sub>3</sub>/m<sup>3</sup>, AGV's de  $1.42 \pm 0.12$  kg CH<sub>3</sub>COOH/m<sup>3</sup>, actividad metanogénica específica (AME) de  $0.035 \pm 0.005$  kg DQO/kg SV d y un coeficiente de inhibición por NH<sub>3</sub> (K<sub>I50-NH3</sub>) de  $18.53 \pm 0.34$  mg/L. La misma fuente de inóculo ha sido utilizada en estudios previos (Mendieta *et al.*, 2020).

### **Diseño de mezclas experimental**

Con el fin de eliminar la aleatoriedad en las mezclas, el ensayo se basó en un diseño experimental simplex lattice {4,3}, ampliado con el centroide general. Las mezclas se definieron en función de la carga orgánica expresada en SV. El diseño de mezclas fue creado utilizando STATGRAPHICS Centurion XVI (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE. UU.) y representado gráficamente como un tetraedro compuesto por una base triangular y tres caras triangulares denominadas simplex (Figura 2). Cada simplex consistió en 10 puntos (proporciones de mezcla), donde los vértices correspondían a mezclas con 100 % de un solo sustrato. El vértice superior del tetraedro representaba la proporción pura de EB. Los vértices en la base del tetraedro correspondían a las proporciones puras de 100 % AS, 100 % AV y 100 % AE. Los puntos ubicados en los ejes representaban mezclas binarias. Los puntos interiores de cada simplex correspondían a mezclas ternarias. Además, se incluyó un punto central en el tetraedro, dando un total de 21 mezclas (Tabla 2).

**Figura 2**

*Diseño de mezclas tipo simplex-lattice utilizado para la codigestión anaerobia (CoDA) de corrientes de aguas residuales de PBB y estiércol bovino.*



*Nota.* AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado de vísceras; AE: aguas de lavado estomacal y EB: estiércol bovino.

**Tabla 2***Diseño de mezclas aplicado en la evaluación del proceso de CoDA*

Mezcla	AS (%SV)	AV (%SV)	AE (%SV)	EB (%SV)	Tipo de Mezcla
AS100	100	0	0	0	Sustratos Individuales
AV100	0	100	0	0	
AE100	0	0	100	0	
EB100	0	0	0	100	
AS67:AV33	67	33	0	0	Binarias
AS67:AE33	67	0	33	0	
AS67:EB33	67	0	0	33	
AS33:AV67	33	67	0	0	
AS33:AE67	33	0	67	0	
AS33:EB67	33	0	0	67	
AV67:AE33	0	67	33	0	
AV67:EB33	0	67	0	33	
AV33:AE67	0	33	67	0	
AV33:EB67	0	33	0	67	
AE67:EB33	0	0	67	33	
AE33:EB67	0	0	33	67	
AS33:AV33:AE34	33	33	34	0	Ternarias
AS33:AE33:EB34	33	0	33	34	
AS33:AV33:EB34	33	33	0	34	
AV33:AE33:EB34	0	33	33	34	
AS25:AV25:AE25:EB25	25	25	25	25	Cuaternarias

*Nota.* AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino

**Máximo rendimiento específico experimental de CH<sub>4</sub> (B<sub>0</sub>)**

Con el fin de determinar el máximo rendimiento específico experimental de CH<sub>4</sub> (B<sub>0</sub>), se realizaron ensayos de PBM de acuerdo con el protocolo presentado por Holliger *et al.* (2016) (Holliger *et al.*, 2016) para materiales orgánicos, utilizando digestores de 100 mL (con un volumen de trabajo de 60 mL). Los ensayos se prepararon con una relación inóculo/sustrato (RIS) de 2, basada en la cantidad de sólidos volátiles (SV). En todos los ensayos, el pH inicial se mantuvo entre 7.0 y 8.0, y la capacidad tampón, expresada como la relación entre ácidos grasos volátiles totales y alcalinidad total (AGVT/AT) (Callaghan *et al.*, 2002), estuvo en el rango de 0.2 a 0.4. Estos valores están dentro del rango recomendado por el protocolo de PBM, por lo tanto, no fue necesario añadir agentes reguladores de pH. Los digestores se purgaron con N<sub>2</sub> puro y se sellaron utilizando tapones de goma de butilo y agrafes de aluminio. Se utilizaron blancos (que contenían solo inóculo y agua desionizada en lugar del sustrato) para estimar la producción endógena de CH<sub>4</sub> del inóculo. Todos los digestores fueron incubados a  $37 \pm 2$  °C y mezclados mediante inversión manual una vez al día. La producción de CH<sub>4</sub> se cuantificó mediante desplazamiento volumétrico de una solución alcalina (NaOH 0.1 N).

El volumen acumulado de CH<sub>4</sub> se ajustó a condiciones estándar de temperatura y presión (STP: 273 K y 1 atm), y el rendimiento específico de CH<sub>4</sub> se expresó en función de los sólidos volátiles añadidos (m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg SV) (Angelidaki *et al.*, 2009). Se realizó un control positivo independiente utilizando celulosa, lo que resultó en un rendimiento de CH<sub>4</sub> de  $0.364 \pm 0.013$  m<sup>3</sup>/kg SV, equivalente al 88 % del rendimiento específico teórico de CH<sub>4</sub> para la celulosa. Todas las pruebas, blancos y control se realizaron por triplicado. Los ensayos de PBM finalizaron una vez que la producción diaria de CH<sub>4</sub> en todas las mezclas disminuyó por debajo del 1 % del volumen

acumulado, durante tres días consecutivos, lo que dio como resultado una duración total de 30 días para las pruebas.

### **Rendimiento específico teórico de CH<sub>4</sub> (B<sub>oth</sub>)**

El rendimiento específico teórico, B<sub>oth</sub>, permite predecir la producción máxima de CH<sub>4</sub> de un sustrato. Este puede calcularse con base en la composición de los sustratos en términos de sus fracciones bioquímicas (carbohidratos, proteínas y lípidos) (Maya-Altamira *et al.*, 2008), como se muestra en la Ecuación (2):

$$B_{oth} = 0.415 \cdot x_{carbohidratos} + 0.496 \cdot x_{proteinas} + 1.014 \cdot x_{lipidos} \quad (2)$$

Las fracciones bioquímicas (x) se expresan en SV y B<sub>oth</sub> en STP m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg SV.

### **Grado de biodegradación (f<sub>d</sub>)**

El nivel de biodegradabilidad anaerobia de un residuo puede determinarse comparando el máximo rendimiento específico experimental de CH<sub>4</sub> (B<sub>o</sub>) con el valor teórico (B<sub>oth</sub>), como se muestra en la Ecuación (3) (Raposo *et al.*, 2011):

$$f_d = \frac{B_o}{B_{oth}} \quad (3)$$

donde f<sub>d</sub> es un parámetro clave que indica la fracción del residuo que puede ser transformada en CH<sub>4</sub>.

### **Remoción de DQO**

La remoción de materia orgánica se calculó a partir de los datos de DQO inicial (DQO<sub>inicial</sub>) y DQO final (DQO<sub>final</sub>) tanto de prueba d PBM (sustrato-inóculo) como del blanco (inóculo solo), como se indica en la Ecuación (4):

$$Remoción\ DQO = \frac{[DQO_{PBM} - DQO_{Blanco}]_{inicial} - [DQO_{PBM} - DQO_{Blanco}]_{final}}{[DQO_{PBM} - DQO_{Blanco}]_{inicial}} \quad (4)$$

### Procedimientos analíticos

Se determinaron sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), demanda química de oxígeno (DQO), pH, nitrógeno total Kjeldahl y lípidos (Soxhlet) conforme a los métodos estándar (APHA-AWWA-WEF, 2017). La alcalinidad total (AT) y los ácidos grasos volátiles totales (AGV's) se midieron según el método de Lahav y Morgan (2004) (Lahav *et al.* , 2004). La AT se cuantificó mediante la titulación de la muestra con una solución de HCl 0.1 N hasta alcanzar un pH final de 3. Luego, la muestra se calentó suavemente durante 3 minutos para eliminar completamente el CO<sub>2</sub> disuelto. Posteriormente, se registró la cantidad de NaOH 0.1 N necesaria para elevar el pH de 3 a 6.5, con lo cual se calculó el contenido de AGV's. La celulosa, hemicelulosa y lignina se determinaron a partir de las fracciones de fibra: fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina. Los contenidos de hemicelulosa y celulosa se calcularon como las diferencias entre FDN y FDA, y entre FDA y lignina, respectivamente (Van Soest *et al.* , 1991). La composición de proteínas se calculó a partir de la relación de 6.25 g de proteína por g de nitrógeno orgánico. El nitrógeno orgánico se determinó por la diferencia entre el nitrógeno total Kjeldahl y el nitrógeno amoniacal (Passos *et al.* , 2017). Los carbohidratos no lignocelulósicos (por ejemplo, azúcares, almidón y pectinas) se obtuvieron por diferencia. La actividad metanogénica específica (AME) y el coeficiente de inhibición  $K_{I50-NH_3}$  del inóculo se determinaron siguiendo el procedimiento de Astals *et al.* (2015). Las concentraciones de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> se midieron mediante test (Spectroquant ammonium test y Spectroquant phosphate test de Merck), los cuales son análogos a los métodos APHA 4500-NH<sub>3</sub> F y APHA 4500-P E, respectivamente (APHA-AWWA-WEF, 2017). La concentración de NH<sub>3</sub> (mg NH<sub>3</sub>-N/ L) se determinó con la Ecuación (5), donde NAT (mg N /L) representa el nitrógeno amoniacal total en forma de NH<sub>3</sub> y

$\text{NH}_4^+$ ,  $K_a$  es la constante de equilibrio ácido-base, y  $\gamma_1$  es el coeficiente de actividad (Astals *et al.*, 2018):

$$\text{NH}_3 - N = \frac{K_a \cdot \text{NAT} \cdot \gamma_1}{K_a \cdot \gamma_1 + 10^{-pH}} \quad (5)$$

$$\text{NAT} = \text{NH}_3 - N + \text{NH}_4^+ - N \quad (6)$$

A la temperatura de los ensayos de PBM (37 °C),  $K_a$  es  $1.27 \times 10^{-9}$ . Los valores de  $\gamma_1$  se obtuvieron a partir de las Ecuaciones (7) y (8) (Astals *et al.*, 2018):

$$\log \gamma_1 = -0.5 \cdot z_i^2 \cdot \left( \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} - 0.20I \right) \quad (7)$$

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n z_i^2 \cdot C_i \quad (8)$$

donde  $z_i$  es la valencia del ion  $i$ ,  $I$  es la fuerza iónica (mol/L) y  $C_i$  es la concentración del ion  $i$  (mol/ L). Para los cálculos, el único ion considerado fue  $\text{NH}_4^+$ .

### 1.3.2. Modelo cinético

El modelo de primer orden (Ecuación (9)) y el modelo de Gompertz modificado (Ecuación (10)) se compararon en función de su ajuste a las curvas de PBM obtenidas en los ensayos de CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB. El modelo de primer orden ha sido utilizado en estudios previos para describir la producción acumulada de  $\text{CH}_4$  a partir de diversos residuos orgánicos (Dennehy *et al.*, 2016; Shen, *et al.*, 2018), cuando la etapa limitante es la hidrólisis:

$$B_s = P_o \cdot (1 - \exp(-k_h \cdot t)) \quad (9)$$

donde  $B_s$  ( $\text{m}^3$  /kg SV) es el rendimiento específico simulado de  $\text{CH}_4$  en el tiempo  $t$  (d),  $P_o$  ( $\text{m}^3$  /kg SV) es el máximo rendimiento específico de  $\text{CH}_4$  simulado y  $k_h$  es el coeficiente aparente de la tasa de hidrólisis ( $\text{d}^{-1}$ ). En los casos en que la producción de biogás es proporcional a la

actividad microbiana, el modelo de Gompertz modificado es más adecuado que el modelo de primer orden (Pan *et al.*, 2019).

$$B_s = P_o \cdot \exp\left(-\exp\left(\frac{R_{max} \cdot e}{P} \cdot (\lambda - t) + 1\right)\right) \quad (10)$$

donde  $\lambda$  es la fase de latencia (d),  $R_{max}$  es la tasa máxima de producción específica de  $CH_4$  ( $m^3 CH_4/kg SV d$ ) y  $e$  es  $\exp(1) = 2.7183$ . Los modelos fueron ajustados a las curvas de los ensayos PBM en Aquasim 2.1d (Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology—Eawag). Los parámetros fueron estimados mediante un método de mínimos cuadrados ponderados, minimizando la función de costo mostrada en la Ecuación (11) (Poggio *et al.*, 2016):

$$x^2 = \sum_{i=1}^n \left( \frac{B_{m,i} - B_{s,i}(r)}{\sigma_{m,i}} \right)^2 \quad (11)$$

donde  $B_{m,i}$  es el  $i$ -ésimo valor medido del volumen acumulado de  $CH_4$ , asumido como una variable aleatoria con distribución normal;  $B_{s,i}(r)$  es la predicción del modelo, una función del conjunto de parámetros  $r$  a estimar, en el tiempo correspondiente al  $i$ -ésimo dato; y  $\sigma_{m,i}$  es el error estándar de la medición  $B_{m,i}$ , calculado a partir de los valores de las réplicas, el cual pondera cada término de la suma. Los errores estándar de las mediciones se calcularon de acuerdo con Holliger *et al.* (2016) (Ecuación (12)):

$$\sigma_m = \sqrt{(\sigma_{blanco})^2 + (\sigma_{sustrato})^2} \quad (12)$$

Como técnica de minimización, se utilizó el algoritmo de la secante implementado en Aquasim. La tolerancia para la convergencia en la función objetivo fue de  $4 \times 10^{-3}$ . Para verificar la convergencia del algoritmo hacia los mismos valores de parámetros óptimos, se utilizaron diferentes valores iniciales para los parámetros objetivo. El intervalo de confianza de los

parámetros estimados se expresó como error estándar, calculado mediante el algoritmo de la secante en Aquasim.

La precisión de las predicciones del modelo con respecto a los resultados experimentales se analizó mediante el coeficiente de regresión ( $R^2$ ) y la raíz del error cuadrático medio normalizado (RECMN):

$$RECMN = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (B_{s,i} - B_{m,i})^2}{n}}}{\overline{B_m}} \quad (13)$$

donde  $B_{s,i}$ ,  $B_{m,i}$  y  $\overline{B_m}$  son, respectivamente, los rendimientos específicos de  $CH_4$  simulados, medidos y promedio, y  $n$  es el número de datos experimentales.

### 1.3.3. Evaluación de los efectos sinérgicos

Los efectos sinérgicos fueron evaluados tanto para el rendimiento como para la cinética de la producción de  $CH_4$  (Tabla 3). Los factores se calcularon siguiendo el enfoque de Castro-Molano *et al.* (2018).

Los valores esperados de los parámetros utilizados se determinaron a partir de las curvas predictivas de PBM ( $B_p$ ) de la CoDA, calculadas a partir de las curvas de PBM ( $B_m$ ) de los sustratos individuales, asumiendo que la producción de  $CH_4$  en la CoDA es la producción ponderada de los sustratos individuales. Para todas las mezclas,  $B_p$  se calculó, por tanto, como la suma de los productos del  $B_m$  experimental de los sustratos individuales  $j$  por su respectiva fracción de SV en la mezcla ( $\alpha_j$ ), como se muestra en la Ecuación (14):

$$B_p = \sum_{j=1}^n B_{m,j} \cdot \alpha_j \quad (14)$$

El  $B_{o,esperado}$  se tomó como el rendimiento máximo de  $CH_4$  de la curva predictiva, mientras que los parámetros cinéticos esperados  $\lambda$ ,  $R_{max}$  y  $k_h$  se obtuvieron a partir de la calibración de los modelos de Gompertz modificado y de primer orden para los valores de las curvas predictivas de PBM ( $B_p$ ).

**Tabla 3**

*Ecuaciones aplicadas para evaluar los factores sinérgicos ( $\phi$ ) en la CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB*

Factores de sinergia	Ecuación	Evaluación
$\phi_y$	$\left(\frac{B_o - B_{o,esperado}}{B_{o,esperado}}\right) * 100$	$\phi_{y,kh,R,\lambda} > 0$ : la mezcla presenta efectos sinérgicos
$\phi_{kh}$	$\left(\frac{k_h - k_{h,esperado}}{k_{h,esperado}}\right) * 100$	$\phi_{y,kh,R,\lambda} < 0$ : la mezcla presenta efectos antagónicos
$\phi_R$	$\left(\frac{R_{max} - R_{max,esperado}}{R_{max,esperado}}\right) * 100$	$\phi_{y,kh,R,\lambda} = 0$ : la mezcla no afecta el desempeño de los sustratos
$\phi_\lambda$	$\left(\frac{\lambda_{esperado} - \lambda}{\lambda_{esperado}}\right) * 100$	

*Nota.*  $\phi_y$ : sinergia con respecto al rendimiento de  $CH_4$ ,  $\phi_{kh}$ : sinergia con respecto al coeficiente aparente de la tasa de hidrólisis,  $\phi_R$ : sinergia con respecto a la tasa máxima de producción específica de  $CH_4$  y  $\phi_\lambda$  sinergia con respecto a la fase de latencia.

#### 1.3.4. Potencial de producción de estruvita

Se determinó la máxima cantidad de estruvita potencialmente recuperable a partir de la estequiometría de la reacción de precipitación del mineral (Ecuación 15), utilizando las concentraciones de  $NH_4^+$  y  $PO_4^{3-}$  finales de los ensayos de PBM.



Una vez establecido el ión limitante entre  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$ , el potencial de estruvita (PES:  $\text{kg/m}^3$ ) se calculó a partir de la Ecuación 16:

$$PES = \text{Min} \left\{ \frac{C_{\text{PO}_4^{3-}}}{94.97}, \frac{C_{\text{NH}_4^+}}{18.00} \right\} \cdot \frac{V_{\text{dig}}}{V_{\text{sus}}} \cdot 245.41 \quad (16)$$

Donde el termino entre llaves ( $\{ \}$ ) indica la concentración del ion limitante ( $\text{kmol/m}^3$ );  $C_{\text{PO}_4^{3-}}$  y  $C_{\text{NH}_4^+}$  son las concentraciones de  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{NH}_4^+$  en el digerido ( $\text{kg/m}^3$ ), respectivamente,  $V_{\text{dig}}$  y  $V_{\text{sus}}$  son el volumen de digerido final en la prueba de PBM y del sustrato cargado inicialmente ( $\text{m}^3$ ) y 94.97, 18.00 y 245.41  $\text{kg/kmol}$  son las masa molares de  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NH}_4^+$  y estruvita, respectivamente.

### 1.3.5. Análisis estadístico

Se utilizaron análisis de varianza (ANOVA) para facilitar el estudio de los datos y la detección de diferencias significativas entre las mezclas con respecto a las variables  $B_o$  y  $f_d$  ( $p$ -value  $< 0.05$ ), lo cual permitió además estimar la desviación estándar. Los análisis fueron realizados mediante STATGRAPHICS Centurion XVI (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE. UU.).

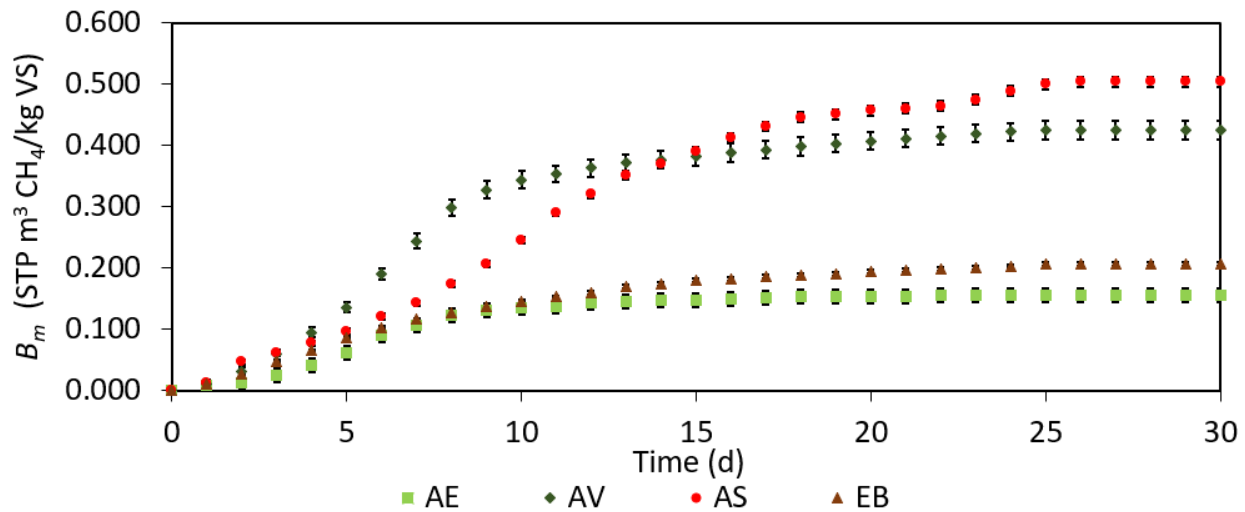
## 1.4. Resultados y discusión

### 1.4.1. Máximo rendimiento específico experimental de $\text{CH}_4$ ( $B_o$ ) de sustratos individuales

Los resultados de los ensayos PBM de los sustratos individuales se muestran en la Figura 3. Dependiendo de la composición bioquímica predominante de los sustratos, es posible dividir los resultados en dos grupos. El primer grupo incluye los sustratos de naturaleza lignocelulósica (Tabla 1): las aguas de lavado estomacal (AE) y el estiércol bovino (EB), los cuales presentaron una baja producción de  $\text{CH}_4$  debido a su alto contenido de material recalcitrante.

**Figura 3**

*Producción acumulada de CH<sub>4</sub> de las corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB*



*Nota.* AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado de vísceras; AE: aguas de lavado estomacal; EB: estiércol bovino.

Desde el inicio del ensayo de PBM hasta el día 12, las producciones acumuladas de CH<sub>4</sub> de AE y EB fueron similares (Figura 3). Sin embargo, a partir del día 12, la producción de CH<sub>4</sub> de AE se ralentizó y se acercó a su meseta, mientras que la producción para EB continuó aumentando hasta alcanzar su valor estable alrededor del día 25. Los comportamientos anteriores son similares a los encontrados en estudios previos sobre la digestión de EB (Jin *et al.*, 2009) y AE (Jensen *et al.*, 2016).

El EB resultó en un B<sub>0</sub>, a los 30 días, de  $0.206 \pm 0.003$  m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg SV y un  $f_d$  de  $0.46 \pm 0.00$ , valores que se encuentran dentro del rango de B<sub>0</sub> reportados para estiércol lechero (0.089–0.303 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg SV) (Jin *et al.*, 2009; Zheng *et al.*, 2015) y cercanos a la biodegradabilidad publicada en estudios previos (0.54) (Ebner *et al.*, 2016). Las AE presentaron un B<sub>0</sub> y un  $f_d$  de  $0.154 \pm 0.011$  m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg SV y  $0.34 \pm 0.01$ , respectivamente. Estos valores son inferiores a los encontrados para AE en PBB australianas ( $0.309$  m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kgSV y 0.84) (Jensen *et al.*, 2016). Dado

que la composición del contenido ruminal depende del tiempo que el pasto permanece en el estómago de los animales (Matthews *et al.* , 2019), las diferencias anteriores pueden atribuirse a variaciones en el manejo de los animales antes del sacrificio. Según la regulación australiana, los animales deben permanecer 24 horas en los corrales antes del sacrificio para ser revisados y garantizar que están sanos (RSPCA, 2020). Sin embargo, en las PBB colombianas, los animales pueden ser sacrificados 6 horas después de su llegada (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013).

El segundo grupo está formado por las aguas de lavado de vísceras (AV) y las aguas de sacrificio (AS), que, a diferencia del primer grupo, son más ricas en lípidos y proteínas (Tabla 1), resultando en una producción relativamente mayor de CH<sub>4</sub> (Figura 3). Durante los primeros 3 días, el rendimiento de CH<sub>4</sub> de AV y AS no presentó diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). Sin embargo, del día 4 al 10, el rendimiento de CH<sub>4</sub> de AV aumentó a una tasa mayor que el de AS, pero luego desaceleró desde el día 11 hasta alcanzar un estado estable alrededor del día 25. Por otro lado, en el caso de AS, el rendimiento de CH<sub>4</sub> presentó un aumento casi constante hasta aproximadamente el día 17, donde disminuyó y alcanzó una meseta el día 25. Estudios previos han mostrado cómo la DA de residuos con altas concentraciones de lípidos resulta en un largo período de latencia, debido a la acumulación e inhibición de ácidos grasos de cadena larga (AGCL). Por ejemplo, Jensen *et al.* (2014) reportaron un período de latencia de 18 días durante la DA de aguas residuales ricas en lípidos (10 g/L). A su vez, Harris *et al.* (2018) evidenciaron 7 días de período de latencia para la digestión anaerobia de lodos DAF (flotación por aire disuelto) (10.5 g lípidos/L). Así mismo, Andriamanohiarisoamanana *et al.* (2017) encontraron que la curva de BMP del glicerol crudo presentó una forma atípica (aumento constante en los primeros 5 días seguido de una lenta producción de CH<sub>4</sub> hasta el día 15 y luego un comportamiento exponencial) debido a la inhibición

por AGCL. Por el contrario, en el presente estudio, los ensayos BMP de AS y AV iniciaron la producción de CH<sub>4</sub> desde el primer día, sus curvas mostraron un comportamiento típico y su concentración de lípidos fue inferior a 10 g/L. Esto indica que es poco probable que los AGCL sean una fuente de inhibición durante la DA de las corrientes de aguas residuales de PBB evaluadas.

El amoníaco es otra posible causa de inhibición, que resulta de sustratos con alto contenido proteico. En este sentido, el ensayo de PBM con AS presentó una concentración final de NH<sub>3</sub> de  $21.12 \pm 0.25$  mg/L, la cual es superior al coeficiente de inhibición  $K_{I50-NH_3}$  del inóculo ( $18.53 \pm 0.34$  mg/L). Varios estudios han investigado los efectos de la inhibición por amoníaco en ensayos de PBM y reportaron curvas experimentales cualitativamente similares al presente estudio. Por ejemplo, Nielsen y Angelidaki (2008) evaluaron la DA de estiércol animal en ensayos BMP, con diferentes concentraciones iniciales de nitrógeno total. La inhibición por amoníaco se evidenció en la pendiente de las curvas acumuladas de CH<sub>4</sub>, la cual disminuyó con el aumento del nitrógeno inicial. En particular, las muestras con una concentración de nitrógeno total de 3.0 g/L y 3.5 g/L alcanzaron el mismo rendimiento máximo de CH<sub>4</sub>. Sin embargo, la primera muestra alcanzó el 80% de su rendimiento máximo a los 13 días, mientras que la segunda lo logró a los 21 días; este resultado también destaca cómo la inhibición por amoníaco sigue un comportamiento umbral (Astals *et al.*, 2018). Similarmente, Cuetos *et al.* (2017) investigaron el efecto de la adición de carbón activado en la DA de sangre de aves (similar a las AS del presente estudio). Los experimentos con menores contenidos de carbón activado resultaron en inhibición por NH<sub>3</sub> y una tasa significativamente menor al inicio de la curva de PBM (específicamente, durante los primeros 13 días). El análisis y los estudios mencionados confirman la probabilidad de acumulación de NH<sub>3</sub> e inhibición durante la mono-DA de AS.

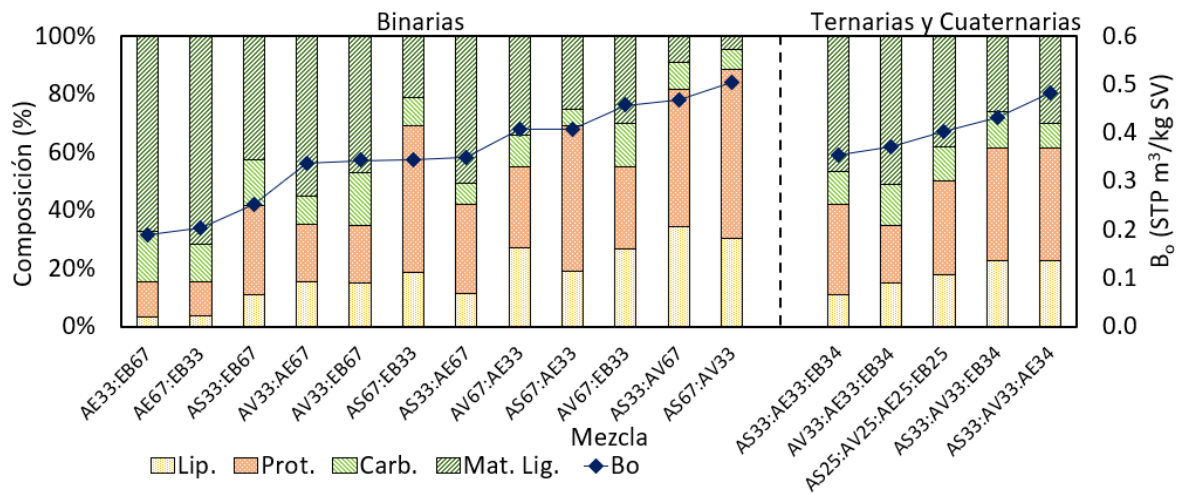
Los ensayos de PBM de AS y AV presentaron valores de  $B_o$  de  $0.505 \pm 0.008$  y  $0.425 \pm 0.015 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ , respectivamente. Aunque las AV tienen el mayor contenido de lípidos, presentaron un  $B_o$  menor que las AS debido a la presencia concomitante de material lignocelulósico (Tabla 1). El  $B_o$  de AS estuvo cerca de los valores de  $0.500$  y  $0.570 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$  reportados en los estudios de Jensen *et al.* (2014; 2015), mientras que el  $f_d$  resultó en un valor de  $0.80 \pm 0.01$ , el cual es cercano a la biodegradabilidad de la sangre ( $f_d$  de 0.77) (Astals *et al.*, 2014). Por otro lado, el  $B_o$  de AV es menor en comparación con estudios que investigaron sustratos similares. Por ejemplo, Jensen *et al.* (2014) encontró un  $B_o$  entre  $0.721$  y  $0.931 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$  para un flujo de aguas residuales de vísceras. No obstante, estas aguas residuales también contenían el flujo de desechos de la limpieza de vísceras rojas. Lo anterior resulta en una concentración de lípidos más alta (hasta  $11.64 \text{ kg}/\text{m}^3$ ) comparada con el flujo de AV del presente estudio, lo que explica el  $B_o$  relativamente más alto. En cuanto al  $f_d$  de AV ( $0.63 \pm 0.02$ ), hasta donde se tiene conocimiento, no hay comparación disponible en la literatura.

#### **1.4.2. Máximo rendimiento específico experimental de $\text{CH}_4$ en AcoD**

La Figura 4 muestra la composición (lípidos, proteínas, carbohidratos y material lignocelulósico) y el máximo rendimiento experimental ( $B_o$ ) de las diferentes CoDA's evaluadas (las curvas PBM se presentan en la Figura A1 del apéndice A). En general, tanto para mezclas binarias como multicomponentes, el  $B_o$  aumentó directamente con el contenido de lípidos y proteínas, mientras que disminuyó con la proporción del material lignocelulósico. Por lo tanto, el  $B_o$  más alto corresponde a las mezclas binarias de AS y AV (AS33:AV67 y AS67:AV33) y a las mezclas ternarias donde AS y AV estuvieron presentes simultáneamente (AS33:AV33:EB34 y AS33:AV33:AE34).

**Figura 4**

Composición bioquímica de las diferentes mezclas de CoDA (eje izquierdo) y el máximo rendimiento específico de  $CH_4$  (eje derecho)



*Nota.* En el eje X, la letra representa la corriente de sustrato (AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado de vísceras; AE: aguas de lavado estomacal; EB: estiércol bovino) y el número su porcentaje de SV en la mezcla.

Las mezclas ternarias y cuaternaria presentaron un  $B_0$  significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que las mezclas binarias con una composición bioquímica similar. Por ejemplo, las combinaciones con una proporción de mezcla de AS33:EB67 y AS33:AE33:EB34 tienen una composición similar (~11%SV lípidos, ~31%SV proteínas y ~58%SV carbohidratos); sin embargo, la última mezcla exhibió un  $B_0$  40% mayor que la primera. Del mismo modo, la mezcla ternaria AV33:AE33:EB34 presentó un  $B_0$  10% mayor que las mezclas binarias AV33:AE67 y AV33:EB67, a pesar de tener composiciones parecidas (~15%SV lípidos, ~20%SV proteínas y ~65%SV carbohidratos). Al comparar las mezclas ternarias con el  $B_0$  más alto (mezclas AS33:AV33:EB34 y AS33:AV33:AE34) con la mezcla binaria con el  $B_0$  más alto (AS67:AV33), las mezclas ternarias tienen un  $B_0$  similar (diferencia del 4–14%), a pesar de tener un 33% menos de proteínas y un 25%

menos de lípidos que la mezcla binaria. Lo anterior evidencia una mayor sinergia entre macromoléculas en la producción de  $\text{CH}_4$  en mezclas multicomponentes que en mezclas binarias. Este resultado concuerda con el estudio de Astals *et al.* (2014), quienes sugirieron que, además de la macrocomposición, la estructura de los sustratos también afecta su interacción. En este sentido, existen diferencias en la estructura de los carbohidratos entre AE y EB, y en el tipo de proteínas entre AS y AV.

Los efectos de la CoDA sobre la reducción de la composición inicial de material lignocelulósico y la concentración final de  $\text{NH}_3$  (ver Tabla C1 del apéndice C para los detalles del cálculo de  $\text{NH}_3$ ) se muestran en la Tabla 4, tomando la biodegradabilidad ( $f_d$ ) como indicador. En el caso del EB y las AE, la CoDA con AV y AS, ya sea en mezclas binarias o multicomponentes, permitió obtener mezclas con un contenido lignocelulósico relativamente menor; esto redujo el carácter recalcitrante de la mezcla. En consecuencia, las CoDA's incrementaron la  $f_d$  por encima de los valores obtenidos en la mono-DA de EB y AE (0.46 y 0.34, respectivamente). Por el contrario, las mezclas binarias entre EB y AE presentaron una alta composición lignocelulósica, lo que resultó en un  $f_d$  cercano a 0.44. Estudios previos han demostrado que la CoDA con residuos lignocelulósicos es una alternativa para mejorar la relación C/N del estiércol animal; sin embargo, esto requiere de pretratamientos (Neshat *et al.* , 2017).

En el caso de las AV, todas sus mezclas presentaron una  $f_d$  mayor que su mono-DA (0.63), dado que los residuos grasos son co-sustratos adecuados para residuos lignocelulósicos y proteicos (Astals *et al.* , 2014). A su vez, las AS mostraron la mayor degradabilidad entre los sustratos individuales (0.80) debido a su contenido de proteínas solubles presentes en la sangre (por ejemplo, albúmina y globulina). Estas proteínas se hidrolizan rápidamente y luego se convierten en  $\text{CH}_4$ , generando a su vez  $\text{NH}_3$ . En el caso de AS la CoDA ofrece la oportunidad de reducir el riesgo de

inhibición por amoníaco, mediante mezclas con sustratos de menor contenido proteico. Por ejemplo, la adición de AE a AS en mezclas binarias permitió reducir el riesgo de inhibición por  $\text{NH}_3$  y alcanzar un  $f_d$  cercano a 0.7. La mezcla ternaria con una proporción de mezcla AS33:AV33:AE34 presentó un  $f_d$  (0.83) superior al de la mono-DA de AS, lo cual es coherente con su composición equilibrada de carbohidratos, lípidos y proteínas (Figura 4).

Por otro lado, se evidenció riesgo de inhibición durante las mezclas binarias entre EB y AS, como lo indica la concentración final de  $\text{NH}_3$  superior al  $K_{150-\text{NH}_3}$ , lo cual resultó en una  $f_d$  significativamente menor ( $p < 0.05$ ) a las otras CoDA's de AS. Un resultado similar fue reportado por Andriamanohiarisoamanana *et al.* (2017), quienes investigaron la CoDA de harina de carne y hueso con estiércol en ensayos de PBM. Este estudio mostró cómo el aumento del contenido de harina de carne y hueso del 10% al 66% SV causó inhibición por  $\text{NH}_3$  y, como consecuencia, se redujo la tasa de conversión de este residuo a  $\text{CH}_4$ . En el presente estudio, los efectos inhibitorios entre AS y EB fueron mitigados en mezclas ternarias y cuaternarias mediante la dilución con AV y AE.

Estudios previos han destacado los residuos lignocelulósicos como co-sustratos adecuados para la DA de sangre. Por ejemplo, López *et al.* (2006) evaluaron la CoDA de contenido ruminal y sangre en digestores discontinuos. Los resultados mostraron una degradación de materia orgánica entre 55 y 70% cuando la relación contenido ruminal/sangre (en base a ST) varió entre 2 y 8. Los autores destacaron cómo, durante la CoDA, la sangre aporta capacidad buffer adicional y micronutrientes al sistema. Cuetos *et al.* (2013) realizaron experimentos en batch sobre la CoDA de sangre de ave con residuos de maíz. Cuando la concentración de maíz aumentó del 15% al 70% (con base en SV), la producción de  $\text{CH}_4$  se incrementó de 0.130 a 0.188  $\text{m}^3/\text{kg}$  SV. De manera similar, la CoDA de sangre y la fracción orgánica de sólidos municipales, ha demostrado ser

estable en operación de digestores CSTR, logrando rendimientos de CH<sub>4</sub> entre 0.200 y 0.289 m<sup>3</sup>/kg SV (Zhang y Banks, 2012).

**Tabla 4**

*Evaluación de la CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB*

Mezcla	Material lignocelulósico inicial (%SV)	NH <sub>3</sub> final (mg/L)	Reducción de la composición de material lignocelulósico	Reducción del riesgo de inhibición por NH <sub>3</sub>	$f_d$
AS100	0.0	21.82±0.25	n/a	n/a	0.80 ± 0.01
AV100	13.3	10.62±0.27	n/a	n/a	0.63 ± 0.02
AE100	75.5	7.48 ± 0.25	n/a	n/a	0.34 ± 0.01
EB100	63.2	7.24 ± 0.21	n/a	n/a	0.46 ± 0.00
AS67:AV33	4.4	15.89±0.37	+	+	0.78 ± 0.01
AS67:AE33	25.2	16.73±0.35	+	+	0.72 ± 0.03
AS67:EB33	21.1	<b>23.73±0.33</b>	+	-	0.61 ± 0.01
AS33:AV67	8.9	15.71±0.37	+	+	0.71 ± 0.02
AS33:AE67	50.4	9.91 ± 0.25	+	+	0.68 ± 0.01
AS33:EB67	42.1	<b>22.01±0.33</b>	+	-	0.50 ± 0.01
AV67:AE33	34.1	8.64 ± 0.37	+	+	0.68 ± 0.01
AV67:EB33	29.9	6.32 ± 0.34	+	+	0.77 ± 0.01
AV33:AE67	54.8	6.62 ± 0.37	+	+	0.64 ± 0.01
AV33:EB67	46.6	10.22±0.34	+	+	0.66 ± 0.01
AE67:EB33	71.4	10.48±0.33	-	+	<b>0.45 ± 0.01</b>
AE33:EB67	67.3	8.37 ± 0.33	-	+	<b>0.43 ± 0.01</b>
AS33:AV33:AE34	29.6	2.30 ± 0.44	+	+	0.83 ± 0.00
AS33:AE33:EB34	46.2	5.43 ± 0.41	+	+	0.70 ± 0.01
AS33:AV33:EB34	25.5	2.16 ± 0.42	+	+	0.74 ± 0.00
AV33:AE33:EB34	50.7	1.79 ± 0.42	+	+	0.71 ± 0.01
AS25:AV25:AE25:EB25	38.0	3.56 ± 0.49	+	+	0.73 ± 0.01

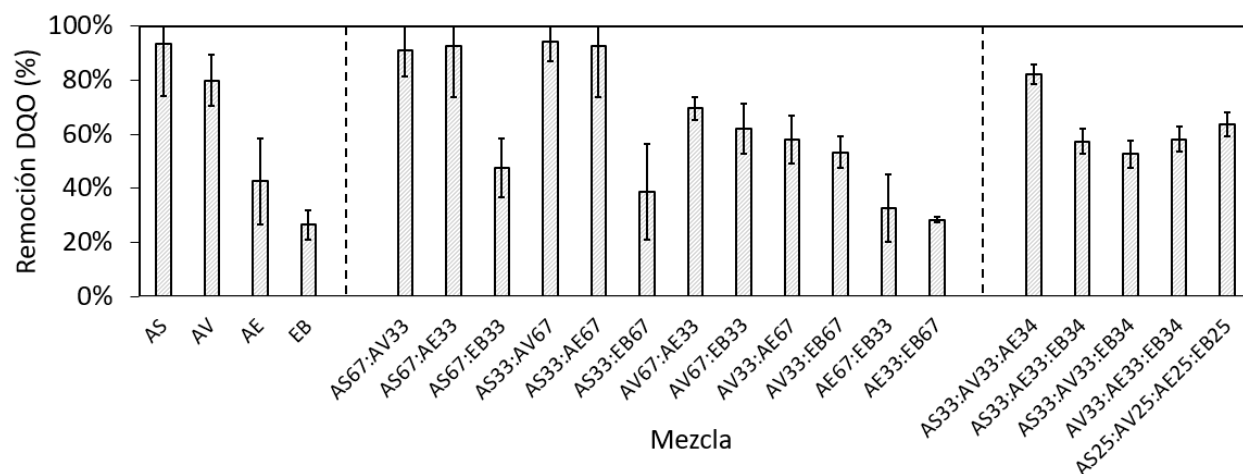
*Nota.* Los resultados se presentan como el promedio de tres mediciones ( $\pm 95\%$  intervalo de confianza). Las mono-DA se presentan como referencia. AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal y EB: estiércol bovino.

### Remoción de carga orgánica

En la figura 5 se presenta la remoción de materia orgánica, en términos de DQO, obtenida en los ensayos de PBM. En cuanto a las mono-DA's, la mayor remoción se obtuvo en la DA de AS, debido a que gran parte de su carga orgánica proviene de sangre disuelta, la cual presenta un alto contenido de DQO soluble (Pozo *et al.*, 2003). Esta fracción es fácilmente biodegradable, aunque implica un riesgo de inhibición por  $\text{NH}_3$ , como se evidenció previamente. Así mismo, las menores remociones de DQO las presentaron las DA de AE y EB, lo cual concuerda con su mayor contenido de material lignocelulósico en comparación con AS y AV.

#### Figura 5

*Remoción de DQO durante los ensayos de PBM de las mono DA's y CoDA's de aguas residuales y estiércol de PBB*



*Nota.* En el eje X, la letra representa la corriente de sustrato (AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado de vísceras; AE: aguas de lavado estomacal; EB: estiércol bovino) y el número su porcentaje de SV en la mezcla.

Con respecto a las CoDA's, las menores remociones de DQO las exhibieron las mezclas binarias AS-EB y AE-EB, lo cual concuerda con el bajo desempeño reportado en la Tabla 4. Las mayores remociones (>80% del DQO removido) las presentaron las mezclas AS67:AV33,

AS67:AE33, AS33:AV67, AS33:AE67 y AS33:AV33:AE34, las cuales exhibieron las mayores proporciones de proteínas (Figura 4). En general, exceptuando las mezclas AS-EB y AE-EB, la remoción de DQO de las CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB, estuvo dentro del rango reportado por estudios anteriores para ensayos de PBM de residuos del beneficio animal: 52.0% (Chumpoochai *et al.*, 2024) – 79.6 % (Matjuda *et al.*, 2024).

Debido a los inconvenientes mencionados anteriormente, las mezclas entre EB y AE, así como entre EB y AS, pueden conducir a valores bajos de biodegradabilidad y a inestabilidades, respectivamente, en el proceso de DA (ver los valores en *negrita/cursiva* en la Tabla 4). Por lo tanto, estas mezclas fueron excluidas de las siguientes secciones para centrarse en las mezclas aparentemente sinérgicas.

#### ***1.4.3. Selección del modelo cinético***

El ajuste de los modelos de primer orden y Gompertz modificado, así como los respectivos parámetros cinéticos estimados, se resumen en la Tabla 5. El mejor modelo se seleccionó en función de dos criterios estadísticos: el error cuadrático medio normalizado (RECMN) y el coeficiente de regresión ( $R^2$ ). El RECMN es la desviación estándar de los errores de predicción (residuos); por lo tanto, es una medida de qué tan alejados están los puntos experimentales de las curvas simuladas. El  $R^2$  proporciona una medida adicional de que tanto el modelo puede reproducir los datos experimentales.

**Tabla 5***Parámetros cinéticos de los modelos ajustados a las curvas de los ensayos de PBM*

Modelo	Mezclas												
	AS67:AV33	AS67:AE33	AS33:AV67	AS33:AE67	AV67:AE33	AV67:EB33	AV33:AE67	AV33:EB67	AS33:AV33:AE34	AS33:AE33:EB34	AS33:AV33:EB34	AV33:AE33:EB34	AS25:AV25:AE25:EB25
Prime Orden													
P <sub>o</sub>	0.637	0.560	0.904	0.424	0.580	0.558	0.453	0.401	0.657	0.395	0.715	0.473	0.555
k <sub>h</sub>	0.057	0.047	0.030	0.068	0.051	0.069	0.060	0.095	0.055	0.126	0.040	0.062	0.055
RECMN	0.075	0.072	0.134	0.047	0.113	0.102	0.115	0.068	0.082	0.037	0.097	0.058	0.086
R <sup>2</sup>	0.696	0.974	0.918	0.987	0.930	0.937	0.919	0.968	0.965	0.988	0.958	0.981	0.961
Gompertz modificado													
P <sub>o</sub>	0.494	0.435	0.486	0.349	0.417	0.451	0.342	0.344	0.504	0.363	0.450	0.377	0.411
λ	0.734	0.697	0.142	0.281	0.152	0.982	0.690	0.187	0.145	0.152	0.466	0.045	0.934
R <sub>max</sub>	0.036	0.022	0.037	0.023	0.036	0.044	0.034	0.036	0.033	0.036	0.030	0.026	0.029
RECMN	0.022	0.044	0.011	0.024	0.026	0.027	0.029	0.025	0.033	0.018	0.031	0.016	0.026
R <sup>2</sup>	0.998	0.992	0.999	0.998	0.997	0.997	0.995	0.996	0.995	0.997	0.996	0.999	0.997

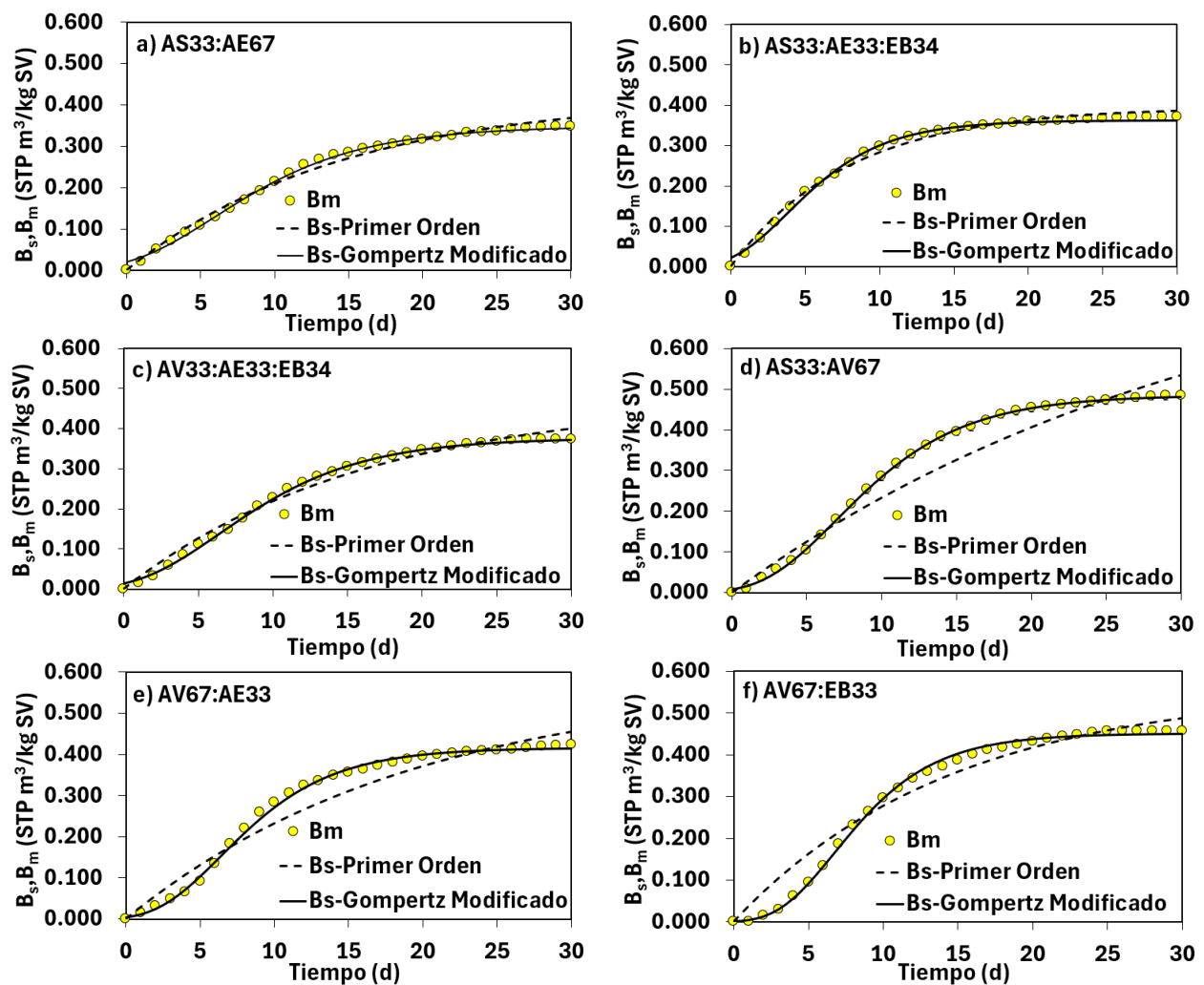
*Nota.* P<sub>o</sub>: máximo rendimiento específico de CH<sub>4</sub> (m<sup>3</sup> /kg SV); λ: fase de latencia (d); R<sub>max</sub>: tasa máxima de producción específica de CH<sub>4</sub> (m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg VS d); k<sub>h</sub>: coeficiente aparente de velocidad de hidrólisis (día<sup>-1</sup>); RECMN: error cuadrático medio normalizado; R<sup>2</sup>: coeficiente de correlación.

Para todas las mezclas, el modelo de Gompertz modificado mostró un mejor ajuste a los datos experimentales en comparación con el modelo de primer orden. En particular, los rangos de RECMN y  $R^2$  fueron de 0.011–0.044 y 0.992–0.999, respectivamente, para el modelo de Gompertz modificado, y de 0.037–0.134 y 0.918–0.988, respectivamente, para el modelo de primer orden. El intervalo de confianza de los parámetros estimados para el modelo de Gompertz modificado (reportado como error estándar y mostrado en la Tabla B1 del apéndice B) es en todos los casos inferior al 3% para  $P_o$  (rendimiento específico final simulado) y menor al 4% para  $R_{max}$  (tasa máxima de producción específica de  $CH_4$ ). Para  $\lambda$  (fase de latencia), el error promedio es del 17%, con un valor máximo del 70% en el caso AS33:AE33:EB34, debido a que el valor estimado fue el más pequeño de todas las mezclas (0.152 d). Dado el mejor ajuste y la aceptable identificabilidad de los parámetros, se seleccionó la cinética de Gompertz modificado para el posterior análisis de sinergia de la CoDA (Sección 1.4.4).

La Figura 6 muestra una selección de seis datos experimentales de PBM de CoDA, junto con los modelos ajustados de primer orden y Gompertz modificado; el conjunto completo de curvas se presenta en la Figura B1 del apéndice B. Las Figuras 6a–c muestran los tres experimentos con las menores diferencias en la calidad del ajuste entre ambos modelos, logrando en todos los casos valores altos del coeficiente de regresión ( $R^2 > 0.98$ ). Estos experimentos corresponden a las mezclas AS33:AE67; AS33:AE33:EB34 y AV33:AE33:EB34; puede observarse que todas contienen una proporción relevante de los sustratos lignocelulósicos estiércol (EB) y contenido ruminal (AE). En estos casos, la hidrólisis es claramente la etapa limitante en la producción de  $CH_4$  (Neshat *et al.*, 2017). Para los modelos de primer orden, el parámetro  $k_h$  de estas mezclas se encuentra en el rango 0.06–0.12  $d^{-1}$ , lo cual es similar al valor de 0.1  $d^{-1}$  reportado para contenido ruminal por Jensen *et al.* (2016).

**Figura 6**

Producción acumulada de  $CH_4$  a partir de los datos experimentales ( $B_m$ ) y del modelo calibrado ( $B_s$ ) de las mezclas con las menores desviaciones (a–c) y las mayores desviaciones (d–f) con respecto al modelo de primer orden



*Nota.* La letra representa la corriente de residuo (AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado de vísceras; AE: aguas de lavado estomacal; EB: estiércol bovino) y el número su %SV en la mezcla.

Por otro lado, las Figuras 6d–f muestran los tres experimentos que presentaron la mayor desviación con respecto al modelo de primer orden: AS33:AV67, AV67:AE33 y AV67:EB33. Puede observarse que estos casos tienen un contenido relevante de AV; ricas en lípidos. El

contenido de lípidos en estas mezclas provocó una baja producción inicial de  $\text{CH}_4$ , lo cual se refleja en un valor significativo de  $\lambda$ , entre 2 y 3 días. Después de esta fase de latencia, la producción de  $\text{CH}_4$  ocurrió a una tasa relativamente alta ( $R_{\max}$  entre 0.036 y 0.044  $\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg SV d}$ ), comparable a la de otras mezclas. Un comportamiento similar fue reportado por Astals *et al.* (2014) en la DA de aceite de oliva; los autores atribuyeron este patrón a una absorción inicial de ácidos grasos de cadena larga (AGCL) en la superficie de los microorganismos, seguida rápidamente por su conversión a metano.

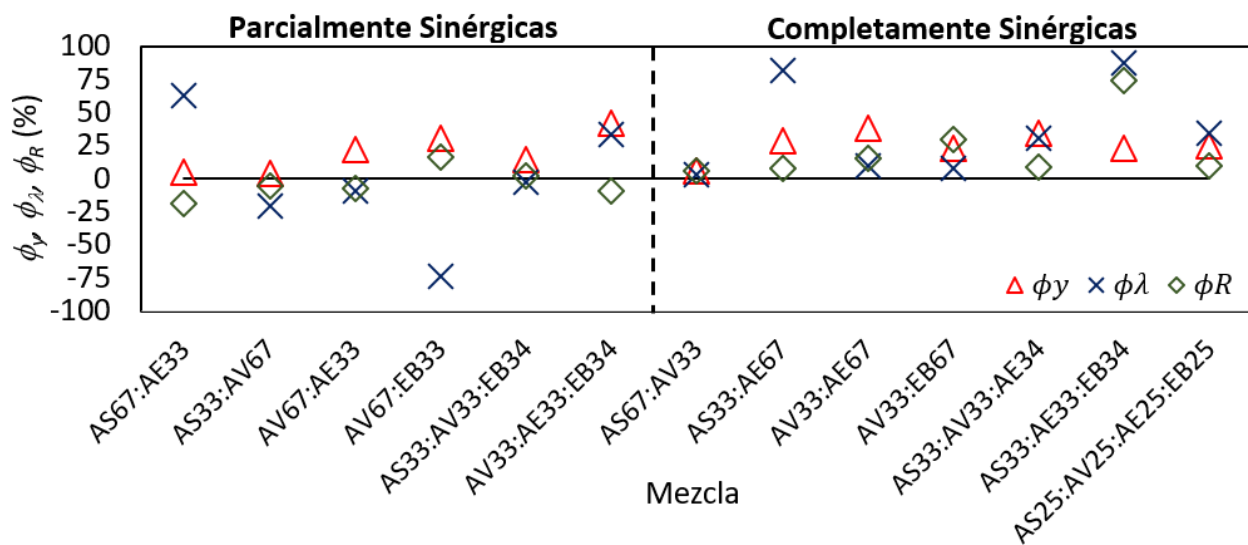
En general, las mezclas ternarias y cuaternarias presentaron valores de  $\lambda$  más bajos (rango: 0.152–1.466 d; promedio: 0.95 d) en comparación con las mezclas binarias (rango: 0.281–2.982 d; promedio: 1.61 d) (Tabla 5). El rango de  $\lambda$  obtenido en esta investigación es menor que los valores reportados en estudios previos sobre DA de aguas residuales de PBB. Jensen *et al.* (2014) reportaron valores de  $\lambda$  de hasta 18 d para corrientes ricas en lípidos. Existe información limitada sobre el parámetro  $R_{\max}$  en la DA de aguas residuales de PBB. Hernández-Fydrych *et al.* (2019) analizaron la cinética de producción de  $\text{CH}_4$  de aguas residuales de PBB pretratadas, mediante ensayos de PBM. Los autores ajustaron un modelo de Gompertz y calcularon un  $R_{\max}$  de 0.0125 y 0.0140  $\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg SV d}$  para tratamientos de autoclave y mecánico, respectivamente. Estos valores son menores a los encontrados en el presente estudio (0.022–0.044  $\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg SV d}$ ). Por lo tanto, controlar las proporciones de mezcla de las corrientes de aguas residuales de PBB en procesos de CoDA puede ofrecer ventajas cinéticas, en comparación con la DA de cada corriente individual o de la mezcla total.

#### 1.4.4. Evaluación de los efectos sinérgicos

La Figura 7 representa los efectos sinérgicos de las CoDA's basados en el rendimiento de  $\text{CH}_4$  ( $\phi_y$ ), la fase de latencia ( $\phi_\lambda$ ) y la tasa máxima de producción de  $\text{CH}_4$  ( $\phi_R$ ). Las curvas PBM predictivas junto con los gráficos de Gompertz modificados se muestran en la Figura B2 del apéndice B.

**Figura 7**

*Efectos sinérgicos de la CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB*



*Nota.* El lado izquierdo representa las mezclas que presentaron un efecto antagónico, mientras que el lado derecho indica las mezclas con sinergia en todos los parámetros ( $\phi_y > 0$ ;  $\phi_\lambda > 0$  y  $\phi_R > 0$ ). La letra representa la corriente de residuo (AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado de vísceras, AE; aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino) y el número, su porcentaje de sólidos volátiles (% SV) en la mezcla.

Todas las mezclas resultaron en un rendimiento experimental de  $\text{CH}_4$  mayor al esperado ( $\phi_y > 0$ ). Este resultado concuerda con la evaluación presentada en la Tabla 4 y reafirma la capacidad de la CoDA para reducir el riesgo de inhibición por  $\text{NH}_3$  y mejorar la biodegradabilidad

de los sustratos. Con respecto a la sinergia cinética, se observaron efectos antagónicos en algunas mezclas (lado izquierdo de la Figura 7). Cuatro CoDA's presentaron comportamiento antagónico con respecto a la fase de latencia ( $\phi_\lambda < 0$ ). Estas mezclas se caracterizaron por tener una proporción relativamente alta de lípidos (23–34% SV), lo cual redujo la tasa de producción de CH<sub>4</sub> durante los primeros 2 o 3 días (Tabla 5). Esta observación concuerda con el estudio sobre CoDA de estiércol bovino, carne, harina de hueso y glicerol crudo realizado por Andriamanohiarisoamanana *et al.* (2017), donde un aumento en la proporción de glicerol del 13% SV al 37% SV duplicó el valor de  $\lambda$ . Además, se observaron efectos antagónicos sobre  $R_{\max}$  ( $\phi_R < 0$ ) en cuatro experimentos de CoDA.

Comparando las CoDA's binarias y multicomponentes, se observó una mayor sinergia en estas últimas. Las mezclas binarias presentaron factores sinérgicos entre 4.2% y 38.0% para  $\phi_y$ , entre 3.4% y 81.5% para  $\phi_\lambda$  y entre 5.6% y 29.5% para  $\phi_R$ . Mientras tanto, las mezclas ternarias y cuaternarias mostraron factores sinérgicos entre 14.5% y 41.9% para  $\phi_y$ , entre 31.1% y 87.9% para  $\phi_\lambda$  y entre 2.1% y 73.9% para  $\phi_R$ . Esto resalta la ventaja de la CoDA's multicomponentes sobre las binarias, tanto en el rendimiento final como en la cinética de producción de CH<sub>4</sub>. Hallazgos similares fueron reportados por Ara *et al.* (2015) durante la CoDA de la fracción orgánica de residuos sólidos municipales, lodos primarios y lodos activados; las mezclas ternarias mostraron rendimientos de CH<sub>4</sub> entre 12% y 27% mayores que las mezclas binarias. Además, Castro-Molano *et al.* (2018) observaron factores  $\phi_y$  más altos en mezclas ternarias (25–167%) que en mezclas binarias (5–68%) al codigestar estiércol de pollo con residuos industriales.

Los resultados mostraron siete mezclas en las que los tres factores sinérgicos fueron positivos ( $\phi_y > 0$ ,  $\phi_\lambda > 0$  y  $\phi_R > 0$ ); estas mezclas se consideraron completamente sinérgicas y se representan en el lado derecho de la Figura 7. Sin embargo, los efectos sinérgicos en la CoDA con

una proporción de mezcla de AS67:AV33 fueron relativamente pequeños, con valores por debajo del 10%; estos valores bajos de sinergia generalmente se consideran no significativos en estudios de CoDA (Donoso-Bravo *et al.*, 2019). Adicionalmente, las mezclas binarias con sinergia significativa presentaron a EB o AE como sustratos principales. Este análisis sugiere que, cuando residuos con un potencial alto de producción de CH<sub>4</sub> (por ejemplo, AS y AV) se combinan con residuos de menor potencial (por ejemplo, EB y AE), se generan interacciones positivas fuertes. Por otro lado, ocurren interacciones más débiles cuando se mezclan residuos con características similares (por ejemplo, AS con AV y EB con AE). Evidencias similares pueden hallarse en el estudio de Astals *et al.* (2014), donde la CoDA de lodos DAF y sangre no presentó sinergia significativa en la producción de CH<sub>4</sub>. Sin embargo, cuando los lodos DAF se mezclaron con contenido ruminal, el rendimiento de CH<sub>4</sub> resultante fue un 15% mayor al esperado. De igual forma, Pagés-Díaz *et al.* (2014) encontraron efectos antagónicos en la tasa de producción de CH<sub>4</sub> y ninguna interacción significativa en el rendimiento de CH<sub>4</sub>, cuando se codigestó estiércol con varios cultivos (frutas verdes, residuos de vegetales y paja). No obstante, la CoDA de estiércol con residuos de plantas de beneficio animal, presentó sinergia significativa tanto en la tasa de producción como en el rendimiento de CH<sub>4</sub>.

Las seis mezclas con sinergia completa corresponden a las combinaciones: AS67:AV33, AS33:AE67; AV33:AE67; AV33:EB67; AS33:AV33:AE34; AS33:AE33:EB34 y AS25:AV25:AE025:EB25. Estas CoDA's presentaron una composición de lípidos relativamente menor (11–23% SV) que el resto de las mezclas (19–34% SV), mientras que los carbohidratos y las proteínas no mostraron diferencias notables. Por lo tanto, al parecer la concentración de lípidos es el factor que más influye en la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB, dado que una alta concentración puede mejorar el rendimiento de CH<sub>4</sub>; sin embargo, afecta negativamente la

cinética. Las mezclas con sinergia completa mencionadas anteriormente podrían mejorar el desempeño de la DA de las corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB en digestores tubulares. En este sentido, los resultados del presente capítulo fueron un punto de partida para la segunda etapa de la investigación, en la cual las mezclas sinérgicas fueron evaluadas en ensayos de laboratorio semicontinuos.

#### 1.4.5. *Potencial de producción de estruvita de la CoDA*

La CoDA de mezclas sinérgicas de aguas residuales y estiércol de PBB mostró un potencial de producción de estruvita (PES) en el rango de 0.5 a 1.4 kg/m<sup>3</sup> de residuo tratado (Tabla 6). Este valor es superior al reportado por Jensen *et al.* (2014) para plantas de beneficio animal en Australia (0.2–0.4 kg/m<sup>3</sup> de agua residual), pero comparable con el estimado a partir de los datos de Yetilmezsoy *et al.* (2022) para aguas residuales del beneficio de ovejas en Turquía (0.7–2.0 kg/m<sup>3</sup>).

**Tabla 6**

*Potencial de producción de estruvita de las mezclas sinérgicas en la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB*

Mezcla	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (kg/m <sup>3</sup> )	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (kg/m <sup>3</sup> )	PES (kg/m <sup>3</sup> )
AS67:AV33	0.175	0.191	0.848
AS33:AE67	0.151	0.185	0.958
AV33:AE67	0.099	0.153	0.805
AV33:EB67	0.122	0.211	1.379
AS33:AV33:AE34	0.118	0.144	0.500
AS33:AE33:EB34	0.183	0.152	0.620
AS25:AV25:AE25:EB25	0.133	0.176	0.655

*Nota.* AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal,

EB: estiércol bovino.

Por lo anterior, la recuperación de nutrientes a partir del digerido de la CoDA's sinérgicas es potencialmente viable y esta posibilidad se exploró en los siguientes capítulos.

### **1.5. Conclusiones**

Los resultados actuales muestran que, excepto en las mezclas binarias entre AS y EB, y entre EB y AE, la CoDA mejoró la biodegradabilidad y redujo el riesgo de inhibición por  $\text{NH}_3$  en comparación con la mono-DA de las corrientes de aguas residuales y el estiércol de PBB. La evaluación de la sinergia evidenció efectos positivos más fuertes al combinar sustratos con bajo potencial de producción de metano (EB y AE) con sustratos de alto potencial (AS y AV), en comparación con las mezclas binarias EB-AE y AS-AV. Del mismo modo, las mezclas multicomponente tuvieron un mejor desempeño general que las mezclas binarias. La metodología aplicada permitió seleccionar las siete mezclas totalmente sinérgicas (tanto el rendimiento como la tasa de producción de  $\text{CH}_4$ ) de las 21 originalmente evaluadas. Estas mezclas totalmente sinérgicas presentaron remociones de DQO entre el 53 % y el 93 %, con potenciales de producción de estruvita entre 0.5 y 1.4  $\text{kg/m}^3$  de mezcla. Por lo tanto, el tratamiento de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB mediante CoDA en digestores tubulares sería factible.

### **1.6. Productos de la Investigación**

Como productos de la presente investigación se cuenta a la fecha con dos artículos publicados:

- Sanchez, Z., Poggio, D., Castro, L., & Escalante, H. (2021). Simultaneous synergy in  $\text{CH}_4$  yield and kinetics: criteria for selecting the best mixtures during co-digestion of wastewater and manure from a bovine slaughterhouse. *Energies*, 14(2), 384.

- Jaimes-Estévez, J., Mendieta, O., Sánchez, Z., & Escalante, H. (2022). Technological alternative for the management of agro-industrial waste via anaerobic digestion: sugarcane, cheese whey, and slaughter residues. *Industrial Biotechnology*, 18(4), 257-261.

Dos ponencias Internacionales:

- Zamir Sánchez Castro, Liliana del Pilar Castro Molano, Humberto Escalante Hernández (2019). Presentación Oral: Estudio sinérgico de la codigestión de mezclas de aguas residuales y estiércol provenientes de una planta de beneficio bovino. Congreso ANQUE –ICCE -CIBIQ, 19-21 de Junio/2019, Santander-España.
- Zamir Sánchez Castro, Liliana del Pilar Castro Molano, Humberto Escalante Hernández, Davide Poggio (2021). Presentación Oral: Simultaneous Synergy in CH<sub>4</sub> Yield and Kinetics During Co-Digestion of Slaughterhouse Wastewater and Bovine Manure. *Global Renewable Energy Researchers Meet*, 7-8 de mayo/2021, virtual.

## **2. CoDA de Mezclas Sinérgicas de Aguas Residuales y Estiércol de una Planta de Beneficio Bovino en Digestores Tubulares: Estudio del Efecto de la Composición Mediante ADM1**

### **2.1. Resumen**

Las corrientes de aguas residuales de plantas de beneficio bovino (PBB) se pueden clasificar en aguas de corrales (AC), aguas de sacrificio (AS), aguas de lavado de vísceras (AV) y aguas de lavado estomacal (AE). Cada una de ellas con características fisicoquímicas particulares, lo que las hace cosustratos adecuados para procesos de CoDA sinérgica, como se evidenció en el capítulo 1 mediante ensayos de potencial bioquímico de metano (PBM). No obstante, se desconoce el comportamiento de las mezclas sinérgicas en digestores tubulares, dado que la información disponible en estudios previos es limitada y se centra en las aguas residuales como un único sustrato, sin considerar el impacto de la composición en el desempeño del proceso de CoDA. Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el rendimiento del proceso de CoDA de las mezclas sinérgicas halladas en el capítulo 1 mediante pruebas realizadas en digestores tubulares a escala de laboratorio. Los resultados experimentales se complementaron con simulaciones realizadas mediante el modelo ADM1. Para ajustar el ADM1 al digestor tubular se consideraron digestores CSTR en serie con retención de materia particulado, a fin de simular condiciones de mezcla no perfecta. Las CoDA's presentaron producciones específicas de biogás (de 0.140 a 0.442 m<sup>3</sup>/kg SV), fracciones de CH<sub>4</sub> (64.8% - 74.5%), remociones de DQO (56% - 76%) y remociones de fósforo (73% - 86%) superiores a las mono DA's. Lo cual concuerda con sinergias de hasta 279% con respecto a la producción de CH<sub>4</sub>. El análisis de sensibilidad del modelo ADM1 demuestra que los parámetros que más influyen en la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB son la retención del material particulado (FR), la constante de hidrólisis ( $k_h$ ) y el crecimiento

de los microorganismos degradadores de ácido propiónico ( $\mu_{m,pro}$ ), acetogénicos ( $\mu_{m,ac}$ ) e hidrogenotróficos ( $\mu_{m,H_2}$  y  $K_{s,H_2}$ ), los cuales son afectados por la composición de lípidos, proteínas y material lignocelulósico presente en la mezcla de cosustratos. El modelo ADM1 calibrado y validado, predice satisfactoriamente la PEB (producción específica de biogás), la fracción de  $CH_4$ , el pH y la composición de sólidos volátiles y nitrógeno amoniacal total en el digerido. No obstante, tiende a sobreestimar las concentraciones de  $NH_3$  y AGV's.

## 2.2. Introducción

Las plantas de beneficio bovino (PBB) generan cuatro tipos principales de aguas residuales: *i*) aguas de corrales (AC), que contienen principalmente estiércol y orina diluidos; *ii*) aguas de sacrificio (AS), compuestas principalmente por residuos sanguíneos, *iii*) aguas de lavado de vísceras (AV), que presentan partículas de carne y grasa y *iv*) aguas de lavado estomacal (AE), que arrastran el contenido ruminal del animal. Adicionalmente se producen grandes cantidades de estiércol bovino (EB). Estos residuos presentan concentraciones importantes de carbohidratos, lípidos y proteínas, por lo cual la digestión anaeróbica (DA) se ha consolidado como una alternativa tecnológica viable para su tratamiento (Shende y Pophali, 2020). No obstante, debido a la complejidad de su composición, la DA de las corrientes residuales de PBB presenta diversos desafíos. Las proteínas se degradan a  $NH_3$ , el cual puede difundirse pasivamente a través de la membrana celular de los microorganismos metanogénicos, provocando un desequilibrio en los niveles de potasio e inhibiendo reacciones enzimáticas clave (Sprott y Patel, 1986). Los lípidos pueden acumularse en las tuberías y causar obstrucciones. Además, se ha observado que las partículas lipídicas tienden a aglomerarse y flotar, formando costras que dificultan el contacto entre el sustrato y los microorganismos (Harris y McCabe, 2015). Adicionalmente, los lípidos se degradan en ácidos grasos de cadena larga (AGCL), los cuales a pH neutro actúan como

surfactantes causando desprendimiento del inóculo y lavado selectivo de la biomasa (Alves *et al.*, 2009). Así mismo, los AGCL se absorben sobre la membrana/pared celular, dañando la función de transporte celular y la función protectora de los microorganismos (Jeganathan *et al.*, 2006). Por su parte, el material lignocelulósico del contenido ruminal es recalcitrante para los microorganismos anaeróbicos, debido a la cristalinidad de la celulosa, la baja área superficial y la intrincada unión celulosa-lignina-hemicelulosa (Kainthola *et al.*, 2019).

En el capítulo 1 se demostró mediante ensayos de PBM que la Co-digestión anaeróbica (CoDA) entre las diferentes corrientes de aguas residuales y EB es una opción viable para contrarrestar los problemas expuestos anteriormente. Mediante el diseño experimental se hallaron 7 mezclas completamente sinérgicas, tanto en el rendimiento de CH<sub>4</sub> como en la cinética de degradación: AS67:AV33, AS33:AE67, AV33:AE67, AV33:EB67, AS33:AV33:AE34, AS33:AE33:EB34 y AS25:AV25:AE25:EB25. Las CoDA's de las anteriores mezclas evidenciaron remociones de DQO > 50%. Así mismo, los digeridos obtenidos demostraron un valioso potencial de recuperación de nutrientes en forma de estruvita.

A nivel mundial, uno de los digestores más utilizados para el tratamiento de aguas residuales ha sido el UASB (Mainardis *et al.*, 2020). Sin embargo, los digestores UASB presentan algunas desventajas operativas: requieren grandes cantidades de lodo granular (entre el 10 y el 30 % del volumen) (Mainardis *et al.*, 2020), tienen largos tiempos de arranque (entre 60 y 120 días o más) (Jin *et al.*, 2007), son sensibles a la acumulación de agentes inhibidores (por ejemplo, NH<sub>3</sub> y AGVT) (Bobade y Lomte, 2015), y requieren personal capacitado para su operación (Hamza *et al.*, 2016). Además, el uso de UASB en países en desarrollo se limita principalmente al tratamiento de aguas residuales municipales (Tavera-Ruiz *et al.*, 2023). Con base en lo anterior, los digestores tubulares representan una tecnología de bajo costo adecuada para el tratamiento de residuos

agroindustriales en América Latina (Garfi *et al.* , 2016), dado que son económicos de construir, fáciles de operar, sus costos de mantenimiento y operación son bajos (no requieren equipos mecánicos ni eléctricos) (Kinyua *et al.* , 2016), sus tiempos de arranque son cortos (entre 30 y 100 días) (Castro *et al.* , 2017; Martí-Herrero *et al.* , 2015) y pueden ser inoculados con estiércol bovino (Castro *et al.* , 2017). Cada año se instalan numerosos digestores tubulares en la región para el tratamiento de residuos agroindustriales, contando con el conocimiento técnico (know-how) y proveedores locales especializados.

Se estima que en Bolivia, Nicaragua y Colombia se encuentran instalados actualmente 747 (Martí-Herrero *et al.* , 2014), 1200 (Martí-Herrero *et al.* , 2019) y 5700 (Tavera-Ruiz *et al.* , 2023) digestores de bajo costo, respectivamente. Sin embargo, la aplicación de digestores tubulares en el tratamiento de aguas residuales de PBB es limitada. Martí-Herrero *et al.* (2018) evidenciaron que los digestores tubulares tienen un desempeño similar al de otros tipos de digestores en el tratamiento de aguas residuales de PBB. No obstante, el digestor tubular requiere mayores tiempos de retención hidráulica (TRH) y menores cargas orgánica (CO) en comparación con los digestores UASB. Guamán-Marquines *et al.* (2023) hallaron remociones de DQO entre 71% (TRH =6 d) y 94% (TRH=11d) durante la DA de agua-sangre en digestores tubulares. Sin embargo, los anteriores estudios han considerado el agua residual de PBB como un único sustrato, sin tener en cuenta el efecto de las proporciones de las diferentes corrientes sobre el proceso de CoDA en continuo.

El conocimiento del papel de los carbohidratos, lípidos y proteínas en los procesos de CoDA es de gran utilidad al momento de optimizar proceso (Astals *et al.* , 2014). La complejidad en la composición de la materia orgánica e interacción bioquímica de carbohidratos, lípidos y proteínas ha llevado a un amplio espectro de investigaciones experimentales. No obstante, en los

últimos años se observa tendencia creciente hacia el uso el modelamiento matemático de la CoDA, especialmente el ADM1 (Anaerobic Digestion Model no. 1) desarrollado por International Water Association's (IWA) Task Group (Batstone *et al.* , 2002). Investigaciones previas han empleado diversos modelos matemáticos para describir el proceso de digestión anaeróbica (DA) en digestores tubulares o con configuraciones similares (pug-flow). Wu (2012), Lübken *et al.* (2013) y Kinyua *et al.* (2016) lograron describir con precisión el comportamiento del flujo y la transferencia de masa y calor en digestores plug-flow utilizando simulación mediante Dinámica de Fluidos Computacional (CFD). Por otra parte, Donoso-Bravo y Polanco (2010), Das *et al.* (2016), Neba *et al.* (2020), Veluchamy *et al.* (2021) y Panaro *et al.* (2022) estudiaron la degradación anaeróbica de mono sustratos en digestores plug-flow, a partir de modelos cinéticos (primer orden, Contois, Monod y retardo temporal).

Respecto al modelamiento de los digestores tubulares o plug-flow mediante el ADM1, los registros bibliográficos sólo reportan 6 estudios. Page *et al.* (2008) utilizaron el modelo ADM1 para simular la DA del EB en un digestor de bajo costo a full-scale. El modelo se ajustó correctamente a los datos experimentales de la composición del biogás y la demanda química de oxígeno (DQO) del efluente. Sin embargo, sobreestimó la acetogénesis, lo que resultó en concentraciones de acetato simuladas más altas que las observadas. El ADM1 permitió a Fezzani y Cheikh (2008) modelar la DA de residuos del proceso de extracción de aceite de oliva en un digestor tubular semicontinuo, prediciendo razonablemente los flujos del biogás, el contenido de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>, el pH y la concentración de AGV's. Posteriormente, Fezzani y Cheikh (2009, 2009 b) modificaron el modelo ADM1 para incluir la degradación de compuestos fenólicos. Los resultados demostraron que el modelo ADM1 modificado permite predecir acertadamente las concentraciones de fenol en los efluentes. La DA de EB en un biodigestor a full-scale fue estudiada

por Donoso-Bravo *et al.* (2018) mediante el ADM1, simulando el proceso a partir de cuatro digestores CSTR conectados en serie. Estos investigadores en su modelamiento implementaron dos ajustes para considerar la mezcla no ideal: la división de cada digestor en dos regiones y el uso de un parámetro de retención de material particulado. Los resultados obtenidos mostraron que la composición del efluente fue mejor representada por el modelo de retención de material particulado. Calise *et al.* (2022) estudiaron el efecto de la temperatura sobre el proceso de DA de residuos orgánicos municipales a partir del modelo ADM1. La calibración del modelo se realizó con datos hallados en la literatura. Los resultados, comparados con los de un reactor CSTR, muestran que el digestor plug-flow alcanza un flujo de biogás ligeramente mayor, debido a una temperatura promedio más alta, atribuida a la menor inercia térmica. Adicionalmente, se evidenció que la temperatura influye significativamente en las tasas cinéticas de las especies microbianas.

Lo anterior permite evidenciar que la aplicación del ADM1 a digestores tubulares se ha limitado a procesos de mono digestión. Por consiguiente, a partir de los estudios de simulación del ADM1 reportados a la fecha, no es posible inferir el efecto de la composición macromolecular de la mezcla de sustratos alimentados a un biodigestor tubular de bajo costo, para el proceso de CoDA. Conocer el anterior efecto sobre la bioquímica de la CoDA permitiría: a) seleccionar y dosificar cosustratos sinérgicos, b) predecir la producción y calidad del biogás, c) evaluar la estabilidad e inhibición del digestor y d) proyectar la remoción de materia orgánica.

Para llenar los vacíos arriba mencionados, el objetivo de este capítulo fue evaluar el rendimiento de producción de CH<sub>4</sub> y estruvita y la remoción de materia orgánica, durante la DA de las aguas residuales individuales y en mezclas sinérgicas, en un proceso semicontinuo de un digestor tubular. Para esto, se integró el ADM1, junto con datos experimentales, en la determinación de la influencia de las macromoléculas de los cosustratos en el rendimiento del

proceso de CoDA. De esta manera, esta investigación contribuye al conocimiento sobre efecto de la composición de los cosustratos en el proceso de CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB, utilizando digestores tubulares de bajo costo.

### **2.3. Materiales y métodos**

La investigación se llevó a cabo en 3 etapas: *i)* evaluación de la CoDA de aguas residuales y estiércol provenientes de una PBB en digestores tubulares a escala de laboratorio, *ii)* calibración y validación del modelo matemático ADM1 a los resultados experimentales y *iii)* determinación del efecto de la composición de los cosustratos referente a la bioquímica de la CoDA.

#### **2.3.1. CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB en digestores tubulares**

##### **Sustrato e inóculo**

Para la presente investigación se seleccionaron como cosustratos las corrientes de aguas residuales AS, AV y AE. Adicionalmente se tomó como cuarto cosustrato EB. Los cosustratos fueron recolectados en la PBB Colbeef ubicada en el departamento de Santander-Colombia (Latitud 7°3'14.82" N y longitud 73°7' 55.82" W, temperatura promedio: 28–30 °C). La caracterización fisicoquímica de los cosustratos e inóculo se presenta en la Tabla 7.

Los valores de pH, ST, SV, DQO, AGV's y AT de las aguas residuales de la PBB evaluadas en el presente estudio se encuentran en el rango reportado en investigaciones sobre la DA del mismo tipo de sustratos (Loganath y Senophiyah-Mary, 2020; Shende y Pophali, 2021). Las AS contienen la mayor proporción de proteínas, por lo cual presenta la menor relación C/N. Por su parte, las AV poseen contenidos similares de lípidos y proteínas dando como resultado una relación C/N dentro del rango óptimo (20-35) (Mao *et al.* , 2015). Así mismo, la relación C/N de las AE está dentro del rango adecuado. Sin embargo, la mayor parte del contenido de carbono de las AE se encuentra en forma de material lignocelulósico.

**Tabla 7***Caracterización fisicoquímica de los cosustratos y el inóculo*

Parámetro	Unidad	AS	AV	AE	EB	Inóculo
pH	---	6.72±0.08	6.90±0.08	7.80±0.08	7.38±0.06	8.09±0.03
ST	kg/m <sup>3</sup>	5.98±0.10	8.93±0.33	19.66±0.79	242.14±1.04	33.70±0.11
SV	kg/m <sup>3</sup>	5.48±0.13	7.64±0.33	16.30±0.73	154.22±1.50	19.95±0.14
DQO	kg/m <sup>3</sup>	9.31±0.33	10.90±0.39	12.05±0.96	37.06±1.66	13.63±1.22
AGV's	kg CH <sub>3</sub> COOH/m <sup>3</sup>	0.72±0.00	0.88±0.07	1.25±0.07	2.40±0.00	1.42±0.12
AT	kg CaCO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup>	0.80±0.00	1.38±0.18	1.75±0.05	3.25±0.35	2.57±0.10
AME	kg COD / kg SV d	---	---	---	---	0.035±0.005
AHE	kg COD / kg SV d	---	---	---	---	0.060±0.005
K <sub>I,NH3</sub>	mg/L	---	---	---	---	18.53±0.41
C/N	---	9.7	34.5	25.9	12.9	---
Lípidos	% SV	26.5	38.6	4.1	3.3	---
Proteínas	% SV	69.3	36.1	11.6	12.1	---
Carbohidratos	% SV	4.2	12.0	8.8	21.4	---
Celulosa	% SV	---	2.3	21.9	24.8	---
Hemicelulosa	% SV	---	6.4	32.0	22.1	---
Lignina	% SV	---	4.6	21.6	16.3	---

*Nota.* Los resultados se presentan como un promedio de tres mediciones ( $\pm 95$  % de intervalo de confianza) ST: sólidos totales; SV: sólidos volátiles; DQO: demanda química de oxígeno; AGV's: ácidos grasos volátiles; AT: alcalinidad tota; AME: actividad metanogénica específica; AHE: actividad hidrolítica específica; K<sub>I,NH3</sub>: coeficiente experimental de inhibición por NH<sub>3</sub>. AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino.

El inóculo fue obtenido de un digester tubular rural de 9.5 m<sup>3</sup>, alimentado con estiércol bovino, el cual opera a una temperatura promedio de  $23 \pm 5$  °C (Latitud 7°01'0.07" N y longitud

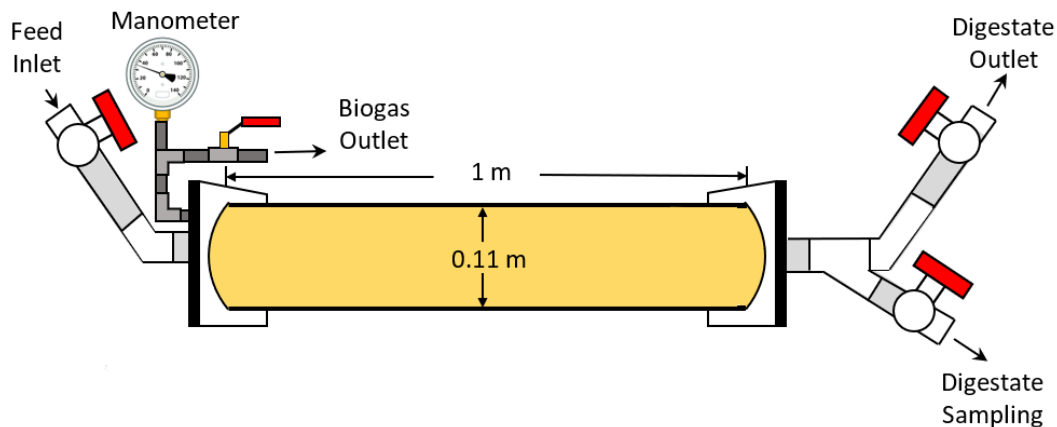
73°08' 13.3" O). Los parámetros fisicoquímicos del inóculo son cercanos a los considerados adecuados por Holliger *et al.* (2016).

### Digestores

Para las pruebas de CoDA se utilizaron cuatro digestores tubulares (R1, R2, R3 y R4), los cuales fueron construidos en cloruro de polivinilo (PVC), siguiendo las especificaciones de diseño propuestas por Martí-Herrero y Cipriano (2012), con una relación longitud/diámetro de 9.1 y un volumen total de 9.2 L (Figura 8). Los digestores fueron dotados de tres válvulas de PVC de 1" ubicadas en la entrada de la alimentación, la salida del digerido y el punto de muestreo de digerido. Para medir la presión y tomar las muestras de biogás, se les instaló una válvula de salida de 0.25" equipada con un manómetro (0-1 bar). El volumen de líquido dentro del digestor se mantuvo a un 75% del volumen total.

### Figura 8

*Esquema de los digestores tubulares utilizados en la experimentación*



### Diseño experimental

Las mezclas de alimentación utilizadas en el presente estudio consistieron en las CoDA's sinérgicas halladas en el capítulo 1 mediante ensayos de potencial bioquímico de metano (PBM), las cuales se presentan en la Tabla 8.

**Tabla 8***Composición de las mezclas seleccionadas para las pruebas de CoDA*

Mezcla	AS (%SV)	AV (%SV)	AE (%SV)	EB (%SV)	Carbohidratos (%SV)	Lípidos (%SV)	Proteínas (%SV)	Material Lignocelulósico (%SV)
AS67:AV33	67	33	---	---	6.8	30.5	58.3	4.4
AS33:AE67	33	---	67	---	7.3	11.5	30.6	50.6
AV33:AE67	---	33	67	---	9.9	15.5	19.7	55.0
AV33: EB67	---	33	---	67	18.3	14.9	20.0	46.7
AS33:AV33:AE34	33	33	34	---	8.3	22.9	38.7	30.1
AS33:AE33:EB34	33	---	33	34	11.6	11.2	30.8	46.4
AS25:AV25: AE25:EB25	25	25	25	25	11.6	18.1	32.3	38.0

*Nota.* AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino. %SV en masa.

Inicialmente los digestores R1, R2, R3 y R4 fueron cargados con 6.9 L de mezcla con RIS (relación SV de inóculo/ SV de sustrato) = 2.0. La carga anterior, fue tratada en operación batch durante un periodo de adaptación de 30 días, permitiendo la aclimatación del consorcio microbiano. Durante el periodo de adaptación, solo se mantuvo abierta la válvula de muestreo de biogás, para evitar acumulación en los digestores. Una vez finalizado el periodo de adaptación se inició la alimentación semicontinua de los digestores por etapas (Tabla 9).

**Tabla 9***Condiciones de operación del diseño experimental*

Digestor	Parámetro	Unidades	Arranque	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3	Etapa 4
R1	CO	kg SV/m <sup>3</sup> d	0.27	0.58	0.55	0.54	0.71
	TRH	d	28	18	18	18	18
	Caudal	L/d	0.25	0.38	0.38	0.38	0.38
	Mezcla	---	AV	AV	AV33:AE67	AS33:AV33:AE34	AS25:AV25:AE25:EB25
R2	CO	kg SV/m <sup>3</sup> d	0.49	1.22	0.54	0.54	---
	TRH	d	28	18	18	18	---
	Caudal	L/d	0.25	0.38	0.38	0.38	---
	Mezcla	---	AE	AE	AS33:AE67	AS33:AE33:EB34	---
R3	CO	kg SV/m <sup>3</sup> d	0.84	1.37	1.45	---	---
	TRH	d	28	18	18	---	---
	Caudal	L/d	0.22	0.33	0.33	---	---
	Mezcla	---	EB	EB	AV33:EB67	---	---
R4	CO	kg SV/m <sup>3</sup> d	0.25	0.40	0.38	---	---
	TRH	D	28	18	18	---	---
	Caudal	m <sup>3</sup> /d	0.25	0.44	0.44	---	---
	Mezcla	---	AS	AS	AS67:AV33	---	---

*Nota.* CO: carga orgánica; TRH: tiempo de retención hidráulica. AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino.

Durante el arranque, todos los digestores operaron en mono DA a un TRH de 28 d. Posteriormente para la etapa 1 el TRH se redujo a 18 d manteniendo la operación en mono DA.

En las etapas, 2, 3 y 4 se alimentaron las CoDA's binarias, terciarias y cuaternaria, respectivamente, conservando en todos los casos un TRH de 18 d. Para cada etapa el tiempo de operación fue de al menos 2 veces su TRH. Dado que durante cada etapa el TRH permaneció constante, la CO varió dependiendo de la mezcla alimentada.

Los digestores fueron alimentados diariamente. Además, se determinó el volumen de biogás producido, mediante el método manométrico, y se extrajo un volumen de digerido igual al volumen de la mezcla alimentada. El biogás producido diariamente se reportó libre de humedad a condiciones estándar de presión y temperatura (101.325 kPa y 273 K). Para cada una de las etapas se determinó la calidad del biogás (%CH<sub>4</sub> y %CO<sub>2</sub>) mediante cromatografía de gases (Agilent Technologies 7890A). Dos veces por semana se determinó el contenido de SV, pH, AT y AGV's de los digeridos producidos por los digestores. La DQO se midió al finalizar cada etapa. Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado. Los digestores fueron operados a una temperatura de  $28 \pm 2$  °C.

### **Evaluación de los efectos sinérgicos**

Los efectos sinérgicos fueron evaluados con respecto al rendimiento de CH<sub>4</sub>. El factor de sinergia ( $\phi_y$ ) fue calculado como una relación de la producción específica de metano (PEM: m<sup>3</sup>/kg SV) esperada y experimental.

$$PEM = PEB \cdot \%CH_4 \quad (17)$$

$$\phi_y = \frac{(PEM_{Experimental} - PEM_{Esperada})}{PEM_{Esperada}} \cdot 100 \quad (18)$$

Donde PEB es la producción específica de biogás (m<sup>3</sup>/kg SV). La PEM<sub>Esperada</sub> se calculó como un promedio ponderado de los valores experimentales de los cosustratos individuales.

$$PEM_{Esperada} = \sum_{j=1}^n PEM_{Experimental,j} * \alpha_j \quad (19)$$

Donde  $\alpha_j$  es la fracción de SV del j-ésimo cosustrato.

### **Precipitación de estruvita**

Los digeridos obtenidos en cada etapa fueron analizados para determinar su concentración de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$ . Posteriormente se tomó una alícuota de 200 ml de cada digerido, el cual se filtró (papel filtro de 0.45  $\mu\text{m}$  de poro) para remover impurezas. Parte del fósforo (P) en el digerido puede estar unido a calcio (P-Ca) en diferentes formas particuladas, por lo cual, para la precipitación de estruvita se requiere la liberación del P. Por esta razón, el digerido filtrado fue acidificado hasta un pH de 3.0 mediante titulación con una solución de HCl 0.1 M y se sometió a agitación constante a 450 rpm por 1 h. Esto permite romper las partículas Ca-P y solubilizar el P en forma de iones fosfato, disponibles para precipitación de estruvita (Zhao *et al.* , 2010). A la muestra acidificada se le adicionó  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  como fuente de Mg en una relación molar Mg/P de 1.5 (Jensen *et al.* , 2016). Se ha comprobado que las condiciones alcalinas favorecen la precipitación de estruvita, por lo cual la muestra fue titulada con una solución de NaOH 0.1 M hasta un pH de 9.0 y agitada a 450 rpm por 1 h más. Finalmente, la muestra fue dejada en reposo por 24 h para permitir la precipitación del mineral. El precipitado fue separado del líquido, lavado con agua destilada, recolectado en cajas de Petri y secado a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  para su posterior análisis mediante distracción de rayos X (DRX). Al líquido final se le determinó de nuevo la concentración de  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{NH}_4^+$ , para evaluar la recuperación de P (%P) y nitrógeno (%N).

$$\%P = \frac{([\text{PO}_4^{3-}]_i \cdot V_i - [\text{PO}_4^{3-}]_f \cdot V_f)}{[\text{PO}_4^{3-}]_i \cdot V_i} * 100 \quad (20)$$

$$\%N = \frac{([NH_4^+]_i \cdot V_i - [NH_4^+]_f \cdot V_f)}{[NH_4^+]_i \cdot V_i} * 100 \quad (21)$$

Donde i y f indican los valores iniciales y finales de la concentración de los iones recuperados ( $PO_4^{3-}$  y  $NH_4^+$ ) y del volumen (V), respectivamente. Posteriormente se determinó la producción de estruvita para el proceso de CoDA en digestor tubular ( $PES_{Tubular}$ : kg/m<sup>3</sup> de digerido) (Ecuación 22) teniendo en cuenta la estequiometría de la reacción de precipitación del mineral (Ecuación 23) y utilizando los porcentajes de recuperación de P y N.

$$PES_{Tubular} = Min \left\{ \frac{C_{PO_4^{3-}}}{94.97} \cdot \%P; \frac{C_{NH_4^+}}{18.00} \cdot \%N \right\} \cdot 245.41 \quad (22)$$



Donde el termino entre llaves ( { } ) indica la concentración del ion limitante recuperado (kmol/m<sup>3</sup>);  $C_{PO_4^{3-}}$  y  $C_{NH_4^+}$  son las concentraciones de  $PO_4^{3-}$  y  $NH_4^+$  en el digerido (kg/m<sup>3</sup>), respectivamente, y 94.97, 18.00 y 245.41 kg/kmol son las masas molares de  $PO_4^{3-}$ ,  $NH_4^+$  y estruvita, respectivamente.

### Procedimientos analíticos

Se determinaron los sólidos totales (ST), los sólidos volátiles (SV), la demanda química de oxígeno (DQO), el pH, el nitrógeno total Kjeldahl y los lípidos (Soxhlet) conforme a los métodos estándar (APHA-AWWA-WEF, 2017). La alcalinidad total (AT) y los ácidos grasos volátiles totales (AGV's) se midieron según el método de Lahav y Morgan (2004). La AT se cuantificó mediante la titulación de la muestra con una solución de HCl 0.1 N hasta alcanzar un pH final de 3. Luego, la muestra se calentó suavemente durante 3 minutos para eliminar completamente el CO<sub>2</sub> disuelto. Posteriormente, se registró la cantidad de NaOH 0.1 N necesaria para elevar el pH

de 3 a 6.5, con lo cual se calculó el contenido de AGV's. La celulosa, hemicelulosa y lignina se determinaron a partir de las fracciones de fibra: fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina. Los contenidos de hemicelulosa y celulosa se calcularon como las diferencias entre FDN y FDA, y entre FDA y lignina, respectivamente (Van Soest *et al.* , 1991). La composición de proteínas se calculó a partir de la relación de 6.25 g de proteína por g de nitrógeno orgánico. El nitrógeno orgánico se determinó por la diferencia entre el nitrógeno total Kjeldahl y el nitrógeno amoniacal (Passos *et al.* ,2017). Los carbohidratos no lignocelulósicos (por ejemplo, azúcares, almidón y pectinas) se obtuvieron por diferencia. La actividad metanogénica específica (AME) y el coeficiente de inhibición  $K_{150-NH_3}$  del inóculo se determinaron siguiendo el procedimiento de Astals *et al.* (2015). Las concentraciones de  $NH_4^+$  y  $PO_4^{3-}$  se midieron mediante test (Spectroquant ammonium test y Spectroquant phosphate test de Merck), los cuales son análogos a los métodos APHA 4500-NH<sub>3</sub> F y APHA 4500-P E, respectivamente (APHA-AWWA-WEF, 2017).

### **2.3.2. Implementación del ADM1**

En la presente investigación se trabajó con la estructura del ADM1, desarrollado inicialmente por Batstone *et al.* (2002), utilizando la propuesta de modificación de Weinrich y Nelles (2021) con base másica. En la estructura del ADM1 utilizada la desintegración del material particulado se encuentra incluido en la tasa de hidrólisis. Se tomó como base el código libre del ADM1 desarrollado por Weinrich (2021), el cual fue modificado para incluir las adaptaciones propuestas por Donoso-Bravo *et al.* (2018) para un digestor plug-flow: 4 digestores CSTR en serie con retención de material particulado. El código fue implementado en Matlab R2022a (The MathWorks, Inc., USA) con el solver `ode15s` para la solución del sistema de ecuaciones diferenciales.

Dada la cantidad de parámetros cinéticos, termodinámicos y bioquímicos, en la etapa inicial de implementación del ADM1 se realizó un análisis de sensibilidad respecto a: *i)* la constante de hidrólisis, *ii)* las tasas máximas de crecimiento, *iii)* las constantes de inhibición y *iv)* las constantes de semisaturación, las cuales se describen en la Tabla 10.

En total se evaluaron 22 parámetros, tomando como entradas del modelo los datos experimentales de composición de alimento, caudal y CO. Como respuesta del modelo se seleccionó la producción específica de biogás (PEB : m<sup>3</sup> de biogás / kg de SV alimentado), la calidad del biogás (%CH<sub>4</sub>) y SV, pH, NH<sub>3</sub> y AGV's del digerido. Inicialmente el modelo se corrió con los parámetros de referencia reportados por Weinrich y Nelles (2021). Posteriormente, la sensibilidad de cada parámetro se determinó mediante el índice (IS) propuesto por Li *et al.* (2020) variando entre -20% y +20% los valores por defecto del ADM1.

$$IS = \frac{p_i}{OF_j(p_i)} \cdot \frac{OF_j(p_i + \Delta p_i) - OF_j(p_i)}{\Delta p_i} \cdot 100 \quad (24)$$

Donde  $OF_j(p_i)$  es la función objetivo (PEB o %CH<sub>4</sub>) estimada con el valor del parámetro  $p_i$  evaluado,  $\Delta p_i$  es la variación absoluta del parámetro  $p_i$ . Los parámetros de mayor sensibilidad fueron calibrados por el método de mínimos cuadrados, minimizando la función objetivo  $x^2$  (Poggio, 2015):

$$x^2 = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^n \left( \frac{y_{m,k,i} - y_{k,i}(p)}{y_{m,k,i}} \right)^2 \quad (25)$$

**Tabla 10***Parámetros del modelo ADM1*

<b>Tipo de Parámetro</b>	<b>Parámetro</b>	<b>Símbolo</b>
Constante de hidrólisis	Constante global de hidrólisis	$k_h$
	Crecimiento de microorganismos degradadores de aminoácidos	$\mu_{m,aa}$
Tasas máximas de crecimiento	Crecimiento de microorganismos degradadores de azúcares	$\mu_{m,su}$
	Crecimiento de microorganismos degradadores AGCL	$\mu_{m,fa}$
	Crecimiento de microorganismos degradadores de ácido propiónico	$\mu_{m,pro}$
	Crecimiento de microorganismos degradadores de ácido butírico	$\mu_{m,bu}$
	Crecimiento de microorganismos degradadores de ácido valérico	$\mu_{m,va}$
	Crecimiento de microorganismos acetoclásticos	$\mu_{m,ac}$
	Crecimiento de microorganismos hidrogenotróficos	$\mu_{m,H_2}$
	Constantes de inhibición	Limitación de nitrógeno
Inhibición de la acidogénesis de los AGCL por $H_2$		$K_{I,fa}$
Inhibición de la acetogénesis de ácido propiónico por $H_2$		$K_{I,pro}$
Constantes de semisaturación	Inhibición de la acetogénesis de ácido butírico y valérico por $H_2$	$K_{I,c_4}$
	Inhibición de la metanogénesis por $NH_3$	$K_{I,NH_3}$
	Semisaturación de microorganismos degradadores de aminoácidos	$K_{S,aa}$
	Semisaturación de microorganismos degradadores de azúcares	$K_{S,su}$
	Semisaturación de microorganismos degradadores de AGCL	$K_{S,fa}$
	Semisaturación de microorganismos degradadores de ácido butírico	$K_{S,bu}$
	Semisaturación de microorganismos degradadores de ácido propiónico	$K_{S,pro}$
	Semisaturación de microorganismos degradadores de ácido valérico	$K_{S,va}$
	Semisaturación de microorganismos acetoclásticos	$K_{S,ac}$
	Semisaturación de microorganismos hidrogenotróficos	$K_{S,H_2}$

Donde  $y_{m,k,i}$  es la  $i$ -ésima medida de la  $k$ -ésima variable (PEB o %CH<sub>4</sub>),  $y_{k,i}(p)$  es la predicción del modelo en el  $i$ -ésimo día, en función del conjunto de parámetros  $p$  que se deben estimar. La minimización se realizó mediante la extensión *fminsearchbnd* de Matlab. La optimización de parámetro se realizó utilizando diferentes conjuntos de parámetros iniciales, para evitar los óptimos locales (Donoso-Bravo *et al.*, 2013). El pH y el contenido de sólidos del digerido (kg SV/m<sup>3</sup>) se ajustaron variando las cargas eléctricas (cationes y aniones) y la retención de material particulado (FR), respectivamente.

La mitad de los datos experimentales disponibles se utilizaron para la calibración del modelo y la otra mitad para la validación. Para la validación del modelo se consideraron tres estadísticos de prueba: la raíz del error cuadrático medio (RECM), el coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) y el sesgo fraccional (SF) (Donoso-Bravo *et al.*, 2018):

$$RECM = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2} \quad (26)$$

$$R^2 = \left( \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{\hat{y}}) \cdot (y_i - \bar{y})}{N \cdot std_{mod} \cdot std_{exp}} \right)^2 \quad (27)$$

$$SF = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)}{0.5 \sum_{i=1}^n (y_i + \hat{y}_i)} \quad (28)$$

Donde  $\bar{\hat{y}}$  y  $\bar{y}$  son los valores promedio de los datos modelados y experimentales, respectivamente, mientras  $std_{mod}$  y  $std_{exp}$  son las desviaciones estándar del modelo y experimental, respectivamente. El valor de SF varía entre -2 y 2, siendo SF=0 para un modelo perfectamente imparcial. Un  $|SF| < 0.3$  indica una desviación del modelo aceptable.

### **Incertidumbre de los Parámetros**

El modelo ADM1 se ejecutó repetidamente con conjuntos de parámetros aleatorios ( $\theta$ ); normalmente distribuidos alrededor del conjunto de parámetros óptimos hallados durante la calibración del modelo, empleando el método de Monte Carlo (1500 ejecuciones). De esta manera, el intervalo de confianza de los parámetros óptimos se determinó restringiendo la suma de los residuos cuadrados, con respecto a la PEB, a un umbral (SSR) (Lübken *et al.* , 2015).

$$SSR(\theta) \leq SSR(\theta_o) \left( 1 + \frac{p}{n-p} \cdot F_{p;n-p}^{0.95} \right) \quad (29)$$

$$SSR = (\hat{y}_i - y_i)^2 \quad (30)$$

Donde  $SSR(\theta_o)$  es el valor mínimo de SSR,  $p$  es el número de parámetros dentro del vector  $\theta$ ,  $n$  es el número de datos experimentales y  $F$  es el valor de la distribución de Fisher para un intervalo de confianza del 95% con  $p$  y  $n-p$  grados de libertad.

### **2.3.3. Efecto de la composición sobre los parámetros bioquímicos del modelo ADM1**

Se analizaron los cambios de los valores óptimos de los parámetros más sensibles, con respecto a la composición de las diferentes mezclas de cosustratos, considerando los efectos de los carbohidratos (en forma de azúcares y material lignocelulósico), los lípidos y las proteínas. Posteriormente, se correlacionaron estadísticamente los parámetros bioquímicos del modelo ADM1 con las respectivas composiciones de las mezclas mediante regresiones lineales (Ecuación 29), las cuales han sido ampliamente utilizados como herramientas empíricas para la descripción del proceso de DA (Emebu *et al.* , 2022).

$$f(x) = \beta_o + \sum_{j=1}^n \beta_j x_j \quad (31)$$

Donde  $f(x)$  representa los parámetros bioquímicos y  $x$  la fracción de carbohidratos, lípidos, proteínas y material lignocelulósico. Las regresiones fueron ajustadas estadísticamente mediante Statgraphic Centurion XVI; de acuerdo a la metodología utilizada por Kim *et al.* (2024) al simplificar el modelo ADM1 correlacionando sus parámetros con el tiempo de retención de sólidos.

## 2.4. Resultados y discusión

### 2.4.1. Efecto CoDA de aguas residuales y estiércol de una PBB en digestores tubulares

En la Figura 9 se presentan los resultados experimentales para la PEB de las mono DA's y CoDA's de aguas residuales y estiércol de una PBB en digestores tubulares. La variación de las CO de una etapa a otra y de un digestor a otro se deben a las diferentes concentraciones de SV de los cosustratos, dado que el TRH se estableció en un valor constante de 18 d. Sin embargo, las CO se encuentran dentro del valor reportado como rango de operación típico de un digestor tubular de bajo costo: 0.22 kg SV/m<sup>3</sup> d (Ferrer *et al.* , 2011) – 2.00 (Usack *et al.* , 2014). Adicionalmente, en la Tabla 11 se presenta un consolidado de los resultados experimentales de la composición de CH<sub>4</sub>, la concentración de NH<sub>3</sub>, la sinergia ( $\phi_y$ ), el pH, la relación AGV's/AT y la remoción de DQO.

Durante la etapa de arranque (no mostrada) los digestores R1, R2, R3 y R4 fueron alimentados en mono DA de AV, AE, EB y AS, respectivamente, con un TRH de 28 d. Después de un período de estabilización de entre 58 y 62 días en la etapa de arranque, el TRH se redujo a 18 días. El cambio en la alimentación de cada digestor provocó una perturbación en la PEB, que en la mayoría de los casos tardó entre 9 y 19 días en recuperarse. Los tiempos de recuperación más largos se observaron en la etapa 2, debido al cambio en el modo de operación de mono DA a CoDA. Los cambios en la alimentación de un digestor pueden causar inestabilidad temporal en la producción de biogás, debido a varios factores: cambios en la ruta metabólica, alteración del

equilibrio de nutriente, dificultad en la digestión de nuevos sustratos, aumento en los compuestos inhibitorios, entre otros. Sin embargo, los microorganismos suelen adaptarse a los nuevos patrones de alimentación, recuperando la estabilidad del proceso de DA (Weithmann *et al.*, 2021).

**Tabla 11**

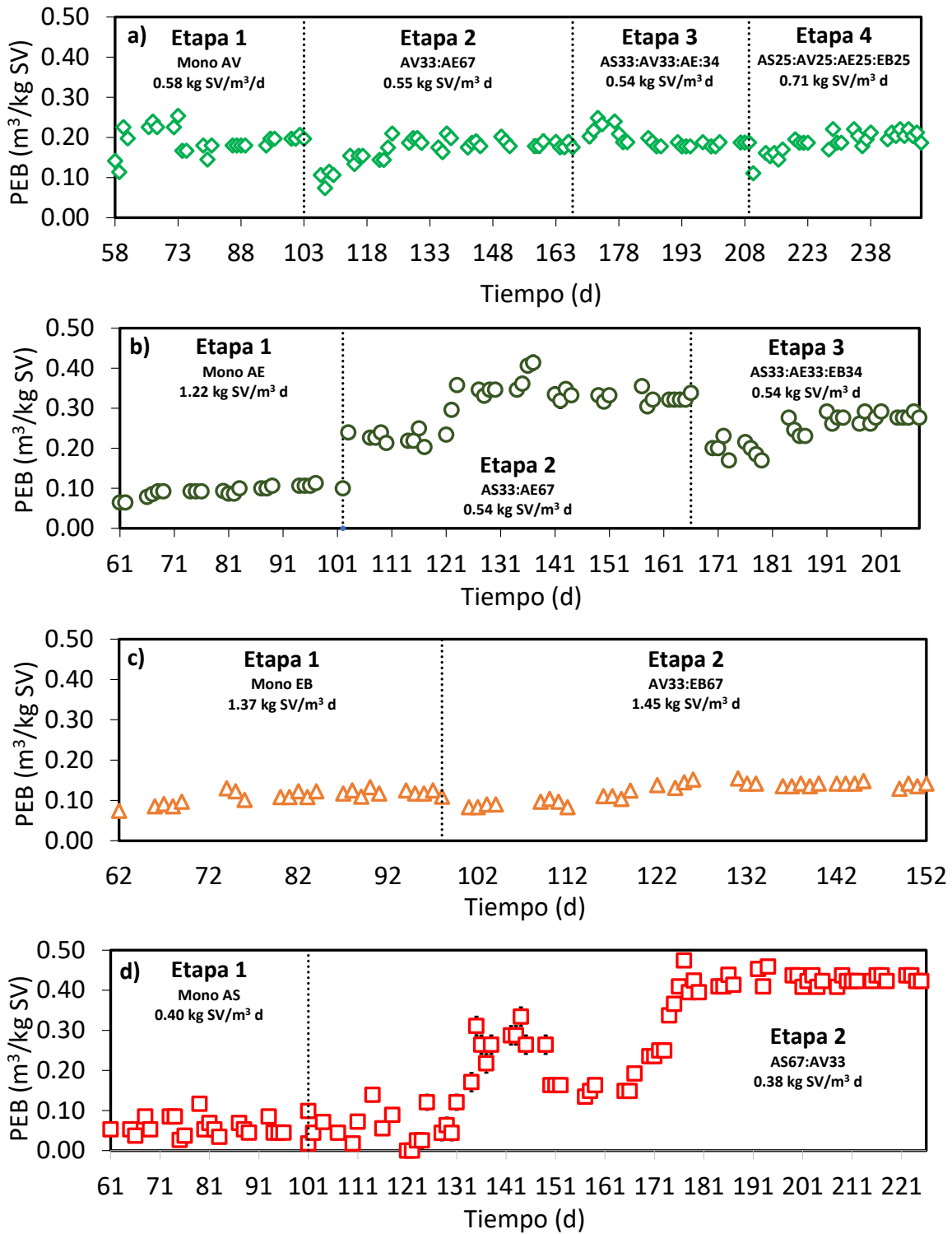
*Resultados experimentales de la CoDA de aguas residuales y estiércol de una PBB en digestores tubulares*

Digestor	Mezcla	CH <sub>4</sub> (%)	NH <sub>3</sub> (mg/L)	φ <sub>y</sub> (%)	pH	AGVs/AT (mg CH <sub>3</sub> COOH/ mg CaCO <sub>3</sub> )	Remoción DQO (%)
<b>R1</b>	AV	69.0	3.22	---	7.0	0.28	44
	AV33: AE67	66.4	3.63	46	7.1	0.45	56
	AS33: AV33: AE34	68.8	8.90	67	7.4	0.22	59
	AS25: AV25: AE25: EB25	70.7	15.07	90	7.5	0.24	71
<b>R2</b>	AE	62.8	1.55	---	7.0	0.22	66
	AS33: AE67	64.8	8.57	279	7.3	0.33	67
	AS33: AE33: EB34	68.3	15.38	217	7.5	0.23	64
<b>R3</b>	EB	62.9	6.52	---	6.8	0.59	29
	AV33: EB67	66.4	4.98	2	6.9	0.45	57
<b>R4</b>	AS	67.7	23.93	---	7.6	0.54	42
	AS67: AV33	74.5	18.24	391	7.3	0.33	76

*Nota.* AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino.

**Figura 9**

*Producción específica de biogás (PEB) para los digestores a) R1, b) R2, c) R3 y d) R4*



En el digestor R1 se observa que la DA de las AV presentó una PEB cercana a la reportada por Martí-Herrero *et al.* (2018) para la DA de aguas residuales de una PBB en digestores tubulares a escala piloto ( $0.210 \text{ m}^3/\text{kg SV}$ ). Sin embargo, la calidad del biogás, expresada en concentración de  $\text{CH}_4$  (49.9% - 57.7%), fue superior en el presente estudio (Tabla 11). La adición de AE y AS en las etapas 2 y 3, respectivamente, no ocasionan cambios significativos en la PEB. Finalmente, la mayor PEB se obtuvo en la CoDA cuaternaria ( $0.204 \text{ m}^3/\text{kg SV}$ ). La calidad de biogás en el digestor R1 se conservó estable en un rango de 66.4% – 70.7%  $\text{CH}_4$ .

Un estudio realizado por Jensen *et al.* (2016) sobre la DA de AE en un digestor con agitación por recirculación presentó PEB de  $0.365 \text{ m}^3/\text{kg SV}$  con 63% de contenido de  $\text{CH}_4$ . Sin embargo, la anterior investigación se realizó en dos etapas bajo condiciones termófilas:  $50^\circ\text{C}$  y  $35^\circ\text{C}$ , respectivamente, por lo cual los rendimientos del proceso fueron mayores a los del presente estudio ( $0.102 \text{ m}^3/\text{kg SV}$ ). A la fecha no se han reportado investigaciones sobre la DA de AE en digestores tubulares. Las CoDA's binaria (etapa 2) y terciaria (etapa 3) incrementaron la PEB de biogás en 222% y 173%, respectivamente, y el % $\text{CH}_4$  entre 2 y 6 puntos porcentuales (Tabla 11).

Con respecto a la DA del EB, la PEB fue cercana a la determinada por Castro *et al.* (2017) para el mismo sustrato en un digestor tubular a pequeña escala ( $0.140 \text{ m}^3/\text{kg SV}$ ). Así mismo, el contenido de  $\text{CH}_4$  se encuentra en el rango reportado por estudios anteriores: 47.4% (Martí-Herrero *et al.*, 2014) – 65.6% (Castro *et al.*, 2017). La adición de AV al EB en una proporción del 33% SV incrementó la PEB un 17% y 4 puntos porcentuales el contenido de  $\text{CH}_4$ .

La DA de AS en un digestor de membrana reporta PEB de  $1.086 \text{ m}^3/\text{kg SV}$  con una calidad del 70%  $\text{CH}_4$  (Jensen *et al.*, 2015). Los anteriores datos son mucho mayores a los hallados en la presente investigación en un digestor tubular. Las proteínas presentes en las AS se degradan a  $\text{NH}_3$  durante el proceso de DA. La acumulación de  $\text{NH}_3$  afecta a las arqueas metanogénicas y las

bacterias grampositivas, inhibiendo el proceso de DA (Mlinar *et al.* , 2022). En el presente estudio la concentración de  $\text{NH}_3$  durante la DA de las AS superó el valor de la constante de inhibición experimental (18.53 mg/L), demostrando una afectación superior al 50%. Resultados similares son reportados por Hejnfelt y Angelidaki (2009) durante la DA de sangre de cerdo en batch, donde se evidenció un rendimiento de  $\text{CH}_4$  bajo (0.040  $\text{m}^3/\text{kg}$  SV) debido a la acumulación de  $\text{NH}_3$ . La CoDA de las AS con las AV en la segunda etapa, redujo a concentración de  $\text{NH}_3$ , incrementando la PEB a 0.442  $\text{m}^3/\text{kg}$  SV y el contenido de  $\text{CH}_4$  a 74.5%, después de un tiempo de estabilización de 76 d (aproximadamente 4 TRH). La PEM de la DA de las AS solo alcanzó el 7% del rendimiento final de  $\text{CH}_4$  de los ensayos de PBM (capítulo 1), mientras que para la CoDA AS67:AV33 este porcentaje aumentó al 65%.

El análisis anterior sobre los beneficios de la CoDA se evidencia en el factor de sinergia ( $\phi_y$ ) en relación con el rendimiento de  $\text{CH}_4$ . La menor sinergia se observó en la CoDA de AV y EB, cuyo valor de  $\phi_y$  fue inferior al reportado en los ensayos de PBM (23%) (capítulo 1). En contraste, las demás CoDA's presentaron valores de sinergia notablemente superiores. Esta diferencia se atribuye principalmente a que durante las mono-DA's las AE y las AS presentaron los rendimientos de  $\text{CH}_4$  más bajos, lo cual fue contrarrestado con sus respectivas CoDA's.

Para los cuatro digestores en las diferentes CoDA's el pH se mantuvo en un rango de 6.8 – 7.6, el cual se encuentra dentro de los valores recomendados como óptimos para el proceso de DA (Mao *et al.* , 2015). La capacidad Buffer del proceso de DA se suele reportar en función de la relación AGV's/AT. Valores de AGV's/AT menores a 0.4 no representan riesgo de acidificación del proceso, entre 0.4 y 0.8 el riesgo de acidificación es moderado y por encima de 0.8 la concentración de AGV's es tan alta que el proceso de DA puede fallar (Callaghan *et al.* , 2002). Se puede observar en la Tabla 11 que, para los cuatro digestores, las diferentes mono DA's y

CoDA's presentaron una relación AGV's/AT por debajo del rango de acidificación. Es interesante que, a pesar de su inhibición, la DA de las AS durante la primera etapa de R4 haya mostrado indicadores operacionales estables (pH y AGV/AT). Tal como se ha observado en estudios previos, las concentraciones de  $\text{NH}_3$  provocan un aumento en el pH, lo que, a su vez, favorece la acumulación de AGV's, contrarrestando el incremento del pH y, por ende, la concentración de  $\text{NH}_3$ . Este ciclo de interacción entre  $\text{NH}_3$ , AGV's y pH da lugar a un "estado estacionario inhibido", en el que el proceso de DA se mantiene estable, pero con un menor rendimiento de  $\text{CH}_4$  (Angelidaki *et al.* , 2006).

Respecto a la DQO se evidencia que en los cuatro digestores en la medida en que se procesaron mezclas (de mono DA, binarias, ternarias y cuaternarias) la remoción de materia orgánica se fue incrementando; lo cual indica una mayor gestión de los diferentes residuos producidos en la PBB. Las remociones de DQO se encuentran en el rango reportado para la DA de aguas residuales de una PBB en digestores tubulares (10.4% - 80.5%) (Martí-Herrero *et al.* , 2018).

En la Tabla 12 se presenta la recuperación de nutrientes (N y P) y producción de estruvita obtenida a partir de los digeridos de la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB.

Las tasas de recuperación de P mediante precipitación de estruvita variaron entre el 66% y el 86%. La menor recuperación se observó en el digerido proveniente de la DA de EB, mientras que las CoDA's exhibieron mayores recuperaciones comparadas con las mono DA's. Con respecto al N, se observaron recuperaciones que variaron entre el 9% y el 95%, correspondientes a las CoDA's AV33:AE67 y AV33:EB67, respectivamente.

**Tabla 12**

*Recuperación de fósforo y nitrógeno y producción de estruvita a partir del digerido de la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB*

Digestor	Mezcla	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (kg/m <sup>3</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (kg/m <sup>3</sup> )	Recuperación de P (%)	Recuperación de N (%)	PE <sub>STubular</sub> (kg/m <sup>3</sup> )	Pureza (%)
<b>R1</b>	AV	0.189	0.274	75	57	0.367	57.6
	AV33: AE67	0.174	0.245	84	9	0.311	59.3
	AS33: AV33: AE34	0.167	0.276	85	12	0.368	60.7
	AS25: AV25: AE25: EB25	0.190	0.478	85	44	0.417	58.2
<b>R2</b>	AE	0.324	0.122	75	44	0.628	58.8
	AS33: AE67	0.271	0.450	78	32	0.545	59.9
	AS33: AE33: EB34	0.312	0.501	86	47	0.693	59.0
<b>R3</b>	EB	0.522	0.902	66	94	0.889	58.6
	AV33: EB67	0.415	0.609	73	95	0.782	60.1
<b>R4</b>	AS67: AV33	0.283	0.823	83	56	0.606	61.2

*Nota.* AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino.

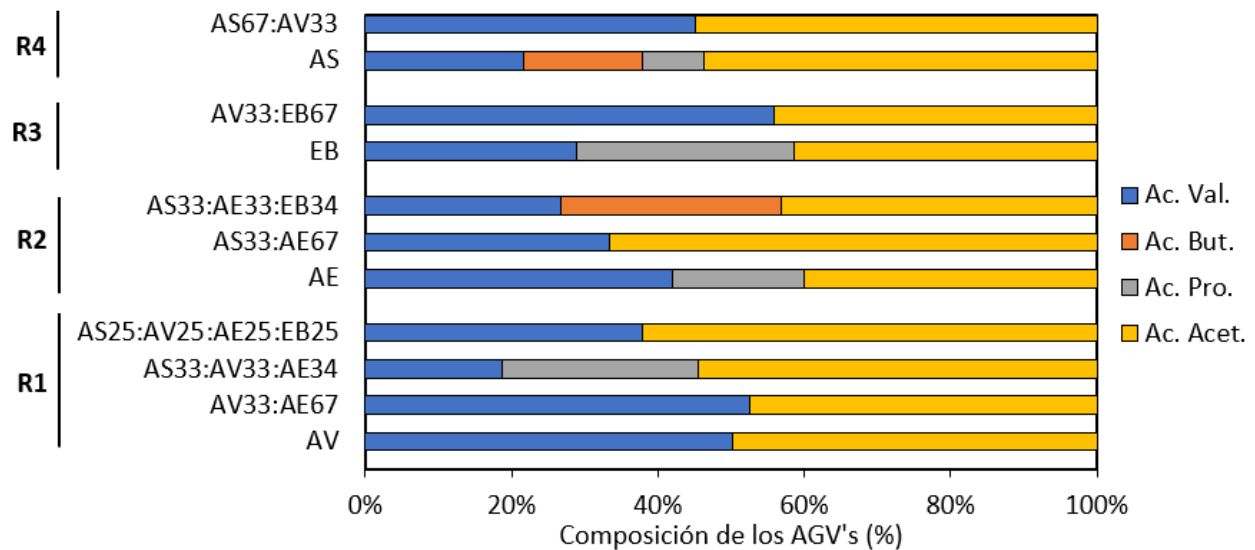
Los resultados de la recuperación de P y N son similares los reportadas para otros tipos de aguas residuales. Huang *et al.* (2011) precipitaron estruvita a partir del digerido de aguas residuales porcinas, utilizando H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y pirolizado de magnesita (compuesto principalmente por MgO) como fuentes de P y Mg, respectivamente, en un rango de pH de 8.0 – 8.5. La estruvita formada fue filtrada, lavada y sometida a un proceso de pirogenación a 110 °C. Posteriormente, se recirculó en

cuatro ciclos, logrando incrementar la recuperación de P y N de hasta un 96% y 80%, respectivamente. Para este mismo sustrato, Song *et al.* (2011) evaluaron la recuperación de nutrientes mediante la precipitación de estruvita sin adición de fuentes externas de P o Mg, con pH de 8.5 – 9.0. La precipitación se llevó a cabo en dos tipos de digestores: uno batch secuencial y otro de flujo continuo, ambos con aireación difusa para facilitar la mezcla y la eliminación de CO<sub>2</sub>. Se lograron tasas de recuperación de P de 84% a 88% y de N de 7.5% a 35%. Para el efluente de la DA del contenido ruminal de bovinos, Jensen *et al.* (2016) investigaron la obtención de estruvita utilizando Mg(OH)<sub>2</sub> como fuente de Mg, mediante un proceso en dos etapas: aireación y cristalización, en un pH cercano a 7.6. Los resultados mostraron que, con una dosis de Mg en una relación molar Mg/P superior a 2.0, se logró recuperar hasta un 85% del P y un 15% del N. A partir de las remociones de P y N, se estimaron las producciones de estruvita del digerido (PES<sub>Tubular</sub>), con valores oscilaron entre 0.311 y 0.889 kg/m<sup>3</sup>. La menor producción correspondió a la CoDA AV33:AE67, debido a su baja recuperación de N (9%), mientras que el más alto se obtuvo en la mono DA del EB, dado que presentó las concentraciones más altas de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> y NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Los resultados del análisis de difracción de rayos X (DRX) demostraron purezas (% de estruvita) del mineral precipitado entre 57.6% y 61.2%; el % restante de las fases cristalinas correspondieron a NaCl, Mg(OH)<sub>2</sub> en exceso y otras sales de fosfatos. Este grado de pureza es similar al hallado en la precipitación de estruvita a partir de aguas residuales de granjas porcinas (72.7%) (Ha *et al.* , 2023) y de estiércol de cerdo digerido (65.1%) (Zeng *et al.* , 2021).

En la Figura 10 se presenta la composición de los AGV's de la CoDA's evaluadas.

**Figura 10**

*Composición de los AGV's de la CoDA de aguas residuales y EB de una PBB en digestores tubulares*



La mayor proporción de los ácidos corresponde al ácido acético y ácido valérico. El porcentaje de estos ácidos se encuentra en el rango hallado en estudios anteriores para CoDA de residuos del beneficio de cerdos y lodos activados (40% - 62% de ácido acético) (Borowski y Kubacki, 2015) y residuos de comida ricos en proteínas (48% - 63% ácido valérico) (Malinowsky *et al.*, 2021). La alta proporción de ácido valérico en comparación con otros AGV's se debe a la naturaleza proteica de los residuos tratados. Según Batstone *et al.* (2002), el ácido valérico está principalmente relacionado con la fermentación de proteínas, mediante la desaminación reductiva de aminoácidos aislados o a través de la reacción de óxido-reducción entre pares de aminoácidos mediante la reacción de Stickland. Se detectó presencia de ácido propiónico principalmente en las mono DA's. La acumulación de este ácido ha sido relacionada con problemas de inhibición del proceso de DA (Wang *et al.*, 2009; Zhang y Banks, 2012). Dependiendo de las condiciones de operación y el tipo de digestor utilizado, se han detectado inhibición por ácido propiónico en un

rango de 900 y 5000 mg/L (Yuan y Zhu, 2016). En los experimentos las concentraciones de ácido propiónico no superaron los 120 mg/L, por lo cual se puede descartar riesgo de inhibición en las CO evaluadas. No obstante, la CoDA mejora notablemente la conversión de ácido propiónico, lo que podría significar una ventaja bajo condiciones de cargas más elevadas.

#### **2.4.2. *Análisis de sensibilidad del modelo ADM1***

El estudio de la composición de los sustratos en la CoDA de aguas residuales y estiércol de una PBB, mediante el ADM1, requirió el análisis de sensibilidad de 22 parámetros. Como datos de entrada se tomaron las condiciones de operación experimentales (caudales, OLR y composición) de las mono DA's. El análisis se realizó sobre cuatro conjuntos de parámetros (Tabla 10). En la Tabla 13 se presenta el IS promedio de todas las simulaciones realizadas, donde se resaltan en negrita y cursiva los parámetros que presentaron la mayor sensibilidad, tanto para la PEB como para la composición de CH<sub>4</sub>. En este sentido, la CoDA de mezclas de aguas residuales y estiércol de PBB presentó sensibilidad a la variación de  $k_h$ ,  $\mu_{m,pro}$ ,  $\mu_{m,ac}$ ,  $\mu_{m,H2}$  y  $K_{S,H2}$ .

#### **Hidrólisis**

En el ADM1, el aumento en la tasa de hidrólisis incrementa la materia orgánica disponible para las posteriores etapas del proceso de DA (monosacáridos, aminoácidos y AGCL) incrementando la PEB. Adicionalmente, en el presente estudio, las hidrólisis de carbohidratos, lípidos y proteínas se agruparon en un único parámetro ( $k_h$ ). No obstante, la tasa de hidrólisis de cada macromolécula (carbohidratos, lípidos y proteínas) puede variar de manera independiente. Según se ha reportado para ADM1, las constantes de hidrólisis para carbohidratos, lípidos y proteínas se encuentran en el rango de 0.1 a 10 d<sup>-1</sup>, 0.015 a 10 d<sup>-1</sup> y 0.0014 a 10 d<sup>-1</sup>, respectivamente (Mo *et al.* , 2023).

**Tabla 13**

Índice de sensibilidad (IS) del ADMI para la CoDA de aguas residuales y EB procedentes de una PBB.

Parámetro		IS para PEB (%)				IS para %CH <sub>4</sub> (%)			
		% de Variación de Parámetro				% de Variación de Parámetro			
		80	90	110	120	80	90	110	120
Constante de Hidrólisis	$k_h$	<b>37.3</b>	<b>35.6</b>	<b>39.5</b>	<b>30.0</b>	9.8	8.6	8.3	9.7
Tasas máximas de crecimiento	$\mu_{m,aa}$	1.1	0.2	1.7	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0
	$\mu_{m,ac}$	<b>11.6</b>	<b>38.6</b>	<b>8.7</b>	<b>5.6</b>	4.4	3.7	2.2	2.8
	$\mu_{m,bu}$	2.3	1.8	1.9	2.0	0.9	0.8	0.7	0.7
	$\mu_{m,fa}$	13.5	13.1	13.0	12.9	2.5	2.4	1.7	1.6
	$\mu_{m,H2}$	<b>9.8</b>	<b>37.2</b>	<b>10.6</b>	<b>6.3</b>	<b>70.1</b>	<b>82.6</b>	<b>84.4</b>	<b>69.2</b>
	$\mu_{m,pro}$	<b>12.0</b>	<b>35.7</b>	<b>6.2</b>	<b>4.1</b>	7.1	7.1	3.6	3.3
	$\mu_{m,su}$	1.2	1.0	2.5	1.9	0.0	0.0	0.1	0.1
	$\mu_{m,va}$	4.4	2.0	2.8	3.3	0.8	0.8	0.7	0.7
Constante de inhibición	$K_{S,IN}$	0.3	0.3	0.7	1.7	0.2	0.2	0.1	0.1
	$K_{I,H2,C4}$	0.8	1.7	1.1	1.0	1.3	1.2	1.1	1.0
	$K_{I,H2,fa}$	7.4	7.6	9.8	8.7	9.0	8.9	6.5	6.7
	$K_{I,NH3}$	1.2	0.8	0.3	0.7	0.2	0.1	0.1	0.1
	$K_{I,H2,pro}$	11.6	18.3	5.4	4.3	6.2	6.3	2.8	2.8
Constantes de semisaturación	$K_{S,aa}$	1.0	2.9	0.9	1.2	0.0	0.1	0.0	0.0
	$K_{S,ac}$	3.7	4.8	18.9	17.8	0.5	1.2	2.1	1.1
	$K_{S,bu}$	0.7	0.8	0.6	0.8	0.2	0.1	0.1	0.2
	$K_{S,fa}$	2.8	2.8	2.1	1.7	0.0	0.1	0.0	0.0
	$K_{S,H2}$	<b>5.0</b>	<b>5.6</b>	<b>37.1</b>	<b>11.9</b>	<b>21.0</b>	<b>20.4</b>	<b>6.4</b>	<b>9.5</b>
	$K_{S,pro}$	2.0	0.8	2.3	2.7	0.4	0.4	0.3	0.3
	$K_{S,su}$	1.2	0.1	1.5	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
	$K_{S,va}$	2.0	4.2	2.2	1.7	0.4	0.4	0.3	0.4

Las mayores sensibilidades a la variación de  $k_h$  las presentaron las AE y las AS; por lo cual se deduce que la hidrólisis de carbohidratos estructurales (celulosa y hemicelulosa) y de proteínas son las que mayor efecto tendrán en el proceso de DA. Por lo tanto, el cambio en la composición de las mezclas afectará significativamente la tasa de hidrólisis del proceso de CoDA. Esto coincide con estudios anteriores sobre ADM1, donde se han destacado que las constantes hidrolíticas son unos de los parámetros más influyentes en el ajuste del modelo (Li *et al.* , 2020; Ge *et al.* , 2024).

### **Acetogénesis**

Según la estequiometría del ADM1 utilizado en el presente estudio, la producción de  $H_2$  a partir de la acetogénesis del ácido propiónico es más de tres veces superior a la del ácido valérico y butírico (Mo *et al.* , 2023). El  $H_2$  actúa como agente inhibidor de las etapas acidogénica y acetogénica (Marchaim y Krause, 1993; Ohnmacht *et al.* , 2022), por lo cual la variación del parámetro  $\mu_{m,pro}$  afecta la PEB. Por lo tanto, algunos autores destacan que los parámetros cinéticos de la asimilación de AGV's son claves en el modelamiento del proceso de DA mediante ADM1 (Bułkowska *et al.* , 2018).

### **Metanogénesis**

Todos los sustratos mostraron sensibilidad a las tasas de metanogénesis acetoclástica ( $\mu_{m,ac}$ ) e hidrogenotrófica ( $\mu_{m,H_2}$  y  $K_{S,H_2}$ ). La variación en el valor de  $\mu_{m,ac}$  altera la concentración de ácido acético en el digestor, lo que a su vez modifica las condiciones de pH y la PEB. De igual manera, la variación de  $\mu_{m,H_2}$  y  $K_{S,H_2}$  influye en la concentración de  $H_2$ , lo que impacta las tasas de acidogénesis y acetogénesis, generando un efecto sobre la PEB y la composición del biogás. Esta sensibilidad a los parámetros de la metanogénesis coincide con estudios experimentales, que han demostrado que, durante la DA de EB y residuos de beneficio animal, la ruta metanogénica es inicialmente mediada por arqueas acetoclásticas de los géneros *Methanosarcina* y *Methanosaeta*.

No obstante, el aumento en la concentración de AGV's y  $\text{NH}_3$ , generados durante la degradación de carbohidratos y proteínas de los sustratos, puede desviar la ruta metanogénica hacia la hidrogenotrófica, facilitada por los géneros *Methanomicrobia* y *Methanobacteria*, debido a su mayor resistencia a la inhibición (Abid *et al.* , 2021; Guo *et al.* , 2021). La mayoría de las simulaciones realizadas con el ADM1 han mostrado sensibilidad a los parámetros de la metanogénesis mencionados anteriormente (Li *et al.* , 2020; Sun *et al.* , 2021; Kim *et al.* , 2024).

### **2.4.3. Calibración y validación del modelo ADM1**

#### **Optimización de Parámetros del ADM1**

En la Tabla 14 se presentan los valores óptimos de los parámetros más sensibles en cada digester y cada etapa. El análisis de la información de la Tabla 14 se realizó considerando la retención de material particulado y las etapas del proceso de DA, como se discute a continuación.

#### **Retención de material particulado (FR)**

El factor de retención (FR) es un parámetro incorporado en el ADM1 para representar las condiciones de mezcla no perfecta en los digestores tubulares (Donoso-Bravo *et al.* , 2018). A menor valor de FR, mayor es la retención de material particulado en el digester. En este sentido, las simulaciones de la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB, demuestran que se puede llegar a retener hasta el 94% del material particulado en los digestores tubulares. Los valores más bajos de FR se observaron en la mono DA de las AE y en las CoDA's donde esta está presente, las cuales reportan contenidos de material lignocelulósico superiores al 30% SV (Tabla 7). La falta de agitación en los digestores tipo plug-flow conllevan a la precipitación y acumulación de sólidos (Jegade *et al.* , 2019), lo cual se acentúa debido a la baja tasa de hidrólisis del material lignocelulósico presente en las AE. En contraste, la DA de las AS presentó una retención de material particulado despreciable, debido a que se constituye principalmente de proteínas solubles

(sangre), no presenta material lignocelulósico y reporta la menor carga orgánica (0.40 kg SV/m<sup>3</sup> d).

### **Constante hidrolítica ( $k_h$ )**

Los valores óptimos de  $k_h$  se encuentran dentro del rango reportado para la aplicación del ADM1 a digestores CSTR, UASB, ARB (reactor compartimentado) y AnMBR (biorreactor de membrana) (Mo *et al.* , 2023). Sin embargo, a excepción de la DA de las AS y la CoDA AS67:AV33, los valores de  $k_h$  fueron inferiores a los presentados en investigaciones anteriores para la DA de residuos de plantas de beneficio animal en digestores agitados por recirculación (0.10 d<sup>-1</sup>) (Jensen *et al.* , 2016) y a los hallados en los ensayos de PBM del capítulo 1 (modelo de primer orden). Lo anterior, es posiblemente consecuencia de la retención del material particulado, el cual incrementa la concentración de sólidos dentro del digestor. Un estudio realizado por Abbassi-Guendouz *et al.* (2012) sobre la DA de un material lignocelulósico (cartón compacto), demuestra que el aumento de ST de 10% a 30% conlleva a la caída de  $k_h$  de 0.01 d<sup>-1</sup> a 0.0045 d<sup>-1</sup>. Los anteriores valores son similares a los hallados en el presente estudio. El incremento en los ST dentro del digestor conlleva a una reducción en los coeficientes de difusión efectiva (Bollon *et al.* , 2013), causando un aumento en la resistencia a la transferencia de masa debido a la acumulación de productos de la hidrólisis (Veluchamy y Kalamdhad, 2017), los cuales pueden llegar a reducir e inhibir el proceso (Xu *et al.* , 2014).

Tabla 14

Parámetros óptimos del ADM1

Parámetro	Unidades	Rango de Referencia (Mo et al., 2023)	R1				R2				R3		R4	
			Etapa 1: AV	Etapa 2: AV33-AE67	Etapa 3: AS33-AV33-AE34	Etapa 4: AS25-AV25-AE25-EB25	Etapa 1: AE	Etapa 2: AS33-AE67	Etapa 3: AS33-AE33-EB34	Etapa 1: EB	Etapa 2: AV33-EB67	Etapa 1: AS	Etapa 2: AS67-AV33	
FR	--	1.00	0.30	0.07	0.12	0.06	0.08	0.10	0.10	0.17	0.17	1.00	0.70	
$k_h$	d <sup>-1</sup>	1.40E-03 - 10.00	0.012	0.007	0.008	0.009	0.008	0.025	0.021	0.004	0.005	0.120	0.230	
$m_{m, bu}$	d <sup>-1</sup>	0.30 - 1.24	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	0.12	1.40	1.40	0.10	1.40	
$m_{m, pro}$	d <sup>-1</sup>	0.09 - 0.72	1.00	1.00	0.43	1.00	0.38	1.00	1.00	0.77	1.20	0.10	1.10	
$m_{m, va}$	d <sup>-1</sup>	0.30 - 1.24	0.47	0.75	1.70	1.50	0.42	0.45	0.60	1.05	1.70	0.10	1.40	
$K_{s, bu}$	g/L	0.02-0.33	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	
$K_{s, pro}$	g/L	0.01-0.42	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
$K_{I, NH3}$	g/L	0.031 - 0.38	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.019	0.031	
$m_{m, ac}$	d <sup>-1</sup>	0.2 - 1.75	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	1.2	
$m_{m, H2}$	d <sup>-1</sup>	0.12-2.64	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	0.15	2.10	
$K_{S, H2}$	g/L	1.26E-07 - 3.14E-05	1.80E-04	5.00E-04	5.00E-04	6.80E-04	2.10E-04	8.80E-05	8.80E-05	7.00E-04	7.00E-04	1.26E-07	3.50E-05	

Al comparar las mono DA's se observa que las hidrólisis más bajas las presentan la DA de AE y EB, debido a que exhiben la mayor proporción de material lignocelulósico: 75.5 %SV y 63.2 %SV, respectivamente (Tabla 7). La hidrólisis de los materiales lignocelulósicos es limitada por varios factores entre ellos la cristalinidad de la celulosa, el tamaño de partícula y el contenido de lignina. En la naturaleza la celulosa se encuentra principalmente en forma cristalina, con una disposición de cadenas direccionales en un sistema compacto de fibras, limitando el acceso de microorganismos anaeróbicos dentro de las estructuras (Agregán *et al.*, 2022). Por su tamaño de partícula, los materiales lignocelulósicos poseen baja área superficial específica, lo cual limitando el contacto con las enzimas hidrolíticas (Hendriks y Zeeman, 2009). La lignina incrusta las fibras de celulosa y hemicelulosa, formando un polímero estable, recalcitrante y resistente al ataque de las enzimas microbianas (Zou *et al.*, 2022). Por lo anterior, la hidrólisis es la etapa limitante en la DA de los sustratos lignocelulósicos. Sin embargo, durante los procesos de CoDA se observó un efecto de los co-sustratos sobre el valor de  $k_h$ . Por ejemplo, las mezclas AS33:AV33:AE34 y AS25:AV25:AE25:EB25 contienen menor cantidad de material lignocelulósico (30.1%SV y 38%SV, respectivamente) en comparación con las mezclas AS33:AE67 y AS33:AE33:EB34 (50.6%SV y 46.4%SV, respectivamente). (Tabla 7). A pesar de ello, las segundas mezclas presentan valores de  $k_h$  tres veces superiores a los de las primeras.

#### **Parámetros de la etapa acetogénica ( $\mu_{m, bu}$ , $\mu_{m, pro}$ , $\mu_{m, va}$ )**

Aunque los parámetros asociados a la acetogénesis de los ácidos butírico y valérico no mostraron sensibilidad sobre la PEB ni en la composición de  $CH_4$  (Tabla 13), fueron ajustados a partir de la composición de AGV's de los digeridos. Lo anterior, con el fin de prever posibles episodios de acidificación en los digestores. Dado que el ácido butírico y propiónico solo fueron detectados experimentalmente en algunos de los digeridos y considerando que las concentraciones

de AGV's fueron bajas, se fijaron  $K_{s, bu}$  y  $K_{s, pro}$  en los valores más bajos del rango reportado por Mo *et al.* (2023), mientras que la mayor parte de las tasas máximas de crecimiento de los microorganismos acetogénicos ( $\mu_{m, bu}$ ,  $\mu_{m, pro}$ ,  $\mu_{m, va}$ ) se ajustaron a valores superiores a los reportados anteriormente para el ADM1. La anterior diferencia se puede explicar a partir del inóculo utilizado en el presente estudio (lodo de estiércol bovino). Alzate y Quintero (2016) hallaron una actividad acetogénica para el lodo de estiércol bovino 44% superior a las reportadas previamente por Regueiro *et al.*, 2012 en inóculos provenientes de digestores CSTR y UASB, alimentados con residuos de diferentes procesos (tratamiento de aguas residuales, cervecería, granja lechera y levadura). Los autores atribuyen la alta actividad acetogénica del lodo de estiércol bovino a las bacterias acetogénicas sintróficas, las cuales pueden ser precursoras de la producción de  $CH_4$  a través de diferentes rutas (metanogénesis y homoacetogénesis). Por lo anterior, las poblaciones acetogénicas del lodo de estiércol bovino presentan un crecimiento estable durante el proceso de DA (Alzate y Quintero, 2016). La observación anterior coincide con los resultados de Pandey *et al.* (2011), quienes encontraron que el estiércol bovino alberga una gran población de acetógenos sintróficos. Además, Mladenovska *et al.* (2003) indican que la presencia de partículas  $> 200 \mu m$ , como las fibras de material lignocelulósico en el presente estudio, favorece el crecimiento de los microorganismos acetógenos. Por tanto, a pesar de la acumulación de sólidos en el digestor, se presenta una adecuada asimilación de AGV's por parte del inóculo, lo que se refleja en bajas constantes de semisaturación ( $K_{s, bu}$  y  $K_{s, pro}$ ) y en concentraciones reducidas de ácidos.

#### **Parámetros de la etapa metanogénica ( $K_{I, NH_3}$ , $\mu_{m, ac}$ , $\mu_{m, H_2}$ , $K_{S, H_2}$ )**

Para la mayoría de las simulaciones se tomó como coeficiente de inhibición por  $NH_3$  ( $K_{I, NH_3}$ ) el valor experimental hallado para el presente inóculo (0.019 g/L), el cual se ajustó

correctamente a los resultados experimentales de los digestores tubulares. Este valor de  $K_{I,NH_3}$  fue inferior a los utilizados comúnmente en el ADM1 (Mo *et al.*, 2023). La anterior diferencia se debe posiblemente al tipo de inóculo utilizado. En la mayor parte de las implementaciones del ADM1 se usan inóculos adaptados al sustrato tratado (Montecchio *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021; Rossi *et al.*, 2022; Kim *et al.*, 2024; Mellyanawaty *et al.*, 2024). Por el contrario, en la presente investigación el inóculo utilizado provino de un digestor tubular alimentado con estiércol fresco, el cual no estaba previamente adaptado a residuos de PBB. Sin embargo, para la CoDA AS67:AV33 (R4 etapa 2) el valor de  $K_{I,NH_3}$  se ajustó a 0.031 g/L (63% superior), lo cual puede ser una respuesta a la adaptación del inóculo a las concentraciones de  $NH_3$  (Jo *et al.*, 2022) y/o un efecto sinérgico entre los cosustratos (Zhou *et al.*, 2024).

A excepción de la DA de las AS, los valores de la tasa máxima de crecimiento de los microorganismo acetoclásticos e hidrogenotróficos ( $\mu_{m,ac}$  y  $\mu_{m,H_2}$ ) se encuentran en el rango de referencia. Sin embargo, el  $\mu_{m,ac}$  ajustado fue inferior a  $0.4 \text{ d}^{-1}$  ( $k_{m,ac}=8.0 \text{ g DQO/g DQO d}$ ), que corresponde al valor por defecto del modelo ADM1, desarrollado inicialmente para digestores CSTR. No obstante, la falta de agitación, junto con la retención de sólidos, puede reducir las tasas de metanogénesis, como se ha evidenciado en investigaciones previas. En este sentido, Dereli *et al.* (2010) aplicaron el ADM1 a la DA de aguas residuales en un digestor UASB, encontrando un valor ajustado de  $\mu_{m,ac}$  de  $0.2 \text{ d}^{-1}$  ( $k_{m,ac}=4.0 \text{ g DQO/g DQO d}$ ). Así mismo, Fernández *et al.* (2010) evaluaron el efecto de la concentración de ST sobre la DA de residuos sólidos municipales. Los resultados demostraron una caída en la tasa máxima de crecimiento microbiano de  $0.192 \text{ d}^{-1}$  a  $0.131 \text{ d}^{-1}$  cuando la concentración de ST varió de 20% a 30%. Similarmente, Zhao *et al.* (2021) hallaron una reducción en el valor de  $\mu_{m,ac}$  de  $0.35 \text{ d}^{-1}$  ( $k_{m,ac}=7.0 \text{ g DQO/g DQO d}$ ) a  $0.16 \text{ d}^{-1}$  ( $k_{m,ac}=3.3 \text{ g DQO/g DQO d}$ ) cuando la concentración de SV aumentó dentro del digestor de 32.3

g/L a 64.8 g/L, durante la DA de residuos de comida. Los anteriores datos de  $\mu_{m,ac}$  presentan una estrecha similitud con los valores hallados en la presente investigación.

Con respecto a  $\mu_{m,H_2}$ , su valor se mantuvo en la mayoría de las simulaciones en el valor original del modelo ADM1. Sin embargo, durante la DA de AS la simple optimización de  $k_h$  y  $K_{s,H_2}$  no fue suficiente para ajustar el ADM1 a los valores de la PEB y composición de  $CH_4$  experimental. Por lo tanto, también se incluyó en la optimización  $\mu_{m,H_2}$ . Resulta notable el valor tan bajo de  $\mu_{m,H_2}$  en comparación con  $\mu_{m,ac}$  (que se mantuvo en  $0.22 \text{ d}^{-1}$ ), dado que aparentemente contradice lo evidenciado en otros estudios, donde la tasa de metanogénesis acetoclástica ha resultado ser más sensible a la inhibición por  $NH_3$  que la metanogénesis hidrogenotrófica (Wang *et al.*, 2022). No obstante, el anterior comportamiento se debe a la estructura del ADM1 utilizada, que incluye un factor de inhibición por  $NH_3$  ( $I_{NH_3}$ ) para la metanogénesis acetoclástica, pero carece de un factor de inhibición para la metanogénesis hidrogenotrófica. Así, la metanogénesis acetoclástica no fue sensible a cambios de  $\mu_{m,ac}$ , dado que el efecto de  $NH_3$  se concentra en  $I_{NH_3}$ . En cambio, en la metanogénesis hidrogenotrófica, al no contar con un factor de inhibición, todo el efecto de  $NH_3$  se refleja directamente en  $\mu_{m,H_2}$ . Efectos similares del  $NH_3$  sobre  $\mu_{m,H_2}$  han sido reportados previamente. Koster y Koomen (1988) encontraron una reducción del 38% en el valor  $\mu_{m,H_2}$  cuando la concentración de NAT aumentó de 391 mg/L a 5100 mg/L (pH 7.0 y 29 °C) para un inóculo granular. Para un lodo de estiércol bovino bajo condiciones termófilas (55°C) Wiegant y Zeeman (1986) reportan una reducción de  $\mu_{m,H_2}$  de  $8.4 \text{ d}^{-1}$  a  $0 \text{ d}^{-1}$  cuando el NAT aumentó de 1000 mg/L a 4000 mg/L. Bajo las mismas condiciones termófilas, Wang *et al.* (2015) evidenciaron que un aumento del NAT de 260 mg/L a 7000 mg/L causó una reducción en  $\mu_{m,H_2}$  entre 26.9% y 16.4% en poblaciones hidrogenotróficas puras (*Methanothermobacter thermophiles* y *Methanothermobacter thermautotrophicus*). Por su parte, Wang *et al.* (2022) utilizaron lodo

anaerobio proveniente de un digestor mesófilo, encontrando que la metanogénesis hidrogenotrófica es afectada principalmente por el  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{pH} < 8.0$ . Sin embargo, los autores resaltan que la actividad metanogénica se pudo recuperar después de la inhibición del NAT. Esto último se evidencia en este estudio, dado que durante la etapa 2 del digestor R4 (CoDA AS67:AV33) el valor de  $\mu_{m,\text{H}_2}$  se ajustó de nuevo a  $2.1 \text{ d}^{-1}$ .

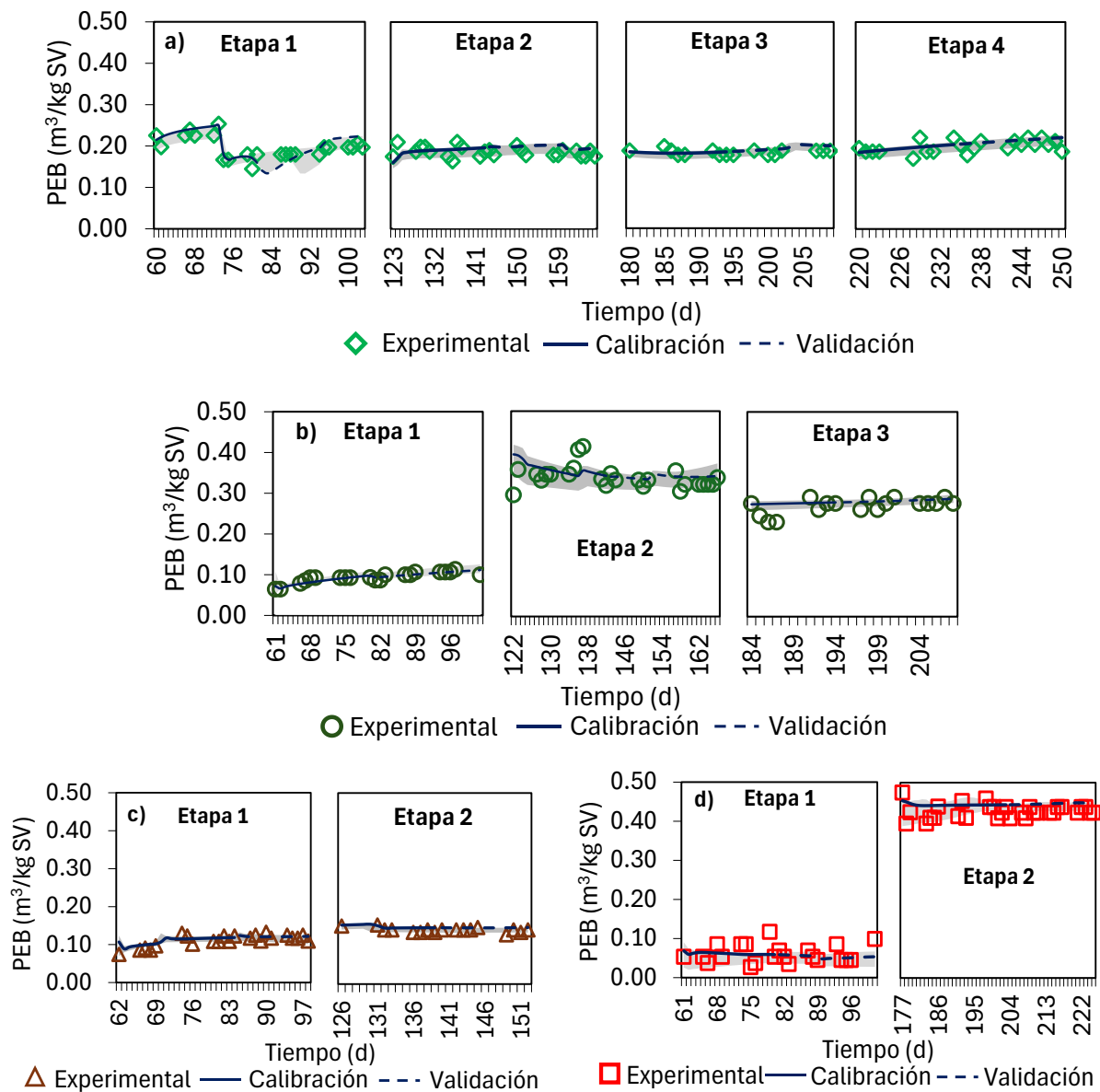
En general, los valores de  $K_{s,\text{H}_2}$  fueron superiores a los reportados en el rango de referencia para otros tipos de digestores, debido posiblemente a un efecto combinado de la retención de material particulado y la ausencia de agitación en los digestores tubulares. El parámetro  $K_s$  se relaciona con la afinidad sustrato-microorganismo (Mellyanawaty *et al.*, 2024), por lo cual, valores bajos se asocian con limitaciones en la difusión de masa debido a la concentración de sólidos (Xu *et al.*, 2014). Adicionalmente, la falta de agitación restringe el contacto entre el sustrato y los microorganismos, reduciendo las cinéticas de las reacciones bioquímicas (Kegl *et al.*, 2025). No obstante, la baja retención de sólidos en el digestor R4 ( $\text{FR}=1.0$  y  $0.7$ ) facilita la captación de  $\text{H}_2$  por parte de los microorganismos hidrogenotróficos, reduciendo el valor de  $K_{s,\text{H}_2}$  con respecto a los demás digestores.

### **Estadísticos de la prueba de calibración y validación**

La Figura 11 presenta los resultados de la calibración y validación del modelo ADM1, para lo cual se tomaron los datos experimentales de la PEB en el tiempo de operación estable de los digestores. En esta gráfica se presentan las respectivas etapas para cada biodigestor, en las cuales se incluye los datos experimentales, la calibración (línea continua) y la validación (línea punteada) del ADM1. Los resultados evidencian que el ADM1 se ajusta correctamente al comportamiento experimental de la PEB en los cuatro digestores

**Figura 11**

Producción específica de biogás (PEB) experimental y simulada: a) R1, b) R2, c) R3 y d) R4



*Nota.* AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas estomacales, AS: aguas de sacrificio, EB: estiércol bovino; La franja gris representa el intervalo de confianza del 95%.

En la Tabla 15 se presentan los valores de RECM,  $R^2$  y SF del modelo con respecto a la PEB; se utilizó como referente comparativo la investigación de Donoso-Bravo *et al.* (2018).

**Tabla 15**

*Estadísticos de prueba de la calibración (Cal.) y validación (Val.) del modelo ADM1*

Digestor	Etapa	RECM		SF		R <sup>2</sup>	
		Cal.	Val.	Cal.	Val.	Cal.	Val.
R1	1	0.014	0.021	0.033	0.033	0.413	0.370
	2	0.019	0.017	0.007	0.072	0.217	0.016
	3	0.008	0.012	0.005	0.053	0.049	0.227
	4	0.016	0.016	0.004	0.048	0.137	0.093
R2	1	0.006	0.006	0.009	0.003	0.643	0.373
	2	0.044	0.018	0.025	0.034	0.482	0.023
	3	0.028	0.013	0.058	0.021	0.295	0.059
R3	1	0.014	0.008	0.062	0.014	0.374	0.650
	2	0.009	0.009	0.046	0.050	0.064	0.057
R4	1	0.028	0.020	0.020	0.086	0.044	0.000
	2	0.029	0.023	0.040	0.047	0.123	0.257
Donoso-Bravo <i>et al.</i> (2018)		0.020	0.020	0.073	0.130	0.334	0.082

*Nota.* Cal.: Calibración, Val.: Validación.

La validación y calibración del ADM1 al proceso de DA y CoDA, en los cuatro digestores, presentaron resultados de RECM del mismo orden de magnitud que los hallados por Donoso-Bravo *et al.* (2018) en la simulación de un digestor plug-flow con retención de material particulado. Lo anterior sumado a los  $|SF| < 0.3$ , comprueba que el modelo ADM1 predice adecuadamente y sin sesgos los datos experimentales, lo cual concuerda con lo observado en la Figura 11. Debido a la no linealidad del ADM1, los valores de  $R^2$  fueron bajos, aunque de un orden de magnitud similar al reportado por Donoso-Bravo *et al.* (2018), por lo cual pueden considerarse aceptables para las

simulaciones realizadas. Sin embargo, la DA de las AS (etapa 1 de R4) presentó el dato más bajo de  $R^2$  debido a la baja PEB e inestabilidad en la operación (Figura 11).

### **Resultados de la validación del ADM1**

Los resultados de la validación del ADM1 para los procesos de DA y CoDA no inhibidos (todos excepto la DA de las AS) evidencian que el modelo predice la PEB con errores entre 0.2% y 7.7%, el contenido de  $CH_4$  con errores entre 3.5% y 14.1%, los SV del digerido con errores entre 0.2% y 13.1% y el pH con errores entre 0.2% y 5.7% (Tabla 16). Ersahin *et al.* (2007) simularon el tratamiento anaeróbico de aguas residuales del procesamiento de maíz, con un error del 18%, 1% y 10% para la estimación del contenido de  $CH_4$  del biogás, el pH y el contenido de DQO en el digerido, respectivamente. La simulación de la DA de residuos de comida presentada por Atallah *et al.* (2014) exhibe errores del 14%, 5.7-9.4% y 22.2-70.16% para el % $CH_4$  de biogás, el pH y el DQO del digerido, respectivamente. Barrera *et al.* (2015) aplicaron el ADM1 para el tratamiento de vinaza de caña con errores <10% en la estimación del % $CH_4$  y 10-30% en el caudal de biogás y el DQO del digerido. Postawa *et al.* (2023) estima el caudal de biogás y el % $CH_4$  con errores de 0.02-0.06% y 1.7 – 22.5%, respectivamente, en la simulación de la DA de purines de cerdo.

**Tabla 16**

*Error de validación del modelo ADM1 ajustado con respecto a la PEB, %CH<sub>4</sub> del biogás, SV del digerido, pH, NAT, NH<sub>3</sub> y AGV's totales*

Digestor	Etapa	PEB (m <sup>3</sup> /kg SV)			CH <sub>4</sub> (%)			SV digerido (g/L)			pH			NAT (mg/L)			NH <sub>3</sub> (mg/L)			AGV's (mg/L)		
		Exp.	ADM1	% E	Exp.	ADM1	%E	Exp.	ADM1	%E	Exp.	ADM1	%E	Exp.	ADM1	%E	Exp.	ADM1	%E	Exp.	ADM1	%E
1	1	0.179	0.186	3.7	69.0	72.7	5.4	5.0	5.0	0.2	7.0	7.0	0.2	278	248	10.8	3.2	2.9	10.8	56.1	103.82	84.9
	2	0.184	0.198	7.7	66.4	2.4	9.0	1.4	1.4	3.0	7.1	6.9	3.3	248	216	12.8	3.6	1.8	50.4	58.7	32.27	45.0
	3	0.183	0.194	6.0	68.8	73.7	7.2	3.7	3.3	12.6	7.4	6.9	5.7	282	308	9.2	6.8	3.0	55.5	57.6	49.42	14.2
	4	0.204	0.213	4.7	70.7	73.6	4.2	1.9	1.9	1.2	7.5	7.1	5.3	493	474	4.0	15.1	6.3	58.3	43.5	41.68	4.2
2	1	0.102	0.103	1.0	62.8	67.0	6.7	1.3	1.4	6.8	7.0	6.9	1.4	123	109	11.2	1.3	0.8	34.4	74.0	49.9	32.6
	2	0.328	0.340	3.7	64.8	74.0	14.1	4.4	4.9	13.1	7.3	7.0	3.4	458	422	8.0	8.6	5.1	40.7	36.0	52.4	45.2
	3	0.278	0.283	1.9	68.3	75.1	10.0	5.9	6.7	12.9	7.5	7.1	5.7	516	479	7.1	15.4	5.8	62.3	60.3	53.4	11.4
3	1	0.119	0.121	1.6	62.9	68.2	8.4	5.9	6.4	9.3	6.8	7.0	3.4	968	1029	6.0	6.5	12.3	88.8	57.8	101.5	75.7
	2	0.140	0.147	5.1	66.4	68.7	3.5	11.2	12.0	6.9	6.9	7.2	4.0	614	584	4.9	5.0	9.0	79.9	56.4	61.0	8.1
4	1	0.058	0.053	9.2	67.7	34.3	49.3	3.2	2.5	21.7	7.6	8.9	17.8	650	661	1.7	23.9	345.3	1342.9	1489.3	6278.4	321.6
	2	0.442	0.441	0.2	74.5	79.4	6.63	1.1	1.0	10.8	7.3	7.5	1.8	841	895	6.4	18.2	25.7	40.6	41.7	11.3	73.0

*Nota.* Exp: Datos experimentales; %E: Porcentaje de error.

Por lo anterior, el ADM1 ajustado en el presente estudio estima con alta precisión a la PEB, la calidad del biogás ( $\%CH_4$ ), la concentración de SV del digerido y el pH durante la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB (Batstone y Keller, 2003). Lo anterior también se cumple para la concentración de NAT. No obstante, la estimación para la concentración de  $NH_3$  y AGV's solo puede tomarse como cualitativa (Errores  $> 30\%$ ) (Batstone y Keller, 2003). En este sentido, a pesar de la alta desviación de los resultados del ADM1 respecto a los datos obtenidos experimentalmente, las simulaciones indican concentraciones de  $NH_3$  por debajo del coeficiente de inhibición  $K_{I,NH_3}$ , lo que concuerda con los resultados experimentales. Así mismo, tanto los resultados experimentales como la simulación demuestran bajas concentraciones de AGV's, descartando posibles riesgos por su acumulación. Por el contrario, a pesar de la sobreestimación, el modelo evidencia acumulaciones de  $NH_3$  (por encima de  $K_{I,NH_3}$ ) y AGV's para la DA de las AS, lo cual corresponde con los hallazgos experimentales.

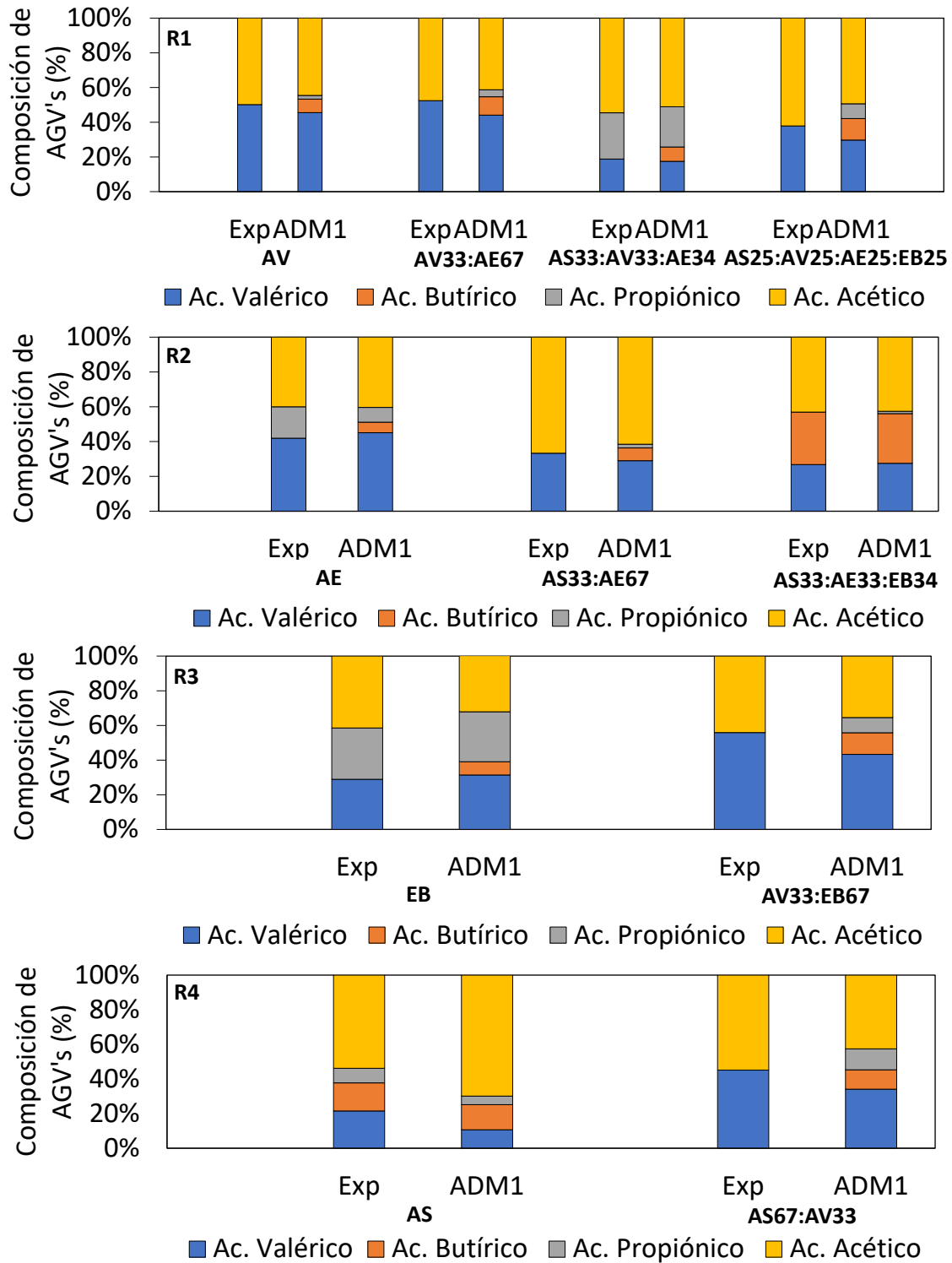
El ADM1 no logra describir apropiadamente el  $\%CH_4$ , los SV del digerido ni el pH durante la DA de las AS, probablemente debido a que la estructura original del modelo no refleja de forma adecuada el mecanismo de inhibición del sustrato. Ramírez *et al.* (2009) hallaron inconsistencias entre las predicciones del ADM1 original y los resultados experimentales de la DA de lodos activados. Estas diferencias se atribuyeron a la función no competitiva utilizada en el ADM1 original para representar la inhibición del  $NH_3$  sobre la metanogénesis acetoclástica. En consecuencia, los autores modificaron el ADM1 incorporando una función previamente desarrollada por Hill y Barth (1997), lo que mejoró significativamente las predicciones del modelo. De igual manera, estudios recientes de Astals *et al.* , (2018) indican que la inhibición por  $NH_3$  sigue un patrón sigmoideal, el cual no concuerda con la función no competitiva utilizada en el ADM1 original (cóncavo hacia arriba, decreciente). Por lo cual, los autores modificaron el ADM1

incluyendo una función de inhibición umbral, la cual se ajustó mejor a los resultados experimentales de la actividad metanogénica específica del inóculo bajo diferentes concentraciones de  $\text{NH}_3$  y  $\text{NH}_4^+$ . Así mismo Li *et al.* (2019) demuestran que la inclusión de una función no competitiva de inhibición por acetato sobre la degradación de los ácidos propiónico y butírico (no considerada en el ADM1 original), mejora significativamente el ajuste del ADM1 en la predicción de la concentración de AGV's.

En la Figura 12 se presenta la composición de los AGV's experimental y simulada. Experimentalmente, los ácidos valérico, butírico, propiónico y acético solo fueron detectados simultáneamente en la DA de las AS, la cual se inhibió por  $\text{NH}_3$ , mientras que en las demás mono DA's y CoDA's se evidenció la presencia de dos o tres ácidos a la vez, siendo el ácido valérico y el ácido acético los más frecuentes. No obstante, aunque  $K_{s, \text{bu}}$  y  $K_{s, \text{pro}}$  fueron calibrados en los valores de referencia más bajos, mientras que los de  $\mu_{m, \text{bu}}$  y  $\mu_{m, \text{pro}}$  en valores superiores (Mo *et al.*, 2023), todas las simulaciones indican presencia de ácido propiónico y butírico. La anterior discrepancia puede radicar en el inóculo utilizado en este estudio. Se ha demostrado que el filo de bacterias hallado con mayor frecuencia en el EB corresponde a *Firmicutes* (Zhang *et al.*, 2019). La mayor parte de las bacterias *Firmicutes* presentes en el EB, tales como *Syntrophomonas spp.*, son acetógenas reductoras de protones y responsables de la degradación del propianato y butirato. Por lo tanto, es posible que el lodo de estiércol bovino utilizado como inóculo pueda presentar mayor afinidad al ácido propiónico y butírico que la prevista en el modelamiento. Sin embargo, las diferencias en la composición de los AGV's entre los datos experimentales y el modelo ADM1 no superan los 13 puntos porcentuales; valor cercano al reportado en otras simulaciones (Li *et al.*, 2019). En consecuencia, la validación del ADM1 respecto a la composición de AGV's puede considerarse adecuada.

**Figura 12**

*Validación de la composición de los AGV's (Exp: experimental)*



#### 2.4.4. *Análisis del efecto de la composición sobre el proceso de CoDA*

En la Figura 13 se presenta la variación de los parámetros del modelo en función de la composición de las mezclas. En el eje de la abscisa se representa las respectivas mezclas para cada una de las etapas. En el eje de la ordenada se indica la composición de las moléculas presentes en las mezclas (monosacáridos, proteínas, lípidos y material lignocelulósico) expresados el %SV. Así mismo, en la Figura 14 se presenta la concentración de sólidos totales (ST) en los digestores.

##### **Análisis de la retención del material particulado (FR)**

De manera general, en cada digestor se observó una disminución de FR (aumentando la retención del material particulado) en función del contenido de material lignocelulósico. Para el digestor R1 (Figura 13a), los valores de FR fueron 0.3, 0.07, 0.12 y 0.06 para contenidos de material lignocelulósico de 13.3, 55.0, 30.1 y 38.0 %SV, respectivamente. Entre la etapa 1 y la etapa 2, el contenido de material lignocelulósico aumentó en 42 puntos porcentuales, mientras que el FR disminuyó en un 77%. En cambio, de la etapa 3 a la etapa 4, el material lignocelulósico solo aumentó 8 puntos porcentuales, pero el FR sufrió una reducción del 50%. La anterior diferencia se puede explicar por el contenido de ST en el digestor R1 (Figura 14), el cual pasa de un régimen de DA húmeda a semisólida (10-20%) durante la etapa 4 (Guo *et al.* , 2022). Estudios anteriores han evidenciado que altas cargas de material lignocelulósico conllevan a un aumento en los sólidos totales, lo cual puede ocasionar obstrucciones y formación de costras en los digestores (Arias *et al.* , 2021). Los cambios de FR en R2 (Figura 13b) fueron menos pronunciados que en R1. De la etapa 1 a la etapa 2 el contenido de material lignocelulósico se redujo en 25 puntos porcentuales, mientras que el valor de FR aumentó levemente de 0.08 a 0.1, manteniéndose constante en este último valor hasta la etapa 3. Lo anterior se debe a que, en el caso de R2, el contenido de ST dentro del digestor se mantuvo relativamente constante por encima del 10% (Figura 14). De manera

similar, en R3 (Figura 13c) el FR se mantuvo constante, ya que el contenido de ST experimentó poca variación, permaneciendo cercano al 10% (Figura 14). Finalmente, en R4 (Figura 13d) un aumento en 4 puntos porcentuales en el contenido de material lignocelulósico provocó una reducción del 30% en el valor de FR.

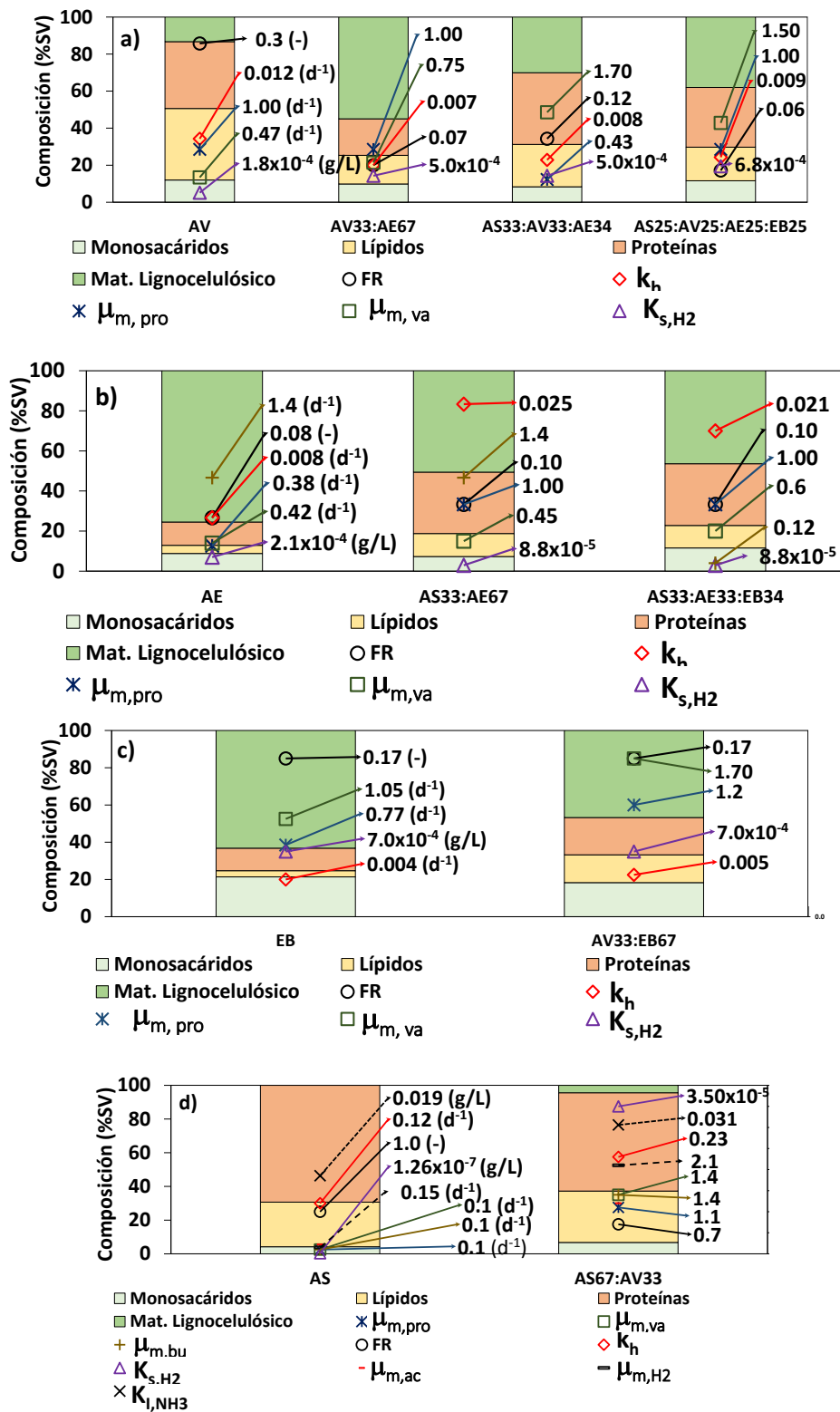
Al comparar los valores de FR entre los cuatro digestores, se observa que el contenido de material lignocelulósico por sí solo no explica los cambios en dicho valor. Por ejemplo, la DA de EB y las CoDA's AS33:AE67, AV33:EB67 y AS33:AE33:EB34 tienen un mayor contenido de material lignocelulósico (63.2%SV, 50.6%SV, 46.7%SV y 46.4%SV, respectivamente) en comparación con la CoDA AS25:AV25:AE25:EB25 (38.0%SV). No obstante, las primeras mezclas presentan un valor de FR casi dos veces superior al de la segunda mezcla. La diferencia mencionada podría estar relacionada con el contenido de lípidos, que es considerablemente mayor en la mezcla AS25:AV25:AE25:EB25 (18%SV) en comparación con las otras mezclas (EB, AS33:AE67, AV33:EB67 y AS33:AE33:EB34). Estudios previos sobre la DA de aguas residuales de plantas de beneficio animal en lagunas anaeróbicas, han demostrado que parte de las partículas de lípidos se aglomeran con el material lignocelulósico presente en el contenido estomacal, formando costras que se acumulan en la superficie del líquido (Harris y McCabe, 2015).

#### **Análisis de la etapa hidrolítica**

La hidrólisis de los sustratos evaluados tendió a disminuir con el aumento del contenido de material lignocelulósico. Durante la primera etapa de R1 (Figura 13a), la DA de las AV presentó un valor de  $k_h$  de  $0.012 \text{ d}^{-1}$ , con un contenido de material lignocelulósico del 13.3 %SV. En las etapas siguientes, la adición de AE y EB incrementó el contenido de material lignocelulósico a valores que oscilaron entre 30.0 %SV y 55.0 %SV, mientras que  $k_h$  disminuyó entre un 29% y un 42%.

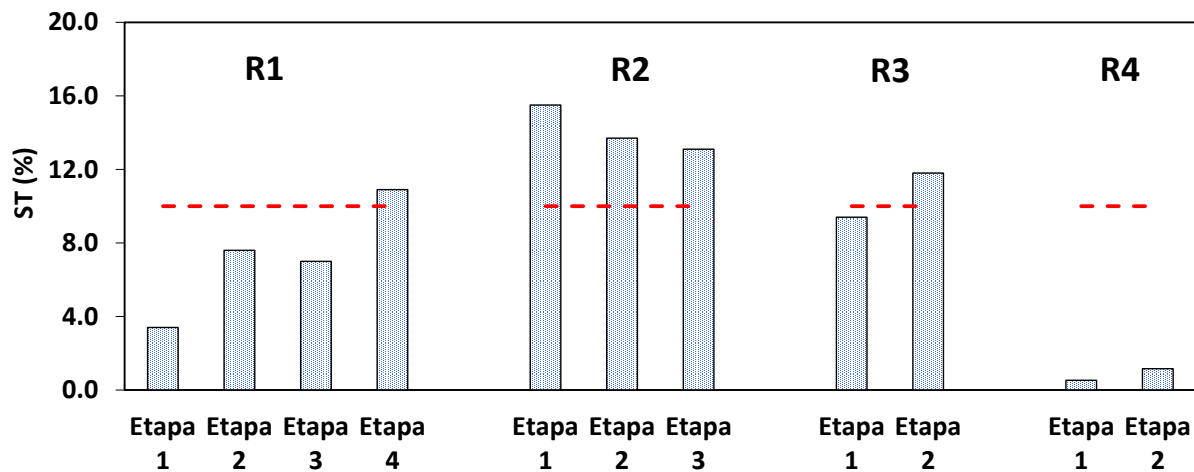
Figura 13

Variación de los parámetros del ADMI en los digestores a) R1, b) R2, c) R3 y d) R4



**Figura 14**

*Concentración de sólidos totales (ST) simulada en de los digestores*



En el caso de R2 (Figura 13b), las AE mostraron el mayor contenido de material lignocelulósico (75.5 %SV), el cual disminuyó entre 25 y 29 puntos porcentuales al añadir AS y EB. Al mismo tiempo, el valor de  $k_h$  aumentó de  $0.008 \text{ d}^{-1}$  a  $0.025 \text{ d}^{-1}$  y  $0.021 \text{ d}^{-1}$  en las etapas 2 y 3, respectivamente. De manera similar, en R3 (Figura 13c), el contenido de material lignocelulósico se redujo del 63.2%SV al 46.7% entre las etapas 1 y 2, lo que resultó en un aumento del 13% en el valor de  $k_h$ . Sin embargo, en R4 (Figura 13d), la CoDA AS67:AV33 presentó un  $k_h$  casi el doble en comparación con la DA de las AS, debido a que la mezcla permite contrarrestar el efecto inhibitorio del  $\text{NH}_3$ . Este resultado concuerda con los hallazgos de los ensayos de PBM del capítulo 1 y con los reportados por Astals *et al.* (2014) para la CoDA de sangre y grasa. Según Xu *et al.* (2023), la presencia de lípidos en proporciones menores al 50% propician el crecimiento de bacterias hidrolíticas, favoreciendo la degradación de proteínas.

Además del efecto del material lignocelulósico sobre el  $k_h$ , también se observó una influencia del contenido de proteínas en las tasas de hidrólisis de las CoDA's. Las mezclas AS33:AE33:EB34 y AV33:EB67 presentan contenidos de material lignocelulósico iguales (46% SV). Sin embargo, la primera mezcla posee mayor proporción de proteínas (31%SV) que la

segunda (20% SV), demostrando una hidrólisis 5 veces superior. Así mismo, las mezclas AS33:AE67 y AS33:AE33:EB34 contienen proporciones de proteínas iguales (31% SV) y constantes hidrolíticas similares:  $0.025 \text{ d}^{-1}$  y  $0.021 \text{ d}^{-1}$ , respectivamente; a pesar de que la primera posee una mayor proporción de material lignocelulósico (51% SV) en comparación con la segunda. De igual manera, las mayores tasas de hidrólisis se presentan en el digestor R4, dado que la mono DA de las AS y la CoDA AS67:AV33 exhiben las mayores proporciones de proteínas: 69%SV y 58% SV, respectivamente. Las proteínas contenidas en las AS provienen principalmente de los residuos de sangre, por lo cual se encuentran en forma solubilizada. Wang *et al.* (2018) evidenciaron en su estudio sobre DA de sangre de pollo que este sustrato se hidroliza completamente entre 5 y 6 días de TRH. Bauer (2011) determinó mediante pruebas de PBM una  $k_h$  de  $0.29 \text{ d}^{-1}$  para aguas residuales sanguinolentas de beneficio animal, la cual es del mismo orden de magnitud que las halladas en el digestor R4 ( $0.12\text{--}0.23 \text{ d}^{-1}$ ).

#### **Análisis de la etapa acetogénica**

En general, el valor de  $\mu_{m, bu}$  permaneció constante, con excepción de la DA de AS y la CoDA AS33:AE33:EB34. La reducción en el valor de  $\mu_{m, bu}$  se asoció con un aumento en la concentración de ácido butírico, debido a la interacción entre el material lignocelulósico (AE y EB) y las proteínas (AS), tal como se observó previamente en la CoDA de sangre de pollo y residuos de maíz (Cuetos *et al.*, 2013). Con respecto a la degradación del ácido propiónico, la CoDA AS33:AV33:AE34 y las mono DA's de AE, EB y AS presentaron valores de  $\mu_{m, pro} < 1.00 \text{ d}^{-1}$ . La acumulación de ácido propiónico está relacionada con la inhibición de los microorganismos metanogénicos (Wang *et al.*, 2009; Banks *et al.*, 2012). Por lo tanto, aunque experimentalmente las concentraciones de ácido propiónico no superaron los 120 mg/L debido a las bajas CO evaluadas, se puede inferir que la CoDA mejora la tasa de conversión de este ácido,

lo que podría ser una ventaja al aumentar la carga. En cuanto a la degradación del ácido valérico, se evidenció un efecto de a CoDA sobre el valor de  $\mu_{m,va}$ . En el digestor R1 (Figura 13a),  $\mu_{m,va}$  aumentó de  $0.47 \text{ d}^{-1}$  en la etapa 1 a un valor entre  $0.75$  y  $1.70 \text{ d}^{-1}$  en las etapas posteriores. De manera similar, durante la primera etapa de R2 (Figura 13b),  $\mu_{m,va}$  tomó un valor de  $0.42 \text{ d}^{-1}$ , incrementándose levemente a  $0.45 \text{ d}^{-1}$  en la segunda etapa y a  $0.60 \text{ d}^{-1}$  en la tercera. Así mismo,  $\mu_{m,va}$  alcanzó valores de  $1.05 \text{ d}^{-1}$  a  $1.70 \text{ d}^{-1}$  en la primera y segunda etapa de R3 (Figura 13c), respectivamente. Con respecto a R4 (Figura 13d),  $\mu_{m,va}$  aumentó de  $0.10 \text{ d}^{-1}$  a  $1.40 \text{ d}^{-1}$  al pasar de la primera a la segunda etapa.

La descomposición de los ácidos propiónico, butírico y valérico en acetato e  $\text{H}_2$  implica un proceso de oxidación en varios pasos, catalizado por microorganismos sintrofos, el cual es endergónico y termodinámicamente desfavorable en condiciones estándar (Zhang *et al.*, 2023). Los valores de la energía libre de Gibbs estándar ( $\Delta G^\circ$ ) para la conversión de los ácidos propiónico, butírico y valérico son  $+76.1$ ,  $+48.1$  y  $+48.1 \text{ kJ/mol}$ , respectivamente (Mcinerney y Bryant, 1981). Por lo cual, las tasa de acetogénesis de ácido propiónico son relativamente inferiores a aquellas del ácido butírico y valérico (Yang *et al.*, 2015). Para superar la desfavorabilidad termodinámica, el acetato y el  $\text{H}_2$  recién formados deben ser eliminados para mantener el gradiente de concentración que favorece el proceso de oxidación de los AGV's (Elsamadony *et al.*, 2021). Según autores como Li *et al.* (2020) y Wu *et al.* (2024), la eliminación de acetato e  $\text{H}_2$  se logra a través de las rutas de las metanogénesis acetoclástica e hidrogenotrófica y la oxidación sintrófica de acetato.

Lo expuesto anteriormente respalda un comportamiento adecuado de la etapa acetogénica en la mayoría de las mono DA's y CoDA's de las aguas residuales de PBB, realizadas en el presente trabajo. Sin embargo, durante la DA de las AS, se observó experimentalmente una

acumulación de  $\text{NH}_3$  por encima de los valores de  $K_{I,\text{NH}_3}$ , lo cual provocó un aumento en la concentración de AGV's y la caída de la PEB. Como resultado, los valores óptimos del ADM1 para las tasas máximas de metanogénesis ( $\mu_{m,\text{ac}}$  y  $\mu_{m,\text{H}_2}$ ) se redujeron drásticamente, lo que llevó a la acumulación de acetato e  $\text{H}_2$ , afectando también las tasas máximas de la etapa acetogénica.

### **Análisis de la etapa metanogénica**

El valor de  $K_{s,\text{H}_2}$  varió en función de los ST contenidos en cada digestor (Figura 14). En R1,  $K_{s,\text{H}_2}$  aumentó de  $1.80 \times 10^{-4}$  g/L (etapa 1) a  $5.00 \times 10^{-4}$  g/L (etapas 2 y 3) y  $6.80 \times 10^{-4}$  g/L (etapa 4), mientras los ST del digestor incrementaron del 3.4% al 7.3% y 10.9%, respectivamente. En R2,  $K_{s,\text{H}_2}$  se redujo de  $2.10 \times 10^{-4}$  g/L (etapa 1) a  $8.80 \times 10^{-5}$  g/L (etapas 2 y 3), cuando los ST disminuyeron del 15.5% al 13.4%. Así mismos, en R4 los ST aumentaron de 0.53% a 1.16%, lo que ocasionó un incremento de  $K_{s,\text{H}_2}$  de  $1.26 \times 10^{-7}$  g/L (etapa 1) a  $3.50 \times 10^{-5}$  g/L (etapa 2). Por otro lado, en R3, el valor de  $K_{s,\text{H}_2}$  permaneció constante debido a que los ST se mantuvieron cercanos al 10% (Figura 14). Este comportamiento está relacionado con limitaciones en la transferencia de masa, debido a la retención de material particulado y la falta de agitación en los digestores tubulares. Liu *et al.* (2024) evaluaron el efecto de la reología de los lodos en la biocinética de la DA, mediante ADM1. El aumento en la concentración de ST modificó las propiedades reológicas del lodo, elevando su viscosidad y viscoelasticidad, lo que a su vez incrementó la resistencia a la transferencia de masa. Lo anterior se reflejó directamente en los valores de  $K_s$ . Bareha *et al.* (2019) aplicaron el modelo ADM1 a un proceso de DA en batch, hallando valores elevados de  $K_s$ . Los autores atribuyen el anterior fenómeno a que la ausencia de agitación dificulta la captación del sustrato por parte de los microorganismos. Los valores de  $K_{s,\text{H}_2}$  presentados en R2 fueron considerablemente más bajos en comparación con los de R1 y R3, a pesar de que R2 contuvo mayores concentraciones de ST (Figura 14). Este comportamiento podría

estar relacionado con la capacidad de las fibras vegetales, como las presentes en el contenido ruminal alimentado en mayor proporción en R2 (entre 46 %SV y 76%SV), para actuar como portadores naturales de biopelículas (Lago *et al.* , 2024), lo cual favorece la captación de H<sub>2</sub> por parte de los microorganismos hidrogenotróficos.

En cuanto al coeficiente de inhibición  $K_{I,NH_3}$ , la CoDA de AV y AS en la segunda etapa de R4 (AS67:AV33) experimentó un aumento, pasando de 0.019 g/L a 0.031 g/L, lo que representa un incremento del 63%. Lo anterior se podría atribuir a la adaptación del inóculo a las concentraciones de NH<sub>3</sub> después de casi 180 días de operación y/o un efecto sinérgico entre los cosustratos. Jo *et al.* (2022) evaluaron la adaptación de un lodo proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales bajo concentraciones de NAT de 0.8 y 2.6 g/L. Después de 230 días de operación bajo la mayor concentración de NAT (2.6 g/L) el valor de  $K_{I,NH_3}$  se incrementó un 52%. Esta adaptación del inóculo se debe a cambios en la dinámica microbiana (Tian *et al.* , 2018). Por su parte, Zhou *et al.* (2024) investigaron los efectos sinérgicos de la CoDA de carbohidratos y proteínas, utilizando como componentes modelo celulosa y lactosuero, respectivamente. La adición de carbohidratos a altas concentraciones de proteínas redujo el pH durante la CoDA. Adicionalmente, los AGV's producidos por los carbohidratos transformaron el NH<sub>3</sub> a NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, reduciendo su toxicidad. Lo anterior coincide con los resultados de la presente simulación, donde el pH se redujo un 16% mientras la relación NH<sub>3</sub>/NAT cayó del 52% al 3% al adicionar AV (celulosa y hemicelulosa) a las AS (proteínas). Esta reducción de la toxicidad de NH<sub>3</sub> también ocasiona un aumento en la tasa de metanogénesis ( $\mu_{m,ac}$  y  $\mu_{m,H_2}$ ) con la CoDA AS67:AV33.

#### 2.4.5. *Análisis estadístico*

Se realizaron regresiones lineales múltiples para correlacionar los parámetros óptimos del modelo ADM1 validado con la composición de las mezclas. En la tabla 17 se presentan las correlaciones con una relación estadística significativa en un nivel de confianza del 95% ( $p < 0.05$ ). Donde  $x$  representa la fracción de SV de lípidos, proteínas y material lignocelulósico del sustrato, y la fracción de ST en el digestor.

Las correlaciones son consistentes con el análisis previo. Se observó una relación negativa entre el FR y el material particulado, tanto en forma de lípidos como de material lignocelulósico. El efecto del contenido de proteínas no resultó significativo, dado que la mayor parte de estas se encuentra solubilizada en forma de sangre. Asimismo, el contenido de ST en el digestor mostró una correlación positiva con el material lignocelulósico y la CO, debido a que estos favorecen una mayor retención de material particulado en el digestor (Arias *et al.*, 2021). De igual manera, se detectó un efecto significativo del contenido de proteínas sobre el valor de  $k_h$ . Como se mencionó previamente, la sangre presenta una tasa de hidrólisis considerablemente alta en comparación con otros residuos del beneficio animal (Bauer, 2011; Wang *et al.*, 2018). Para determinar la correlación entre los ST y el valor de  $K_{S,H_2}$ , se omitieron los datos del digestor R2. Como se mencionó anteriormente, el contenido de fibras vegetales en este digestor podría favorecer el crecimiento de biopelículas, lo que a su vez facilitaría la captación de  $H_2$  por parte de los microorganismos, a pesar del alto contenido de ST (Lago *et al.*, 2024). En este sentido, se encontró una relación positiva entre el contenido de material lignocelulósico y el valor de  $K_{S,H_2}$ , lo cual respalda lo observado en las simulaciones, debido a las limitaciones en la transferencia de masa (Bareha *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2024).

**Tabla 17**

*Análisis estadístico de relación entre los parámetros del modelo ADMI y la composición lípidos ( $x_{Lip}$ ), proteínas ( $x_{Pro}$ ) y material lignocelulósico ( $x_{Lign}$ ) y el contenido de sólidos totales ( $x_{ST}$ ) con un nivel de confianza del 95%*

Regresión	Observaciones
$FR = 1.49 - 2.50 * x_{Lip} - 2.02 * x_{Lign}$	El contenido de lípidos y material lignocelulósico afecto negativamente el valor de FR. El contenido de proteínas no presentó un efecto significativo sobre la retención de sólidos.
$x_{ST} = 5.37x10^{-3} + 1.22x10^{-1} * x_{Lign} + 2.81x10^{-2} * CO$	El contenido de ST en el digestor aumentó significativamente con el contenido de material lignocelulósico y la carga orgánica.
$k_h = -0.06 + 0.30 * x_{Pro}$	La tasa de hidrólisis aumentó significativamente con el contenido de proteínas. Sin embargo, el contenido de material lignocelulósico no afectó significativamente.
$K_{S,H2} = -2.54x10^{-5} + 6.76x10^{-3} * x_{ST}$	El valor de $K_{S,H2}$ incrementó significativamente con el contenido de ST.

## 2.5. Conclusiones

La CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB en digestores tubulares mejora el desempeño del proceso de degradación anaerobia de estos efluentes. El tratamiento de las corrientes de AV, AE y EB en digestores tubulares presentaron PEB de 0.179, 0.102 y 0.119 m<sup>3</sup>/kg SV, con concentraciones de CH<sub>4</sub> de 69.0%, 62.8% y 62.9%, respectivamente. Estos valores se encuentran en el rango reportado por estudios anteriores: 0.140 – 0.210 m<sup>3</sup>/kg SV y 49.9%-57.7%, respectivamente (Castro *et al.*, 2017; Martí-Herrero *et al.*, 2018). Sin embargo, la DA de AS exhibió concentraciones de NH<sub>3</sub> de 23.93 mg/L, superando el umbral de inhibición experimental del inóculo ( $K_{I,NH_3} = 18.53$  mg/L). Por el contrario, durante los procesos de CoDA, las concentraciones de NH<sub>3</sub> estuvieron por debajo de  $K_{I,NH_3}$  (3.63 – 18.24 mg/L), lo que permitió operaciones estables con PEB entre 0.140 y 0.442 m<sup>3</sup>/kg SV y sinergias, con respecto al rendimiento de CH<sub>4</sub>, entre 2% y 279%. Las mayores sinergias se detectaron en las mezclas multicomponentes, principalmente en aquellas donde las AS estuvieron presentes. En general, las CoDA's presentaron mayores valores de remoción de DQO y fósforo (56%-76% y 73%-86%, respectivamente) que las mono DA's (29% - 66% y 66% - 75%, respectivamente).

El modelo ADM1, adaptado mediante una configuración de digestores CSTR en serie con retención de material particulado, permite describir adecuadamente el desempeño de la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB en digestores tubulares. Según los resultados del modelo, los parámetros bioquímicos que gobiernan la CoDA de efluentes de PBB son la retención del material particulado (FR), la constante de hidrólisis ( $k_h$ ), la tasa máxima de crecimiento de los acetógenos degradadores de ácido propiónico ( $\mu_{m,pro}$ ) y las tasas de metanogénesis acetoclástica ( $\mu_{m,ac}$ ) e hidrogenotrófica ( $\mu_{m,H_2}$  y  $K_{s,H_2}$ ). El ADM1 calibrado y validado predijo con una alta precisión (error < 15%) la PEB, la fracción de CH<sub>4</sub>, el pH y las concentraciones de SV y NAT del digerido,

en todas las condiciones de CoDA. Sin embargo, el ADM1 no logró describir correctamente el comportamiento inhibido observado en la DA de las AS. Respecto a la concentración de AGV's y  $\text{NH}_3$ , las desviaciones entre los resultados del modelo y los experimentales superaron el 30%. A pesar de lo anterior, las predicciones del modelo resultan útiles para identificar cualitativamente posibles inestabilidades en el proceso de CoDA.

La composición de las mezclas evaluadas afectó significativamente los parámetros bioquímicos del proceso de CoDA. El aumento en el contenido de lípidos y material lignocelulósico redujo el parámetro FR, aumentando la retención de material particulado en el digestor. La tasa de hidrólisis ( $k_h$ ) disminuyó por la presencia de material lignocelulósico, mientras que su incremento estuvo asociado a una mayor concentración de proteínas. La constante de semisaturación  $K_{S,H_2}$  disminuyó con la concentración de ST en el digestor, la cual, a su vez, mostró correlación con el contenido de material lignocelulósico y la carga orgánica alimentada. Las tasas de acetogénesis del ácido propiónico ( $\mu_{m,pro}$ ) y del ácido valérico ( $\mu_{m,va}$ ) mostraron una aparente mejora durante las CoDA's en comparación con las mono DA's; sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. La recuperación de la inhibición de las AS tras la adición de AV se reflejó en un aumento en la constante de inhibición  $K_{I,NH_3}$  y la tasa de metanogénesis ( $\mu_{m,ac}$  y  $\mu_{m,H_2}$ ), posiblemente como resultado de la adaptación del inóculo.

## 2.6. Productos de la Investigación

Como productos de la presente investigación se cuenta a la fecha con un artículo publicado:

- Sánchez, Z., Martí-Herrero, J., Escalante, H., & Castro, L. (2023). Integration of mesophilic biogas plant in the animal slaughter process under real limitations: Techno-economic evaluation of a colombian bovine slaughterhouse. *Waste Management*, 160, 112-122.

### **3. Producción de Ácidos Grasos Volátiles (AGV's): Alternativa de Valorización de Aguas Residuales del Beneficio Bovino**

#### **3.1. Resumen**

La producción de ácidos grasos volátiles (AGV's) mediante procesos biológicos, como la fermentación acidogénica (FA), representa una alternativa sostenible a los métodos petroquímicos convencionales. A través de la FA, la materia orgánica (DQO) presente en diversos sustratos puede ser transformada en AGV's, los cuales pueden aprovecharse en la fabricación de polímeros, fertilizantes y biocombustibles, así como en aplicaciones relacionadas con el tratamiento de aguas residuales. Estudios anteriores, aunque escasos, resaltan los residuos del beneficio animal como sustratos con alto potencial para la producción de AGV's. En este sentido, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la producción de AGV's a partir de la FA de aguas residuales de una planta de beneficio bovino (PBB). Debido a su contenido de lípidos y proteínas (38.6 % SV y 36.1 % SV, respectivamente), se seleccionaron las aguas de lavado de vísceras (AV) de PBB como sustrato. Estas aguas fueron sometidas a un proceso de separación para extraer la fracción sólida, la cual fue posteriormente homogeneizada y utilizada como alimentación en un proceso de FA en modo semicontinuo. Durante las pruebas de FA se evaluó el desempeño de dos tipos de inóculo: lodo de estiércol bovino (LEB) y líquido ruminal (LR), así como el efecto del tiempo de retención hidráulica (TRH: 20, 15, 10, 5 y 2 d). Adicionalmente, se realizaron ensayos adicionales para evaluar el efecto del ajuste del pH a condiciones alcalinas (pH = 8.0). La FA inoculada con LR exhibió una mayor capacidad fermentativa, logrando concentraciones de AGV's (entre 4062.60 y 7852.02 mg mg/L) significativamente mayores a las del inóculo LEB (2513.20 a 7818.68 mg/L). Asimismo, las mayores concentraciones de AGV's se lograron con TRH en un rango de 5 a 15 d. Los ácidos de mayor concentración correspondieron al acético y al propiónico. No obstante, a TRH

de 20 y 15 d las condiciones de pH (<7.0) en los digestores inoculados con LEB favorecieron la producción de ácido propiónico sobre el acético. Por su parte, el ácido predominante durante la FA inoculada con LR fue el acético, debido a las condiciones de pH neutro. Por su parte, el ajuste del pH a condiciones alcalinas redujo significativamente la producción de AGVs durante la FA inoculada con LR.

### 3.2. Introducción

En la industria química los ácidos grasos volátiles (AGV's) son fundamentales en la producción de alimentos, fármacos, plásticos y tratamiento de aguas residuales (Agnihotri *et al.* , 2022). Los AGV's son producidos tradicionalmente a partir de derivados del petróleo, lo que implica una contribución significativa en la emisión de gases de efecto invernadero. Por ejemplo, la producción de ácido acético emite 3.3 t CO<sub>2eq</sub>/t de producto (Atasoy *et al.* , 2018). Sin embargo, los AGV's también pueden ser producidos a partir de fuentes renovables. En este contexto, se ha observado una tendencia creciente, en las últimas cuatro décadas (145 publicaciones/año), en las investigaciones sobre la producción de AGVs mediante el proceso de digestión anaeróbica (DA) (Pandey *et al.* , 2022).

La producción anaeróbica de AGV's se realiza a través de una secuencia de reacciones bioquímicas llevadas a cabo por microorganismos acidogénicos y acetogénicos, en un proceso conocido como fermentación acidogénica (FA). Las bacterias acidogénicas fermentan los monómeros generados durante la hidrólisis, produciendo acetato, propionato, butirato, alcoholes, hidrógeno (H<sub>2</sub>) y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Jiang *et al.* , 2013). En la etapa siguiente, el propionato, butirato, los alcoholes y el CO<sub>2</sub> son transformados en acetato mediante rutas acetogénicas reductoras de protones o vías homoacetogénicas (Choudhari *et al.* , 2015). Los AGV's obtenidos a través del proceso de FA pueden transformarse químicamente en ésteres o

polimerizarse para producir polímeros como el acetato de polivinilo o el propionato de acetato de celulosa. Así mismo, los AGV's pueden utilizarse en: a) la fabricación de fertilizantes o biopolímeros, como los polihidroxicanoatos (PHA), b) la producción de biocombustibles y c) la eliminación biológica de nitrógeno y fósforo durante el tratamiento de aguas residuales (Varghese *et al.* , 2022).

Estudios previos han reportado eficiencias de conversión de la demanda química de oxígeno soluble (DQOs) a AGV's que varían según el tipo de residuo. Para residuos ricos en azúcares, se han observado eficiencias entre el 54% (Jankea *et al.* , 2016) y el 61% (Greses *et al.* , 2021). Para el caso de residuos grasos, la conversión de DQOs a AGV's fluctúa entre el 36% (Scoma *et al.* , 2013) y el 77% (Law *et al.* , 2023); mientras que, para residuos lignocelulósicos, se han reportado conversiones entre el 70% y el 78% (Jankowska *et al.* , 2017). Por su parte, la FA de residuos ricos en proteínas ha mostrado rendimientos de producción de AGV's que oscilan entre 0.24 y 0.67 g de AGV's/g proteína (Yu *et al.* , 2018). Los rendimientos en la producción de AGV's a partir de FA depende de la temperatura, el pH y el tiempo de retención hidráulica (TRH). Gran parte de estudios previos indican que un rango de temperatura mesófila (35-37 °C) favorece la tasa de acidificación de los sustratos (Garcia-Aguirre *et al.* , 2017; Liu *et al.* , 2018; Fernández-Domínguez *et al.* , 2020). Así mismo algunos estudios coinciden en que los mayores rendimientos de AGV's se consiguen en un rango de pH de neutro (Hussain *et al.* , 2017; Gong *et al.* , 2021) a alcalino (Jankowska *et al.* , 2015; Liu *et al.* , 2018) Con respecto al TRH, este varía ampliamente según el tipo de sustrato y digestor empleado. El TRH puede ir desde periodos tan cortos como 8 h para la acidificación de aguas residuales en un biorreactor de membrana (Khan *et al.* , 2019), hasta 20 d para la FA de residuos agroindustriales (pepino, tomate, berenjena y melón) en un digestor CSTR (Gonçalves *et al.* , 2024).

A pesar del creciente interés en la investigación sobre la producción de AGV's, los estudios enfocados en los residuos de plantas de beneficio animal son limitados. No obstante, las investigaciones realizadas hasta la fecha sobre la FA de estos residuos los señalan como sustratos prometedores. Pessiot *et al.* (2012) evaluaron la producción de AGV's a partir de residuos de origen cárnico (mezcla de carne, vísceras, sangre y contenido ruminal), utilizando un consorcio microbiano modificado (sin arqueas metanogénicas) en un proceso fed-batch con agitación a 38 °C. Después de 1300 h de operación se obtuvieron 0.38 g de AGV's/g sólidos totales. García-Aguirre *et al.* (2017) estudiaron la tasa de acidificación de aguas residuales de beneficio animal en un proceso FA en operación batch a diferentes valores de pH y temperatura; identificando la tasa de acidificación del 75% a un pH de 10 y una temperatura de 55 °C. Plácido y Zhang (2018) investigaron el efecto de la aclimatación del inóculo y el pretratamiento de sangre animal (hidrólisis enzimática) sobre la producción de AGV's en un proceso FA en operación batch. Los resultados indicaron que tanto la aclimatación del inóculo como el pretratamiento enzimático favorecen la producción de AGV (100 g/L), en comparación con el proceso sin aclimatación del inóculo ni pretratamiento (70 – 80 g/L). Morais *et al.* (2021) reportaron un rendimiento de AGV's de 0.76 g DQO/g DQO alimentado durante la FA de aguas residuales de una planta de beneficio animal en un proceso batch a 35 °C, utilizando cloroformo como inhibidor de la etapa metanogénica. Acedos *et al.* (2022) evaluaron la producción de polihidroxialcanoatos de cadena media (mcl-PHA) a partir de residuos grasos de plantas de beneficio de cerdos, utilizando diferentes cepas de *Pseudomonas* (*P. resinovorans*, *P. putida GPo1*, *P. putida KT2440*) y varios pretratamientos (autoclave, pretratamiento térmico y saponificación). Los resultados mostraron que el mayor crecimiento y la mayor producción de mcl-PHA se alcanzaron con *P. resinovorans*. El escalado del proceso a volúmenes de 5 y 15 L permitió obtener concentraciones de peso seco

celular entre 5.9 y 12.8 g/L, con un contenido de mcl-PHA de 33-62% en peso y un rendimiento de PHA de 0.1 a 0.4 g PHA/g AGVs.

A partir de los estudios arriba mencionados, se puede deducir que residuos de plantas de beneficio bovino (PBB) con elevadas concentraciones de lípidos y proteínas son aptos para la producción de AGV's a partir de FA. Así las cosas, las aguas de lavado de vísceras (AV) de PBB cuya concentración de lípidos y proteínas es de 38.6% SV y 36.1% SV, respectivamente, constituyen un sustrato potencial para la obtención de AGV's.

Por lo anteriormente discutido, el objetivo del presente capítulo fue evaluar la producción de AGV's mediante la FA de AV provenientes de PBB. El proceso se estudió utilizando dos inóculos: *i)* uno procedente del líquido ruminal, extraído de las panzas de los bovinos durante su beneficio y *ii)* lodo digerido, tomado de un digestor alimentado con estiércol bovino. Estos inóculos se seleccionaron por su disponibilidad en la PBB y su capacidad de hidrolizar sustratos complejos; dado que las AV contienen material lignocelulósico y partículas de carne y grasa. El proceso de FA de estas aguas residuales se realizó en un digestor semicontinuo donde se evaluó el efecto del TRH y el pH. El presente estudio aporta nuevos conocimientos al investigar la valorización de un residuo de poco explorado mediante FA, utilizando dos tipos diferentes de inóculos que no habían sido utilizados previamente en residuos provenientes del beneficio animal. Este enfoque podría considerarse para una futura implementación a escala real en una planta de beneficio bovino.

### **3.3. Materiales y métodos**

La presente investigación se realizó en tres etapas: *i)* recolección y preparación del sustrato y los inóculos, *ii)* evaluación de la FA del sustrato en digestores semicontinuos a escala de laboratorio y *iii)* estudio del efecto del pH sobre la producción de AGV's. Dada la baja

concentración de sólidos volátiles (SV) de las AV, la presente investigación se realizó a partir de su fracción sólida. Esta se obtuvo al dejar decantar las muestras de AV por más de 24 horas. El líquido ruminal fue recolectado directamente de las panzas de los animales sacrificados y fue almacenado en refrigeración (-4 °C) hasta su posterior uso. El lodo de estiércol bovino fue tomado de un digester tubular rural. Posteriormente, se llevaron a cabo pruebas de FA de la fracción sólida de AV en un proceso semicontinuo a escala de laboratorio, con el objetivo de evaluar el desempeño de los inóculos y el efecto del tiempo de retención hidráulica (TRH) sobre la producción de AGV's. Finalmente, utilizando el inóculo de mejor desempeño y bajo las mejores condiciones de TRH, se estudió el efecto del pH (alcalino) sobre el rendimiento de la producción de AGV's.

### **3.3.1. *Sustrato e inóculos***

Las muestras de AV fueron recolectadas en la PBB Colbeef ubicada en el departamento de Santander-Colombia (Latitud 7°3'14.82" N y longitud 73°7' 55.82" W, temperatura promedio:28–30 °C). Debido a la baja concentración de sólidos volátiles (7.64 kg/m<sup>3</sup>) en las AV, las muestras fueron decantadas durante más de 24 horas para separar la fracción sólida (fondo). Esta fracción se homogenizó mediante la reducción de su tamaño de partícula en una trituradora de alimentos. Lo anterior dio como resultado una masa de textura pastosa y consistencia fluida, la cual fue congelada hasta su utilización en las pruebas de FA. Se tomaron como inóculos líquido ruminal (LR) y lodo de estiércol bovino (LEB). Los anteriores inóculos han demostrado ser aptos para la FA de residuos de comida (Han y Shin, 2002), glicerol (Dams *et al.* , 2018), ensilado de maíz (Cavinato *et al.* , 2017) y residuos de palma de aceite (Saritpongteeraka et al, 2014). El LR fue recolectado inmediatamente tras la apertura de las panzas de los bovinos sacrificados en la PBB Colbeef. Para evitar la contaminación y preservar condiciones anaerobias, el LR se almacenó de forma inmediata en contenedores plásticos sellados, fue transportado al laboratorio y refrigerado

a -4 °C. Con el fin de minimizar la pérdida de actividad microbiana, el tiempo de almacenamiento no superó los dos días. Antes de su uso en los digestores, el LR se filtró para eliminar el contenido ruminal en exceso. El LEB fue obtenido de un digestor tubular rural de 9.5 m<sup>3</sup>, alimentado con estiércol bovino, el cual opera a una temperatura promedio de 23 ± 5 °C (Latitud 7°01'0.07" N y longitud 73°08' 13.3" O). Las características fisicoquímicas y microbiológicas del sustrato y los inóculos se resumen en la Tabla 18.

**Tabla 18**

*Caracterización fisicoquímica de los cosustratos y el inóculo*

Parámetro	Unidad	Fracción		
		Sólida de las AV	LEB	LR
pH	---	6.75 ± 0.08	8.09±0.03	7.84±0.05
ST	kg/m <sup>3</sup>	32.29 ± 2.80	33.70±0.11	19.85±0.23
SV	kg/m <sup>3</sup>	31.34 ± 2.76	19.95±0.14	10.68±0.25
DQO Total	kg/m <sup>3</sup>	44.71 ± 1.60	13.63±1.22	8.45±0.89
DQO Soluble	kg/m <sup>3</sup>	13.07 ± 0.47	---	---
AGV's	kg CH <sub>3</sub> COOH/m <sup>3</sup>	0.88±0.07	1.42±0.12	1.80±0.20
AT	kg CaCO <sub>3</sub> /m <sup>3</sup>	1.38±0.18	2.57±0.10	6.30±0.05
AME	kg COD / kg SV d	---	0.035±0.005	0.002±0.001
AHE	kg COD / kg SV d	---	0.060±0.005	0.068±0.005
Lípidos	% SV	38.6	---	---
Proteínas	% SV	36.1	---	---
Carbohidratos	% SV	12.0	---	---
Celulosa	% SV	2.3	---	---
Hemicelulosa	% SV	6.4	---	---
Lignina	% SV	4.6	---	---

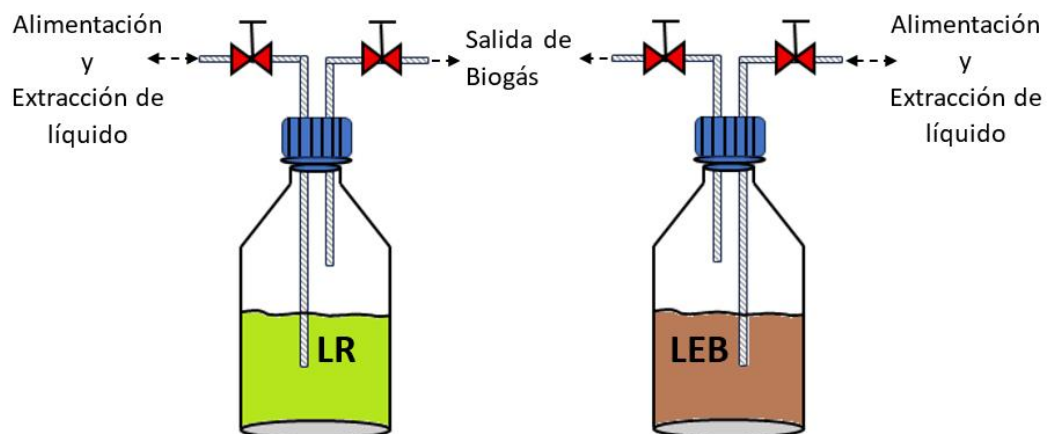
*Nota.* Los resultados se presentan como un promedio de tres mediciones (±95 % de intervalo de confianza). ST: sólidos totales; SV: sólidos volátiles; DQO: demanda química de oxígeno; AGV's: ácidos grasos volátiles; AT: alcalinidad tota; AME: actividad metanogénica específica; AHE: actividad hidrolítica específica.

### 3.3.2. Efecto del inóculo y el TRH sobre el proceso de FA

Se evaluó la producción de AGV's a partir de la fracción sólida de las AV mediante un proceso de FA operado en modo semicontinuo. Para esto se utilizaron digestores con volumen total de 500 ml y volumen de trabajo de 300 ml. Los ensayos de FA se realizaron por triplicado, por lo cual se utilizaron dos conjuntos de digestores: tres inoculados con LR y tres con LEB. Los digestores fueron adaptados con dos puertos, cada uno con su respectiva válvula: uno destinado a la salida del biogás y otro para la alimentación (extracción de líquido) (Figura 15).

**Figura 15**

*Esquema de los digestores utilizados para la FA de la fracción sólida de las AV*



*Nota.* LR: líquido ruminal; LEB: lodo de estiércol bovino.

Inicialmente los digestores fueron cargados con una mezcla inóculo-sustrato en una relación (RIS) de 1.5 (SV del inóculo/ SV del sustrato). Para garantizar las condiciones anaerobias, los digestores se purgaron con N<sub>2</sub> puro y se sellaron utilizando tapa con rosca y tapón de nitrilo. Posteriormente fueron incubados a 37 ± 2 °C. Durante los dos primeros días los digestores operaron en modo Batch para permitir una adaptación inicial de los inóculos. Finalizada la anterior etapa, los digestores fueron alimentados en operación semicontinua, durante la cual se midió diariamente el volumen de CH<sub>4</sub> producido mediante desplazamiento volumétrico de una solución

alcalina (NaOH 0.1 N). El volumen desplazado se ajustó a condiciones estándar de presión y temperatura (STP: 273 K y 1 atm) y se reportó en términos de producción específica de CH<sub>4</sub> (STP m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/ kg SV). Seguidamente, los digestores fueron alimentados, extrayendo previamente un volumen de líquido igual al volumen del sustrato añadido. Los digestores fueron operados en cinco etapas con tiempos de TRH de 20, 15, 10, 5 y 2 d, respectivamente. La duración de cada etapa fue de al menos dos TRH. Las muestras líquidas extraídas de cada digestor fueron analizadas para evaluar el pH, la concentración de AGV's y la alcalinidad total (AT). Adicionalmente, cada dos días se determinó la composición individual de los AGV's mediante cromatografía de gases (FID Agilent 7890a).

Con base en la producción final de los AGV's individuales de cada etapa del proceso de FA (último TRH de operación en cada caso), se evaluó el rendimiento de cada prueba mediante la bioconversión (Greses *et al.* , 2021) y la tasa de acidificación (Law *et al.* , 2023).

$$\text{Bioconversión (\%)} = \frac{DQO_{AGV's}}{DQO_{in}} \cdot 100 \quad (30)$$

$$\text{Tasa de acidificación (\%)} = \frac{DQO_{AGV's}}{DQO_{s,in}} \cdot 100 \quad (31)$$

Donde los términos DQO<sub>AGV's</sub>, DQO<sub>in</sub> y DQO<sub>s,in</sub> corresponden, respectivamente, a la concentración de materia orgánica de los AGV's y la concentración de materia orgánica total y soluble del sustrato, expresadas todas en términos de demanda química de oxígeno. La materia orgánica de los AGV's (g DQO/L) se determinó a partir de los factores de conversión presentados en la Tabla 19 (Morais *et al.* , 2020).

**Tabla 19**

*Factores de conversión para la DQO de los AGV's individuales (Morais et al., 2020)*

<b>Ácido</b>	<b>Factor de conversión</b>
Acético	1 g = 1.07 g DQO
Propiónico	1 g = 1.51 g DQO
Isobutírico	1 g = 1.82 g DQO
Butírico	1 g = 1.82 g DQO
Isovalérico	1 g = 2.04 g DQO
Valérico	1 g = 2.04 g DQO
Isocaproico	1 g = 2.21 g DQO
Caproico	1 g = 2.21 g DQO

### **3.3.3. Efecto del ajuste del pH sobre el proceso de FA**

Teniendo en cuenta el inóculo y los TRH que permitieron obtener el mayor rendimiento de AGV's, se evaluó el efecto del pH sobre el proceso de FA de la fracción sólida de las AV. Para esto, se instalaron tres digestores siguiendo el mismo procedimiento descrito en sesión 3.3.2. El pH de los digestores fue medido diariamente y ajustado a un valor de 8.00 mediante la adición de una solución de NaOH 0.5 N. Los digestores se operaron en proceso semicontinuo con alimentación diaria, garantizando los mejores TRH. El líquido extraído de los digestores fue analizado para obtener la concentración de los AGV's y la AT. Así mismo, semanalmente se estableció la composición individual de los AGV's.

### **3.3.4. Análisis estadístico**

Se utilizaron análisis de varianza (ANOVA) para facilitar el estudio de los datos y la detección de diferencias significativas entre los inóculos, los TRH y el ajuste del pH, con respecto

a la concentración de los AGV's producidos ( $p\text{-value} < 0.05$ ). Este análisis estadístico se realizó en STATGRAPHICS Centurion XVI (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE. UU.) y facilitó la toma de decisiones con respecto las mejores condiciones de inóculo, TRH y pH del proceso de FA de la fracción sólida de las AV.

### **3.3.5. Procedimientos analíticos**

Se determinaron sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), demanda química de oxígeno (DQO), pH, nitrógeno total Kjeldahl y lípidos (Soxhlet) conforme a los métodos estándar (APHA-AWWA-WEF, 2017). La alcalinidad total (AT) y los ácidos grasos volátiles totales (AGV's) se midieron según el método de Lahav y Morgan (2004). La AT se cuantificó mediante la titulación de la muestra con una solución de HCl 0.1 N hasta alcanzar un pH final de 3. Luego, la muestra se calentó suavemente durante 3 minutos para eliminar completamente el CO<sub>2</sub> disuelto. Posteriormente, se registró la cantidad de NaOH 0.1 N necesaria para elevar el pH de 3 a 6.5, con lo cual se calculó el contenido de AGV's. La celulosa, hemicelulosa y lignina se determinaron a partir de las fracciones de fibra: fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina. Los contenidos de hemicelulosa y celulosa se calcularon como las diferencias entre FDN y FDA, y entre FDA y lignina, respectivamente (Van Soest *et al.*, 1991). La composición de proteínas se calculó a partir de la relación de 6.25 g de proteína por g de nitrógeno orgánico. El nitrógeno orgánico se determinó por la diferencia entre el nitrógeno total Kjeldahl y el nitrógeno amoniacal (Passos *et al.*, 2017). Los carbohidratos no lignocelulósicos (por ejemplo, azúcares, almidón y pectinas) se obtuvieron por diferencia. La actividad metanogénica específica (AME) y el coeficiente de inhibición  $K_{150-NH_3}$  del inóculo se determinaron siguiendo el procedimiento de Astals *et al.* (2015). La composición de los AGV's individuales se realizó mediante cromatografía gaseosa con detector FID (equipo Agilent 7890a), utilizando una columna capilar marca SEG

Analytical Science (ref: BP21) (fase estacionaria de polietilenglicol tratado con ácido nitrotereftálico).

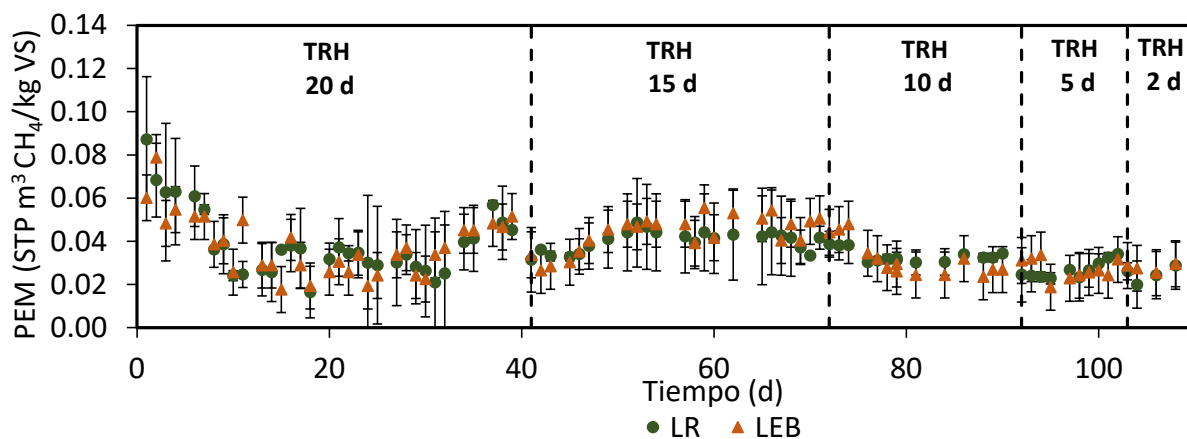
### 3.4. Resultados y discusión

#### 3.4.1. Producción de AGV's totales de la FA de la fracción sólida de las AV

En la Figura 16 se presenta el comportamiento de la producción específica de metano (PEM) en los digestores inoculados con LEB y LR.

**Figura 16**

*PEM durante la FA de la fracción sólida de las AV utilizando como inóculos el LR y el LEB a diferentes TRH*



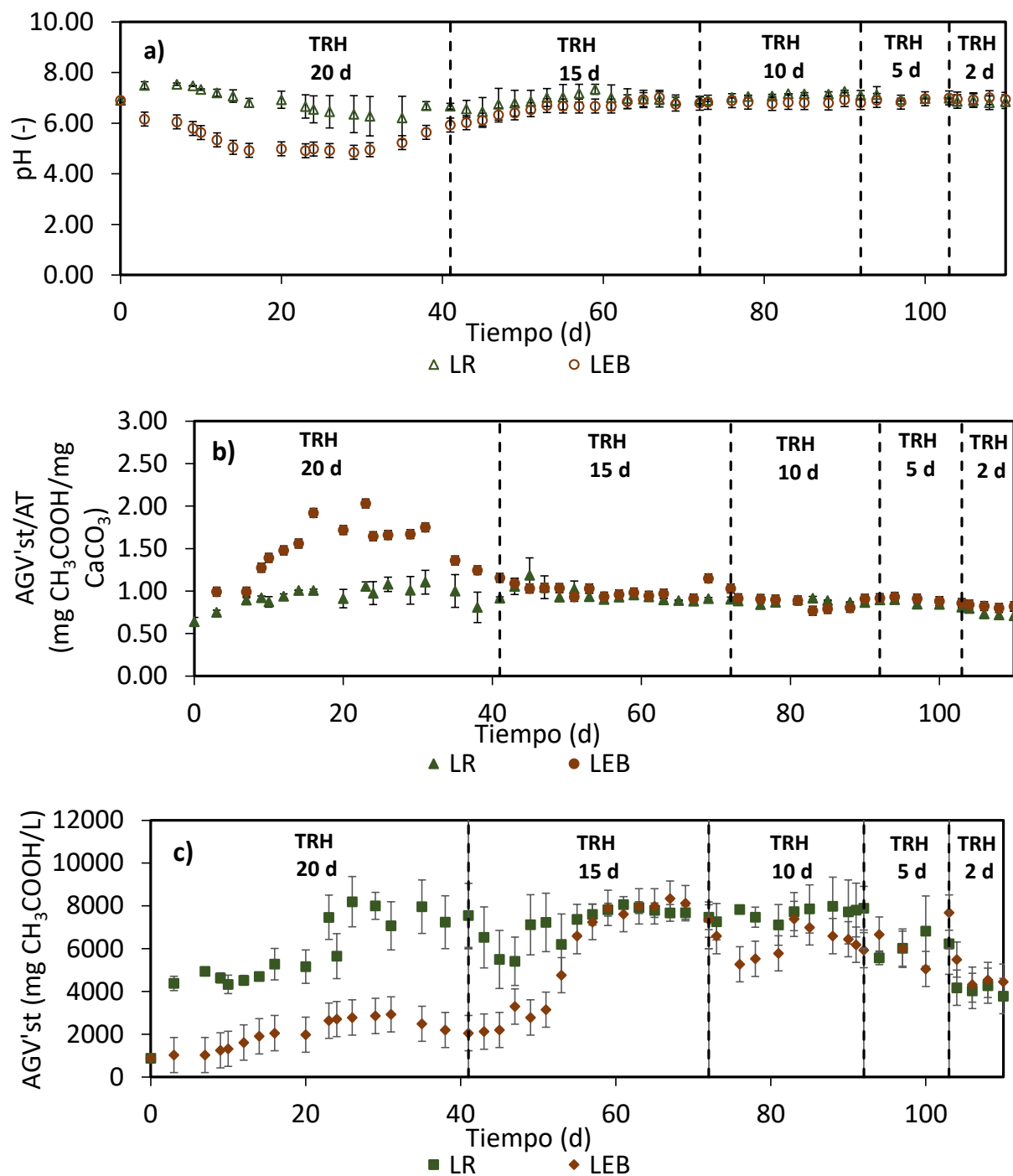
El proceso de FA de la fracción sólida de las AV presentó inicialmente una PEM de 0.060 y 0.087 m³/kg SV, al utilizar como inóculos LEB y LR, respectivamente, con un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 20 días. Durante los primeros 10 días, la PEM se redujo progresivamente hasta estabilizarse en un valor cercano a 0.031 m³/kg SV, el cual corresponde al 7% del potencial de CH₄ hallado durante las pruebas de PBM de las AV. Durante la experimentación, la PEM no presentó diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ) en función del TRH, para ninguno de los dos tipos de inóculos empleado. Reducciones similares en la

metanogénesis fueron reportadas por Zhao *et al.* (2015), quienes observaron caídas en la producción de CH<sub>4</sub> de entre 52% y 81% durante la DA de residuos de comida, al añadir un surfactante (glucósido de alquilo) con el fin de estimular la acumulación de AGV's. Por lo anterior, se evidencia de los resultados de PEM del presente estudio la inhibición de la metanogénesis durante el proceso de DA, lo que permitió alcanzar las condiciones adecuadas para el desarrollo de la FA de la fracción sólida de las AV. Así mismo, la conclusión anterior se refuerza con los resultados de pH, relación AGV'st/AT y concentración de AGV's totales (AGV'st) mostrados en la Figura 17.

El pH del proceso de FA disminuyó inicialmente (Figura 17a), alcanzando un valor de 4.93 a los 16 días cuando se utilizó LEB como inóculo, y de 6.42 a los 23 días con LR como inóculo, respectivamente. Posteriormente el pH incrementó estabilizándose en un valor cercano a la neutralidad después de 51 días de operación tanto en los digestores inoculados con LEB como con LR. La relación AGV'st/AT es un indicador de la capacidad buffer del proceso de DA. Valores AGV'st/AT inferiores a 0.4 sugieren una acumulación insignificante de AGV'st. Por el contrario, valores de AGV'st/AT entre 0.4 y 0.8 indican una acumulación moderada de AGV'st y valores superiores a 0.8 son un indicio de la acidificación del proceso (Callaghan *et al.* , 2002). Por consiguiente, la reducción del pH en los digestores inoculados con LEB y LR concuerda con un aumento en la relación AGV'st/AT (Figura 17b). No obstante, los valores máximos obtenidos de la relación AGV'st/AT fueron de 1.77 para LEB y 1.01 para LR, lo que sugiere que el segundo inóculo presenta una mayor capacidad buffer y menor reducción del pH. El LR posee altas concentraciones de bicarbonato y fosfato que actúan como tampones naturales, manteniendo el pH ruminal entre 5.5 y 6.8 (Counotte *et al.* , 1979).

Figura 17

Variación de a) el pH, b) la relación  $AGV'st/AT$  y c) la concentración  $AGV's$  totales en función del TRH y el tipo de inóculo durante la FA de la fracción sólida de las AV.



Finalizada la etapa de operación con TRH de 20 d, la relación de AGV'st/AT de los digestores inoculados con LEB iguala el valor de los digestores inoculados con LR ( $\approx 1.0$ ); lo cual coincide con el aumento del pH. Resultados similares se observaron durante la FA de residuos de carne (Pessiot *et al.*, 2012) y sangre (Plácido y Zhang, 2018), donde el pH se mantuvo en torno a 6.8. Los autores atribuyen este hecho al incremento en el nitrógeno amoniacal total ( $\text{NAT} = \text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ ) producido durante la degradación anaeróbica de las proteínas, el cual aporta capacidad buffer al medio.

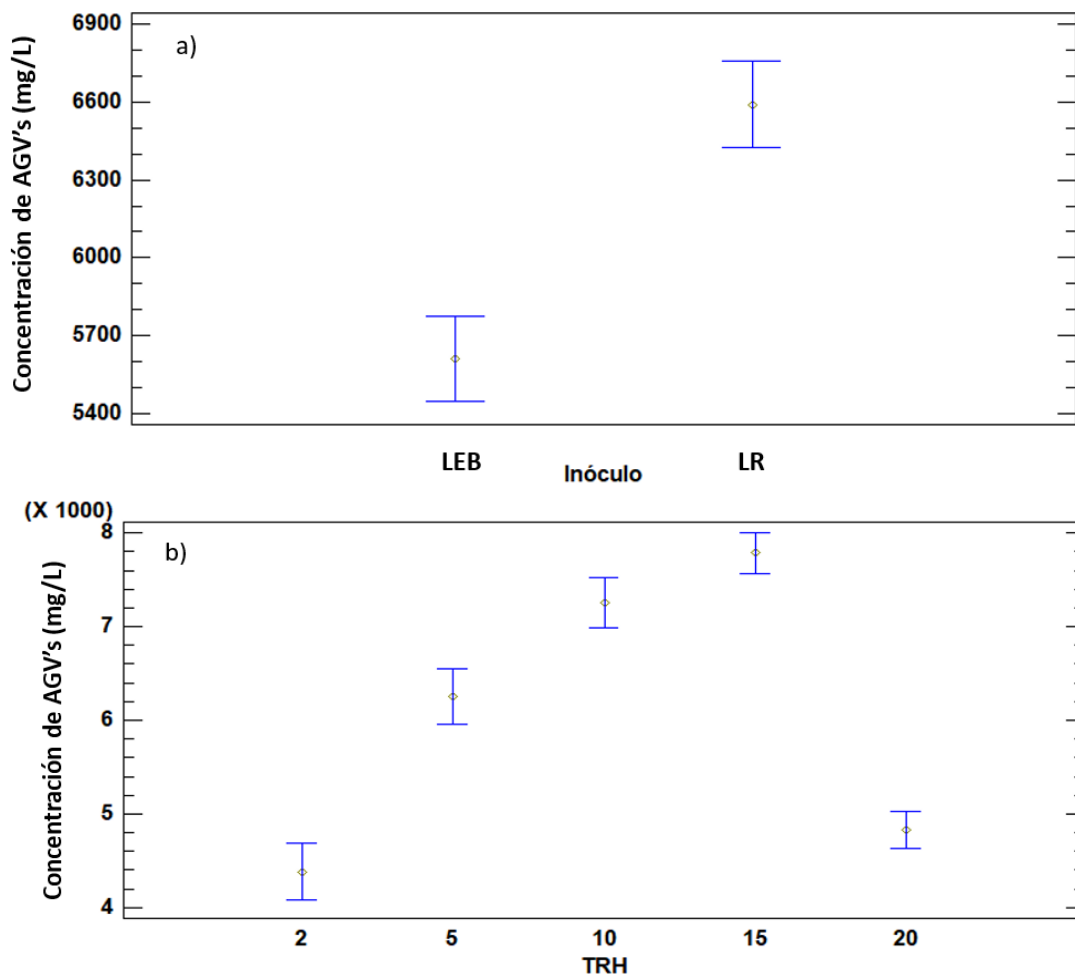
La concentración de AGV'st alcanzada en los digestores inoculados con LEB para los TRH de 20, 15, 10, 5 y 2 d fueron 2513.20, 7818.68, 6426.96, 6350.10, and 4700.05 mg  $\text{CH}_3\text{COOH/L}$ , respectivamente (Figura 17c). Respecto a los digestores inoculados con LR se observó que presentaron concentraciones de AGV'st de 7753.61, 7852.02, 6160.35, and 4062.60 mg  $\text{CH}_3\text{COOH/L}$  para los TRH estudiados. Las concentraciones de AGV'st halladas en la presente investigación son menores a las reportadas para residuos cárnicos (9400 – 17100 mg/L) (Pessiot *et al.*, 2012) y sangre (80000 mg/L) (Plácido y Zhang, 2017), pero superiores a la presentada en la FA de aguas residuales del beneficio animal 1212 (García-Aguirre *et al.*, 2017)- 1621 mg/L (Morais *et al.*, 2021).

La Figura 18 presenta el análisis de varianza (ANOVA) de la producción de AGV'st a partir del tipo de inóculo (LR y LEB) y el TRH. En promedio las concentraciones de AGV'st producidas utilizando el LR fueron significativamente superiores ( $p < 0.05$ ) a las halladas mediante el LEB. La revisión bibliográfica no evidencia investigaciones referentes a la FA de residuos de plantas de beneficio animal utilizando LEB y LR como inóculo. Sin embargo, Mauricio *et al.* (2001) han investigado la DA de distintos forrajes (paja de trigo, heno y pasto) utilizando LR y LEB como inóculo. Los resultados evidencian una mayor capacidad de fermentación del primero.

Los autores atribuyen esta diferencia a que los microorganismos del LEB se originan en el ciego/colon, donde la actividad fermentativa es menor que en el rumen debido a: a) sustratos de menor valor nutricional, b) menores tiempos de retención, c) menor población bacteriana y d) ausencia de protozoos.

### Figura 18

*Análisis de varianza de la concentración de AGV'st con respecto a a) el tipo de inóculo y b) el TRH*



La Figura 18b muestra un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) del TRH sobre la concentración AGV'st, observándose los valores más altos en rangos de 5 a 15 d. En un proceso de FA el TRH debe ser lo suficiente para permitir la solubilización de la materia orgánica compleja. TRH

demasiado prolongado favorece el crecimiento de microorganismos metanogénicos, lo que reduce el rendimiento en la producción de los AGV's, mientras que tiempos muy cortos podrían ocasionar el arrastre de la biomasa (Strazzera *et al.* , 2018). Las mejores condiciones de TRH halladas en la presente investigación coinciden con estudios previos sobre FA de residuos ricos en proteínas y lípidos, como los residuos de alimentos, donde se han identificado las mejores condiciones con tiempos entre 5 d (Wainaina *et al.* , 2020) y 12 d (Lim *et al.* , 2008).

### ***3.4.2. Variación en la concentración de los AGV's individuales durante la FA de la fracción sólida de las AV***

En la Figura 19 se presenta la concentración de los AGV's individuales obtenidos durante el proceso de FA de la fracción sólida de las AV inoculado con LEB (Figura 19a) y LR (Figura 19b).

#### **Efecto del TRH con LEB como inóculo**

Las concentraciones más bajas las presentaron los ácidos caproico e isocaproico, para los dos inóculos (LEB y LR) en todos los TRH. Sin embargo, para las concentraciones de los demás AGV's se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto al tipo de inóculo y el TRH. Para el LEB (Figura 19a), durante la operación con TRH de 20 y 15 d, el ácido propiónico presentó la mayor concentración, seguido por el ácido acético, el ácido isovalérico, el ácido valérico, el ácido isobutírico y el ácido butírico. No obstante, al reducir el TRH a 10 d, 5 d y 2 d, la concentración de ácido propiónico disminuye en un 31%, 47% y 69%, respectivamente, en comparación con el valor promedio registrado a un TRH de 15 d. Por su parte, la concentración de ácido acético se reduce inicialmente en un 21% al disminuir el TRH de 15 d a 10 d. No obstante, una reducción posterior del TRH a 5 d provocó un nuevo aumento en la concentración del ácido acético, el cual cae posteriormente un 20% para un TRH de 2 d, alcanzando un valor promedio de

2066.07 mg/L. Con respecto al ácido butírico, este duplicó su concentración para TRH < 15d, permaneciendo relativamente constante durante el resto de la prueba. Por el contrario, la concentración de ácido valérico se redujo a menos de la mitad al cambiar el TRH de 15 d a 10 y 5 d. No obstante, una reducción posterior del TRH a 2 d provocó una caída drástica en la concentración de ácido valérico, alcanzando un valor de 59.87 mg/L. En cuanto a los ácidos isobutírico e isovalérico, sus concentraciones se mantuvieron relativamente constantes, con promedios de 371.64 mg/L y 764.76 mg/L, respectivamente, para TRH<20 d.

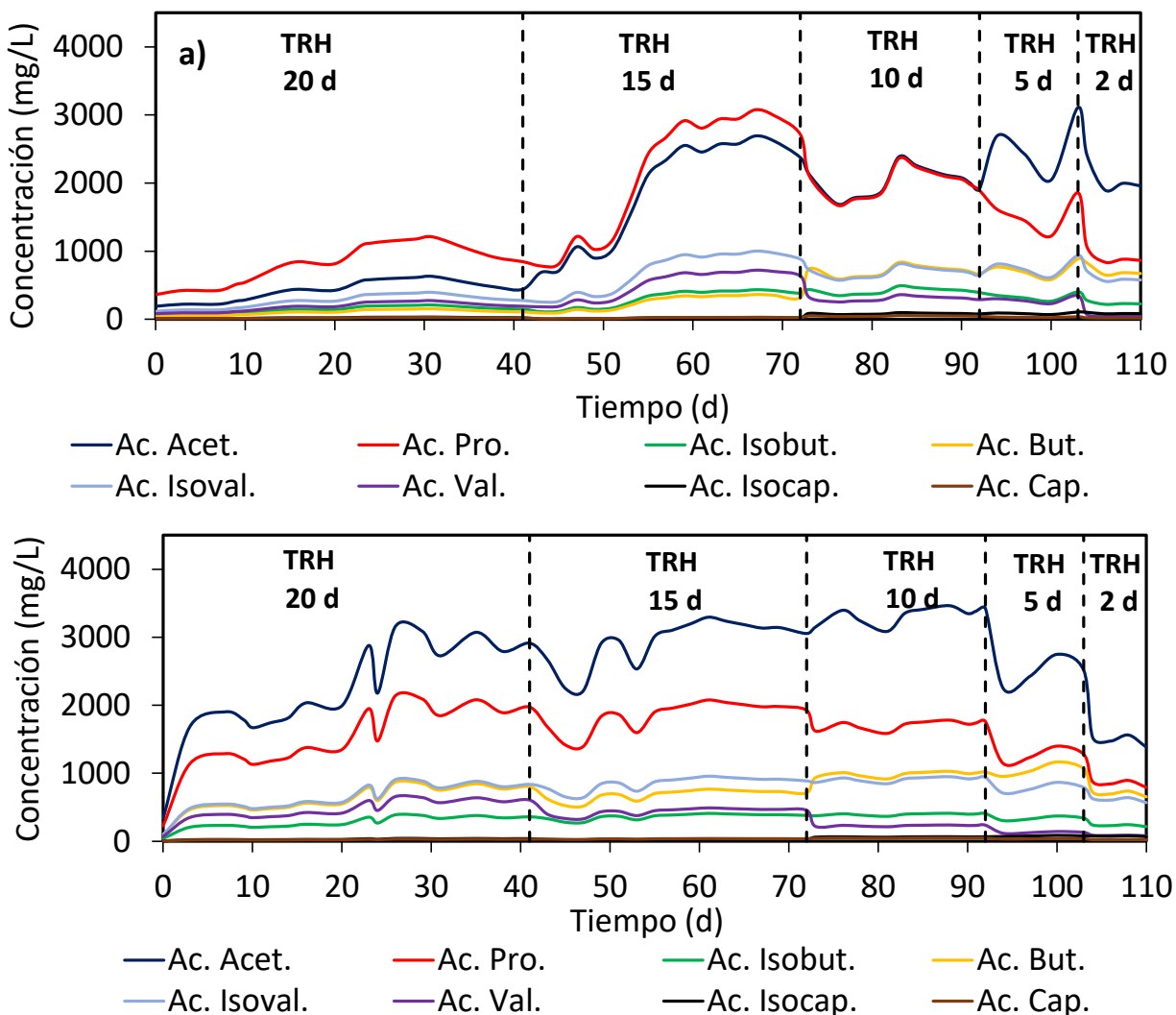
### **Efecto del TRH con LR como inóculo**

En los digestores inoculados con LR, la distribución de la concentración de AGV's durante las operaciones con TRH de 20 y 15 d (Figura 19b) fueron: ácido acético > ácido propiónico > ácido isovalérico > ácido butírico > ácido valérico > ácido isobutírico. Durante este periodo, las concentraciones de los ácidos acético y propiónico se mantuvieron relativamente constantes, con valores de 3049.18 y 1834.32 mg/L, respectivamente, las cuales también se conservaron durante el TRH de 10 d. Por su parte, al reducir el TRH a 10 y 5 d la concentración de ácido butírico incrementó un 48% con respecto al valor promedio registrado a un TRH de 15 d. En contraste, la reducción del TRH a 10 d ocasionó una disminución en la concentración del ácido valérico del 47% con respecto al valor promedio registrado en un TRH de 15 d. La concentración de ácido acético se redujo en un 19 % y un 51 % a TRH de 5 y 2 d, respectivamente, en comparación con la concentración registrada a un TRH de 15 días, mientras que la concentración de ácido propiónico disminuyó en un 31% y 54% en estos mismos TRH. Así mismo, al disminuir el TRH a 2 d la concentración de ácido butírico se redujo de nuevo, alcanzando un valor promedio de 700.64 mg/L, mientras que la concentración de ácido valérico continuó reduciéndose en los TRH de 5 y 2 d (70% y 80%, respectivamente). Respecto a las concentraciones de los ácidos isovalérico e isobutírico

estas se mantuvieron estables durante toda la operación de FA (variaciones de TRH), con valores promedio de 830.67 y 353.85 mg/L, respectivamente.

### Figura 19

Concentración de los AGV's individuales durante la FA de la fracción sólida de AV utilizando como inóculo a) LEB y b) LR



Nota. Acet.: acético, Pro.: propiónico, Isobut.: isobutírico, But.: butírico, Isoval.: isovalérico, Val: valérico, Isocap.: isocapróico y Cap.: caprónico.

### **Análisis del ácido acético y propiónico**

Las diferencias más importantes en el comportamiento de los AGV's individuales entre el proceso de FA inoculado con LEB y LR se observaron en los ácidos acético y propiónico. El estiércol bovino presenta una mayor concentración de bacterias del filo *Firmicutes* en comparación con el LR (Liu *et al.* , 2016), las cuales están asociadas con la producción de ácido propiónico a través de la vía del succinato mediada por metilmalonil-CoA (Vidra y Németh, 2018). Estudios previos han evidenciado que la producción de ácido propiónico se favorece a pH ácidos (Ma *et al.* , 2019), dado que facilitan el crecimiento de las *propionibacterias* (Langsrud y Reinbold, 1973) y *Clostridium* (Liu *et al.* , 2012). Bajo condiciones de  $\text{pH} \geq 7.0$  los AGV's en forma iónica no puede atravesar la membrana celular, lo que conduce a su acumulación extracelular, predominando la ruta fosforoclástica (Dahiya *et al.* , 2015). Durante la reacción fosforoclástica el piruvato se descompone en acetilfosfato, generando ATP, acetato e  $\text{H}_2$  (Jay *et al.* , 2005). Adicionalmente, se ha demostrado que un pH entre 7.0 y 9.0 estimula el crecimiento de homoacetógenos del género *Clostridium* y *Acetobacterium*, los cuales utilizan  $\text{H}_2$  para reducir  $\text{CO}_2$  a acetato (Xu *et al.* , 2015; Liu *et al.* , 2018). Por lo tanto, en la FA de la fracción sólida de las AV la concentración de ácido propiónico fue casi el doble que la de ácido acético al utilizar el LEB como inóculo con un TRH de 20 d, dado el descenso del pH del proceso. Al reducir el TRH a 15 d el pH promedio incrementó de 5.4 a 6.6 (Figura 17a), disminuyendo la diferencia de concentración entre el ácido propiónico y el ácido acético a un 14%. Para  $\text{TRH} < 15$  d el pH alcanza la neutralidad y la concentración de ácido propiónico desciende, posiblemente debido a que la reducción en la tasa de crecimiento de las *propionibacterias* impide mantener constante su población.

### **Análisis del ácido butírico y valérico**

El ácido butírico incrementó su concentración con la disminución del TRH, lo cual es acorde con resultados de investigaciones anteriores sobre FA de glucosa (Pugazhendhi *et al.* , 2017) y aguas residuales (Khan *et al.* , 2019; Lv *et al.* , 2022). Según Lv *et al.* (2022) la reducción en el TRH ocasiona un aumento en la población de *Bacteroides*, las cuales se correlacionan con la producción de ácido butírico. La concentración de ácido valérico fue inferior a la del ácido butírico durante todo el proceso de FA con LR, así como en el caso de LEB cuando el TRH fue menor a 15 d (Figura 19). Un estudio realizado por Coelho *et al.* (2020) sobre el modelamiento de la cinética de producción de los diferentes AGV's a partir de la FA de glicerol, demostró que las constantes cinéticas del ácido valérico eran un 21% inferiores a las del ácido butírico. En consecuencia, se pudo inferir que TRH bajos resultan insuficientes para mantener constante la población de las bacterias productoras de ácido valérico, causando una reducción en su concentración.

### **Análisis de la estabilidad del proceso de FA**

La concentración de AGV's durante el proceso de FA de la fracción sólida de las AV fue superior al utilizar LR como inóculo. Sin embargo, se observó una mayor estabilidad en las concentraciones de los AGV's en TRH bajos (5 y 2 d) cuando se aplicó el LEB como inóculo. La concentración del ácido acético se redujo un 19% al disminuir el TRH de 15 d a 2 d en los digestores inoculados con LEB. Sin embargo, cuando la FA se realizó a los mismos TRH utilizando LR como inóculo, la concentración del ácido acético disminuyó hasta un 49%. Las concentraciones de ácido acético finales fueron 2066.07 mg/L y 1485.77 mg/L para LEB y LR, respectivamente. Esta diferencia puede atribuirse a la concentración de ST en cada uno de los inóculos; dado que el LEB presenta ST de 31.86 g/L y el LR ST de 19.85 g/L. Gran parte de los

ST del LEB sedimentan fácilmente reteniendo los microorganismos anaeróbicos (Yu *et al.* , 2013) en forma de biopelículas adheridas a las fibras o como bioflóculos (Wang *et al.* , 2011).

### **3.4.3. Bioconversión y tasa de acidificación de la fracción sólida de AV**

La Tabla 20 muestra los valores de bioconversión y tasa de acidificación obtenidos durante la FA de la fracción sólida de AV, en comparación con los resultados reportados en estudios previos que utilizaron sustratos con contenidos significativos de lípidos y proteínas.

La FA de la fracción sólida de las AV realizada en este estudio mostró valores de bioconversión inferiores a los reportados por Morais *et al.* (2021) (76,0 %), pero superiores a los mostrados por Garcia-Aguirre *et al.* (2017) (14 %) para aguas residuales del beneficio animal. Sin embargo, estas diferencias pueden atribuirse más a variaciones en la disponibilidad de la materia orgánica soluble en el sustrato que al inóculo utilizado. Morais *et al.* (2021) reportaron una relación DQOs/DQOt más alta (50 %) en comparación con la de la fracción sólida de las AV (30 %), mientras que Garcia-Aguirre *et al.* (2017) presentaron un valor menor (23 %). Esta observación se respalda aún más al considerar otros sustratos. En digestores inoculados con LEB y operados a TRH de 5–15 días, así como en digestores inoculados con LR y operados a TRH de 5–20 días, los niveles de bioconversión obtenidos fueron comparables a los reportados por Castro-Fernandez *et al.* (2024) y Gong *et al.* (2021) para la FA de residuos de alimentos y la codigestión de residuos de alimentos con lodo sometido a hidrólisis térmica, respectivamente, utilizando digerido y lodo de PTAR como inóculos. Estos estudios reportaron relaciones DQOs/DQOt similares a las obtenidas en la presente investigación (30–38 %).

**Tabla 20**

*Comparativo de la bioconversión y la tasa de acidificación de la FA de la fracción sólida de las AV, en relación con los resultados de otros estudios*

Parámetro	Inóculo	Sustrato	DQOs/DQt (%)	Temperatura (°C)	TRH (d)	pH (-)	Valor (%)	Referencia
Bioconversión	LEB	Fracción Sólida de AV	30	37	20	5.4	8.9	El presente estudio
					15	6.6	26.4	
					10	6.8	22.7	
					5.0	6.9	21.1	
					2.0	7.0	15.4	
	LR	Fracción Sólida de AV	30	37	20	6.9	23.9	El presente estudio
					15	6.9	25.6	
					10	7.1	25.6	
					5.0	7.0	20.5	
					2.0	6.9	13.9	
Lodo digerido	Residuo de comida	50	35	1.5	6.0	48.0	Law <i>et al.</i> (2023)	
Lodo digerido	Residuo de comida	30	35	10	6.0	28.7	Castro-Fernandez <i>et al.</i> (2024)	
Lodo de PTAR	Residuo de comida	44	Condiciones mesofílicas	NA	6.5	60.6	Esfandiar <i>et al.</i> (2025) <sup>a</sup>	
Lodo de PTAR	CoDA residuos de comida y lodos térmicamente hidrolizados	38	35	4	10.0	29.1	Gong <i>et al.</i> (2021)	
Lodo digerido	Aguas residuales de planta de beneficio animal	23	35	NA	5.5	14.0	García-Aguirre <i>et al.</i> (2017) <sup>a</sup>	
Lodo digerido	Aguas residuales de planta de beneficio animal	50	35	NA	7.0	76.0	Moraís <i>et al.</i> (2021) <sup>a</sup>	

Parámetro	Inóculo	Sustrato	DQOs/DQt (%)	Temperatura (°C)	TRH (d)	pH (-)	Valor (%)	Referencia
Tasa de Acidificación	LEB	Fracción Sólida de AV	30	37	20	5.4	30.5	El presente estudio
					15	6.6	90.3	
					10	6.8	77.5	
					5.0	6.9	72.0	
					2.0	7.0	52.8	
	LR	Fracción Sólida de AV	30	37	20	6.9	81.6	El presente estudio
					15	6.9	87.4	
					10	7.1	87.6	
					5.0	7.0	70.3	
					2.0	6.9	47.4	
Lodo digerido	Residuos de comida	50	35	15	6.0	77.0	Law <i>et al.</i> (2023)	
Lodo de PTAR	Residuos de comida	44	Condiciones mesofílicas	NA	6.5	67.0	Esfandiar <i>et al.</i> (2025) <sup>a</sup>	
Lodo de PTAR	CoDA residuos de comida y lodos térmicamente hidrolizados	38	35	4	10.0	68.3	Gong <i>et al.</i> (2021)	
Lodo digerido	Aguas residuales de planta de beneficio animal	23	35	NA	5.5	32.0	García-Aguirre <i>et al.</i> (2017) <sup>a</sup>	

*Nota.* LEB: lodo de estiércol bovino; LR: líquido ruminal; NA: no aplica; DQOs: DQO soluble; CODt: DQO total, a: proceso batch.

Con respecto a la tasa de acidificación, los resultados de este estudio superaron los reportados por García-Aguirre *et al.* (2017) para aguas residuales del beneficio animal (32 %) y fueron comparables con los valores presentados en investigaciones previas sobre la FA de residuos de comida, incluso bajo condiciones operacionales diferentes a las del presente trabajo (digestores

agitados, sustratos pretratados y lodos digeridos y de PTAR como inóculos). Por lo tanto, puede deducirse que los inóculos evaluados en este estudio permitieron una conversión eficiente de la DQO soluble de la fracción sólida de las AV en AGV's. Este desempeño contrasta con la bioconversión relativamente baja, en comparación con los residuos de comida (60.6–48.0%) con relaciones DQOs/DQOt de 44–50 %. En consecuencia, la limitada conversión de la DQO particulada resalta el potencial de futuras estrategias de pretratamiento para mejorar la producción de AGV's mediante el incremento de la relación DQOs/DQOt de la fracción sólida de las AV (Varghese *et al.* , 2022).

La comparación entre los dos inóculos mostró que tanto las tasas de bioconversión como de acidificación fueron significativamente mayores en el proceso de FA inoculado con LR ( $p < 0,05$ ). Por lo tanto, considerando los resultados anteriores y la producción significativamente mayor de AGV's observada con LR, este inóculo fue seleccionado para evaluar el efecto del ajuste de pH.

#### ***3.4.4. Efecto del ajuste del pH sobre la FA de la fracción sólida de las AV***

En la Tabla 21 se realiza una comparación entre los resultados de la FA de la fracción sólida de las AV sin ajuste y con ajuste de pH (8.0), en un rango de TRH de 5 a 15 d.

Se hallaron diferencias significativas entre los resultados con ajuste y sin ajuste de pH ( $p < 0.05$ ). El ajuste del pH de operación a 8.00 redujo la producción de AGV's, mientras que incrementa el pH final del proceso de FA. Sin embargo, la disminución en la concentración de AGV's no puede atribuirse a la producción de CH<sub>4</sub>, ya que la PEM también se redujo tras el ajuste del pH. La disminución de la concentración de AGV's está asociada a una menor transformación de la DQO, tanto soluble como particulada, como lo evidencian las reducciones observadas en la bioconversión y en la tasa de acidificación para los TRH de 10 y 15 d. Los resultados del presente

estudio coinciden con los reportados por Hussain *et al.* (2017) y Gong *et al.* (2021) para la FA de residuos de comida, donde los mayores rendimientos de AGV's se lograron con pH neutros.

**Tabla 21**

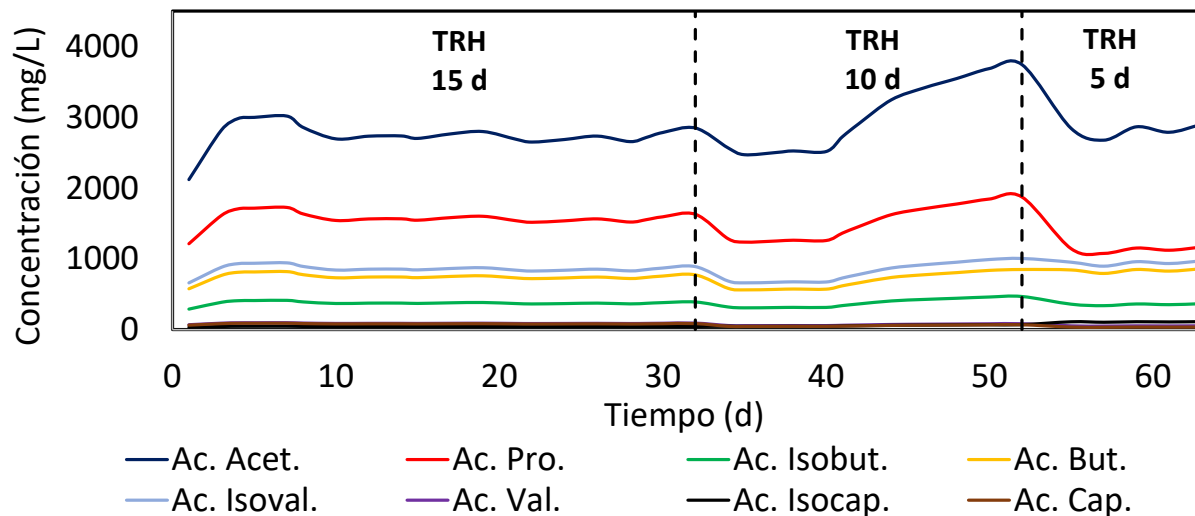
*Comparativo entre los resultados de la FA de la fracción sólida de AV inoculada con LR con ajuste y sin ajuste de pH*

Ajuste de pH	TRH (d)	AGVs mg CH <sub>3</sub> COOH	pH final	PEM (STP m <sup>3</sup> /kg SV)	Bioconversión (%)	Tasa de Acidificación (%)
	15	7753.61 ± 185.95	6.9 ± 0.2	0.040 ± 0.003	25.6	87.4
No	10	7831.95 ± 101.22	7.1 ± 0.1	0.032 ± 0.004	25.6	87.6
	5	6160.35 ± 518.37	7.0 ± 0.1	0.027 ± 0.004	20.5	70.3
	15	6520.92 ± 438.00	7.7 ± 0.1	0.022 ± 0.002	21.4	73.1
Si	10	7691.29 ± 441.51	7.6 ± 0.1	0.022 ± 0.002	21.0	71.7
	5	6278.90 ± 194.81	7.7 ± 0.1	0.017 ± 0.002	20.6	70.6

En la Figura 20 se presentan las concentraciones de los AGV's individuales para la FA de la fracción sólida de las AV, con LR como inóculo y ajuste de pH alcalino (8.0).

**Figura 20**

Concentración de los AGV's individuales durante la FA de la fracción sólida de AV utilizando como inóculo LR con ajuste de pH inicial a 8.0



*Nota.* Acet.: acético, Pro.: propiónico, Isobut.: isobutírico, But.: butírico, Isoval.: isovalérico, Val: valérico, Isocap.: isocapróico y Cap.: capróico.

El ajuste de pH redujo significativamente ( $p < 0.05$ ) las concentraciones de ácido propiónico, butírico y valérico. El pH puede cambiar la ruta metabólica de la FA y afectar la distribución de los AGV's individuales (Zhou *et al.*, 2018). Durante la FA de residuos ricos en proteínas, el incremento de pH tiende a desfavorecer la producción de ácido propiónico (Vázquez-Fernández *et al.*, 2022). La anterior observación de Vázquez-Fernández *et al.* (2022) permite ratificar el resultado obtenido en el presente estudio respecto a la producción del ácido propiónico; dado que las AV presentan una concentración de proteínas de (36%). La disminución de la concentración de ácido propiónico con el ajuste del pH que se obtuvo en este estudio es congruente con lo reportado para FA de aguas residuales (Yu y Fang, 2003), lodos residuales (Liu *et al.*, 2012) y residuos de cáscara de papa (Lu *et al.*, 2020). Incluso algunos estudios indican que el pH óptimo para el crecimiento de bacterias productora de propionato es cercano a 6.0 (Yu y Fang, 2002). Así

mismo, se ha evidenciado que el incremento de pH a valores alcalinos afecta negativamente la producción de ácido butírico (Liu *et al.* , 2012; Jiang *et al.* , 2013). A pH bajo la actividad enzimática del acetato quinasa disminuye gradualmente, mientras que la actividad del butirato quinasa aumenta. Lo anterior, podría deberse a que la vía glucolítica del piruvato es la principal ruta metabólica para la formación de ácido butírico (Lu *et al.* , 2020). Así mismo, el ácido valérico presentó una reducción significativa al ajustar el pH a valores alcalinos, la cual se encuentra asociada a la FA de proteínas; mediante la desaminación de aminoácidos individuales o las reacciones de oxidación-reducción entre pares de aminoácidos (Batstone *et al.* , 2002). Por lo tanto, una disminución en la tasa de degradación de las proteínas (evidenciada por la reducción en la biodegradabilidad y la tasa de acidificación en la Tabla 21) conduce a una menor producción de este ácido.

### 3.5. Conclusiones

La FA de la fracción sólida de AV permite la acumulación de AGV's al utilizar LEB y LR como inóculos. Durante el proceso de FA la metanogénesis fue inhibida, resultando en producciones de CH<sub>4</sub> despreciables (0.031 m<sup>3</sup>/kg SV) para los dos inóculos utilizados y en todos los TRH evaluados (2, 5, 10, 15 y 20 d). Las concentraciones de AGV's presentaron diferencias significativas con respecto al tipo de inóculo y el TRH. En este sentido, la FA inoculada con LR presentó mayores concentraciones de AGV's (entre 4062.60 y 7852.02 mg/L) comparada con FA inoculada con LEB (2513.20 y 7818.68 mg/). Esto demuestra una menor capacidad fermentativa del LEB, como consecuencia posiblemente de una inferior diversidad microbiana. Para los dos inóculos, las mayores concentraciones se lograron en un rango de TRH de 5 a 15 d.

La distribución de los AGV's individuales depende del tipo de inóculo utilizado durante la FA de la fracción sólida de las AV. Para todos los experimentos los ácidos acético y propiónico

fueron los de mayor proporción. No obstante, a TRH de 20 y 15 d la concentración de ácido propiónico fue superior a la de acético en el proceso de FA inoculado con LEB. La posterior reducción del TRH disminuyó la concentración de ácido propiónico. En el caso de la FA con inóculo LR, el ácido acético presentó la mayor concentración en todos los TRH. Esta diferencia podría estar relacionada con el pH, dado que la producción de ácido propiónico se ve favorecida en condiciones de pH bajo, como las observadas en las dos primeras etapas de la FA con inóculo LEB.

La bioconversión de la FA inoculada con LR en TRH de 5 a 15 d (20.5% - 25.6%) fue inferior a las reportadas en estudios previos con sustratos similares. Sin embargo, la tasa de acidificación se mantuvo dentro del rango informado en la literatura (70.3% - 87.6%). Esto sugiere que la FA permite una conversión eficiente de la DQO soluble a AGV's, mientras que la conversión de la DQO particulada es limitada. El ajuste de pH del proceso de FA a un valor de 8.00 redujo significativamente la producción de AGV's, debido a una disminución en la bioconversión (20.6% - 21.4%) y en la tasa de acidificación del sustrato (70.6% - 73.1%). Lo anterior se refleja principalmente en una disminución en la concentración de ácido propiónico, butírico y valérico.

### **3.6. Productos de la Investigación**

Como productos de la presente investigación se cuenta a la fecha con un artículo sometido a la revista *Bioresource Technology Reports* :

- Sanchez, Z., Escalante, H., & Castro, L. (2026). Volatile fatty acid production from the solid fraction of offal wastewater by a semicontinuous process: influence of inoculum, hydraulic retention time, and pH.

#### **4. Integración de la Tecnología de Digestión Anaerobia en una Planta de Beneficio**

##### **Bovino: Estudio Tecno-Económico de una Biorrefinería.**

##### **4.1. Resumen**

El proceso de CoDA ha demostrado grandes ventajas en el tratamiento de aguas residuales de PBB, dado que permite sinergia entre los cosustratos, reduciendo los riesgos de inhibición e incrementando las biodegradabilidad de los efluentes. Sin embargo, la viabilidad de la integración de este proceso en una PBB depende de varios factores como las características fisicoquímicas del sustrato, las condiciones operacionales y la estructura de costos. En los últimos años, el concepto de biorrefinería ha ganado importancia por su contribución a la bioeconomía circular y su alineación con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). En plantas de beneficio bovino (PBB) el concepto de biorrefinería se ha enfocado en el uso de subproductos como sangre y huesos. No obstante, estudios a escala de laboratorio han implementado procesos como la DA, cultivo de microalgas, producción de bioplásticos y ácidos grasos volátiles (AGV's). El escalado de estos procesos hacia biorrefinerías integradas en PBB requiere estudios tecno-económicos, especialmente en países en desarrollo como Colombia, donde el concepto es relativamente reciente. En este sentido, el objetivo del presente trabajo consistió en la integración del proceso de CoDA de aguas residuales y estiércol en una PBB, considerando procesos de aprovechamiento del biogás, recuperación de nutrientes del digerido y producción de AGV's, en el marco del concepto de biorrefinería. Para esto inicialmente se simuló la CoDA de diferentes mezclas sinérgicas mediante el modelo ADM1 calibrado y validado en el capítulo 2 a diferentes tiempos de retención hidráulica (TRH). De esta manera, se seleccionaron las mezclas con el mejor desempeño con respecto a la producción de CH<sub>4</sub>, remoción de DQO y producción de estruvita. Estas mezclas fueron integradas en procesos de CoDA en una PBB considerando seis escenarios que involucraron

dos alternativas de aprovechamiento del biogás (precalentamiento del agua de caldera y CHP) y tres opciones de tratamiento del digerido (fisicoquímico, precipitación de estruvita y compostaje). Adicionalmente, se integró la producción de AGV's a partir de la FA de la fracción sólida de las AV. Los resultados demuestran que las mejores mezclas corresponden a las combinaciones binarias aguas de sacrificio-aguas de lavado estomacal (AS33:AE67) y aguas de lavado de vísceras-estiércol bovino (AV33:EB67). El aprovechamiento del biogás en el precalentamiento del agua de caldera representa un ahorro de 66240 m<sup>3</sup>/año de gas natural. Asimismo, la implementación de un sistema de cogeneración (CHP) conlleva a un ahorro de 35837 m<sup>3</sup>/año de gas natural y 329 MWh/año de energía eléctrica. El tratamiento del digerido mediante procesos de precipitación de estruvita y compostaje, permitirían el ahorro de 4 y 2 t de insumos químicos de la planta de tratamiento, respectivamente. No obstante, los escenarios que contemplaron la precipitación de estruvita como alternativa de tratamiento del digerido no fueron económicamente viables (VPN < 0; TIR < 9.25% y TRI de 11 a 14 años). Por su parte, el escenario más favorable destinó el biogás para la cogeneración de energía y el digerido para la producción de compostaje (CHP-compostaje). La integración del proceso de FA de la fracción sólida de las AV alcanzaría su punto de equilibrio con un precio de venta de USD\$ 11.9/t de solución de AGV's concentrada.

#### **4.2. Introducción**

El proceso de beneficio bovino genera cuatro corrientes de aguas residuales: *i*) aguas de corrales (AC), que tienen concentraciones diluidas de estiércol, *ii*) aguas de sacrificio (AS); con presencia de la sangre producto del sacrificio animal, *iii*) aguas de lavado de vísceras (AV); las cuales contienen partículas de carne y grasa y *iv*) aguas de lavado de estomacal (AE); que llevan el contenido ruminal de las panzas de los bovinos. Los caudales de aguas residuales generados en

las Plantas de Beneficio Bovino (PBB) varían entre 1.4 m<sup>3</sup> (Caixeta *et al.*, 2002) y 4.2 m<sup>3</sup> por cada bovino sacrificado (Jensen *et al.*, 2014).

La concentración de materia orgánica presente en las aguas residuales de las PBB se expresa en función de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Sólidos Volátiles (SV). Estos parámetros pueden variar entre 2.0 – 20.4 kg DQO/m<sup>3</sup> (Caixeta *et al.*, 2002; Saddoud y Sayadi, 2007) y entre 2.8 – 5-6 kg SV/m<sup>3</sup> (Jensen *et al.*, 2015; Jensen *et al.*, 2016). Por lo anterior, a nivel mundial existen diversas normativas ambientales para regular el vertimiento de las aguas residuales de una PBB (Tabla 22).

**Tabla 22**

*Regulación ambiental de las concentraciones para vertimientos de PBB en algunas regiones del mundo*

Parámetro	Sigla	Unidad	Estados <sup>a</sup> Unidos	Unión <sup>a</sup> Europea	Australia <sup>a</sup>	Canadá <sup>a</sup>	Colombia <sup>b</sup>
Demanda Biológica Oxígeno	de DBO	(mg/L)	26	25	6-10	5-30	450
Demanda Química Oxígeno	de DQO	(mg/L)	N/A	125	3xDBO	N/A	900
Sólidos Suspendidos Totales	SST	(mg/L)	30	35	10-15	5-30	200
Nitrógeno Total	NT	(mg/L)	8	10	0.1-15	1	N/A

Nota: a. Bustillo-Lecompete y Manivar (2015); b. Resolución 631 de 2015 ministerio del medio ambiente y desarrollo sostenible.

En países en vía de desarrollo, como Colombia, las aguas residuales de PBB son tratadas generalmente mediante procesos fisicoquímicos (World Bank, 2009), el cual consiste en operaciones de cribado, sedimentación, tamizado, flotación y floculación-coagulación. Sin embargo, los tratamientos fisicoquímicos presentan limitaciones en la remoción de DQO soluble (Ioannou *et al.* , 2015). Por consiguiente, los tratamientos fisicoquímicos en ocasiones son insuficiente para cumplir la regulación ambiental colombiana para aguas residuales de PBB (DQO < 900 mg/l) (Resolución 631 de 2015 ministerio del medio ambiente y desarrollo sostenible).

La digestión anaeróbica (DA) es una tecnología utilizada para gestionar y valorizar una diversidad de residuos como: estiércol bovino (Zhang *et al.* , 2022), residuos de comida (Peng *et al.* , 2018), sólidos orgánicos municipales (Zamri *et al.* , 2021), lodos de depuración de aguas residuales municipales (Nguyen *et al.* , 2021), lactosuero (Escalante *et al.* , 2018), residuos de producción de panela (Mendieta *et al.* , 2020b) entre otros. Con respecto a la gestión y valorización de residuos del beneficio animal Hidalgo *et al.* (2018) y Yazdani *et al.* (2019) reportan potenciales de biometanización (PBM) entre 0.209 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg DQO y 0.424 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/ kg DQO. La DA de aguas residuales del beneficio animal en procesos continuos o semi-continuos a escala laboratorio, evidencia rendimientos de CH<sub>4</sub> entre 0.114 y 0.511 m<sup>3</sup>/kg DQO y remociones de DQO entre 70 y 95% (Tabla 23). A su vez, a escala de campo, se han evidenciado rendimientos de CH<sub>4</sub> entre 0.810 y 0.200 m<sup>3</sup>/kg de DQO, con remociones de DQO entre el 32 % y el 73 % (Martí-Herrero *et al.* , 2018).

**Tabla 23**

*Desempeño de la DA de aguas residuales del beneficio animal en procesos continuos y semi-continuos a escala laboratorio*

Tipo de Digestor	Temperatura (°C)	Tipo de agua residual	Remoción de DQO (%)	Rendimiento de CH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> /kg DQO)	Autor
CSTR	37	Mezcla de sangre, agua de lavado y purines	NR	0.511	Marcos et al., (2012)
CSTR	38	Mezclas de las diferentes corrientes de aguas residuales	66 <sup>a</sup>	0.249	Schmidt et al., (2018)
UAF	30	Mezcla de sangre y aguas de lavado	80	0.130	Martínez et al., (2014)
UAF	37	Aguas residuales de la producción de carnes frías	84	0.354	León-Becerril et al. (2016)
Membrana	37	Aguas de beneficio	>95	NR	Jensen et al. (2015)
Membrana	24	Mezclas de las diferentes corrientes de aguas residuales	88-95	0.114-0.117	Galib et al. (2016)
Tubular	27	Mezcla de aguas de lavado estomacal y aguas de sacrificio	>70	0.312 <sup>b</sup>	Martí-Herrero et al. (2018)

*Nota.* NR: No reporta, a. Dado en %SV, b. Dado en m<sup>3</sup>/kg SV.

La bibliografía reporta principalmente estudios de DA para la mezcla de los cuatro tipos de aguas residuales (AV; AC; AS y AE) de una PBB; incluso con la adición de residuos sólidos. Sin embargo, estas corrientes poseen composiciones y concentraciones diversas (proteínas, carbohidratos y lípidos). En este sentido, en el capítulo 1 se evaluó la mono DA y la codigestión (CoDA) de aguas residuales y estiércol de PBB, mediante ensayos de PBM. Los rendimientos máximos de CH<sub>4</sub> logrados estuvieron en el rango de 0.154 a 0.505 m<sup>3</sup>/kg SV para las mono DA's, mientras que las CoDA's presentaron valores entre 0.191 y 0.505 m<sup>3</sup>/kg SV. Adicionalmente se

evaluó la sinergia de las CoDA's mediante los modelos matemáticos de primer orden y Gompertz modificado. Como resultado, se identificaron siete mezclas (de las 21 proporciones de mezclas evaluadas) que presentaron sinergia tanto en el rendimiento de CH<sub>4</sub>, como en la cinética del proceso de DA. En el capítulo 2, las mezclas sinérgicas fueron evaluadas en digestores tubulares a escala de laboratorio, obteniéndose producciones específicas de biogás (PEB) entre 0.140 y 0.442 m<sup>3</sup>/kg SV, con una calidad entre 65% y 75% de CH<sub>4</sub>. Todas las mezclas evidenciaron sinergia con respecto a la producción específica de metano (PEM) en los digestores tubulares, con remociones de DQO entre 56% y 76% y una producción de estruvita entre 0.311 y 0.782 kg/m<sup>3</sup>, con una pureza promedio del 59%. Además, a partir de los resultados experimentales se calibró y validó el modelo ADM1, el cual reprodujo adecuadamente los valores experimentales de la PEB, el %CH<sub>4</sub>, el pH y el contenido de sólidos volátiles (SV) y el nitrógeno amoniacal total (NAT) en el digerido. Así mismo el modelo permitió una estimación cualitativa de las concentraciones de amoníaco (NH<sub>3</sub>) y ácidos grasos volátiles (AGV's). En el capítulo 3 se estudió la producción de AGV's a partir de la fermentación acidogénica (FA) de la fracción sólida de las AV. Los resultados mostraron concentraciones de ácidos entre 6160.35 y 7831.95 mg/L, con bioconversión y tasa de acidificación promedio de 23.9% y 81.8%, cuando el proceso fue operado con TRH entre 5 d y 15 d con líquido ruminal como inóculo.

A pesar de las ventajas que ha demostrado la CoDA en el tratamiento de aguas residuales de PBB a escala de laboratorio, la viabilidad de su integración en el proceso de producción depende de: *i*) características fisicoquímicas del sustrato, *ii*) condiciones operacionales (carga orgánica, tiempo de retención hidráulica, temperatura) y *iii*) estructura de costos (energía, tratamiento de residuos, equipos, mantenimiento, mano de obra, operarios etc.). Por consiguiente, la implementación del proceso de CoDA en PBB requiere la aplicación de estudios técnicos y

económicos (Vilvert *et al.*, 2020). La mayor parte de los estudios hallados en la literatura se centran en el análisis de las condiciones de operación, el potencial energético y la remoción de materia orgánica (condiciones técnicas). Por ejemplo, Wang *et al.* (2018), Shirzad *et al.* (2019) y Ali *et al.* (2020) estiman potenciales energéticos de  $22.7 \times 10^9$  kWh/año,  $25.0 \times 10^9$  kWh/año y  $4.4 \times 10^9$  kWh/año en la DA de residuos de plantas de beneficio animal en USA, Mauritania e Iran, respectivamente. Vilvert *et al.* (2020) evalúan la DA de aguas residuales de beneficio animal (cerdos y bovinos) en una laguna anaeróbica cubierta ( $1573 \text{ m}^3$ ) en Brasil a temperatura de 18-24°C. A partir de la remoción de DQO (59%) los autores predicen una producción de  $6720 \text{ m}^3$  biogás/mes, los cuales significarían el ahorro del 16% de la demanda de gas natural del proceso de beneficio animal. Gutiérrez *et al.* (2020) a partir de reportes bibliográficos estiman que en Colombia se generan  $9.0 \times 10^5$  t de residuos animales/año, los cuales podrían valorizarse por DA; dado que poseen un potencial energético entre 140 kWh/t de estiércol bovino y 3600 kWh/t de residuos de carne.

Los estudios técnicos-económicos para la integración de la tecnología anaerobia en plantas de beneficio son limitados. Se han reportado casos de estudio para la DA de residuos sólidos del beneficio animal con estructuras de costo y regulaciones ambientales y sanitarias de países europeos, latinoamericanos y africanos. González-González *et al.* (2014) realizaron a escala de laboratorio un proceso híbrido DA-Celdas fotovoltaicas para residuos sólidos del proceso de beneficio porcino. Los autores reportaron rendimiento de  $22.53 \text{ m}^3$  biogás/ $\text{m}^3$  de sustrato (75% de  $\text{CH}_4$ ). La extrapolación de los resultados para una planta de beneficio de cerdos en España; demuestran que el sistema híbrido proveería el 100% de la energía necesaria para la planta de beneficio, con valor presente neto (VPN) >0, tiempos de retorno de la inversión (TRI) entre 9 y 10 años y tasas internas de retorno (TIR) entre 7 y 9%. Ortner *et al.* (2015) demuestran la producción

de 1.4 millones de m<sup>3</sup> biogás/año durante el tratamiento de residuos sólidos del beneficio de cerdos (sangre, grasa y contenido estomacal) en un digestor CSTR de 2600 m<sup>3</sup> a 38 °C, en Austria. Los autores concluyeron que la DA suple el 50% de la energía térmica y 60% de la energía eléctrica de la planta de beneficio, con un ahorro económico del 63%. Menezes-Lima *et al.* (2020) realizaron un estudio técnico-económico de la implementación de la DA en plantas de beneficio (cerdos y bovinos) en Brasil. La producción de biogás se estimó mediante datos bibliográficos y ecuaciones reportadas para digestores UASB operados entre 30-38 °C. El análisis económico indica que el tratamiento de los residuos es viable con TRH máximo de 24 h y costos de inversión de USD \$43.23/m<sup>3</sup> de digestor y USD \$287.80/kW de generador eléctrico. Valores superiores aumentan el tiempo de retorno de la inversión por encima de los 20 años. Awafo y Amenorfe (2021) evaluaron los aspectos técnicos y financieros de la valorización de efluentes de una planta de beneficio (ganado bovino, caprino y porcino) mediante DA en Ghana, con aprovechamiento energético del biogás y del digerido como fertilizante. Los residuos presentaron un potencial de producción de biogás de 843 m<sup>3</sup>/d, con un valor estimado de USD \$0.46/m<sup>3</sup>, USD \$0.35/m<sup>3</sup> y USD \$0.10-USD \$0.18 /kWh cuando es utilizado para sustituir GLP y diésel o en la generación de energía eléctrica, respectivamente. Belete *et al.* (2024) investigaron los aspectos tecno-económicos del upgrading de biogás producido a partir de la DA de residuos del beneficio animal en Etiopía, considerando, además, el aprovechamiento del digerido como fertilizante. Lo anterior resultó en un VPN >0, un TRI de 4 años y una TIR del 13%, demostrando la viabilidad del proceso de purificación del biogás.

Los estudios para DA de efluentes de PBB (Tabla 23) se han realizado preferentemente en bioreactores de tanque agitado, UASB y lagunas cubiertas. No obstante, Martí-Herrero *et al.* , (2018), realizó un estudio de la DA de aguas residuales de PBB en biorreactores tubulares,

demostrando rendimientos en la producción de CH<sub>4</sub> y remociones de DQO comparables a los obtenidos con otros tipos de digestores. Sin embargo, a la fecha no se han reportado estudios técnico-económicos que demuestren la viabilidad de integrar la tecnología anaerobia a las PBB usando digestores tubulares.

En los últimos años, el concepto de biorrefinería ha cobrado relevancia, dado que respalda el enfoque de la bioeconomía circular, el cual está alineado con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de las Naciones Unidas (Alvarez-Castillo *et al.* , 2023). Según el Grupo de Trabajo 42 "Biorrefinerías" de IEA Bioenergy: *"La biorrefinación es el procesamiento sostenible de biomasa para obtener un espectro de productos comercializables y energía"* (IEA, 2007). En este sentido, las biorrefinerías se basan en el uso de tecnologías para fraccionar la biomasa en sus componentes básicos (carbohidratos, proteínas, triglicéridos, etc.), los cuales pueden transformarse en productos de valor agregado, biocombustibles y compuestos químicos. Su funcionamiento es análogo al de las refinerías de petróleo, las cuales producen múltiples productos a partir de los hidrocarburos (Cherubini, 2010). El concepto de biorrefinería se ha utilizado para producir de manera eficiente productos de alto valor a partir de diversas materias primas como material lignocelulósico, algas, residuos de comida y estiércoles (Ubando, *et al.* , 2020). Respecto a las plantas de beneficio animal, actualmente las biorrefinerías se enfocan principalmente en la utilización de subproductos (sangre y huesos), para la producción de alimento animal (Limeneh *et al.* , 2022). No obstante, estudios a escala de laboratorio han profundizado en el concepto de biorrefinería, abordando de forma más amplia la integración de procesos como la DA para la producción de energía y recuperación de nutrientes (Sganzerla *et al.* , 2022), el cultivo de microalgas para la producción de biocombustibles (Kumar *et al.* , 2021; Medrano-Barboza *al.*, 2022), la producción de Polihidroxialcanoato (PHA) (Shahzad *et al.* , 2017), la producción de

AGV's (Schwede *et al.* , 2016; Bułkowska y Zielinska, 2024), el desarrollo de bioplásticos (Alvarez-Castillo *et al.* , 2023) y la recuperación de proteínas, hierro hemo y biopéptidos activos (Bułkowska y Zielinska, 2024), entre otros. Sin embargo, se requieren estudios tecno-económicos que consoliden la viabilidad del concepto de biorrefinería para el tratamiento de efluentes de PBB, especialmente en países en desarrollo como Colombia, donde su implementación es relativamente reciente.

Basado en lo anterior, el objetivo del presente capítulo fue integrar los procesos de producción de biogás, recuperación de nutrientes del digerido y obtención de AGVs, en una biorrefinería, evaluando diferentes escenarios que incluyan Mono DA's y CoDA's de mezclas sinérgicas, así como el uso del biogás como fuente de energía térmica y eléctrica para el proceso de beneficio bovino. Par esto se tomaron los resultados experimentales y las simulaciones del ADM1 correspondientes a las siete mezclas sinérgicas identificadas y evaluadas en los capítulos 1 y 2, junto con las mejores condiciones de TRH e inóculos establecidos en el capítulo 3 para la FA de la fracción sólida de las AV. Dada la escasa información disponible en la bibliografía sobre la integración del procesos de CoDA y FA en plantas de beneficio animal , esta investigación aporta conocimiento valioso sobre su viabilidad técnica y económica, contribuyendo a la toma de decisiones para futuras implementaciones a escala real.

### **4.3. Materiales y métodos**

La presente investigación se realizó en cinco etapas: *i)* descripción de las condiciones actuales de la PBB caso de estudio, *ii)* selección de las mezclas sinérgicas, *iii)* integración del proceso de CoDA, *iv)* análisis económico y *v)* integración del proceso de FA. Inicialmente se realizaron los balances de masa y energía, así como el cálculo de los costos energéticos y de tratamiento de residuos de la PBB caso de estudio. Utilizando el modelo ADM1 calibrado y

validado en el capítulo 2 se simuló el proceso de CoDA de las siete mezclas sinérgicas, con el fin de evaluar su desempeño bajo diferentes tiempos de retención hidráulica (TRH). Con base en los resultados de las simulaciones, se seleccionaron las mezclas de mejor rendimiento. Posteriormente, las mezclas seleccionadas fueron integradas en un proceso de CoDA bajo diferentes escenarios, que contemplaron dos alternativas para el aprovechamiento del biogás y tres opciones para el tratamiento del digerido. Los diferentes escenarios de integración fueron evaluados económicamente mediante un análisis Capex (Capital Expenditure) - Opex (Operational Expenditure). Finalmente, al escenario de integración con mejor desempeño económico se adicionó el proceso de producción de AGV's a partir de la FA de la fracción sólida de las AV, el cual fue sometido a un nuevo análisis económico.

#### ***4.3.1. Planta de beneficio bovino (PBB) caso de estudio***

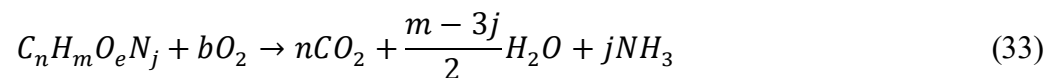
Para el presente trabajo se tomó como caso de estudio la PBB Colbeef, ubicada en el municipio de Floridablanca en el departamento de Santander-Colombia (Latitud 7°3'14.82" N and longitud 73°7'55.82" W). Esta PBB es considerada una de las más grandes y modernas de Colombia, con un sacrificio anual promedio de aproximadamente 153000 bovinos, lo que le permite abastecer el mercado nacional e internacional de carne. Las diferentes corrientes de aguas residuales generadas (AS, AV, AE y AC) por la PBB son tratadas mediante un tratamiento fisicoquímico, el cual consta básicamente de: un tanque sedimentador, una criba, un tanque estabilizador (donde se adicionan una serie de insumos químicos) y un sistema de flotación por aire disuelto (DAF), junto con un filtro prensa y patio de secado-compostaje para los lodos.

### 4.3.2. Escenarios de CoDA de mezclas sinérgicas

Los parámetros óptimos de modelo ADM1 ajustados en el capítulo 2 fueron utilizados para evaluar el desempeño de las CoDA's bajo TRH de 12, 8 y 5 d. Las variables de salida consideradas en el modelo fueron la producción específica de biogás (PEB: m<sup>3</sup>/kg SV), la producción específica de metano (PEM: m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub> /kg SV), el pH, la concentración de NH<sub>3</sub>, AGV's y sólidos totales (ST) en el digestor, la remoción de DQO y la tasa de producción de metano (TPM: m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub> /m<sup>3</sup> digestor d) (Martí-Herrero *et al.* , 2018)

$$TPM = PEM \cdot CO \quad (32)$$

Donde CO es la carga orgánica (kg SV/m<sup>3</sup> d) en cada TRH. Dado que la estructura del modelo ADM1 utilizado fue en base másica, la DQO del digerido se calculó a partir de su composición de sólidos volátiles y la reacción de oxidación de la Ecuación 33 (Baker *et al.* , 1998).



$$b = n + \frac{m - 3j}{4} - \frac{e}{2} \quad (34)$$

Se plantearon ocho escenarios para considerar las diferentes alternativas de CoDA: mezcla cuaternaria, mezclas terciarias y mezclas binarias (Tabla 24).

La selección del mejor escenario de CoDA se basó en su potencial de producción de CH<sub>4</sub> (m<sup>3</sup>/año) y estruvita (t/año), así como en la tasa de aguas residuales gestionadas (% con respecto al flujo total).

**Tabla 24***Escenarios de CoDA evaluados para la integración en la PBB caso de estudio*

<b>Escenario</b>	<b>Mezclas Sinérgicas</b>
A	AS25:AV25:AE25:EB25
B	AS33:AV33:AE34 y AS33:AE33:EB34
C	AV33:AE67 y AS33:AE67
D	AV33:AE67 y AV33:EB67
E	AV33:AE67 y AS67:AV33
F	AS33:AE67 y AV33:EB67
G	AS33:AE67 y AS67:AV33
H	AV33:EB67 y AS67:AV33

*Nota.* AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino.

#### **4.3.3. Escenarios de integración del proceso de CoDA en la PBB caso de estudio**

Para la integración del escenario de CoDA seleccionado (Tabla 24) se plantearon dos alternativas para el aprovechamiento del biogás y tres alternativas para la gestión del digerido, para un total de seis escenarios (Tabla 25).

En los primeros tres escenarios se consideró el uso del biogás para el precalentamiento del caudal de agua de la caldera de la PBB, mediante un economizador de calor (intermediador). En cambio, en los tres últimos escenarios, el biogás se aprovechó en un sistema de cogeneración para producir energía térmica (utilizada en el precalentamiento del agua de caldera) y energía eléctrica. Como opciones para el tratamiento del digerido, se plantearon su gestión en la planta de tratamiento de la PBB, en el proceso de compostaje y en la precipitación de estruvita. Las dos primeras alternativas corresponden a procesos ya establecidos en la PBB, mientras que la tercera

representaría una incorporación tecnológica nueva. En este sentido el proceso de producción de estruvita integrado fue adaptado de Jensen *et al.* (2016) y consta de un sistema de microfiltración, un clarificador y un cristizador.

**Tabla 25**

*Escenarios de integración de la CoDA en la PBB caso de estudio*

Escenario	Uso del Biogás	Tratamiento del Digerido
1		Fisicoquímico
2	Pre calentamiento de agua para la cadera	Precipitación de estruvita
3		Compostaje
4		Fisicoquímico
5	CHP	Precipitación de estruvita
6		Compostaje

Para la integración del proceso de CoDA la PBB caso de estudio cuenta actualmente con un área disponible cercana a los 4500 m<sup>2</sup>, el cual se distribuyó de la siguiente manera: 70% para los digestores tubulares, 10% para la instalación de tanques de almacenamiento y el restante 20% destinado a los procesos de producción de estruvita y AGV's. Se consideró un volumen total de 1200 m<sup>3</sup> para el proceso de CoDA, distribuido en seis digestores de 200 m<sup>3</sup> cada uno (el mayor tamaño comercial disponible en Colombia). Adicionalmente se contemplan al menos cuatro tanques de 50 m<sup>3</sup> para el almacenamiento de las mezclas, digerido y AGV's producidos. Para la producción de AGV's se incluyeron tres digestores más de 200 m<sup>3</sup> cada uno (600 m<sup>3</sup> totales) para aprovechar el caudal restante de las AV. No se consideró área adicional para el economizador de

calor ni el sistema de CHP, dado que el primero se instalaría en la zona ya disponible de la caldera y el segundo se ubicaría en el cuarto de máquinas de la PBB. Tampoco se contempló un área adicional para el patio de compostaje del digerido, dado que la empresa dispone actualmente de una zona destinada al secado de lodos y estiércol.

#### 4.3.4. Evaluación económica de los escenarios de CoDA

Los escenarios de CoDA planteados se implementaron en el software SuperPro Designer (Intelligen, Inc., Scotch Plains, NJ, USA), con el cual se realizaron los balances de masa y energía y la evaluación económica. En la Tabla 26 se resumen los principales supuestos utilizados para el análisis económico.

**Tabla 26**

*Parámetros económicos para la integración del proceso de CoDA en la PBB caso de estudio*

Parámetro	Unidad	Valor	Referencia
Año del análisis		2025	
Tiempo de vida del proyecto	años	20	Lin <i>et al.</i> (2019)
Tiempo de operación	h/año	5840	Colbeef
Tiempo de construcción	mes	6	SuperPro Designer
Periodo de arranque	mes	3	SuperPro Designer
Tasa de descuento	%	9.25	DTF

Se asumió una operación de 16 horas al día (5840 h/año), distribuido en dos turnos de 8 horas cada uno, en concordancia con el tiempo de operación del área de sacrificio de la PBB caso de estudio (Colbeef). Para el análisis económico se tomó como tasa de descuento el promedio de la tasa de depósito a término fijo (DTF) en Colombia durante el 2024. En la Tabla 27 se presenta la estructura de costos utilizada para el CAPEX y el OPEX.

**Tabla 27***Estructura de costos para la integración del proceso de CoDA en la PBB caso de estudio*

Parámetro	Símbolo	Unidad	Valor	Referencia
Costos Directos (CD)= PE+IE+I+T+IE+MT Costos Indirectos (CI)= IN + CONS Capital Fijo Directo (CFD)= CD + CI + HO + CON				
Precio de los equipos	PE	USD\$	Según el equipo	Proveedores nacionales e internacionales Estudios previos
Instalación de Equipos	IE	USD\$	PE*6%	Peters y Timmerhaus (1991)
Instrumentación	I	USD\$	PE*5%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Tuberías	T	USD\$	PE*5%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Instalaciones Eléctricas	IE	USD\$	PE*5%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Mejoramiento del Terreno	MT	USD\$	PE*10%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Ingeniería	IN	USD\$	CD*4%	Peters y Timmerhaus (1991)
Construcción	CONS	USD\$	CD*4%	Peters y Timmerhaus (1991)
Honorarios	HO	USD\$	(CD+CI)*5%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Contingencia	CON	USD\$	(CD+CI)*10%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Arranque y Validación	---	USD\$	CFD*5%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Capital de trabajo	---	USD\$	Pago servicios + materiales + Honorarios por 30 días	SuperPro Designer
<b>OPEX</b>				
Mantenimiento	---	USD\$/año	CFD*1%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Seguro	---	USD\$/año	CFD*1%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Impuesto	---	USD\$/año	CFD*1%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Gastos de planta	---	USD\$/año	CFD*1%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Depreciación	---	USD\$/año	Lineal	SuperPro Designer
Valor Residual	---	USD\$/año	CFD*5%	SuperPro Designer

Parámetro	Símbolo	Unidad	Valor	Referencia
Costos de Labor Total	CLT	USD\$/año	Según salario mínimo colombiano	Decreto 1572 de 2024 (Ministerio del Trabajo)
Laboratorio y control de calidad	---	USD\$/año	CLT*5%	Lin <i>et al.</i> (2019)
Servicios	---	USD\$/año	Según los equipos utilizados	Especificaciones proveedor
Consumibles	---	USD\$/año	Según especificaciones de cada proceso	Especificaciones proveedor
<b>Beneficios</b>				
Agua caliente <sup>a</sup>	AC	USD\$/kg	Según alternativa de aprovechamiento del biogás	---
Energía eléctrica generada	EE	USD\$/kWh	\$0.11	Colbeef
Estruvita	--	USD\$/kg	0.85	Martín-Hernández <i>et al.</i> (2023)
Compostaje	--	USD\$/bulto de 50 kg	8.73	Mercado local
Ahorro insumos químicos	--	USD\$/kg	Según alternativa de tratamiento del digerido	Colbeef
Ahorro en el tratamiento de aguas residuales	--	USD\$/m <sup>3</sup>	0.88	Colbeef

*Nota.* a. Se calculó a partir del ahorro de gas natural logrado.

Dentro del CAPEX se consideró un capital de trabajo inicial destinado a cubrir los costos de servicios industriales (energía eléctrica, refrigerante, etc.), consumibles y honorarios para la operación durante los primeros 30 días del proceso. Dado que algunos precios de equipos fueron obtenidos de estudios previos, se ajustaron al año vigente utilizando el Chemical Engineering Plant Cost Index (CEPCI).

$$PE_{2025} = PE_{ref} \cdot \left( \frac{CEPCI_{2025}}{CEPCI_{ref}} \right) \quad (35)$$

Donde  $PE_{ref}$  y  $CEPCI_{ref}$  se refieren a los valores en el año de referencia. Cuando los costos de los equipos obtenidos de la literatura o de páginas de proveedores no correspondieron con las

capacidades requeridas, se ajustaron utilizando la regla de los seis décimos, la cual escala los precios a partir de la relación entre sus capacidades (Pan *et al.* , 2024).

$$PE = PE_o \left( \frac{C}{C_o} \right)^{0.6} \quad (36)$$

Donde  $PE_o$  y  $C_o$  corresponden al precio y la capacidad del equipo base y  $C$  a la capacidad del equipo requerido. En el OPEX, los honorarios se calcularon considerando dos turnos de trabajo diario (8 h/turno) y tres operadores por turno: uno encargado del aprovechamiento de biogás (Digestores-economizador de calor o Digestores-CHP), otro responsable del tratamiento del digerido (precipitación de estruvita o compostaje) y un tercero asignado a la producción de AGV's. Así mismo, los costos laborales se liquidaron con base en un salario mínimo legal vigente, incluyendo las cargas prestacionales (cesantías, intereses sobre cesantías, primas de servicio, vacaciones), el auxilio de transporte, los aportes a seguridad social (salud, pensión y ARL), caja de compensación familiar y recargos diurnos y nocturnos, conforme a lo establecido en el Decreto 1572 de 2024 del Ministerio del Trabajo de Colombia. Dentro de los consumibles se consideraron principalmente las membranas de microfiltración y las bolsas para el empacado de la estruvita y el compostaje.

El precio del agua caliente (AC: USD\$/kg) se estimó a partir del ahorro de gas natural ( $GN_{Ah}$ :  $m^3/año$ ) logrado con el precalentamiento del agua de caldera.

$$GN_{Ah} = \frac{m_{H2O} \cdot C_p (T_h - T_c)}{PCI_{GN}} \quad (37)$$

$$AC = \frac{GN_{Ah} \cdot PGN}{m_{H2O}} \quad (38)$$

Donde  $m_{H_2O}$  y  $C_p$  son el flujo (kg/año) y capacidad calorífica (4.18 kJ/kg °C) del agua de caldera, respectivamente,  $PCI_{GN}$  es el poder calorífico inferior del gas natural (39100 kJ/m<sup>3</sup>) (CREG, 2018),  $T_c$  y  $T_h$  (°C) son las temperaturas de entrada y salida de la corriente de agua, respectivamente, y  $PGN$  es el precio del gas natural (USD\$ 0.64/m<sup>3</sup>).

#### ***4.3.5. Integración del proceso de fermentación acidogénica en la PBB***

Al mejor escenario de integración de la CoDA en la PBB caso de estudio, se le incorporó el proceso de producción de AGV's a partir de la FA de la fracción sólida de las AV. Para esto se consideró el esquema de producción propuesto por Veluswamy *et al.* (2021), el cual involucran un proceso de FA seguido de una sedimentación, una microfiltración y una purificación de los AGV's mediante electrodiálisis. El anterior esquema fue implementado en el software SuperPro Designer, para realizar los respectivos balances de masa y energía, así como evaluar su viabilidad económica. Dado que no existen datos comparativos en el mercado sobre el precio de venta de los AGV's en solución acuosa, se estimó un precio mínimo de venta considerando el punto de equilibrio del proyecto.

### **4.4. Resultados y discusión**

#### ***4.4.1. Descripción de las condiciones actuales de la PBB caso de estudio***

En la Tabla 28 se resumen las principales características operaciones de la PBB caso de estudio.

La PBB caso de estudio sacrifica alrededor de 153000 bovinos/año, con peso promedio de 443 kg/animal, lo que equivale a un total de 67818 t/año de peso en pie (Figura 21). Con un rendimiento promedio del 53% (DANE, 2025), la PBB produce alrededor de 35819 t/año de carne en canal, como producto principal, y cerca de 6970 t/año de vísceras, como producto secundario. Anualmente en el proceso de beneficio bovino se consume en promedio 3276 MWh y 2999 MWh

de energía eléctrica y térmica, respectivamente. La energía eléctrica es obtenida de la red local de electricidad, mientras que la energía térmica es producida en la planta a través de una caldera alimentada con 276135 m<sup>3</sup>/año de gas natural. Adicionalmente se consumen 3503 gal/año (132 MWh/año) de combustible diesel para el arranque de plantas eléctricas y bombas de emergencia.

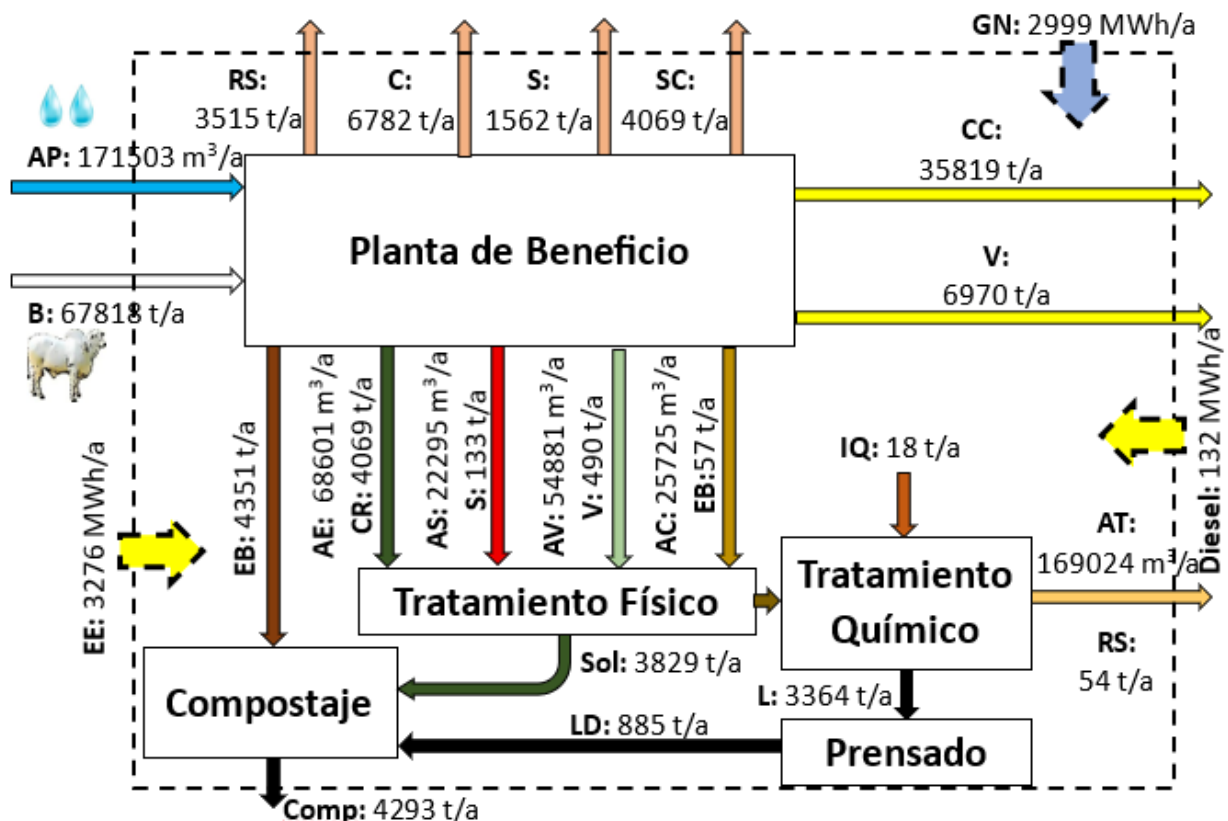
**Tabla 28**

*Características operacionales de la PBB seleccionada para este estudio*

<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor</b>
<b>Datos Generales</b>		
Animales sacrificados	Bovinos/año	153185
Consumo de energía eléctrica	MWh/año	3276
Consumo de gas natural	m <sup>3</sup> /año	276135
Consumo de diésel	gal/año	3503
Flujo de aguas de sacrificio (AS)	m <sup>3</sup> /año	22295
Flujo de aguas de lavado de vísceras (AV)	m <sup>3</sup> /año	54881
Flujo de aguas de lavado estomacal (AE)	m <sup>3</sup> /año	68601
Estiércol bovino (EB)	t/año	4408
<b>Consumo de Insumos Químicos</b>		
Cloro granular	kg/año	36
Cloruro férrico (FeCl <sub>3</sub> )	kg/año	17491
Polímero aniónico	kg/año	209
Antiespumante	kg/año	47
Polímero catiónico	kg/año	516
<b>Costos de la Energía</b>		
Energía Eléctrica	USD\$/kWh	\$0.11
Gas Natural	USD\$/m <sup>3</sup>	\$0.64
Diésel	USD\$/gal	\$2.70
<b>Costo de tratamiento de aguas residuales</b>		
Primera etapa (tratamiento físico)	USD\$/m <sup>3</sup>	0.88
Segunda etapa (tratamiento químico)	USD\$/m <sup>3</sup>	0.78
Cloro granular	USD\$/kg	5.01
Cloruro férrico (FeCl <sub>3</sub> )	USD\$/kg	0.49
Polímero aniónico	USD\$/kg	4.81
Antiespumante	USD\$/kg	4.45
Polímero catiónico	USD\$/kg	5.16

Figura 21

Balances de masa y energía de la PBB caso de estudio



*Nota.* AP: Agua potable , RS: Residuos sólidos , C: Cueros, S:Sangre, SC: Subproductos comestibles, CC: Carne en canal, V: Vísceras, EB: Estiércol bovino, AE: Aguas estomacales, AS: Aguas de sacrificio, AV: Aguas viscerales, AC: Aguas de corral, CR: Contenido ruminal, Comp: Compost, Sol: sólidos filtrados, IQ: Insumos químicos, L: lodos, LD: lodos deshidratados, AT: Aguas tratadas.

Además de la carne en canal y las vísceras, en el proceso de beneficio bovino se generan una serie de subproductos no comestibles como residuos sólidos (RS), cueros (C), sangre (S) y subproductos comestibles (SC), tales como patas y cabezas. Estos materiales son comercializados por la PBB a distintas industrias (alimentación animal, cosmética, marroquinería, farmacéutica y de procesados). Sin embargo, la PBB también genera en promedio 1.1 m<sup>3</sup> de agua residual/bovino sacrificado, lo que equivale a un total de 171500 m<sup>3</sup>/año. Este caudal de aguas residuales está

conformado por cuatro corrientes: aguas de corrales (AC: 15% del total), aguas de sacrificio (AS: 13%), aguas de lavado de vísceras (AV: 32%) y aguas de lavado estomacal (AE: 40%). Así mismo, se estima que en la PBB caso de estudio se producen cerca de 4408 t/año de estiércol bovino (EB).

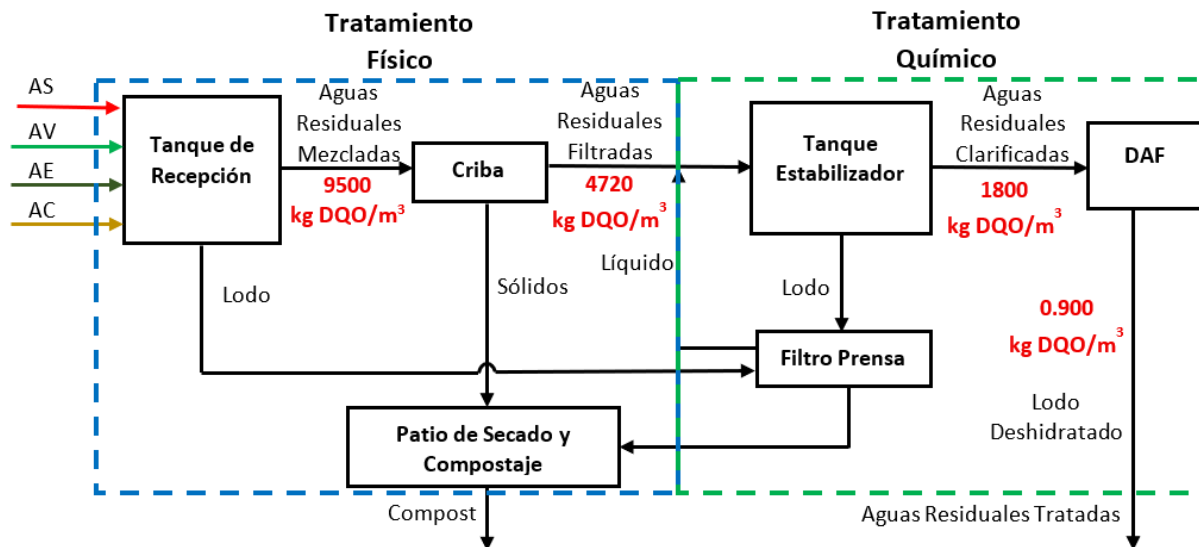
Las corrientes de aguas residuales son tratadas mediante un tratamiento fisicoquímico que comprende un tanque de recepción/sedimentación, una criba, un tanque de floculación-coagulación y un DAF. Durante el tratamiento fisicoquímico se consumen en promedio 18 t/año de insumos químicos correspondientes a cloro granular, cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), polímero aniónico, antiespumante y polímero catiónico. Los lodos obtenidos en el tratamiento de las aguas residuales son deshidratados mediante prensado y, posteriormente, trasladados junto con los sólidos de la criba y el EB a un patio, donde se someten a un proceso de secado natural y volteo manual. De esta forma, se consigue un compost no estandarizado que es distribuido a fincas cercanas.

En la Figura 22 se presenta un diagrama del tratamiento fisicoquímico empleado en la PBB caso de estudio.

En el tratamiento fisicoquímico, las aguas residuales son inicialmente mezcladas en el tanque de recepción donde ocurre una primera sedimentación de sólidos. La DQO promedio en el tanque de recepción es de 9500 mg/L. Posteriormente, las aguas sedimentadas son enviadas a la criba donde se retira el material sólido suspendido, logrando una DQO promedio de 4720 mg/L. Las aguas filtradas son enviadas al tanque estabilizador donde se agregan los insumos químicos para su floculación-coagulación (Tabla 28). El tratamiento químico permite reducir la DQO de las aguas residuales a aproximadamente 1800 mg/L. Posteriormente las aguas floculadas-coaguladas son enviadas al DAF. Finalmente, las aguas tratadas son descargadas a un río cercano con una DQO máxima de 900 mg/L.

**Figura 22**

*Esquema del tratamiento fisicoquímico utilizado en la PBB caso de estudio*



*Nota.* AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado visceral; AE: aguas de lavado estomacal y AC: aguas de corrales.

Es posible dividir en dos el proceso de tratamiento actual de las aguas residuales. La primera etapa de tratamiento comprende entre la entrada al tanque receptor y la salida de la criba (recuadro azul punteado en la Figura 22). La segunda etapa va desde la entrada al tanque estabilizador hasta la salida del DAF (recuadro verde punteado en la Figura 22). Las dos etapas presentan costos de tratamiento similares (Tabla 28). Sin embargo, los costos en la primera etapa se encuentran relacionados principalmente con el consumo de energía eléctrica en las bombas (para aguas residuales y lodos) y el tamiz y el personal operativo, mientras que la segunda etapa los costos se deben principalmente al consumo de insumos químicos.

Actualmente los costos totales de energía (eléctrica y térmica) y tratamiento de aguas residuales de la PBB caso de estudio ascienden a USD \$547000/año y USD \$276000/año, respectivamente.

#### 4.4.2. *Análisis técnico de la integración del proceso de CoDA en la PBB caso de estudio*

##### **Selección de las mezclas**

Mediante el modelo ADM1 calibrado y validado en el capítulo 2 se simuló el comportamiento de la CoDA de las siete mezclas sinérgicas, los resultados se resumen en la Tabla 29. Las mezclas AS33:AV33:AE34, AS33:AE67, AS33:AE33:EB34 y AS67:AV33 exhibieron un desempeño adecuado en el rango de TRH evaluados, lo cual se refleja en un pH cercano a la neutralidad y concentraciones de  $\text{NH}_3$  por debajo del umbral de inhibición ( $K_{I,\text{NH}_3} = 19 \text{ mg/L}$  para la mayoría de las mezclas y  $31 \text{ mg/L}$  para AS67:AV33). Así mismo, las concentraciones de AGV's fueron menores a  $3000 \text{ mg/L}$ ; límite considerado tóxico para las arqueas metanogénicas (Cuetos *et al.*, 2010). No obstante, la CoDA de la mezcla AV33:AE67 bajo  $\text{TRH} < 12 \text{ d}$  presentó problemas de acidificación. Por su parte, la CoDA cuaternaria alcanzó concentraciones de ST en el digester superiores al 20% en TRH de 8 y 5 d, lo que indica una transición hacia un régimen de DA seca (Shapovalov *et al.*, 2020). En consecuencia, los resultados del ADM1 ajustado en el presente estudio dejan de ser confiables bajo estas condiciones, dado que la calibración y validación se realizó en un régimen de DA húmeda. Estudios previos han demostrado que el rango adecuado de CO en digestores tubulares oscila entre  $0.2$  y  $2.0 \text{ kg SV/m}^3 \text{ d}$  (Ferrer *et al.*, 2011; Usack *et al.*, 2014). En este sentido, los valores simulados para la CoDA AV33:EB67 con TRH inferior a  $12 \text{ d}$  resultaron poco confiables pues superaron el rango de CO reportado anteriormente.

**Tabla 29**

*Resultados de la simulación de la CoDA de mezclas sinérgicas de aguas residuales y estiércol de PBB*

Mezcla	TRH (d)	CO (kg SV/m <sup>3</sup> d)	PEM (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg SV)	TPM (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> / m <sup>3</sup> digestor·d)	pH	NH <sub>3</sub> (mg/L)	AGV's (mg/L)	ST (%)	Remoción de DQO (%)
AV33:AE67	18	0.55	0.143	0.079	6.9	1.80	32	8	71
	12	0.74	0.190	0.140	6.8	1.40	27	17	53
	8	1.10	0.014	0.015	4.9	0.02	3158	18	4
	5	1.77	0.010	0.018	4.9	0.02	3060	19	5
AS33:AV33:AE34	18	0.54	0.143	0.077	6.9	3.01	49	7	63
	12	0.74	0.141	0.104	6.9	2.87	450	8	45
	8	1.10	0.107	0.118	6.8	2.08	700	8	33
	5	1.76	0.064	0.114	6.8	1.90	739	8	29
AS25:AV25:AE25:EB25	18	0.71	0.157	0.111	7.1	6.28	42	11	72
	12	1.08	0.171	0.185	7.1	7.27	23	18	55
	8	1.62	0.154	0.249	7.1	6.76	40	23	64
	5	2.59	0.097	0.251	7.1	6.34	42	25	51
AS33:AE67	18	0.54	0.252	0.136	7.0	5.08	52	14	75
	12	0.78	0.271	0.211	7.1	5.79	20	10	83
	8	1.17	0.235	0.276	7.1	5.31	28	11	73
	5	1.88	0.168	0.316	7.2	5.37	76	12	52

Mezcla	TRH (d)	CO (kg SV/m <sup>3</sup> d)	PEM (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg SV)	TPM (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> / m <sup>3</sup> digestor·d)	pH	NH <sub>3</sub> (mg/L)	AGV's (mg/L)	ST (%)	Remoción de DQO (%)
AS33:AE33:EB34	18	0.54	0.213	0.115	7.0	5.80	53	13	73
	12	0.79	0.261	0.207	7.1	6.58	64	10	78
	8	1.19	0.204	0.242	7.1	5.28	340	10	65
	5	1.90	0.136	0.259	7.0	4.17	649	11	44
AV33:EB67	18	1.45	0.101	0.147	7.2	8.97	61	12	68
	12	1.94	0.107	0.208	7.2	10.33	262	13	53
	8	2.91	0.083	0.242	7.1	7.24	1025	14	28
	5	4.65	0.067	0.310	7.0	6.67	1354	14	22
AS67:AV33	18	0.38	0.350	0.133	7.5	25.65	11	1	44
	12	0.55	0.319	0.175	7.4	19.98	299	1	46
	8	0.82	0.188	0.155	7.2	11.56	1574	2	27
	5	1.32	0.143	0.188	7.2	10.25	1673	2	21

*Nota.* AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino, TRH: tiempo de retención hidráulica, PEM: producción específica de metano, TPM: tasa de producción de metano, SV: sólidos volátiles, ST: sólidos totales.

Con base en lo discutido anteriormente, fueron seleccionadas aquellas condiciones de TRH que permitieron obtener las mayores TPM para cada CoDA, tal como se muestra en la Tabla 30. Dado que el modelo ADM1 utilizado en el presente estudio no presenta resultados con respecto al fósforo, se asumió que los rendimientos de estruvita (PES) y sus purezas no variaron con el TRH

y se asumieron los datos experimentales hallados en el capítulo 2 para una TRH de 18 d (Tabla 30).

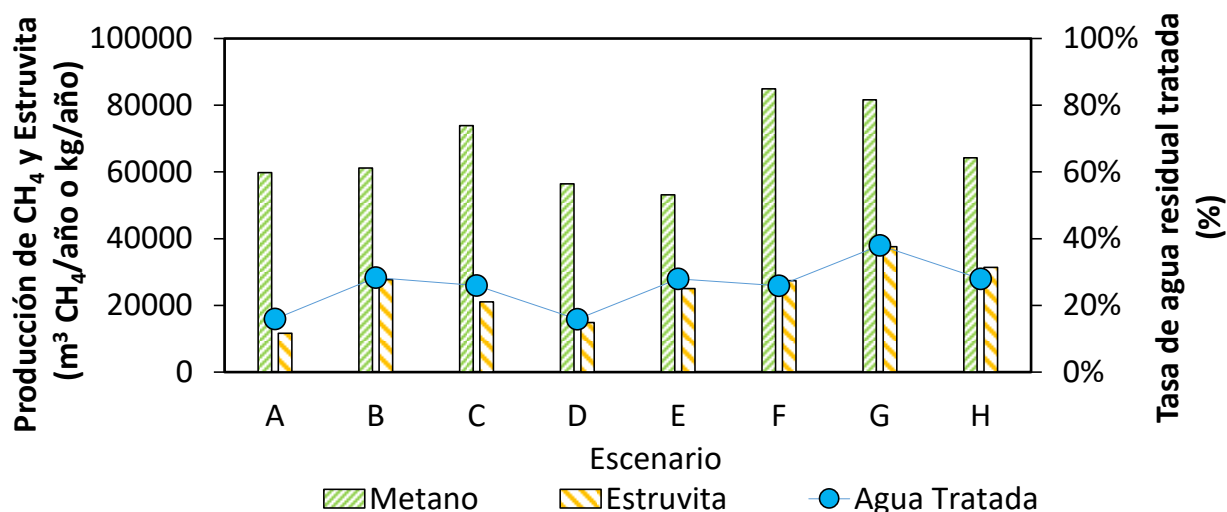
**Tabla 30**

*Resumen de las mejores condiciones de TRH para cada CoDA*

Mezcla	TRH (d)	CO (kg SV/m <sup>3</sup> d)	TPM (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /m <sup>3</sup> digestor d)	Remoción de DQO (%)	PES <sub>tubular</sub> (kg/m <sup>3</sup> )	Pureza Estruvita (%)
AV33:AE67	12	0.74	0.140	53	0.311	59.3
AS33:AV33:AE34	8	1.10	0.118	33	0.368	60.7
AS25:AV25:AE25:EB25	12	1.08	0.185	55	0.417	58.2
AS33:AE67	5	1.88	0.316	52	0.545	59.9
AS33:AE33:EB34	5	1.90	0.259	44	0.693	59.0
AV:33:EB67	12	1.94	0.208	53	0.782	60.1
AS67:AV33	5	1.32	0.188	21	0.606	61.2

*Nota.* AS: aguas de sacrificio, AV: aguas de lavado de vísceras, AE: aguas de lavado estomacal, EB: estiércol bovino, TRH: tiempo de retención hidráulica, CO: carga orgánica, TPM: tasa de producción de metano, PES: producción de estruvita.

Los resultados de la Tabla 30 permitieron establecer los desempeños (Figura 23) de los diferentes escenarios de CoDA evaluados en términos de la producción anual de metano (m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/año) y estruvita (kg/año) y la tasa de tratamiento de las corrientes de aguas residuales (% con respecto al caudal total).

**Figura 23***Desempeño de cada escenario de CoDA*

*Nota.* A: AS25:AV25:AE25:EB25; B: AS33:AV33:AE34 y AS33:AE33:EB34, C: AV33:AE67 y AS33:AE67, D: AV33:AE67 y AV33:EB67, E: AV33:AE67 y AS67:AV33, F: AS33:AE67 y AV33:EB67, G: AS33:AE67 y AS67:AV33 y H: AV33:EB67 y AS67:AV33.

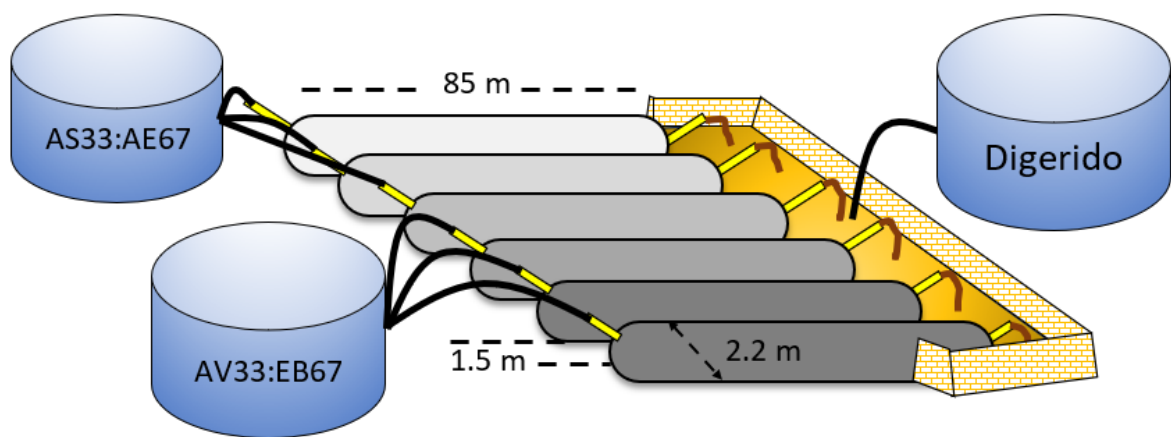
El escenario de mejor desempeño correspondió a las CoDA's binarias AS33:AE67 y AS67:AV33 (escenario G), la cual reporta un potencial de producción de 84921 m<sup>3</sup>/año y 37588 kg/año de CH<sub>4</sub> y estruvita, respectivamente, mientras se gestiona el 38% de la corriente total de aguas residuales. Sin embargo, en este escenario se excluye al estiércol como cosustrato. En consecuencia, se seleccionó el segundo mejor escenario, correspondiente a las mezclas binarias AS33:AE67 y AV33:EB67 (escenario F). Bajo este escenario se logra una producción anual de 84921 m<sup>3</sup> de CH<sub>4</sub> y 27389 kg de estruvita, junto con la gestión del 26% del caudal de aguas residuales y el 31% del flujo de EB generado en la PBB. En este sentido, el escenario de CoDA F fue posteriormente integrado a la PBB, considerando alternativas para el aprovechamiento del biogás y el tratamiento del digerido, las cuales se abordan en las siguientes secciones.

### Evaluación de los escenarios de integración

El estudio técnico-económico para implementar la DA de fluentes de PBB, se planteó para el escenario de CoDA seleccionado anteriormente, el cual corresponde a las mezclas AS33:AE67 y AV33:EB67. Para esto, se consideró un volumen total de digestión de 1200 m<sup>3</sup>, distribuido en 6 digestores de 200 m<sup>3</sup>/ cada uno (Figura 24). Los digestores presentan una longitud aproximada de 85 m y un ancho de 2.2 m y se instalarían en paralelo. De acuerdo con las indicaciones del proveedor, los digestores deben instalarse en zanjas de 80 cm de profundidad, dejando una separación de 1.5 m entre ellas.

#### Figura 24

*Distribución de los digestores para la integración de la CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB*



La integración de la CoDA en la PBB caso de estudio se realizó a través de seis escenarios (Tabla 25), los cuales involucran dos alternativas de aprovechamiento del biogás (precalentamiento de agua para la caldera y un sistema CHP) y tres opciones de tratamiento del digerido (físicoquímico, precipitación de estruvita y compostaje). En la Figuras 25 a 27 se describen los diferentes escenarios implementados en el software SuperPro Designer.

Figura 25

Sistema de digestores anaerobios implementados en SuperPro Designer

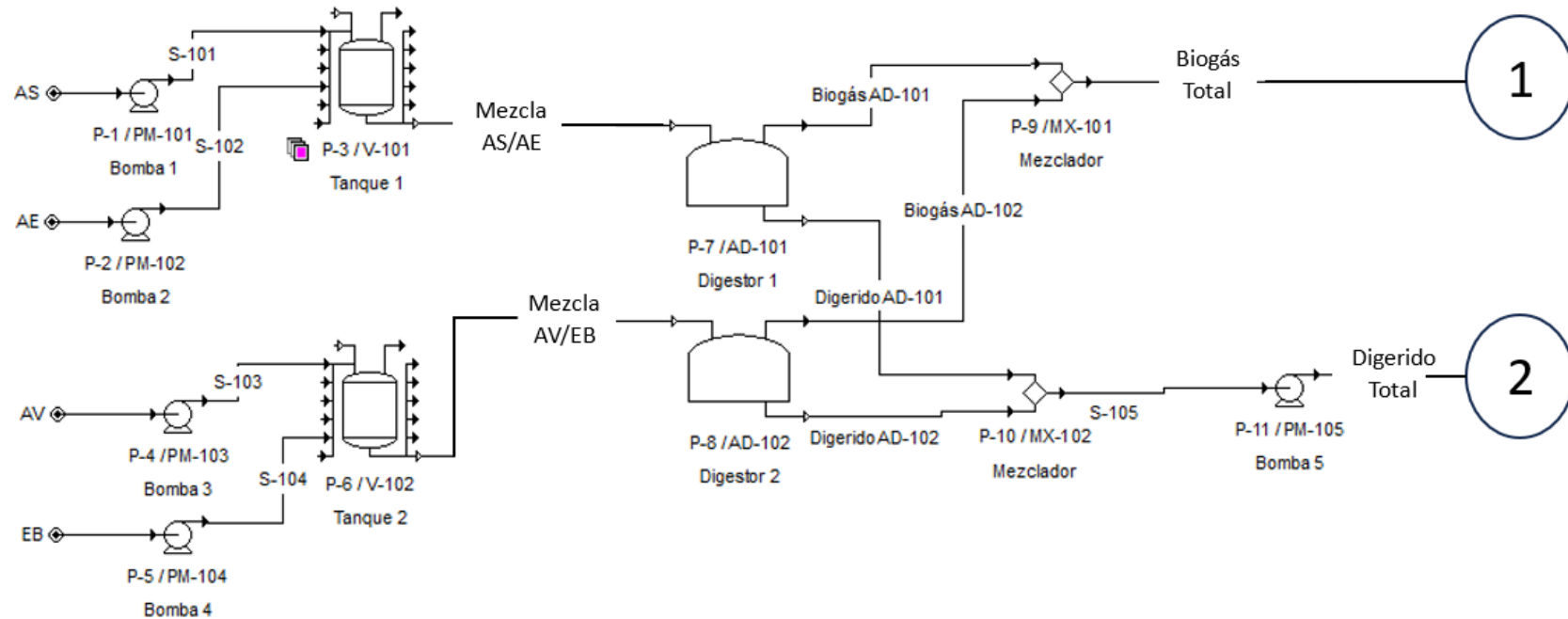


Figura 26

Alternativas de aprovechamiento del biogás: a) precalentamiento del agua de caldera; b) sistema CHP

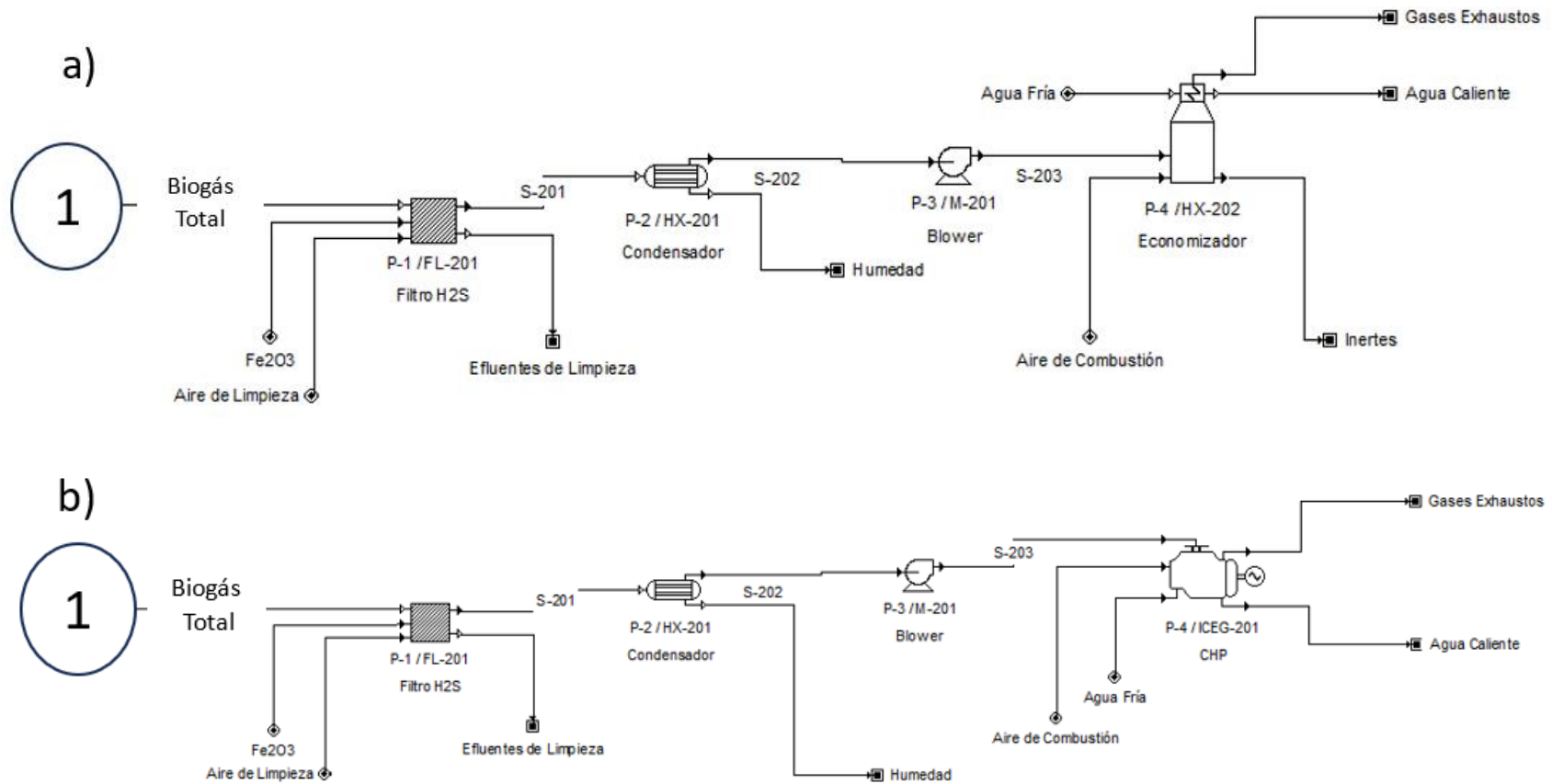


Figura 27

Opciones de tratamiento del digerido: a) fisicoquímico, b) precipitación de estruvita y c) compostaje

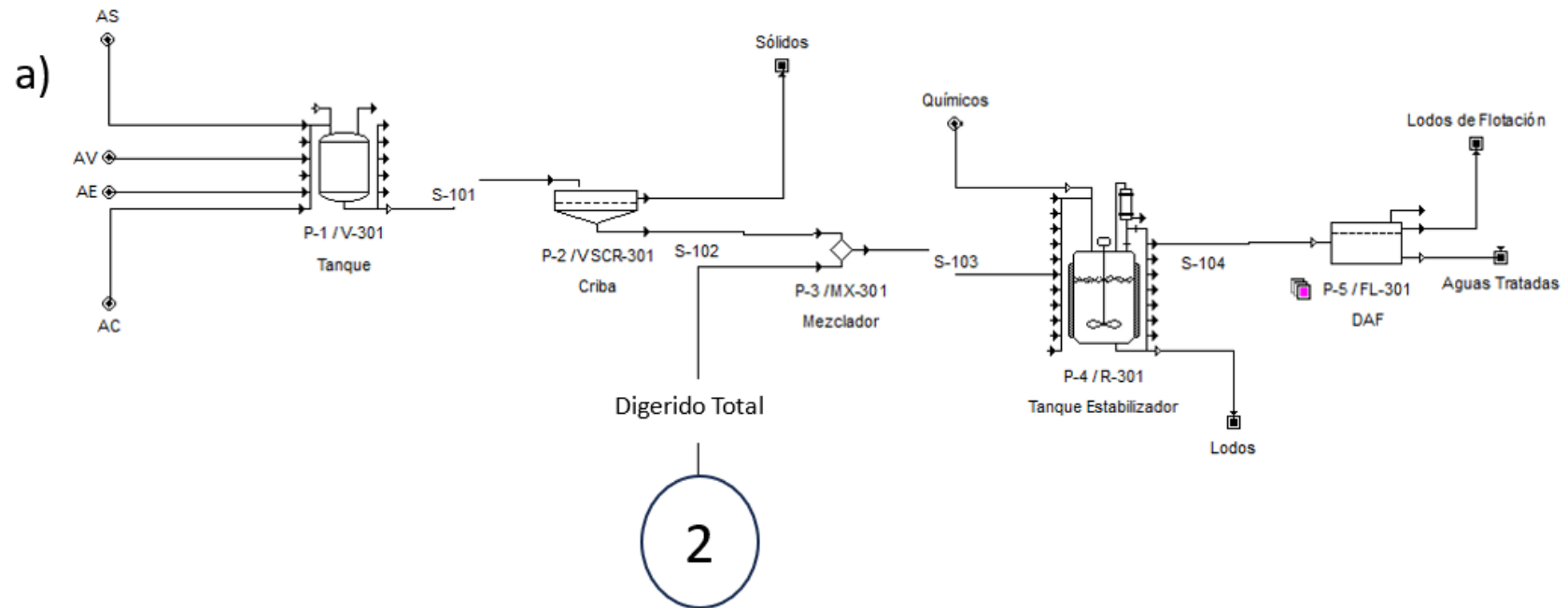


Figura 27 (Continuación)

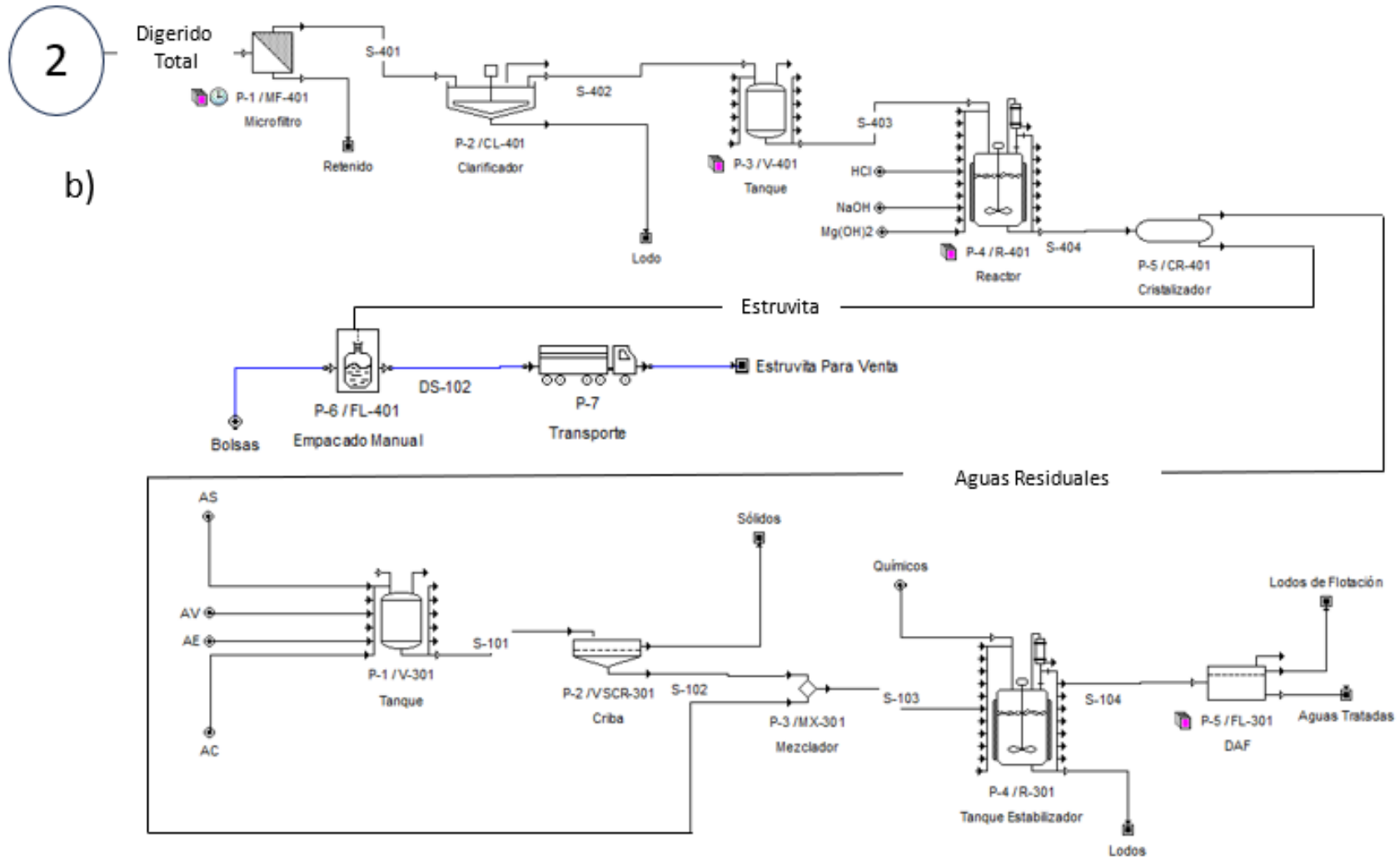
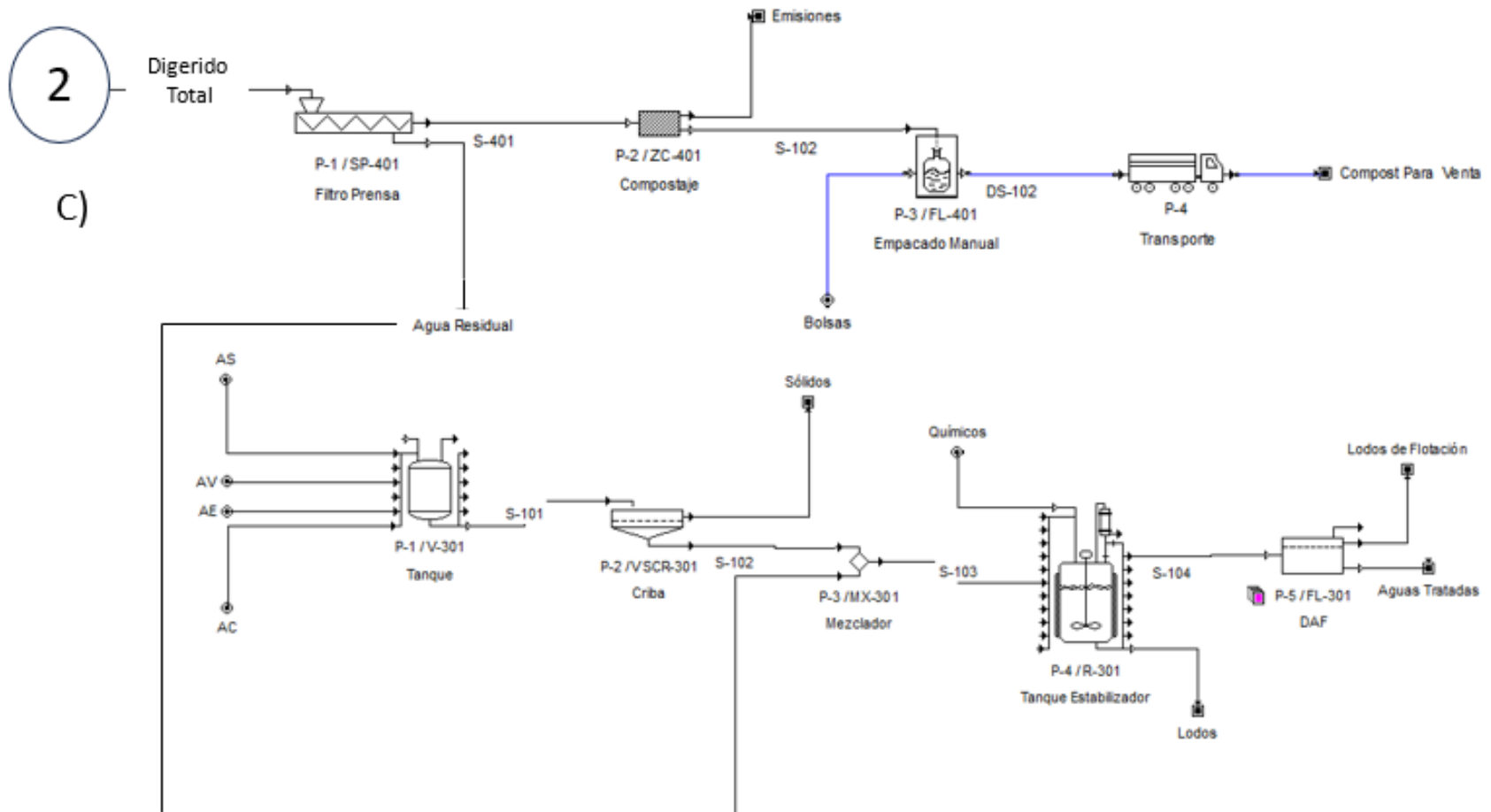


Figura 27 (Continuación)



Las mezclas son preparadas en tanques de 50 m<sup>3</sup> (V-101 y V-102); la mayor capacidad disponible entre proveedores locales (Figura 25). Al tanque V-101 ingresan anualmente 18301 y 12492 m<sup>3</sup> de AS y AE, respectivamente, lo cual representa una gestión del 82% de la corriente total de AS y un 18% del caudal de AE. De igual manera, al tanque V-102 ingresan al año 12198 m<sup>3</sup> de AV y 1365 t de EB, lo que significa una gestión del 22% del caudal total de las AV y el 31% del estiércol generado en la PBB. Debido al caudal de la mezcla AS33:AE67, son necesarios dos tanques para su almacenamiento. Cada mezcla es alimentada a su respectivo sistema de DA (AD-101 y AD-102). Posteriormente, las corrientes de biogás generadas se mezclan para una producción total de 108876 m<sup>3</sup>/año, con una composición de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y humedad del 20.4%, 74.5% y 4.6%, respectivamente. Durante los ensayos de CoDA en digestores tubulares a escala de laboratorio (capítulo 2) no se detectó presencia de H<sub>2</sub>S en el biogás. Sin embargo, por razones de seguridad, se incluyó una composición de 5000 ppm de H<sub>2</sub>S, correspondiente al valor máximo típicamente reportado en la literatura (Konkol *et al.*, 2021). Así mismo, los caudales de digerido se combinan para ser enviados a su tratamiento con una DQO de 4470 mg/L.

Independientemente de la alternativa, el biogás debe pasar por un proceso de limpieza para reducir el contenido de H<sub>2</sub>S y humedad (Figura 26). El máximo contenido máximo recomendado de H<sub>2</sub>S en el biogás para su uso en calderas y en motores de combustión interna es de 1000 y 500 ppm, respectivamente (Kapoor *et al.*, 2020). Concentraciones superiores pueden causar problemas excesivos de corrosión y acortar la vida útil de los equipos. Por lo anterior, en el presente estudio se consideró la instalación de un filtro de óxido férrico (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) (FL-201) para reducir la concentración del H<sub>2</sub>S en el biogás hasta un nivel de 500 ppm. Este tipo de filtros son ampliamente utilizados. Se estima que por cada kg de FeO<sub>3</sub> es posible remover 0.56 kg de sulfuro del biogás en forma de azufre elemental, como lo muestran las ecuaciones 39 y 40 (Huertas *et al.*, 2020).



El  $Fe_2O_3$  puede regenerarse con la adición de oxígeno, lo cual prolonga la vida útil del filtro. También se recomienda reducir la humedad del biogás hasta un punto de rocío de 5 °C (Tiong *et al.*, 2021), por lo cual se incorporó un condensador (HX-201) con freón-12 como fluido de enfriamiento. Este refrigerante se encuentra disponible en el sistema de refrigeración de la PBB caso de estudio. Una vez limpio, el biogás puede ser alimentado a un quemador conectado a un economizador de calor (Figura 26a), para el precalentamiento del agua de la caldera (HX-202). La caldera de la PBB se alimenta con 873.25 kg/h de agua a una presión de 294.19 kPa. En estas condiciones, el economizador permite precalentarla el agua hasta su temperatura de saturación (133 °C). El diseño del economizador fue realizado en un estudio previo, el cual consideró las condiciones específicas de la PBB caso de estudio (Suarez y Blanco, 2024). Para el uso del biogás en un sistema CHP (ICEG-201) (Figura 26b), se asumió un generador eléctrico con motor de combustión interna (Kapoor *et al.*, 2020) equipado con un sistema de recuperación de calor, presentando eficiencias térmica y eléctrica de 46% y 39%, respectivamente (Wang *et al.*, 2018). De esta manera, es posible generar 329 MWh/año de energía eléctrica y precalentar el agua de caldera hasta los 91 °C, simultáneamente.

La primera opción de tratamiento del digerido contempla su incorporación al tratamiento fisicoquímico de la PBB, el cual se realiza en la segunda etapa de la planta de tratamiento (Figura 27a), mezclándose con la corriente de aguas residuales proveniente de la criba. La DQO del digerido total (mezcla de los digestores AD-101 y AD-102) es cercana a la de las aguas residuales a la salida de la criba (4720 mg/L), por lo cual no se generan aumentos significativos en el consumo de insumos químicos durante el tratamiento fisicoquímico.

Para la segunda opción de tratamiento se adoptó un proceso de precipitación de estruvita (Figura 27b). En este proceso, el digerido ingresa a un sistema de microfiltración (MF-401) donde se remueven aproximadamente el 40% de los sólidos totales (US EPA, 2005). El filtrado es clarificado (CL-401) para remover cerca del 80% los sólidos suspendidos totales (SST) que pudieron pasar la microfiltración (WEF, 2009). El líquido clarificado se almacena en un tanque de 50 m<sup>3</sup> (V-401) y se dosifica a un sistema reactor-cristalizador (R-401 y CR-401), donde se suministra inicialmente HCl, con el objetivo de reducir el pH para solubilizar el fósforo (P) particulado (Zhao *et al.*, 2010). Seguidamente se adiciona Mg(OH)<sub>2</sub> como fuente de magnesio en una relación molar Mg/P de 1.5 y se ajusta el pH a 9.0 mediante la dosificación de NaOH. La mezcla de reacción se agita suavemente para garantizar la correcta solubilización del Mg(OH)<sub>2</sub> y posteriormente se deja decantar para remover los cristales. La estruvita (27.4 t/año) es enviada a un proceso de empacado manual (FL-401) y transportada para su venta. En este proceso se consigue un rendimiento de estruvita, considerando el flujo total de digerido, de 0.618 kg/m<sup>3</sup> de digerido tratado, con una pureza promedio del 60.0%. Por su parte, el agua residual ingresa a la planta de tratamiento de la PBB con una DQO de 1697 mg/L, lo que permite una reducción estimada de 3801 kg/año en el consumo de insumos químicos utilizados en el tratamiento fisicoquímico.

En la tercera opción de tratamiento del digerido, se incluyó un proceso de compostaje (Figura 27c). Actualmente la PBB realiza un proceso de compostaje a los lodos y estiércol generados en la planta, el cual no se encuentra ni estandarizado ni mecanizado. Por lo anterior, en el presente trabajo se optó por implementar un sistema de compostaje en hileras, para mejorar la aireación del material, e incorporar un volteador de compost mecánico, con el fin de estandarizar el proceso. En este sentido, el digerido primero ingresa a un proceso de deshidratación mediante

una prensa de tornillo (SP-401), obteniendo un lodo con 65% de humedad (Metcalf y Eddy, 2013). Posteriormente, el lodo pasa a la zona de compostaje (ZC-401) donde es distribuido en pilas de 1.5 m de alto y 3.0 m de ancho, con espaciamiento de 1 m entre ellas para facilitar la aireación y el paso de la maquina volteadora (Roman *et al.* , 2013). La frecuencia de volteo varía según el método de compostaje empleado. Para el presente análisis se seleccionó el método Berkley de compostaje rápido, con una frecuencia de volteo cada dos días durante un periodo de compostaje de tres semanas, manteniendo una humedad mínima del 45% (Misra *et al.* , 2003). Estudios anteriores han demostrado que durante el proceso de compostaje de digeridos entre el 16% y el 61% de la materia orgánica se transforma a CO<sub>2</sub> (Häfner *et al.* , 2022), por lo cual en la presente investigación se tomó un valor del 50%. El compost producido (241.4 t/año) es empacado manualmente en bultos de 50 kg (FL-401) y posteriormente transportado para su comercialización. El rendimiento de compost, calculado a partir de los datos previamente asumidos, fue de 5.44 kg/m<sup>3</sup> de digerido tratado. Las aguas residuales generadas en el filtro prensa ingresan a la planta de tratamiento con una DQO de 2730 mg/L, lo que permite una reducción en el consumo de insumos químicos de 2360 kg/año.

Los resultados de ahorro de energía eléctrica, energía térmica e insumos químicos son resumidos en la Tabla 31. La integración del proceso de CoDA de aguas residuales y estiércol en la PBB caso de estudio presenta un ahorro potencial de gas natural de 1.5 y 0.8 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup> de residuo tratado, cuando el biogás es utilizado en un economizador (precalentamiento del agua de caldera) y un sistema CHP, respectivamente. Lo anterior equivale al 24% y 13% del consumo de gas natural, cuando se utiliza el biogás en el economizador y en el CHP, respectivamente. Así mismo, la integración del biogás en un sistema CHP conlleva una generación de 7.4 kWh de energía

eléctrica por cada m<sup>3</sup> de residuo tratado, lo que significa un ahorro del 10% del consumo de la PBB.

En términos de sólidos volátiles (SV), los indicadores energéticos anteriormente calculados demuestran una generación de energía térmica entre 0.6 y 1.2 kWh/kg SV de residuo digerido y una producción de energía eléctrica de 0.5 kWh/kg SV. Estos indicadores son similares a los reportados para el tratamiento de residuos sólidos del beneficio de cerdos: entre 0.21 kWh/kg (Ortner *et al.*, 2015) y 1.02 kWh/kg (Gonzalez y Gonzalez *et al.*, 2014). En lo referente al tratamiento del digerido, los procesos de filtrado, clarificación y cristalización realizados para la producción de estruvita permiten ahorrar el 21% de los insumos químicos consumidos durante un año en la planta de tratamiento de la PBB. Lo anterior coincide con los resultados reportados por Yetilmezsoy *et al.* (2022) en su estudio sobre precipitación de estruvita a partir de aguas residuales del beneficio de ovinos, donde se observaron remociones de DQO total, DQO soluble y color del 64, 59 y 82%, respectivamente. Cuando se implementa el compostaje como opción de tratamiento del digerido, el ahorro de insumos químicos se reduce al 13%, debido a que este proceso solo cuenta con un sistema de prensado. Estos resultados demuestran una gran oportunidad de gestión y valorización de aguas residuales y estiércol de PBB mediante la tecnología de CoDA.

**Tabla 31**

*Ahorros de gas natural, energía eléctrica e insumos químicos en la integración de la CoDA de aguas residuales y estiércol en la PBB*

Escenario	Aprovechamiento del Biogás	Tratamiento del Digerido	Ahorro de Gas Natural (m <sup>3</sup> /año)	Ahorro de Energía Eléctrica (MWh/año)	Ahorro de Insumos Químico (kg/año)				
					Cloro Granular	FeCl <sub>3</sub>	Polímero Aniónico	Antiespumante	Polímero Catiónico
1		Fisicoquímico			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	Economizador	Precipitación de Estruvita	66249	---	7.4	3605.2	43.1	9.8	106.4
3		Compostaje			4.7	2255.5	27.0	6.1	66.6
4		Fisicoquímico			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	CHP	Precipitación de Estruvita	35847	329	7.4	3605.2	43.1	9.8	106.4
6		Compostaje			4.7	2255.5	27.0	6.1	66.6

#### ***4.4.3. Análisis económico de la integración del proceso de CoDA en la PBB caso de estudio***

La Tabla 32 presenta el CAPEX, OPEX y los beneficios relacionados con el ahorro del gas natural, energía eléctrica, tratamiento de aguas residuales y venta de estruvita y compost, derivados de la implementación de la CoDA en el tratamiento de aguas residuales y estiércol de la PBB. Los escenarios donde el biogás es alimentado a un sistema CHP (escenarios 4, 5 y 6) presentan un CAPEX entre 11 y 17% superiores en comparación con aquellos en que el biogás se utiliza en el precalentamiento del agua de caldera. Esto se debe a que el sistema generador-recuperador de calor es 13 veces más costoso que el economizador de calor (Tabla D1 en el apéndice D). Así mismo, al comparar los escenarios con precipitación de estruvita y compostaje del digerido, los primeros prestan CAPEX aproximadamente 40% mayores a los segundos. La anterior diferencia se debe principalmente a los precios del sistema de microfiltración y el tanque de almacenamiento, quienes en conjunto conforman el 78% de los costos de capital del proceso de precipitación de estruvita.

El valor del OPEX en los escenarios que aprovechan el biogás mediante un sistema CHP (4, 5 y 6) es levemente superior (3%-6%) en comparación con aquellos que lo destinan al precalentamiento de agua de caldera (escenarios 1, 2 y 3). Esto es consecuencia de la estructura de costos tomada (Tabla 27), dado que el mantenimiento, el seguro, los impuestos y los gastos de planta se estimaron como un porcentaje del capital fijo directo (CAPEX sin incluir los costos de arranque y el capital de trabajo)

**Tabla 32**

*CAPEX, OPEX y beneficios para diferentes los diferentes escenarios de integración de la CoDA de aguas residuales y estiércol en la PBB*

Escenario	Aprovechamiento del Biogás	Tratamiento del Digerido	CAPEX (USD\$)	OPEX <sup>a</sup> (USD\$/año)	Ahorro de Gas Natural (USD\$/año)	Ahorro de Energía Eléctrica (USD\$/año)	Ahorro Tratamiento de Aguas Residuales (USD\$/año)		Venta de Estruvita (USD\$/año)	Venta de Compostaje (USD\$/año)
							Insumos Químicos	Servicios y Personal		
1	Economizador	Fisicoquímico	\$ 277,190	\$28,883	\$ 42,385	---	\$0	\$38,002	---	---
2		Precipitación de Estruvita	\$ 435,388	\$ 72,380	\$ 42,385	---	\$2,595	\$38,002	\$23,287	---
3		Compostaje	\$ 303,885	\$ 64,032	\$ 42,385	---	\$1,624	\$38,002	---	\$42,177
4	CHP	Fisicoquímico	\$ 323,004	\$30,628	\$ 22,934	\$ 36,159	\$0	\$38,002	---	---
5		Precipitación de Estruvita	\$ 481,202	\$ 74,125	\$ 22,934	\$ 36,159	\$2,595	\$38,002	\$23,287	---
6		Compostaje	\$ 349,699	\$ 65,778	\$ 22,934	\$ 36,159	\$1,624	\$38,002	---	\$42,177

*Nota. a: No considera la depreciación*

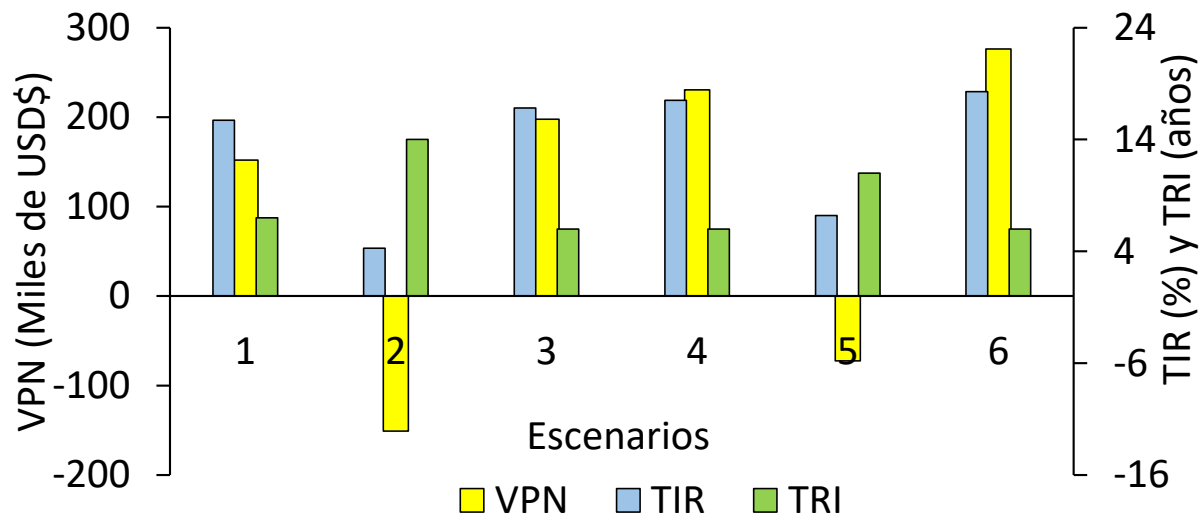
Al contrastar el OPEX de los escenarios de precipitación de estruvita (2 y 5) con los escenarios de producción de compost a partir del digerido (3 y 6), los primeros resultaron en costos 13% superiores a los segundos. Además de los costos de mantenimiento, el seguro, los impuestos y los gastos de planta, el proceso de precipitación de estruvita presentó un costo de materiales 15 veces superior al del proceso de compostaje (Tabla D2 del apéndice D), debido al consumo de reactivos (NaOH, HCl y  $Mg(OH)_2$ ). Adicionalmente, el proceso de microfiltración en la precipitación de estruvita requiere dos reemplazos de membranas al año, con un costo total de USD\$8,809. Sin embargo, el proceso de compostaje presenta un costo de servicios 9 veces mayor, debido al consumo de energía eléctrica de la volteadora de compost.

En términos generales, la implementación del sistema CHP para el uso del biogás implica un mayor ahorro energético (USD\$59,093/año), comparado con la integración del economizador (USD\$42,385). No obstante, en los dos casos, el ahorro de energía (térmica y eléctrica) es mayor al consumo de energía de los escenarios de integración, cuyo máximo fue USD\$15,790/año (Tabla D2 del apéndice D). Lo anterior destaca el potencial de la CoDA como alternativa de gestión y valorización de aguas residuales y estiércol en la PBB. La mayor parte del ahorro en el tratamiento de las aguas residuales proviene de la reducción de costos de servicios y personal, al disminuir el caudal de aguas residuales (un 26%) y estiércol (un 31%) a tratar en la primera etapa de la planta de tratamiento. Los ingresos esperados por la venta del compost son un 81% superiores a los proyectados para la estruvita.

En la Figura 28 se comparan los indicadores del valor presente neto (VPN), la tasa interna de retorno (TIR) y el tiempo de retorno de la inversión (TRI) de los escenarios evaluados.

**Figura 28**

*Indicadores económicos de los escenarios evaluados para la integración de la CoDA de aguas residuales y estiércol en la PBB*



La mayor parte de los escenarios evaluados para la implementación de la tecnología de CoDA de aguas residuales y estiércol en la PBB presentaron VPN positivo (USD\$ 152,000 – USD\$ 270,000). Sin embargo, los escenarios donde el digerido fue tratado mediante precipitación de estruvita, son desfavorables, dado que presentan VPN negativo con TIR (4.28% y 7.21%) inferiores a la tasa de descuento (9.25%) y TRI (14 y 11 años) mayores a la mitad de la vida útil del proyecto. Esta desfavorabilidad es una consecuencia directa de sus mayores CAPEX y OPEX en comparación con los otros escenarios. Sin embargo, la financiación de este tipo de proyectos mediante las convocatorias de beneficios tributarios por inversión en ciencia, tecnología e innovación del ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia, que permiten descontar el 30% del valor invertido del impuesto de renta (Minciencias, 2025), podría hacer viable la iniciativa.

En la Tabla 33 se realiza un comparativo de la TRI y TIR del presente estudio con trabajos anteriores donde se analizó el uso de la DA para el tratamiento de residuos del beneficio animal.

**Tabla 33**

*Comparativo de los indicadores económicos del presente estudio con estudios anteriores (se excluyen los datos correspondientes a la precipitación de estruvita)*

Uso de Biogás	País	Tipo de Planta de Beneficio	Tipo de Residuo	TRI (años)	TIR (%)	Autor
Pre calentamiento de aguas de caldera	Colombia	Bovinos	Aguas residuales y estiércol	6 a 7	15.73 – 16.82	Presente estudio
CHP				6	17.50-18.28	
EE en plantas de 1.5 GWh	Sudáfrica	Bovinos	NR	10	14.90	Goosen (2013)
EE en plantas de 2.0 GWh				7	17.30	
Sistema híbrido biogás-celdas fotovoltaicas	España	Cerdos	Sólidos	9	9.00	González-González <i>et al.</i> (2014)
Cogeneración CHP	Austria	Cerdos	Sólidos	9	---	Ortner <i>et al.</i> (2015)
Reemplazo de GLP	India	Bovinos	NR	7	12.60	KC y Ale (2015)
Cogeneración	Portugal	NR	Aguas Residuales	6	21.70	Gato <i>et al.</i> (2019)

*Nota.* NR: no reporta.

El TRI y TIR hallados en el presente trabajo se encuentran en los rangos reportados en trabajos anteriores sobre casos de estudio donde la implementación de la tecnología de DA en plantas de beneficio animal fueron viables. Incluso, la TIR es superior a la calculada para un sistema híbrido (biogás–energía solar fotovoltaica) en España y el reemplazo de GLP en India. Así

mismo, los TRI son inferiores a los calculados para los casos de integración en Sudáfrica, España y Austria,

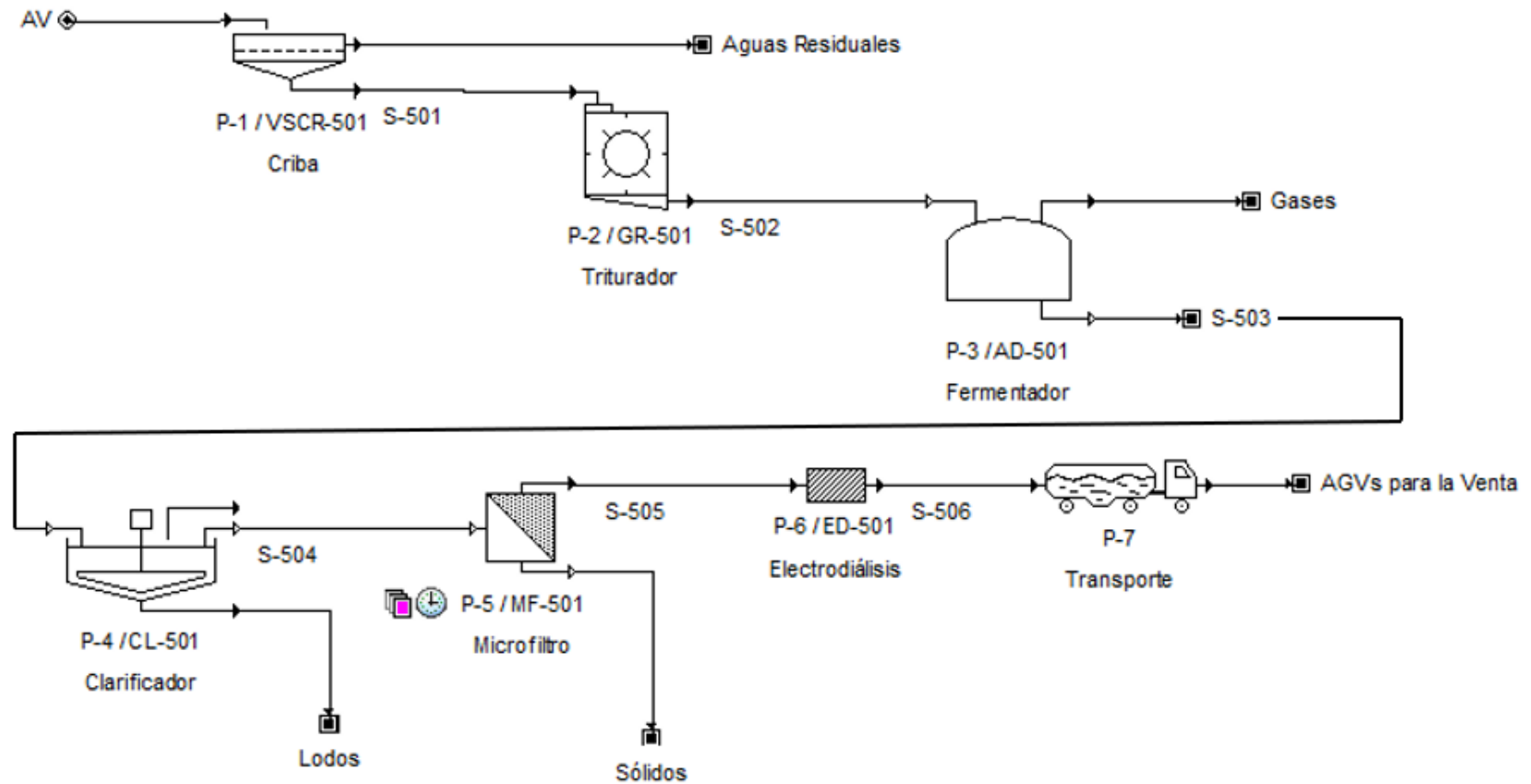
De acuerdo con lo expuesto anteriormente, la implementación de la CoDA de aguas residuales y estiércol en PBB colombianas es técnica y económicamente viable mediante el uso de digestores tubulares. Los escenarios más favorables son aquellos que valorizan el digerido mediante un proceso de compostaje, tanto para uso de biogás en el economizador como el sistema CHP. En estos casos los indicadores económicos muestran un VPN de USD\$ 198,000 y USD\$ 276,000 y TIR de 16.82% y 18.28%, respectivamente, con un TRI estimado de 6 años.

#### ***4.4.4. Integración del proceso de fermentación acidogénica para la producción de AGV's***

La Figura 29 representa la integración del proceso de producción de AGV's a partir de la fracción sólida de las AV. Teniendo en cuenta que durante la integración del proceso de CoDA descrito en la sección 4.4.3 se tratan 12198 m<sup>3</sup>/año de AV (equivalente al 22% del caudal total de AV), el proceso de producción de AGV's es alimentando con el flujo restante (42682 m<sup>3</sup>/año), con el objetivo de abarcar la totalidad de esta corriente de agua residual. Inicialmente el flujo de AV es sometido a un proceso de cribado donde se separa la fracción sólida del efluente. La fracción líquida es enviada directamente a la primera etapa de la planta de tratamiento, donde se mezcla con las demás corrientes de aguas residuales. Por su parte, la fracción sólida es procesada mediante una trituradora de residuos. Esto permite reducir el tamaño de partícula y homogenizar el sustrato, que posteriormente es alimentado al fermentador anaerobio.

Figura 29

*Integración del proceso de producción de AGV's a partir de la fermentación acidogénica de la fracción sólida de las AV*



El proceso de fermentación acidogénica (FA) se lleva a cabo con un TRH de 15 d y una CO de 2.08 kg SV/m<sup>3</sup> d, utilizando líquido ruminal (LR) como inóculo, sin control de pH (mejores condiciones de operación halladas en el capítulo 3). Para esto se dispone de un sistema de FA conformado por dos digestores de 200 m<sup>3</sup> cada uno y un digestor de 60 m<sup>3</sup>, para un volumen total de 460 m<sup>3</sup>. Este sistema opera con un volumen de trabajo del 60%. El efluente del fermentador, con un contenido de AGV's de 7753.61 mg/L, es conducido a un sistema de clarificación y microfiltración, donde se remueven la mayor parte de las impurezas orgánicas e inorgánicas. Finalmente, el líquido tratado ingresa a un proceso de electrodiálisis en el que se completa su depuración, incrementando la concentración de AGV's a 8800 mg/L.

El componente más significativo del CAPEX en el proceso de FA (Tabla 34) corresponde a la adquisición del sistema de microfiltración y los digestores, los cuales representan el 80% del costo total de los equipos. Así mismo, el 54% del OPEX está relacionado con el pago de los operadores y el reemplazo de las membranas del proceso de microfiltración dos veces al año (consumibles).

**Tabla 34**

*CAPEX, OPEX y Beneficios de la integración del proceso de producción de AGV's a partir de la FA de la fracción sólida de las AV*

CAPEX	OPEX							Beneficios	
	M/S/I/GPa (USDS/año)	Laboratorio (USDS/año)	Servicios (USDS/año)	Depreciación (USDS/año)	Costo Laboral (USDS/año)	Consumibles (USDS/año)	OPEX (USDS/año)	Ahorro Tratamiento de las AV	Comercialización AGV's
\$ 225,974	\$8,423	\$864	\$8,073	\$10,002	\$17,280	\$14,400	\$59,042	\$11,127	\$64,882

En cuanto a los beneficios de la implementación del proceso de producción de AGV's en la PBB caso de estudio, el 15% proviene del ahorro en el tratamiento de los sólidos de las AV (USD\$ 1.66/m<sup>3</sup>) que son separados en la criba y sometidos a FA. El análisis económico demuestra que es posible alcanzar un punto de equilibrio económico (VPN = 0; TIR= 9.25%) con un precio de venta de USD\$ 11.9/t de solución concentrada de AGV's (AGVac). Este precio es menor al punto de equilibrio reportado por Fasahati y Liu (2014) (USD\$ 384/t), Bonk *et al.* (2015) (USD\$ 550/t), Veluswamy *et al.* (2021) (USD\$ 1265/t) y Pinto *et al.* (2023) (USD\$1220 – USD\$2330/t) para la producción de AGVac a partir de algas pardas, fracción sólida de residuos orgánicos municipales, aguas residuales y diversos residuos orgánicos, respectivamente. Aun considerando un costo de purificación posterior de los AGVac de USD\$ 15/m<sup>3</sup> de efluente (Bonk *et al.* ,2015), el precio de equilibrio se mantiene bajo (USD\$ 26.9/t) en comparación con estudios previos, e incluso por debajo del precio comercial del ácido acético (USD\$ 600/t según Zhou *et al.* , 2018), el cual representa la mayor proporción en el presente estudio. Esta diferencia se debe principalmente al ahorro en el tratamiento convencional (físicoquímico) de una parte significativa de la materia orgánica presente en la fracción sólida de las AV. Este resultado coincide con el análisis económico realizado por Bonk *et al.* (2015) sobre la producción de AGV's a partir de la fracción orgánica de sólidos municipales en la ciudad de Abu Dhabi. Los autores resaltan, que con costos de disposición final de hasta USD\$ 22/t de residuos, los AGV's podrían incluso suministrarse gratuitamente a los procesos posteriores.

Lo anteriormente discutido permite deducir que la integración de los procesos de CoDA de aguas residuales y estiércol, junto con la producción de AGV's a partir de la fracción sólida de las AV, en el marco de una biorrefinería para el tratamiento de efluentes de una PBB, resulta técnica y económicamente viable. Esto permitiría tratar hasta el 50% de las aguas residuales y el 31% del

estiércol generado en el proceso de beneficio bovino, lo cual contribuye a la adopción de una economía circular en PBB colombianas.

Los proyectos orientados hacia modelos de economía circular pueden financiarse a través de beneficios tributarios, mediante los cuales las empresas pueden deducir su inversión de los impuestos (Minciencias, 2025). Adicionalmente, los bancos colombianos han implementado recientemente líneas de crédito verde, destinadas a financiar, entre otros, proyectos de energía renovable y producción limpia. Estos préstamos ofrecen tasas de interés más bajas y plazos de pago más amplios en comparación con los créditos convencionales.

#### **4.5. Conclusiones**

El modelo ADM1 calibrado y validado en el capítulo 2 es una herramienta matemática útil para la selección de mezclas y condiciones de operación en el proceso de CoDA de aguas residuales y estiércol de PBB. Los resultados de la simulación a diferentes TRH indican que la integración de las mezclas AS33:AE67 y AV33:EB67 en procesos de CoDA en la PBB caso de estudio, presentan un potencial anual de producción de 84921 m<sup>3</sup> de CH<sub>4</sub> y 27389 kg de estruvita. Adicionalmente, estas mezclas permitirían gestionar el 26% del caudal de aguas residuales y el 31% del flujo de EB generados en la PBB, con remociones de DQO mayores al 50%.

La Integración de la CoDA de aguas residuales y estiércol en la PBB caso de estudio representa un ahorro energético y de insumos químicos significativo. El aprovechamiento del biogás en el precalentamiento del agua en la caldera de la PBB permitiría el ahorro del 66249 m<sup>3</sup>/año de gas natural, mientras que el uso del biogás en un sistema de cogeneración (CHP), facilitaría el ahorro de 35847 m<sup>3</sup>/año de gas natural y 329 MWh/año de energía eléctrica. Por su parte, el tratamiento del digerido en la planta de tratamiento de la PBB no conllevaría a incrementos en el consumo de insumos químicos. No obstante, si el digerido se destina a la

precipitación de estruvita o el compostaje, posibilitaría el ahorro de 4 y 2 t/año de insumos químicos, respectivamente. En este sentido, la estruvita producida alcanzó un rendimiento total de  $0.618 \text{ kg/m}^3$  de digerido con una pureza del 60.0%, mientras que la producción de compost reporta un rendimiento de  $5.44 \text{ kg/m}^3$  de digerido.

La implementación del proceso de CoDA para la gestión y valorización de aguas residuales y estiércol de PBB es técnica y económicamente viable. Los escenarios donde se contempló el tratamiento fisicoquímico y el compostaje del digerido, tanto en el uso de biogás en el precalentamiento del agua de caldera como en el sistema CHP, resultaron rentables ( $\text{VPN} > 0$ ;  $\text{TIR} > 9.25\%$  y  $\text{TRI}$  entre 6 y 7 años). Por el contrario, en los escenarios de precipitación de estruvita a partir del digerido los indicadores económicos no fueron favorables ( $\text{VPN} < 0$ ;  $\text{TIR} < 9.25\%$  y  $\text{TRI}$  de 11 a 14 años). El mejor escenario correspondió al uso del biogás para la cogeneración de energía y el digerido para la producción de compostaje (CHP-compostaje). La integración del proceso de FA de la fracción sólida de las AV alcanzaría su punto de equilibrio con un precio de venta de USD\$ 11.9/t de solución de AGV's concentrada.

#### **4.6. Productos de la Investigación**

A partir de los resultados obtenidos en la presente investigación, el Laboratorio de Digestión Anaerobia (Grupo de Investigación Interfase) brindó asesoría a Colbeef para la formulación y presentación de una propuesta a la convocatoria de MinCiencias 2021 orientada al acceso a beneficios tributarios por inversión en proyectos de ciencia, tecnología e innovación, de la cual la empresa resultó beneficiaria. Gracias a esta convocatoria, Colbeef instaló un sistema piloto de digestión anaerobia conformado por seis digestores de  $40 \text{ m}^3$  cada uno, así como un sistema de precalentamiento de agua para caldera utilizando el biogás generado en el proceso (Figura 30).

**Figura 30**

*Planta piloto de biogás implementada por Colbeef*



Adicionalmente fue aceptada una presentación en modalidad de Poster al 19th IWA World Conference on Anaerobic Digestion:

- Z. Sánchez, H. Escalante, L. Castro (2026). Integrated process for the management and valorization of slaughterhouse wastewater via anaerobic digestion.

## 5. Objetivos y Conclusiones Generales

### 5.1. Objetivo Específico 1

Determinar los efectos sinérgicos y antagonicos durante la CoDA de mezclas de las aguas residuales del beneficio bovino, con relación a la reducción de la carga orgánica y la producción de metano y estruvita.

#### Conclusiones

Mediante un diseño experimental simplex se evaluaron 21 mezclas de CoDA de las corrientes residuales: aguas de sacrificio (AS), aguas de lavado de vísceras (AV), aguas de lavado estomacal (AE) y estiércol (EB) provenientes de una planta de beneficio bovino. Excepto en las mezclas binarias de aguas de sacrificio (AS) con estiércol bovino (EB) y de aguas de lavado estomacal (AE) con EB, todas las CoDA mejoraron la biodegradabilidad, redujeron el riesgo de inhibición por  $\text{NH}_3$ , en comparación con la DA de las corrientes individuales, y mostraron sinergia en la producción de  $\text{CH}_4$ . No obstante, solo siete de las 21 mezclas evaluadas evidenciaron sinergia tanto en el rendimiento como en la cinética de producción de  $\text{CH}_4$ . Estas mezclas totalmente sinérgicas lograron remociones de DQO entre el 53 % y el 93 %, y presentaron potenciales de producción de estruvita entre 0.5 y 1.4  $\text{kg/m}^3$  de mezcla. Por lo tanto, la CoDA demostró ser un proceso potencialmente viable para el tratamiento de corrientes de aguas residuales y estiércol de una PBB.

### 5.2. Objetivo Específico 2

Evaluar el rendimiento de metano y estruvita y la remoción de materia orgánica, durante la digestión anaeróbica de las aguas residuales individuales y en mezclas sinérgicas, en un proceso semicontinuo de un digestor tubular a escala de laboratorio.

### Conclusiones

La mono digestión anaerobia, en digestores tubulares a escala de laboratorio, de los efluentes de aguas de lavado de vísceras (AV), aguas de lavado estomacal (AE) y estiércol bovino (EB) presentaron producciones específicas de biogás (PEB) entre 0.102 y 0.179 m<sup>3</sup>/kg SV con una calidad de biogás expresada en concentración de CH<sub>4</sub> entre 62.9% y 69.0%; estos resultados están dentro del rango reportado por investigaciones anteriores: 0.140 – 0.210 m<sup>3</sup>/kg SV y 49.9%-57.7%, respectivamente.

Sin embargo, la mono digestión de las aguas de sacrificio alcanzó una concentración de NH<sub>3</sub> de 23.93 mg/L, la cual superó el umbral de inhibición del inóculo ( $K_{150, NH_3} = 18.53$  mg/L).

Las CoDA's, en reactores tubulares, de las siete mezclas en estudio no presentaron inhibición por NH<sub>3</sub> y por el contrario se reportaron PEB entre 0.140 y 0.442 m<sup>3</sup>/kg SV), con concentraciones de CH<sub>4</sub> entre 64.8% y 74.5%. Asimismo, las CoDA's de estas mezclas presentaron resultados sinérgicos entre el 2% y 279%, en concordancia con el capítulo 1.

Respecto a la gestión del residuo las CoDA's presentaron mayores remociones de DQO (56%-76%) y recuperaciones de fósforo (73%-86%) en comparación con los procesos de mono digestiones de los efluentes individuales (29%-66% y 66% - 75%, respectivamente).

Los resultados anteriores permitieron evidenciar que las siete mezclas de efluentes residuales, de la planta de beneficio bovino, identificadas como sinérgicas en los ensayos de PBM presentaron un desempeño favorable cuando el proceso de CoDA se llevó a cabo en reactores tubulares a escala de laboratorio.

El modelamiento de las CoDA's de las siete mezclas sinérgicas de los efluentes de una planta de beneficio bovino mediante el ADM1, permitió identificar que los parámetros bioquímicos que más influyen son la constante de hidrólisis ( $k_h$ ), las tasas máximas de crecimiento

de los microorganismos consumidores de ácido propiónico ( $\mu_{m,pro}$ ), acetoclásticos ( $\mu_{m,ac}$ ) e hidrogenotróficos ( $\mu_{m,H_2}$ ,  $K_{s,H_2}$ ). Estos parámetros cinéticos se ven afectados por las concentraciones de lípidos, proteínas y material lignocelulósico de las mezclas de los efluentes en estudio.

### 5.3. Objetivo Específico 3

Evaluar la producción de ácidos grasos volátiles mediante la fermentación acidogénica de aguas residuales viscerales del sacrificio bovino.

#### Conclusiones

La fermentación acidogénica (FA) de la fracción sólida de las aguas de lavado de vísceras (AV) en un proceso semicontinuo bajo condiciones mesófilas, llevada a cabo utilizando como inóculo lodo de estiércol bovino (LEB) alcanzó concentraciones de AGV's en el rango de 2513.20 a 7818.68 mg/L.

Por otra parte, cuando la FA fue inoculada con líquido ruminal (LR) la concentración de AGV's varió en el rango de 4062.60 a 7852.02 mg/L. Lo anterior evidencia un mayor rendimiento de AGV's utilizando el inóculo LR. Esto demuestra una menor capacidad fermentativa del LEB, como consecuencia posiblemente de una inferior diversidad microbiana. En los dos procesos de FA (inoculada con LEB e inoculada con LR) la mayor concentración de AGV's se logró con un rango de TRH de 5 a 15 d.

En los dos procesos de FA en estudio (inoculada con LEB y con LR), los ácidos predominantes fueron el ácido acético y el ácido propiónico. Sin embargo, el inóculo LEB presentó mayores concentraciones de ácido propiónico en TRH > 10 d, presentando pH < 6.0; lo cual evidencia que estas condiciones de operación favorecen la formación de este ácido. Por el

contrario, la FA con LR presentó un pH cercano a la neutralidad, condición no favorable para la formación del ácido propiónico.

El proceso de FA inoculado con LR presentó un rango de bioconversión y tasa de acidificación de 20.5 – 25.6% y 70.3 – 87.6%, respectivamente, con TRH de 5 – 15 d. El ajuste del pH a condiciones alcalinas (pH 8.0) redujo estas tasas a rangos de 20.0 – 21.4% y 70.6 – 73.1%, respectivamente. Por lo anterior, se evidencia que el proceso a pH alcalino conduce a una reducción significativa en la producción de los AGV's.

#### **5.4. Objetivo Específico 4**

Integrar los procesos de producción de biogás, precipitación de estruvita y obtención de AGVs, en una biorrefinería, evaluando diferentes escenarios que incluyan monodigestiones y CoDA de mezclas sinérgicas, así como el uso del biogás como fuente de energía térmica y eléctrica para el proceso de beneficio.

#### **Conclusiones**

De las 21 mezclas evaluadas en el diseño experimental mediante ensayos PBM, siete presentaron sinergia tanto en el rendimiento como en la cinética de producción de CH<sub>4</sub>. Así las cosas de estas siete seleccionadas las mezclas AS33:AE67 y AV33:EB67 fueron elegidas para la integración del proceso de CoDA en una planta de beneficio bovino (PBB), dado que, en conjunto, presentaron los mayores potenciales de producción de CH<sub>4</sub> (84921 m<sup>3</sup>/año), tasa de tratamiento de los efluentes (26% del caudal de aguas residuales y 31% del flujo de estiércol bovino generados en la PBB) y potencial de recuperación de nutrientes (27389 kg/año de estruvita). Así mismo, estas mezclas presentaron remociones de DQO > 50%.

Para la integración de los productos de la DA de los efluentes de la PBB, se plantearon dos alternativas para el aprovechamiento del biogás y tres alternativas para el digerido. Para el

aprovechamiento del biogás se plantearon: *i)* precalentamiento del agua de alimentación a la caldera de la planta y *ii)* mediante un sistema de cogeneración (CHP) que permita la transformación de la energía química del biogás en energía eléctrica y térmica. Respecto al digerido se plantearon tres opciones de tratamiento: *i)* fisicoquímico, *ii)* mediante la precipitación de estruvita y *iii)* a través de un proceso de compostaje.

El aprovechamiento del biogás producido en el precalentamiento de agua para la caldera permitiría el ahorro de 66249 m<sup>3</sup>/año de gas natural. Por su parte, el uso del biogás en un sistema de cogeneración (CHP), conllevaría al ahorro de 35847 m<sup>3</sup>/año de gas natural y 329 MWh/año de energía eléctrica.

El tratamiento fisicoquímico del digerido no implica un aumento significativo en el consumo de insumos químicos. En contraste, su valorización mediante la precipitación de estruvita y el compostaje permitiría un ahorro de 4 y 2 t/año de estos insumos, respectivamente. La estruvita producida alcanzó un rendimiento de 0.618 kg/m<sup>3</sup> de digerido con un % de pureza de 60.0% y la producción de compostaje reporta un rendimiento de 5.44 kg/m<sup>3</sup>.

Los resultados del análisis económico demuestran que la integración de las CoDA's en una PBB es viable. Los escenarios donde se contempló el tratamiento fisicoquímico y el compostaje del digerido, tanto en el uso de biogás en el precalentamiento del agua de caldera como en el sistema CHP, resultaron rentables (VPN > 0; TIR > 9.25% y TRI entre 6 y 7 años). Por el contrario, en los escenarios de precipitación de estruvita a partir del digerido los indicadores económicos no fueron favorables.

El escenario utilizando el biogás para la cogeneración de energía térmica y eléctrica y el digerido para producción de compostaje (CHP-compostaje) reportó el mejor desempeño económico (VPN= USD\$ 276,244, TIR=18.28% y TRI= 6 años). Adicionalmente, la

implementación del proceso de producción de ácidos alcanzaría el punto de equilibrio con un precio de venta de USD\$ 11.9/t de solución concentrada de AGV's.

### **5.5. Objetivo General**

Realizar el diseño básico de una biorrefinería para la gestión y valorización de aguas residuales del proceso de beneficio bovino, mediante digestión anaeróbica, la cual involucre la integración energética del biogás al proceso de beneficio, la recuperación de nutrientes (P y N) en forma de estruvita y la producción de ácidos grasos volátiles.

### **Conclusiones**

La metodología empleada para evaluar la CoDA de aguas residuales y estiércol de una PBB mediante ensayos de PBM, permitió identificar efectos sinérgicos y antagónicos en el rendimiento y la cinética de producción de CH<sub>4</sub>. Lo anterior facilitó la selección de las proporciones de mezcla más adecuadas, al reducir el diseño experimental original de 21 combinaciones de CoDA a solo siete.

El proceso de CoDA para cada una de las siete mezclas y llevado a cabo en digestores tubulares con alimentación semicontinua, presentó estabilidad, reflejada en una baja concentración de AGV's y ausencia de riesgo de inhibición por NH<sub>3</sub>, junto con rendimientos y calidad de biogás entre 0.140 y 0.442 m<sup>3</sup>/kg SV y entre 64.8 y 74.5%, respectivamente. De esta manera se garantizaron remociones de DQO > 50% y producciones de estruvita > 0.300 kg/m<sup>3</sup> de digerido, con una pureza promedio del 59.0%. Las mezclas evaluadas presentaron sinergias con respecto a la producción de CH<sub>4</sub> hasta del 279%, lo que concuerda con lo observado durante los ensayos de PBM.

La validación y calibración del modelo ADM1 con los resultados experimentales de las mezclas sinérgicas en digestores tubulares, permitió identificar que los parámetros cinéticos que

más afectan el proceso de CoDA son la retención del material particulado (FR), la constante de hidrólisis ( $k_h$ ), las tasas máximas de crecimiento de los microorganismos acetogénicos ( $\mu_{m,pro}$ ) y metanogénicos ( $\mu_{m,ac}$  y  $\mu_{m,H_2}$ ) y la constante de semisaturación de los microorganismos hidrogenotróficos ( $K_{s,H_2}$ ). Estos parámetros son significativamente afectados por la composición de lípidos, proteínas y material lignocelulósico de los cosustratos.

La fermentación acidogénica de la fracción sólida de las aguas de lavado de vísceras resultó ser un proceso adecuado para la producción de AGV's bajo condiciones mesófilas, con líquido ruminal como inóculo, a tiempos de retención hidráulica entre 5 y 15 d y sin ajuste de pH inicial ( $pH \approx 7.0$ ).

El modelo ADM1 calibrado y validado se utilizó para simular el desempeño de las CoDA's bajo diferentes condiciones de tiempos de retención hidráulica, permitiendo así seleccionar la mezcla de aguas de sacrificio con aguas de lavado estomacal en proporción de 33%SV y 67% SV, respectivamente, junto con la mezcla de aguas de lavado de vísceras y estiércol bovino en proporción de 33% SV y 67% SV, respectivamente, como el mejor escenario para la integración del proceso en una planta de beneficio bovino.

La evaluación económica de seis escenarios de integración (2 alternativas de aprovechamiento de biogás con 3 opciones de tratamiento del digerido) demostró que el más favorable es la combinación de un sistema de cogeneración para el uso del biogás con el tratamiento y valorización del digerido mediante compostaje. Así mismo, la integración del proceso de producción de AGV's, a partir de la fermentación acidogénica de la fracción sólida de las aguas de lavado de vísceras, evidenció ser económicamente viable con costos de equilibrio muy por debajo de los reportados en estudios anteriores.

La integración del proceso de CoDA en una planta de beneficio bovino, mediante un concepto de biorrefinería que involucró el aprovechamiento energético del biogás, la recuperación de nutrientes del digerido y la producción de AGV's, resultó técnica y económicamente viable. Por lo tanto, el diseño básico del proceso y el estudio económico (CAPEX, OPEX y beneficios) pueden servir como base para futuros proyectos de integración de la CoDA en plantas de beneficio bovino colombianas.

### Referencias Bibliográficas

- Ashrafi O., Bédard S., Bakhtiari B., & Poulin B. (2015). Heat recovery and heat pumping opportunities in a slaughterhouse. *Energy* 89,1-13.
- Astals S., Batstone D.J., Mata-Alvarez J., & Jensen P.D. (2014). Identification of synergistic impacts during anaerobic co-digestion of organic wastes. *Bioresource Technology* 169, 421–427.
- Astals, S., Batstone, D. J., Tait, S., & Jensen, P. D. (2015). Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity. *Water Research*, 81, 208-215.
- Astals, S., Peces, M., Batstone, D. J., Jensen, P. D., & Tait, S. (2018). Characterising and modelling free ammonia and ammonium inhibition in anaerobic systems. *Water Research*, 143, 127-135.
- Atallah, N. M., El-Fadel, M., Ghanimeh, S., Saikaly, P., & Abou-Najm, M. (2014). Performance optimization and validation of ADM1 simulations under anaerobic thermophilic conditions. *Bioresource technology*, 174, 243-255.
- Atasoy, M., Owusu-Agyeman, I., Plaza, E., & Cetecioglu, Z. (2018). Bio-based volatile fatty acid production and recovery from waste streams: Current status and future challenges. *Bioresource technology*, 268, 773-786.
- Awafo, E. A., & Amenorfe, J. (2021). Techno-economic studies of an industrial biogas plant to be implemented at Kumasi Abattoir in Ghana. *Scientific African*, 11, e00712.
- Bacenetti, J., Negri, M., Lovarelli, D., Garcia, L. R., & Fiala, M. (2015). Economic performances of anaerobic digestion plants: effect of maize silage energy density at increasing transport distances. *Biomass and Bioenergy*, 80, 73-84.

- Baker, J. R., Milke, M. W., & Mihelcic, J. R. (1999). Relationship between chemical and theoretical oxygen demand for specific classes of organic chemicals. *Water Research*, 33(2), 327-334.
- Bareha, Y., Girault, R., Guezel, S., Chaker, J., & Trémier, A. (2019). Modeling the fate of organic nitrogen during anaerobic digestion: Development of a bioaccessibility based ADM1. *Water research*, 154, 298-315.
- Barrera, E. L., Spanjers, H., Solon, K., Amerlinck, Y., Nopens, I., & Dewulf, J. (2015). Modeling the anaerobic digestion of cane-molasses vinasse: Extension of the Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1) with sulfate reduction for a very high strength and sulfate rich wastewater. *Water research*, 71, 42-54.
- Batstone, D. J., & Keller, J. (2003). Industrial applications of the IWA anaerobic digestion model No. 1 (ADM1). *Water science and technology*, 47(12), 199-206.
- Batstone, D. J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S. V., Pavlostathis, S. G., Rozzi, A., ... & Vavilin, V. A. (2002). The IWA anaerobic digestion model no 1 (ADM1). *Water Science and technology*, 45(10), 65-73.
- Battista, F., Strazzera, G., Valentino, F., Gottardo, M., Villano, M., Matos, M., ... & Majone, M. (2022). New insights in food waste, sewage sludge and green waste anaerobic fermentation for short-chain volatile fatty acids production: a review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(5), 108319.
- Bauer, A. (2011). Investigation into the biochemical methane potential of abattoir wastewater [Bachelor's thesis, University of Southern Queensland].

- Belete, F. A., Berhe, G. G., Gebreegziabher, T. G., Mekonen, A. G., & Gebrezgabher, B. T. (2024). Techno-Economic Analysis of Biogas Production from Slaughterhouse Biowastes, in Mekelle City, Tigray, Ethiopia.
- Bobade, V., & Lomte, A. (2015). Challenges in UASB reactor system design: A Review. Melbourne, Victoria, 28.
- Bolaji, I. O., & Dionisi, D. (2017). Acidogenic fermentation of vegetable and salad waste for chemicals production: effect of pH buffer and retention time. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(6), 5933-5943.
- Bollon, J., Benbelkacem, H., Gourdon, R., & Buffière, P. (2013). Measurement of diffusion coefficients in dry anaerobic digestion media. *Chemical Engineering Science*, 89, 115-119.
- Bonk, F., Bastidas-Oyanedel, J. R., & Schmidt, J. E. (2015). Converting the organic fraction of solid waste from the city of Abu Dhabi to valuable products via dark fermentation—Economic and energy assessment. *Waste Management*, 40, 82-91.
- Borowski S. & Kubacki P. (2015). Co-digestion of pig slaughterhouse waste with sewage sludge. *Waste Management* 40, 119–126.
- Bucci, L., Ghiotto, G., Zampieri, G., Raga, R., Favaro, L., Treu, L., & Campanaro, S. (2023). Adaptation of anaerobic digestion microbial communities to high ammonium levels: Insights from strain-resolved metagenomics. *Environmental Science & Technology*, 58(1), 580–590.
- Buendía, I., Fernández, J., Villaseñor, J., & Rodríguez, L. (2009). Feasibility of anaerobic co-digestion as a treatment option of meat industry wastes. *Bioresource Technology*, 100, 1903–1909.

- Bułkowska, K., & Zielińska, M. (2024). Recovery of biogas and other valuable bioproducts from livestock blood waste: A review. *Energies*, 17(23), 5873.
- Bułkowska, K., Białobrzewski, I., Klimiuk, E., & Pokoj, T. (2018). Kinetic parameters of volatile fatty acids uptake in the ADM1 as key factors for modeling co-digestion of silages with pig manure, thin stillage and glycerine phase. *Renewable Energy*, 126, 163–176.
- Bustillo-Lecompte, C., & Mehrvar, M. (2015). Slaughterhouse wastewater characteristics, treatment, and management in the meat processing industry: A review on trends and advances. *Journal of Environmental Management*, 161, 287–302.
- Caixeta, C. E., Cammarota, M. C., & Xavier, A. M. (2002). Slaughterhouse wastewater treatment: Evaluation of a new three-phase separation system in a UASB reactor. *Bioresource Technology*, 81(1), 61–69.
- Calise, F., Cappiello, F. L., Cimmino, L., Napolitano, M., & Vicidomini, M. (2022). Analysis of the influence of temperature on the anaerobic digestion process in a plug flow reactor. *Thermo*, 2(2), 92–106.
- Callaghan, F., Wase, D., Thayanithy, K., & Forster, C. (2002). Continuous co-digestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure. *Biomass and Bioenergy*, 22, 71–77.
- Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L. J., Vecino, K., Rojas, G., & Mantilla, L. (2017). Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality. *Bioresource Technology*, 239, 311–317.
- Castro-Fernández, A., Rodríguez-Hernández, L., Castro-Barros, C. M., Lema, J. M., & Taboada-Santos, A. (2024). Scale-up and economic assessment of volatile fatty acids production from food waste. *Biomass and Bioenergy*, 182, 107112.

- Castro-Molano, L., Escalante-Hernández, H., Gómez-Serrato, O. J., & Jiménez-Piñeros, D. P. (2016). Analysis of methanogenic and energetic potential from slaughterhouse wastewater using anaerobic digestion. *Dyna*, 83, 41–49.
- Castro-Molano, L. D. P., Escalante-Hernández, H., Lambis-Benítez, L. E., & Marín-Batista, J. D. (2018). Synergistic effects in anaerobic codigestion of chicken manure with industrial wastes. *Dyna*, 85(206), 135–141.
- Cavinato, C., Da Ros, C., Pavan, P., & Bolzonella, D. (2017). Influence of temperature and hydraulic retention on the production of volatile fatty acids during anaerobic fermentation of cow manure and maize silage. *Bioresource Technology*, 223, 59–64.
- Chen, L., Cong, R., Shu, B., & Mi, Z. (2017). A sustainable biogas model in China: The case study of Beijing Deqingyuan biogas project. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 78, 773–779.
- Cherubini, F. (2010). The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energy Conversion and Management*, 51(7), 1412–1421.
- Choudhari, S. K., Cerrone, F., Woods, T., Joyce, K., O’Flaherty, V., O’Connor, K., & Babu, R. (2015). Pervaporation separation of butyric acid from aqueous and anaerobic digestion (AD) solutions using PEBA based composite membranes. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 23, 163–170.
- Chumpoochai, P., Jutaporn, K. S., Thaworn, C., Sawatdeenarunat, C., & Nirunsin, R. (2024). The potential of biogas production from wastewater of shredded pork processing with cow manure. *Journal of Renewable Energy and Smart Grid Technology*, 19(2), 13–18.

- Coelho, M. M. H., Morais, N. W. S., Ferreira, T. J. T., Silva, F. S. S., Pereira, E. L., & dos Santos, A. B. (2020). Carboxylic acids production using residual glycerol as a substrate in anaerobic fermentation: A kinetic modeling study. *Biomass and Bioenergy*, 143, 105874.
- Counotte, G. H. M., Van't Klooster, A. T., Van der Kuilen, J., & Prins, R. A. (1979). An analysis of the buffer system in the rumen of dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 49(6), 1536–1544.
- Cuetos, M. J., Gómez, X., Otero, M., & Morán, A. (2010). Anaerobic digestion and co-digestion of slaughterhouse waste (SHW): Influence of heat and pressure pre-treatment in biogas yield. *Waste Management*, 30(10), 1780–1789.
- Cuetos, M., Gómez, X., Martínez, E. J., Fierro, J., & Otero, M. (2013). Feasibility of anaerobic co-digestion of poultry blood with maize residues. *Bioresource Technology*, 144, 513–520.
- Cuetos, M. J., Martínez, E. J., Moreno, R., Gonzalez, R., Otero, M., & Gómez, X. (2017). Enhancing anaerobic digestion of poultry blood using activated carbon. *Journal of Advanced Research*, 8, 297–307.
- Dahiya, S., Sarkar, O., Swamy, Y. V., & Mohan, S. V. (2015). Acidogenic fermentation of food waste for volatile fatty acid production with co-generation of biohydrogen. *Bioresource Technology*, 182, 103–113.
- Dams, R. I., Viana, M. B., Guilherme, A. A., Silva, C. M., Dos Santos, A. B., Angenent, L. T., ... & Leitão, R. C. (2018). Production of medium-chain carboxylic acids by anaerobic fermentation of glycerol using a bioaugmented open culture. *Biomass and Bioenergy*, 118, 1–7.
- Das, A., Mondal, C., & Chatterjee, S. G. (2016). Time-lag models for continuous stirred tank and plug flow digesters for biogas production. *Energy & Fuels*, 30(12), 10404–10416.

- Delgadillo Abello, V. (2025, 7 de marzo). Sector ganadero registra mejor enero de la década en exportaciones: US\$ 19,2 millones. Portafolio. <https://www.portafolio.co/economia/agro/crecimiento-de-exportaciones-de-carne-bovina-en-enero-de-2025-el-mejor-mes-625365>.
- Dennehy, C., Lawlor, P. G., Croize, T., Jiang, Y., Morrison, L., Gardiner, G. E., & Zhan, X. (2016). Synergism and effect of high initial volatile fatty acid concentrations during food waste and pig manure anaerobic co-digestion. *Waste management*, 56, 173-180.
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). (2025). Encuesta de sacrificio de ganado (ESAG). <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/agropecuario/encuesta-de-sacrificio-de-ganado>.
- Dereli, R. K., Ersahin, M. E., Ozgun, H., Ozturk, I., & Aydin, A. F. (2010). Applicability of Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1) for a specific industrial wastewater: Opium alkaloid effluents. *Chemical Engineering Journal*, 165(1), 89–94.
- Devuyst, E., Pryor, S. W., Lardy, G., Eide, W., & Wiederholt, R. (2011). Cattle, ethanol, and biogas: Does closing the loop make economic sense? *Agricultural Systems*, 104, 609–614.
- Donoso-Bravo, A., & Fdz-Polanco, F. (2010). Modeling of the anaerobic digestion of sewage sludge: Evaluation of several reactor configurations. *IFAC Proceedings Volumes*, 43(6), 365–370.
- Donoso-Bravo, A., Mailier, J., Ruiz-Filippi, G., & Vande Wouwer, A. (2013). Identification in an anaerobic batch system: Global sensitivity analysis, multi-start strategy and optimization criterion selection. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 36(1), 35–43.

- Donoso-Bravo, A., Sadino-Riquelme, C., Gómez, D., Segura, C., Valdebenito, E., & Hansen, F. (2018). Modelling of an anaerobic plug-flow reactor. Process analysis and evaluation approaches with non-ideal mixing considerations. *Bioresource Technology*, 260, 95–104.
- Donoso-Bravo, A., Ortega, V., Lesty, Y., Bossche, H. V., & Olivares, D. (2019). Addressing the synergy determination in anaerobic co-digestion and the inoculum activity impact on BMP test. *Water Science and Technology*, 80, 387–396.
- Ebner, J. H., Labatut, R., Lodge, J., Williamson, A. A., & Trabold, T. (2016). Anaerobic co-digestion of commercial food waste and dairy manure: Characterizing biochemical parameters and synergistic effects. *Waste Management*, 52, 286–294.
- Elsamadony, M., Mostafa, A., Fujii, M., Tawfik, A., & Pant, D. (2021). Advances towards understanding long chain fatty acids-induced inhibition and overcoming strategies for efficient anaerobic digestion process. *Water Research*, 190, 116732.
- Emebu, S., Pecha, J., & Janáčová, D. (2022). Review on anaerobic digestion models: Model classification & elaboration of process phenomena. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 160, 112288.
- Ersahin, M. E., Insel, G., Dereli, R. K., Ozturk, I., & Kinaci, C. (2007). Model based evaluation for the anaerobic treatment of corn processing wastewaters. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 35(6), 576–581.
- Escalante, H., Castro, L., Amaya, M. P., Jaimes, L., & Jaimes-Estévez, J. (2018). Anaerobic digestion of cheese whey: Energetic and nutritional potential for the dairy sector in developing countries. *Waste Management*, 71, 711–718.

- Escalante-Hernández, H., Castro-Molano, L., Besson, V., & Jaimes-Estévez, J. (2017). Feasibility of the anaerobic digestion of cheese whey in a plug flow reactor (PFR) under local conditions. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, 18, 265–277.
- Escudero, A., Lacalle, A., Blanco, F., Pinto, M., Díaz, I., & Domínguez, A. (2014). Semi-continuous anaerobic digestion of solid slaughterhouse waste. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2, 819–825.
- Esfandiar, R., Najafpour-Darzi, G., & Mohammadi, M. (2025). Enhanced volatile fatty acids production from solid-state acidogenic fermentation of food waste by optimization of substrate to inoculum ratio. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15(12), 18421–18436.
- Fasahati, P., & Liu, J. (2014). Techno-economic analysis of production and recovery of volatile fatty acids from brown algae using membrane distillation. In *Computer Aided Chemical Engineering* (Vol. 34, pp. 303–308). Elsevier.
- Fernández, J., Pérez, M., & Romero, L. I. (2010). Kinetics of mesophilic anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: Influence of initial total solid concentration. *Bioresource Technology*, 101(16), 6322–6328.
- Fernández-Domínguez, D., Astals, S., Peces, M., Frison, N., Bolzonella, D., Mata-Alvarez, J., & Dosta, J. (2020). Volatile fatty acids production from biowaste at mechanical-biological treatment plants: Focusing on fermentation temperature. *Bioresource Technology*, 314, 123729.
- Ferrer, I., Garfí, M., Uggetti, E., Ferrer-Martí, L., Calderon, A., & Velo, E. (2011). Biogas production in low-cost household digesters at the Peruvian Andes. *Biomass and Bioenergy*, 35(5), 1668–1674.

- Fezzani, B., & Cheikh, R. B. (2008). Implementation of IWA anaerobic digestion model No. 1 (ADM1) for simulating the thermophilic anaerobic co-digestion of olive mill wastewater with olive mill solid waste in a semi-continuous tubular digester. *Chemical Engineering Journal*, 141(1–3), 75–88.
- Fezzani, B., & Cheikh, R. B. (2009). Extension of the anaerobic digestion model No. 1 (ADM1) to include phenolic compounds biodegradation processes for the simulation of anaerobic co-digestion of olive mill wastes at thermophilic temperature. *Journal of Hazardous Materials*, 162(2-3), 1563-1570.
- Fogler, S. (2016). Conversion and reactor sizing. In *Elements of Chemical Reaction Engineering* (5th ed., pp. 31–68). Prentice Hall.
- Galib, M., Elbeshbishy, E., Reid, R., Hussain, A., & Lee, H. S. (2016). Energy-positive food wastewater treatment using an anaerobic membrane bioreactor (AnMBR). *Journal of Environmental Management*, 182, 477–485.
- García-Aguirre, J., Aymerich, E., de Goñi, J. G. M., & Esteban-Gutiérrez, M. (2017). Selective VFA production potential from organic waste streams: Assessing temperature and pH influence. *Bioresource Technology*, 244, 1081–1088.
- Garfí, M., Martí-Herrero, J., Garwood, A., & Ferrer, I. (2016). Household anaerobic digesters for biogas production in Latin America: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 60, 599–614.
- Gato, I. C., Panizio, R. M., Calado, L. F. C., & Brito, P. S. D. (2019). Economic evaluation of the feasibility when installing a biogas plant for treatment of slaughterhouse wastewater. In *Proceedings* (Vol. 38, No. 1, p. 5). MDPI.

- Ge, Y., Tao, J., Wang, Z., Mu, L., Guo, W., Cheng, Z., ... & Chen, G. (2024). A hybrid approach of anaerobic digestion model no. 1 and machine learning to model and optimize continuous anaerobic digestion processes. *Biomass and Bioenergy*, 184, 107176.
- Gonçalves, M. J., González-Fernández, C., & Greses, S. (2024). Long hydraulic retention time mediates stable volatile fatty acids production against slight pH oscillations. *Waste Management*, 176, 140–148.
- Gong, X., Wu, M., Jiang, Y., & Wang, H. (2021). Effects of different temperatures and pH values on volatile fatty acids production during codigestion of food waste and thermal-hydrolysed sewage sludge and subsequent volatile fatty acids for polyhydroxyalkanoates production. *Bioresource Technology*, 333, 125149.
- González, R., Peña, D. C., & Gómez, X. (2022). Anaerobic co-digestion of wastes: Reviewing current status and approaches for enhancing biogas production. *Applied Sciences*, 12(17), 8884.
- González-González, A., Collares-Pereira, M., Cuadros, F., & Fartaria, T. (2014). Energy self-sufficiency through hybridization of biogas and photovoltaic solar energy: An application for an Iberian pig slaughterhouse. *Journal of Cleaner Production*, 65, 318–323.
- Goosen, C. (2013). Assessing the economic viability of biogas plants at abattoirs in South Africa [Master's mini-dissertation, North-West University].
- Greses, S., Tomás-Pejó, E., & González-Fernández, C. (2021). Short-chain fatty acids and hydrogen production in one single anaerobic fermentation stage using carbohydrate-rich food waste. *Journal of Cleaner Production*, 284, 124727.

- Guamán-Marquines, C. W., Mendoza-Loor, R. J., Gómez-Salcedo, Y., & Baquerizo-Crespo, R. J. (2023). Assessment of the start-up of tubular reactors on a laboratory scale for the anaerobic digestion of slaughterhouse wastewater. *International Journal of Thermofluids*, 19, 100378.
- Guo, H. G., Li, Q., Wang, L. L., Chen, Q. L., Hu, H. W., Cheng, D. J., & He, J. Z. (2022). Semi-solid state promotes methane production during anaerobic co-digestion of chicken manure with corn straw comparison to wet and high-solid state. *Journal of Environmental Management*, 316, 115264.
- Guo, Z., Usman, M., Alsareii, S. A., Harraz, F. A., Al-Assiri, M. S., Jalalah, M., ... & Salama, E. S. (2021). Synergistic ammonia and fatty acids inhibition of microbial communities during slaughterhouse waste digestion for biogas production. *Bioresource Technology*, 337, 125383.
- Gutiérrez, A. S., Eras, J. J. C., Hens, L., & Vandecasteele, C. (2020). The energy potential of agriculture, agroindustrial, livestock, and slaughterhouse biomass wastes through direct combustion and anaerobic digestion: The case of Colombia. *Journal of Cleaner Production*, 269, 122317.
- Ha, T. H., Mahasti, N. N., Lu, M. C., & Huang, Y. H. (2023). Ammonium-nitrogen recovery as struvite from swine wastewater using various magnesium sources. *Separation and Purification Technology*, 308, 122870.
- Häfner, F., Hartung, J., & Möller, K. (2022). Digestate composition affecting N fertiliser value and C mineralisation. *Waste and Biomass Valorization*, 13(8), 3445–3462.
- Hakimi, M. H., Jegatheesan, V., & Navaratna, D. (2020). The potential of adopting struvite precipitation as a strategy for the removal of nutrients from pre-AnMBR treated abattoir wastewater. *Journal of Environmental Management*, 259, 109783.

- Hamza, R. A., Iorhemen, O. T., & Tay, J. H. (2016). Advances in biological systems for the treatment of high-strength wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 10, 128–142.
- Han, S. K., & Shin, H. S. (2002). Enhanced acidogenic fermentation of food waste in a continuous-flow reactor. *Waste Management & Research*, 20(2), 110–118.
- Harris, P. W., & McCabe, B. K. (2015). Review of pre-treatments used in anaerobic digestion and their potential application in high-fat cattle slaughterhouse wastewater. *Applied Energy*, 155, 560–575.
- Harris, P. W., Schmidt, T., & McCabe, B. K. (2018). Bovine bile as a bio-surfactant pre-treatment option for anaerobic digestion of high-fat cattle slaughterhouse waste. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6, 444–450.
- Hejnfelt, A., & Angelidaki, I. (2009). Anaerobic digestion of slaughterhouse by-products. *Biomass and Bioenergy*, 33(8), 1046–1054.
- Hendriks, A. T. W. M., & Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 100(1), 10–18.
- Hernández-Fydrych, V. C., Benítez-Olivares, G., Meraz-Rodríguez, M. A., Salazar-Peláez, M. L., & Fajardo-Ortiz, M. C. (2019). Methane production kinetics of pretreated slaughterhouse wastewater. *Biomass and Bioenergy*, 130, 105385.
- Hidalgo, D., Martín-Marroquín, J. M., & Corona, F. (2018). The effect of feed composition on anaerobic co-digestion of animal-processing by-products. *Journal of Environmental Management*, 216, 105–110.
- Hill, D. T., & Barth, C. L. (1977). A dynamic model for simulation of animal waste digestion. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 49(10), 2129–2143.

- Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., Bougrier, C., Buffière, P., Carballa, M., De Wilde, V., *et al.* (2016). Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science and Technology*, 74, 2515–2522.
- Huang, H., Xu, C., & Zhang, W. (2011). Removal of nutrients from piggery wastewater using struvite precipitation and pyrogenation technology. *Bioresource Technology*, 102(3), 2523–2528.
- Huertas, J. K., Quipuzco, L., Hassanein, A., & Lansing, S. (2020). Comparing hydrogen sulfide removal efficiency in a field-scale digester using microaeration and iron filters. *Energies*, 13(18), 4793.
- Hussain, A., Filiatrault, M., & Guiot, S. R. (2017). Acidogenic digestion of food waste in a thermophilic leach bed reactor: Effect of pH and leachate recirculation rate on hydrolysis and volatile fatty acid production. *Bioresource Technology*, 245, 1–9.
- IEA. (2008). IEA bioenergy task 42 on biorefineries: Co-production of fuels, chemicals, power and materials from biomass. In Minutes of the third task meeting, Copenhagen, Denmark, 25–26 March 2007. <https://orbit.dtu.dk/en/publications/iea-bioenergy-task-42-on-biorefineries-co-production-of-fuels-che/>.
- Ioannou, L. A., Puma, G. L., & Fatta-Kassinos, D. (2015). Treatment of winery wastewater by physicochemical, biological and advanced processes: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 286, 343–368.
- Janke, L., Leite, A., Batista, K., Weinrich, S., Sträuber, H., Nikolausz, M., ... & Stinner, W. (2016). Optimization of hydrolysis and volatile fatty acids production from sugarcane filter cake: Effects of urea supplementation and sodium hydroxide pretreatment. *Bioresource Technology*, 199, 235–244.

- Jankowska, E., Chwiałkowska, J., Stodolny, M., & Oleskowicz-Popiel, P. (2015). Effect of pH and retention time on volatile fatty acids production during mixed culture fermentation. *Bioresource Technology*, 190, 274–280.
- Jankowska, E., Chwiałkowska, J., Stodolny, M., & Oleskowicz-Popiel, P. (2017). Volatile fatty acids production during mixed culture fermentation: The impact of substrate complexity and pH. *Chemical Engineering Journal*, 326, 901–910.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern food microbiology*. Springer US.
- Jeganathan, J., Nakhla, G., & Bassi, A. (2006). Long-term performance of high-rate anaerobic reactors for the treatment of oily wastewater. *Environmental science & technology*, 40(20), 6466-6472.
- Jegede, A. O., Zeeman, G., & Bruning, H. (2019). A review of mixing, design and loading conditions in household anaerobic digesters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49(22), 2117–2153.
- Jensen, P. D., Yap, S. D., Boyle-Gotla, A., Janoschka, J., Carney, C., Pidou, M., & Batstone, D. J. (2015). Anaerobic membrane bioreactors enable high rate treatment of slaughterhouse wastewater. *Biochemical Engineering Journal*, 97, 132–141.
- Jensen, P. D., Mehta, C. M., Carney, C., & Batstone, D. J. (2016). Recovery of energy and nutrient resources from cattle paunch waste using temperature phased anaerobic digestion. *Waste Management*, 51, 72–80.
- Jensen, P. D., Sullivan, T., Carney, C., & Batstone, D. J. (2014). Analysis of the potential to recover energy and nutrient resources from cattle slaughterhouses in Australia by employing anaerobic digestion. *Applied Energy*, 136, 23–31.

- Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., Wang, Q., Gong, C., & Li, M. (2013). Volatile fatty acids production from food waste: Effects of pH, temperature, and organic loading rate. *Bioresource Technology*, 143, 525–530.
- Jin, W., Zhang, Z. J., Zhang, Z. F., Qaisar, M., & Zheng, P. (2007). Production and application of anaerobic granular sludge produced by landfill. *Journal of Environmental Sciences*, 19(12), 1454–1460.
- Jin, Y., Hu, Z., & Wen, Z. (2009). Enhancing anaerobic digestibility and phosphorus recovery of dairy manure through microwave-based thermochemical pretreatment. *Water Research*, 43, 3493–3502.
- Jo, Y., Cayetano, R. D. A., Kim, G. B., Park, J., & Kim, S. H. (2022). The effects of ammonia acclimation on biogas recovery and the microbial population in continuous anaerobic digestion of swine manure. *Environmental Research*, 212, 113483.
- Kabdaşlı, I., Tünay, O., & Özcan, P. (2009). Application of struvite precipitation coupled with biological treatment to slaughterhouse wastewaters. *Environmental Technology*, 30, 1095–1101.
- Kafle, G. K., & Kim, S.-H. (2012). Kinetic study of the anaerobic digestion of swine manure at mesophilic temperature: A lab scale batch operation. *Journal of Biosystems Engineering*, 37, 233–244.
- Kainthola, J., Kalamdhad, A. S., & Goud, V. V. (2019). A review on enhanced biogas production from anaerobic digestion of lignocellulosic biomass by different enhancement techniques. *Process Biochemistry*, 84, 81–90.

- Kapoor, R., Ghosh, P., Tyagi, B., Vijay, V. K., Vijay, V., Thakur, I. S., ... & Kumar, A. (2020). Advances in biogas valorization and utilization systems: A comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*, 273, 123052.
- Kataki, S., West, H., Clarke, M., & Baruah, D. C. (2016). Phosphorus recovery as struvite from farm, municipal and industrial waste: Feedstock suitability, methods and pre-treatments. *Waste Management*, 49, 437–454.
- KC, P., & Ale, B. B. (2015). Production of Biogas from Slaughterhouse waste in Lalitpur Sub-metropolitan city. In *Proceedings of IOE Graduate Conference* (pp. 143-149).
- Kegl, T., Jiménez, E. T., Kegl, B., Kralj, A. K., & Kegl, M. (2025). Modeling and optimization of anaerobic digestion technology: Current status and future outlook. *Progress in Energy and Combustion Science*, 106, 101199.
- Khan, M. A., Ngo, H. H., Guo, W., Liu, Y., Nghiem, L. D., Chang, S. W., ... & Jia, H. (2019). Optimization of hydraulic retention time and organic loading rate for volatile fatty acid production from low strength wastewater in an anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, 271, 100–108.
- Kim, S., Lee, C., Lee, Y. S., Kim, J., & Kim, J. Y. (2024). Modification of Anaerobic Digestion Model No. 1 for modeling anaerobic digestion of cattle manure with changing solids retention time. *Bioresource Technology*, 406, 131033.
- Kinyua, M., Rowse, L., & Ergas, S. (2016). Review of small-scale tubular anaerobic digesters treating livestock waste in the developing world. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 896–910.

- Kinyua, M. N., Zhang, J., Camacho-Céspedes, F., Tejada-Martinez, A., & Ergas, S. J. (2016). Use of physical and biological process models to understand the performance of tubular anaerobic digesters. *Biochemical Engineering Journal*, 107, 35–44.
- Koch, K., Hafner, S. D., Weinrich, S., Astals, S., & Holliger, C. (2020). Power and limitations of biochemical methane potential (BMP) tests. *Frontiers in Energy Research*, 8, 63.
- Konkol, I., Cebula, J., & Cenian, A. (2021). Oxidization of hydrogen sulphide in biogas by manganese (IV) oxide particles. *Environmental Engineering Research*, 26(2), 190343.
- Koster, I. W., & Koomen, E. (1988). Ammonia inhibition of the maximum growth rate ( $\mu_m$ ) of hydrogenotrophic methanogens at various pH-levels and temperatures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 500–505.
- Kumar, V., Jaiswal, K. K., Tomar, M. S., Rajput, V., Upadhyay, S., Nanda, M., ... & Kurbatova, A. (2023). Production of high value-added biomolecules by microalgae cultivation in wastewater from anaerobic digestates of food waste: A review. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(11), 9625–9642.
- Lago, A., Rocha, V., Barros, O., Silva, B., & Tavares, T. (2024). Bacterial biofilm attachment to sustainable carriers as a clean-up strategy for wastewater treatment: A review. *Journal of Water Process Engineering*, 63, 105368.
- Lahav, O., & Morgan, B. E. (2004). Titration methodologies for monitoring of anaerobic digestion in developing countries—A review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 79(12), 1331–1341.
- Langsrud, T., & Reinbold, G. W. (1973). Flavor development and microbiology of Swiss cheese—A review. *Journal of Food Protection*, 36(12), 593–609.

- Law, A. W. S., Rincón, F. R., van de Vossenberg, J., Al Saffar, Z., Welles, L., Rene, E. R., & Vazquez, C. L. (2023). Volatile fatty acid production from food waste: The effect of retention time and lipid content. *Bioresource Technology*, 367, 128298.
- León-Becerril, E., García-Camacho, J. E., Del Real-Olvera, J., & López-López, A. (2016). Performance of an upflow anaerobic filter in the treatment of cold meat industry wastewater. *Process Safety and Environmental Protection*, 102, 385–391.
- Li, D., Lee, I., & Kim, H. (2021). Application of the linearized ADM1 (LADM) to lab-scale anaerobic digestion system. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(3), 105193.
- Li, H., Chen, Z., Fu, D., Wang, Y., Zheng, Y., & Li, Q. (2020). Improved ADM1 for modelling C, N, P fates in anaerobic digestion process of pig manure and optimization approaches to biogas production. *Renewable Energy*, 146, 2330–2336.
- Li, L., Peng, X., Wang, X., & Wu, D. (2018). Anaerobic digestion of food waste: A review focusing on process stability. *Bioresource Technology*, 248, 20–28.
- Li, Q., Liu, Y., Yang, X., Zhang, J., Lu, B., & Chen, R. (2020). Kinetic and thermodynamic effects of temperature on methanogenic degradation of acetate, propionate, butyrate and valerate. *Chemical Engineering Journal*, 396, 125366.
- Li, X., Yang, Z., Liu, G., Ma, Z., & Wang, W. (2019). Modified anaerobic digestion model No. 1 (ADM1) for modeling anaerobic digestion process at different ammonium concentrations. *Water Environment Research*, 91(8), 700–714.
- Lim, S. J., Kim, B. J., Jeong, C. M., Ahn, Y. H., & Chang, H. N. (2008). Anaerobic organic acid production of food waste in once-a-day feeding and drawing-off bioreactor. *Bioresource Technology*, 99(16), 7866–7874.

- Lima, J. A. M., Magalhães Filho, F. J. C., Constantino, M., & Formagini, E. L. (2020). Techno-economic and performance evaluation of energy production by anaerobic digestion in Brazil: Bovine, swine and poultry slaughterhouse effluents. *Journal of Cleaner Production*, 277, 123332.
- Limeneh, D. Y., Tesfaye, T., Ayele, M., Husien, N. M., Ferede, E., Haile, A., ... & Kong, F. (2022). A comprehensive review on utilization of slaughterhouse by-product: Current status and prospect. *Sustainability*, 14(11), 6469.
- Lin, L., Shah, A., Keener, H., & Li, Y. (2019). Techno-economic analyses of solid-state anaerobic digestion and composting of yard trimmings. *Waste Management*, 85, 405–416.
- Liu, C., Luo, G., Wang, W., He, Y., Zhang, R., & Liu, G. (2018). The effects of pH and temperature on the acetate production and microbial community compositions by syngas fermentation. *Fuel*, 224, 537–544.
- Liu, H., Wang, J., Liu, X., Fu, B., Chen, J., & Yu, H. Q. (2012). Acidogenic fermentation of proteinaceous sewage sludge: Effect of pH. *Water Research*, 46(3), 799–807.
- Liu, H., Wang, L., Zhang, X., Fu, B., Liu, H., Li, Y., & Lu, X. (2019). A viable approach for commercial VFAs production from sludge: Liquid fermentation in anaerobic dynamic membrane reactor. *Journal of Hazardous Materials*, 365, 912–920.
- Liu, H., Wang, Y., Yin, B., Zhu, Y., Fu, B., & Liu, H. (2016). Improving volatile fatty acid yield from sludge anaerobic fermentation through self-forming dynamic membrane separation. *Bioresource Technology*, 218, 92–100.
- Liu, J. H., Zhang, M. L., Zhang, R. Y., Zhu, W. Y., & Mao, S. Y. (2016). Comparative studies of the composition of bacterial microbiota associated with the ruminal content, ruminal

- epithelium and in the faeces of lactating dairy cows. *Microbial Biotechnology*, 9(2), 257–268.
- Liu, J., Xu, Y., & Wei, Y. (2024). A model-based approach for evaluating the effects of sludge rheology on methane production during high solid anaerobic digestion: Focusing on mass transfer resistance. *Biochemical Engineering Journal*, 201, 109147.
- Loganath, R., & Senophiyah-Mary, J. (2020). Critical review on the necessity of bioelectricity generation from slaughterhouse industry waste and wastewater using different anaerobic digestion reactors. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 134, 110360.
- Long, J. H., Aziz, T. N., de los Reyes III, F. L., & Ducoste, J. J. (2012). Anaerobic co-digestion of fat, oil, and grease (FOG): A review of gas production and process limitations. *Process Safety and Environmental Protection*, 90, 231–245.
- Lopez, I., Passeggi, M., & Borzacconi, L. (2006). Co-digestion of ruminal content and blood from slaughterhouse industries: influence of solid concentration and ammonium generation. *Water science and technology*, 54(2), 231-236.
- Lu, Y., Zhang, Q., Wang, X., Zhou, X., & Zhu, J. (2020). Effect of pH on volatile fatty acid production from anaerobic digestion of potato peel waste. *Bioresource Technology*, 316, 123851.
- Lübken, M., Koch, K., Klauke, L., Gehring, T., & Wichern, M. (2013). CFD investigation of the flow characteristics of a plug flow anaerobic digester for lignocellulosic biomass methanisation. In *13th World Congress on Anaerobic Digestion: Recovering (bio)Resources for the World*.
- Lv, N., Cai, G., Pan, X., Li, Y., Wang, R., Li, J., ... & Zhu, G. (2022). pH and hydraulic retention time regulation for anaerobic fermentation: Focus on volatile fatty acids

- production/distribution, microbial community succession and interactive correlation. *Bioresource Technology*, 347, 126310.
- Ma, H., Chen, X., Liu, H., Liu, H., & Fu, B. (2016). Improved volatile fatty acids anaerobic production from waste activated sludge by pH regulation: Alkaline or neutral pH? *Waste Management*, 48, 397–403.
- Mainardis, M., Buttazzoni, M., & Goi, D. (2020). Up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) technology for energy recovery: A review on state-of-the-art and recent technological advances. *Bioengineering*, 7(2), 43.
- Malinowsky, C., Nadaleti, W., Debiassi, L. R., Moreira, A. J. G., Bayard, R., & de Castilhos Junior, A. B. (2021). Start-up phase optimization of two-phase anaerobic digestion of food waste: Effects of organic loading rate and hydraulic retention time. *Journal of Environmental Management*, 296, 113064.
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., & Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45, 540–555.
- Marchaim, U., & Krause, C. (1993). Propionic to acetic acid ratios in overloaded anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 43(3), 195–203.
- Marcos, A., Al-Kassir, A., López, F., Cuadros, F., & Brito, P. (2012). Environmental treatment of slaughterhouse wastes in a continuously stirred anaerobic reactor: Effect of flow rate variation on biogas production. *Fuel Processing Technology*, 103, 178–182.
- Martí Herrero, J. E. (2019). Experiencias latinoamericanas en la democratización de los biodigestores: Aportes a Ecuador.
- Martí-Herrero, J., & Cipriano, J. (2012). Design methodology for low cost tubular digesters. *Bioresource Technology*, 108, 21–27.

- Martí-Herrero, J., Alvarez, R., & Flores, T. (2018). Evaluation of the low technology tubular digesters in the production of biogas from slaughterhouse wastewater treatment. *Journal of Cleaner Production*, 199, 633–642.
- Martí-Herrero, J., Alvarez, R., Rojas, M. R., Aliaga, L., Céspedes, R., & Carbonell, J. (2014). Improvement through low cost biofilm carrier in anaerobic tubular digestion in cold climate regions. *Bioresource Technology*, 167, 87–93.
- Martí-Herrero, J., Alvarez, R., Céspedes, R., Rojas, M. R., Conde, V., Aliaga, L., Balboa, M., & Danov, S. (2015). Cow, sheep and llama manure at psychrophilic anaerobic co-digestion with low cost tubular digesters in cold climate and high altitude. *Bioresource Technology*, 181, 238–246.
- Martinez, S. L., Torretta, V., Minguela, J. V., Siñeriz, F., Raboni, M., Copelli, S., & Ragazzi, M. (2014). Treatment of slaughterhouse wastewaters using anaerobic filters. *Environmental Technology*, 35(3), 322–332.
- Martín-Hernández, E., Montero-Rueda, C., Ruiz-Mercado, G. J., Vaneckhaute, C., & Martín, M. (2023). Multi-scale techno-economic assessment of nitrogen recovery systems for livestock operations. *Sustainable Production and Consumption*, 41, 49–63.
- Matjuda, D. S., Tekere, M., & Thaela-Chimuka, M. J. (2024). Impact of thermal pretreatment on the physicochemical characteristics and biomethane yield potential of solid slaughter waste from high-throughput red meat abattoirs valorized as a potential feedstock for biogas production. *Sustainability*, 16(5), 2150.
- Matthews, C., Crispie, F., Lewis, E., Reid, M., O’Toole, P. W., & Cotter, P. D. (2019). The rumen microbiome: A crucial consideration when optimising milk and meat production and nitrogen utilisation efficiency. *Gut Microbes*, 10(2), 115–132.

- Mauricio, R. M., Owen, E., Mould, F. L., Givens, I., Theodorou, M. K., France, J., & Dhanoa, M. S. (2001). Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an in vitro gas production technique for evaluating forages. *Animal Feed Science and Technology*, 89(1–2), 33–48.
- Maya-Altamira, L., Baun, A., Angelidaki, I., & Schmidt, J. E. (2008). Influence of wastewater characteristics on methane potential in food-processing industry wastewaters. *Water Research*, 42, 2195–2203.
- McCabe, B., Hamawand, I., Harris, P., Baillie, C., & Yusaf, T. (2014). A case study for biogas generation from covered anaerobic ponds treating abattoir wastewater: Investigation of pond performance and potential biogas production. *Applied Energy*, 114, 798–808.
- McInerney, M. J., & Bryant, M. P. (1981). Basic principles of bioconversions in anaerobic digestion and methanogenesis. In *Biomass conversion processes for energy and fuels* (pp. 277–296). Springer.
- Medrano-Barboza, J., Herrera-Rengifo, K., Aguirre-Bravo, A., Ramírez-Iglesias, J. R., Rodríguez, R., & Morales, V. (2022). Pig slaughterhouse wastewater: Medium culture for microalgae biomass generation as raw material in biofuel industries. *Water*, 14(19), 3016.
- Mekonnen, M. M., & Hoekstra, A. Y. (2012). A global assessment of the water footprint of farm animal products. *Ecosystems*, 15, 401–415.
- Mellyanawaty, M., Marbelia, L., Prijambada, I. D., Rochman, Y. A. Y., & Budhijanto, W. (2024). Application of anaerobic digestion model No. 1 on thermophilic anaerobic digestion with microbial immobilization media for biogas production from sugarcane vinasse. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(2), 112209.

- Mendieta, O., Castro, L., Rodríguez, J., & Escalante, H. (2020). Management and valorization of waste from a non-centrifugal cane sugar mill via anaerobic co-digestion: Technical and economic potential. *Bioresource Technology*, 316, 123962.
- Mendieta, O., Castro, L., Rodríguez, J., & Escalante, H. (2020). Synergistic effect of sugarcane scum as an accelerant co-substrate on anaerobic co-digestion with agricultural crop residues from non-centrifugal cane sugar agribusiness sector. *Bioresource Technology*, 303, 122957.
- Metcalf & Eddy Inc., Tchobanoglous, G., Burton, F. L., Tsuchihashi, R., & Stensel, H. D. (2013). *Wastewater engineering: Treatment and resource recovery* (5th ed.). McGraw-Hill Professional.
- Ministerio de Salud, Colombia (1991, 18 de abril). Decreto 1036 de 1991. <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=24294>,
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2013). Resolución No. 240/2013.
- Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación. (2025). Convocatoria 970 para la conformación de un listado de proyectos de I+D+i que aplican a beneficios tributarios por inversión, año 2025. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación
- Misra, R. V., Roy, R. N., & Hiraoka, H. (2003). *On-farm composting methods*. Rome, Italy: UN-FAO.
- Mladenovska, Z., Dabrowski, S., & Ahring, B. K. (2003). Anaerobic digestion of manure and mixture of manure with lipids: Biogas reactor performance and microbial community analysis. *Water Science and Technology*, 48(6), 271–278.

- Mlinar, S., Weig, A. R., & Freitag, R. (2022). Influence of  $\text{NH}_3$  and  $\text{NH}_4^+$  on anaerobic digestion and microbial population structure at increasing total ammonia nitrogen concentrations. *Bioresource Technology*, 361, 127638.
- Mo, R., Guo, W., Batstone, D., Makinia, J., & Li, Y. (2023). Modifications to the anaerobic digestion model no. 1 (ADM1) for enhanced understanding and application of the anaerobic treatment processes: A comprehensive review. *Water Research*, 244, 120504.
- Monou, M., Pafitis, N., Kythreotou, N., Smith, S. R., Mantzavinos, D., & Kassinos, D. (2008). Anaerobic co-digestion of potato processing wastewater with pig slurry and abattoir wastewater. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 83(12), 1658–1663.
- Montecchio, D., Astals, S., Di Castro, V., Gallipoli, A., Gianico, A., Pagliaccia, P., & Braguglia, C. M. (2019). Anaerobic co-digestion of food waste and waste activated sludge: ADM1 modelling and microbial analysis to gain insights into the two substrates' synergistic effects. *Waste Management*, 97, 27–37.
- Morais, N. W. S., Coelho, M. M. H., e Silva, A. D. S., Pereira, E. L., Leitão, R. C., & Dos Santos, A. B. (2020). Kinetic modeling of anaerobic carboxylic acid production from swine wastewater. *Bioresource Technology*, 297, 122520.
- Morais, N. W. S., Coelho, M. M. H., Ferreira, T. J. T., Pereira, E. L., Leitão, R. C., & Dos Santos, A. B. (2021). A kinetic study on carboxylic acids production using bovine slaughterhouse wastewater: A promising substrate for resource recovery in biotechnological processes. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44(2), 271–282.
- Moukazis, I., Pellerá, F., & Gidarakos, E. (2018). Slaughterhouse by-products treatment using anaerobic digestion. *Waste Management*, 71, 652–662.

- Musa, M. A., Idrus, S., Hasfalina, C. M., & Daud, N. N. N. (2018). Effect of organic loading rate on anaerobic digestion performance of mesophilic UASB reactor using cattle slaughterhouse wastewater as substrate. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(10), 2220.
- Neba, F. A., Tornyeviadzi, H. M., Addo, A., Asiedu, N. Y., Morken, J., Østerhus, S. W., & Seidu, R. (2020). Geometry, kinetics and reactor network synthesis: Attainable limits for minimizing residence time in biomethane digesters. *Computers & Chemical Engineering*, 136, 106816.
- Neshat, S. A., Mohammadi, M., Darzi, G. N., & Lahijani, P. (2017). Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 308–322.
- Nguyen, V. K., Chaudhary, D. K., Dahal, R. H., Trinh, N. H., Kim, J., Chang, S. W., & Nguyen, D. D. (2021). Review on pretreatment techniques to improve anaerobic digestion of sewage sludge. *Fuel*, 285, 119105.
- Nielsen, H. B., & Angelidaki, I. (2008). Strategies for optimizing recovery of the biogas process following ammonia inhibition. *Bioresource Technology*, 99, 7995–8001.
- Ohnmacht, B., Lemmer, A., Kress, P., Steinbrenner, J., & Oechsner, H. (2022). Propionic acid degradation in anaerobic digestion and recovery strategies for full-scale biogas plants. *Bioresource Technology Reports*, 19, 101192.
- Comisión de Regulación de Energía y Gas. (2018). Resolución CREG 050 de 2018, por la cual se complementan las especificaciones de calidad para la intercambiabilidad de gases en el Sistema Nacional de Transporte de Gas.

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2024, 18 de noviembre). Anuario estadístico de la FAO 2024: aportes sobre sostenibilidad agrícola, seguridad alimentaria y empleo [Comunicado de prensa]. FAO.
- Orozco Ostos, B. A. (2025, 24 de febrero). En promedio un colombiano consumió 79,1 kilogramos de proteína animal en 2024. La República
- Ortner, M., Leitzinger, K., Skupien, S., Bochmann, G., & Fuchs, W. (2014). Efficient anaerobic mono-digestion of N-rich slaughterhouse waste: Influence of ammonia, temperature and trace elements. *Bioresource Technology*, 174, 222–232.
- Ortner, M., Wöss, D., Schumergruber, A., Pröll, T., & Fuchs, W. (2015). Energy self-supply of large abattoir by sustainable waste utilization based on anaerobic mono-digestion. *Applied Energy*, 143, 460–471.
- Harris, P. W., & McCabe, B. K. (2015). Review of pre-treatments used in anaerobic digestion and their potential application in high-fat cattle slaughterhouse wastewater. *Applied Energy*, 155, 560-575.
- Page, D. I., Hickey, K. L., Narula, R., Main, A. L., & Grimberg, S. J. (2008). Modeling anaerobic digestion of dairy manure using the IWA Anaerobic Digestion Model no. 1 (ADM1). *Water Science and Technology*, 58(3), 689–695.
- Pagés Díaz, J., Pereda, I., Lundin, M., & Horváth, I. (2011). Co-digestion of different waste mixtures from agro-industrial activities: Kinetic evaluation and synergetic effects. *Bioresource Technology*, 102, 10834–10840.
- Pagés-Díaz, J., Pereda-Reyes, I., Taherzadeh, M., Sárvári-Horváth, I., & Lundin, M. (2014). Anaerobic co-digestion of solid slaughterhouse wastes with agro-residues: Synergistic and

- antagonistic interactions determined in batch digestion assays. *Chemical Engineering Journal*, 245, 89–98.
- Pan, S., Guo, F., Li, X., Feng, L., Li, Z., Du, L., & Wei, Y. (2024). Briquetting as a source pretreatment strategy to improve energy recovery from the anaerobic digestion of agricultural straw: Experimental and economic evaluation. *Energy*, 294, 130918.
- Pan, X., Wang, L., Lv, N., Ning, J., Zhou, M., Wang, T., Li, C., & Zhu, G. (2019). Impact of physical structure of granular sludge on methanogenesis and methanogenic community structure. *RSC Advances*, 9, 29570–29578.
- Panaro, D. B., Mattei, M. R., Esposito, G., Steyer, J. P., Capone, F., & Frunzo, L. (2022). A modelling and simulation study of anaerobic digestion in plug-flow reactors. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, 105, 106062.
- Pandey, A. K., Pilli, S., Bhunia, P., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., Zhang, T. C., & Pandey, A. (2022). Dark fermentation: Production and utilization of volatile fatty acid from different wastes—A review. *Chemosphere*, 288, 132444.
- Pandey, P. K., Ndegwa, P. M., Soupir, M. L., Alldredge, J. R., & Pitts, M. J. (2011). Efficacies of inocula on the startup of anaerobic reactors treating dairy manure under stirred and unstirred conditions. *Biomass and Bioenergy*, 35(7), 2705–2720.
- Passos, F., Ortega, V., & Donoso-Bravo, A. (2017). Thermochemical pretreatment and anaerobic digestion of dairy cow manure: Experimental and economic evaluation. *Bioresource Technology*, 227, 239–246.
- Paul, S., & Dutta, A. (2018). Challenges and opportunities of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. *Resources, Conservation & Recycling*, 130, 164–174.

- Pessiot, J., Nouaille, R., Jobard, M., Singhania, R. R., Bournilhas, A., Christophe, G., & Larroche, C. (2012). Fed-batch anaerobic valorization of slaughterhouse by-products with mesophilic microbial consortia without methane production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(6), 1728–1743.
- Peters, M. S., & Timmerhaus, K. D. (1991). *Plant design and economics for chemical engineers* (4th ed.). McGraw-Hill.
- Pinto, A. S., McDonald, L. J., Jones, R. J., Massanet-Nicolau, J., Guwy, A., & McManus, M. (2023). Production of volatile fatty acids by anaerobic digestion of biowastes: Techno-economic and life cycle assessments. *Bioresource Technology*, 388, 129726.
- Plácido, J., & Zhang, Y. (2018). Production of volatile fatty acids from slaughterhouse blood by mixed-culture fermentation. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 8(3), 621–634.
- Poggio, D. A. (2015). *Modification and experimental calibration of ADM1 for modelling the anaerobic digestion of solid wastes in demand driven applications* (Doctoral dissertation, University of Leeds).
- Poggio, D., Walker, M., Nimmo, W., Ma, L., & Pourkashanian, M. (2016). Modelling the anaerobic digestion of solid organic waste—Substrate characterisation method for ADM1 using a combined biochemical and kinetic parameter estimation approach. *Waste Management*, 53, 40–54.
- Postawa, K., Małyszew, J., Jaroszewska, K., & Wrzesińska-Jędrusiak, E. (2023). Adapting R4 simplifications of Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1-R4) for pump-mixed biogas production. *Fuel*, 351, 128794.

- Pozo, R. D., Taş, D. O., Dulkadiroğlu, H., Orhon, D., & Diez, V. (2003). Biodegradability of slaughterhouse wastewater with high blood content under anaerobic and aerobic conditions. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 78(4), 384–391.
- Pugazhendhi, A., Anburajan, P., Park, J. H., Kumar, G., Sivagurunathan, P., & Kim, S. H. (2017). Process performance of biohydrogen production using glucose at various HRTs and assessment of microbial dynamics variation via q-PCR. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(45), 27550–27557.
- Puig-Castellví, F., Cardona, L., Bureau, C., Bouveresse, D. J. R., Cordella, C. B., Mazéas, L., & Chapleur, O. (2020). Effect of ammonia exposure and acclimation on the performance and the microbiome of anaerobic digestion. *Bioresource Technology Reports*, 11, 100488.
- Rajagopal, R., Massé, D., & Singh, G. (2013). A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology*, 143, 632–641.
- Rajakumar, R., Meenambal, T., Saravanan, P. M., & Ananthanarayanan, P. (2012). Treatment of poultry slaughterhouse wastewater in hybrid upflow anaerobic sludge blanket reactor packed with pleated poly vinyl chloride rings. *Bioresource Technology*, 103, 116–122.
- Ramaswamy, J., Solaiappan, V., Albasher, G., Alamri, O., Alsultan, N., & Sathiasivan, K. (2022). Process optimization of struvite recovered from slaughterhouse wastewater and its fertilizing efficacy in amendment of biofertilizer. *Environmental Research*, 211, 113011.
- Ramirez, I., Mottet, A., Carrère, H., Déléris, S., Vedrenne, F., & Steyer, J. P. (2009). Modified ADM1 disintegration/hydrolysis structures for modeling batch thermophilic anaerobic digestion of thermally pretreated waste activated sludge. *Water Research*, 43(14), 3479–3492.

- Raposo, F., Fernández-Cegri, V., De la Rubia, M. A., Borja, R., Béline, F., Cavinato, C., ... & De Wilde, V. (2011). Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 86(8), 1088-1098.
- Rasit, N., Idris, A., Harun, R., & Ghani, W. A. W. A. K. (2015). Effects of lipid inhibition on biogas production of anaerobic digestion from oily effluents and sludges: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45, 351–358.
- Regueiro, L., Veiga, P., Figueroa, M., Alonso-Gutierrez, J., Stams, A. J., Lema, J. M., & Carballa, M. (2012). Relationship between microbial activity and microbial community structure in six full-scale anaerobic digesters. *Microbiological Research*, 167(10), 581–589.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2015, 17 de marzo). Resolución 631 de 2015.
- Rodríguez-Abalde, A., Flotats, X., & Fernández, B. (2017). Optimization of the anaerobic co-digestion of pasteurized slaughterhouse waste, pig slurry and glycerine. *Waste Management*, 61, 521–528.
- Rodríguez-Méndez, R., Le Bihan, Y., Béline, F., & Lessard, P. (2017). Long chain fatty acids (LCFA) evolution for inhibition forecasting during anaerobic treatment of lipid-rich wastes: Case of milk-fed veal slaughterhouse waste. *Waste Management*, 67, 51–58.
- Román, P., Martínez, M. M., & Pantoja, A. (2013). *Manual de compostaje del agricultor*. FAO.
- Rossi, E., Pecorini, I., & Iannelli, R. (2022). Multilinear regression model for biogas production prediction from dry anaerobic digestion of OFMSW. *Sustainability*, 14(8), 4393.
- RSPCA. (n.d.). How are animals killed for food? RSPCA Knowledgebase

- Saddoud, A., & Sayadi, S. (2007). Application of acidogenic fixed-bed reactor prior to anaerobic membrane bioreactor for sustainable slaughterhouse wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 149(3), 700–706.
- Sadr, S. M., & Saroj, D. P. (2015). Membrane technologies for municipal wastewater treatment. In *Advances in membrane technologies for water treatment* (pp. 443–463). Woodhead Publishing.
- Salehiyoun, A. R., Di Maria, F., Sharifi, M., Norouzi, O., Zilouei, H., & Aghbashlo, M. (2020). Anaerobic co-digestion of sewage sludge and slaughterhouse waste in existing wastewater digesters. *Renewable Energy*, 145, 2503–2509.
- Saritpongteeraka, K., Boonsawang, P., Sung, S., & Chaiprapat, S. (2014). Co-fermentation of oil palm lignocellulosic residue with pig manure in anaerobic leach bed reactor for fatty acid production. *Energy Conversion and Management*, 84, 354–362.
- Schmidt, T., McCabe, B. K., Harris, P. W., & Lee, S. (2018). Effect of trace element addition and increasing organic loading rates on the anaerobic digestion of cattle slaughterhouse wastewater. *Bioresource Technology*, 264, 51–57.
- Schwede, S., Thorin, E., Lindmark, J., Klintonberg, P., Jääskeläinen, A., Suhonen, A., & Hakalehto, E. (2017). Using slaughterhouse waste in a biochemical-based biorefinery—Results from pilot scale tests. *Environmental Technology*, 38(10), 1275–1284.
- Sevillano, C. A., Pesantes, A. A., Peña Carpio, E., Martínez, E. J., & Gómez, X. (2021). Anaerobic digestion for producing renewable energy—The evolution of this technology in a new uncertain scenario. *Entropy*, 23(2), 145.

- Sganzerla, W. G., Tena-Villares, M., Buller, L. S., Mussatto, S. I., & Forster-Carneiro, T. (2022). Dry anaerobic digestion of food industry by-products and bioenergy recovery: A perspective to promote the circular economy transition. *Waste and Biomass Valorization*, 13(5), 2575–2589.
- Shahzad, K., Narodoslawsky, M., Sagir, M., Ali, N., Ali, S., Rashid, M. I., & Koller, M. (2017). Techno-economic feasibility of waste biorefinery: Using slaughtering waste streams as starting material for biopolyester production. *Waste Management*, 67, 73–85.
- Shapovalov, Y., Zhadan, S., Bochmann, G., Salyuk, A., & Nykyforov, V. (2020). Dry anaerobic digestion of chicken manure: A review. *Applied Sciences*, 10(21), 7825.
- Shen, J., Yan, H., Zhang, R., Liu, G., & Chen, C. (2018). Characterization and methane production of different nut residue wastes in anaerobic digestion. *Renewable Energy*, 116, 835–841.
- Shende, A. D., & Pophali, G. R. (2021). Anaerobic treatment of slaughterhouse wastewater: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(1), 35–55.
- Shi, C., Ma, J., Wu, H., Luo, J., Liu, Y., Li, K., & Wang, K. (2022). Evaluation of pH regulation in carbohydrate-type municipal waste anaerobic co-fermentation: Roles of pH at acidic, neutral and alkaline conditions. *Science of the Total Environment*, 853, 158327.
- Shirzad, M., Panahi, H. K. S., Dashti, B. B., Rajaeifar, M. A., Aghbashlo, M., & Tabatabaei, M. (2019). A comprehensive review on electricity generation and GHG emission reduction potentials through anaerobic digestion of agricultural and livestock/slaughterhouse wastes in Iran. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 111, 571–594.
- Siciliano, A., Limonti, C., Curcio, G. M., & Molinari, R. (2020). Advances in struvite precipitation technologies for nutrients removal and recovery from aqueous waste and wastewater. *Sustainability*, 12(18), 7538.

- Song, Y. H., Qiu, G. L., Yuan, P., Cui, X. Y., Peng, J. F., Zeng, P., & Qian, F. (2011). Nutrients removal and recovery from anaerobically digested swine wastewater by struvite crystallization without chemical additions. *Journal of Hazardous Materials*, 190(1–3), 140–149.
- Sprott, G. D., & Patel, G. B. (1986). Ammonia toxicity in pure cultures of methanogenic bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 7, 358–363.
- Strazzer, G., Battista, F., Garcia, N., Frison, N., & Bolzonella, D. (2018). Volatile fatty acids production from food wastes for biorefinery platforms: A review. *Journal of Environmental Management*, 226, 278–288.
- Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L. J., Vecino, K., Rojas, G., & Mantilla, L. (2017). Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality. *Bioresource Technology*, 239, 311–317.
- Suárez Sandoval, D., & Blanco Barragán, J. D. (2024). Economizador de caldera usando biogás como combustible (Trabajo de grado, Universidad Industrial de Santander). Universidad Industrial de Santander.
- Sun, J., Zhang, L., & Loh, K. C. (2021). Review and perspectives of enhanced volatile fatty acids production from acidogenic fermentation of lignocellulosic biomass wastes. *Bioresources and Bioprocessing*, 8(1), 68.
- Tao, W., Fattah, K., & Huchzermeier, M. (2016). Struvite recovery from anaerobically digested dairy manure: A review of application potential and hindrances. *Journal of Environmental Management*, 169, 46–57.
- Tavera-Ruiz, C., Martí-Herrero, J., Mendieta, O., Jaimes-Estévez, J., Gauthier-Maradei, P., Azimov, U., & Castro, L. (2023). Current understanding and perspectives on anaerobic

- digestion in developing countries: Colombia case study. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 173, 113097.
- Tian, H., Fotidis, I. A., Mancini, E., Treu, L., Mahdy, A., Ballesteros, M., & Angelidaki, I. (2018). Acclimation to extremely high ammonia levels in continuous biomethanation process and the associated microbial community dynamics. *Bioresource Technology*, 247, 616–623.
- Tiong, J. S. M., Chan, Y. J., Lim, J. W., Mohamad, M., Ho, C. D., Rahmah, A. U., & Kumakiri, I. (2021). Simulation and optimization of anaerobic co-digestion of food waste with palm oil mill effluent for biogas production. *Sustainability*, 13(24), 13665.
- Ubando, A. T., Felix, C. B., & Chen, W. H. (2020). Biorefineries in circular bioeconomy: A comprehensive review. *Bioresource Technology*, 299, 122585.
- Unidad de Planificación Rural Agropecuaria (UPRA). (2025, 30 de mayo). Colombia tiene 29,5 millones de cabezas de ganado y más de un millón de empleos generados por la carne bovina [Comunicado de prensa]. UPRA.
- United States Environmental Protection Agency. (2005). Membrane filtration guidance manual (EPA 815-R-06-009). US EPA. <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=901V0500.TXT>.
- Usack, J. G., Wiratni, W., & Angenent, L. T. (2014). Improved design of anaerobic digesters for household biogas production in Indonesia: One cow, one digester, and one hour of cooking per day. *The Scientific World Journal*, 2014, 318054.
- Van Soest, P., Robertson, J., & Lewis, B. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583–3597.

- Varghese, V. K., Poddar, B. J., Shah, M. P., Purohit, H. J., & Khardenavis, A. A. (2022). A comprehensive review on current status and future perspectives of microbial volatile fatty acids production as platform chemicals. *Science of The Total Environment*, 815, 152500.
- Vázquez-Fernández, A., Suárez-Ojeda, M. E., & Carrera, J. (2022). Review about bioproduction of volatile fatty acids from wastes and wastewaters: Influence of operating conditions and organic composition of the substrate. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(3), 107917.
- Veluchamy, C., & Kalamdhad, A. S. (2017). A mass diffusion model on the effect of moisture content for solid-state anaerobic digestion. *Journal of Cleaner Production*, 162, 371–379.
- Veluchamy, C., Kalamdhad, A. S., & Gilroyed, B. H. (2021). Evaluating and modelling of plug flow reactor digesting lignocellulosic corn silage. *Fuel*, 287, 119498.
- Veluswamy, G. K., Shah, K., Ball, A. S., Guwy, A. J., & Dinsdale, R. M. (2021). A techno-economic case for volatile fatty acid production for increased sustainability in the wastewater treatment industry. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 7(5), 927–941.
- Vidra, A., & Németh, Á. (2018). Bio-produced propionic acid: A review. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 62(1), 57–67.
- Vilvert, A. J., Junior, J. C. S., Bautitz, I. R., Zenatti, D. C., Andrade, M. G., & Hermes, E. (2020). Minimization of energy demand in slaughterhouses: Estimated production of biogas generated from the effluent. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 120, 109613.
- Wainaina, S., Awasthi, M. K., Horváth, I. S., & Taherzadeh, M. J. (2020). Anaerobic digestion of food waste to volatile fatty acids and hydrogen at high organic loading rates in immersed membrane bioreactors. *Renewable Energy*, 152, 1140–1148.

- Wang, H., Zhang, Y., & Angelidaki, I. (2016). Ammonia inhibition on hydrogen enriched anaerobic digestion of manure under mesophilic and thermophilic conditions. *Water Research*, 105, 314–319.
- Wang, S., Hawkins, G. L., Kiepper, B. H., & Das, K. C. (2018). Treatment of slaughterhouse blood waste using pilot scale two-stage anaerobic digesters for biogas production. *Renewable Energy*, 126, 552–562.
- Wang, X., Yang, G., Li, F., Feng, Y., Ren, G., & Han, X. (2013). Evaluation of two statistical methods for optimizing the feeding composition in anaerobic co-digestion: Mixture design and central composite design. *Bioresource Technology*, 131, 172–178.
- Wang, H., Fotidis, I. A., & Angelidaki, I. (2015). Ammonia effect on hydrogenotrophic methanogens and syntrophic acetate-oxidizing bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 91(11), fiv130.
- Wang, Y., Zhang, Y., Wang, J., & Meng, L. (2009). Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. *Biomass and Bioenergy*, 33(5), 848–853.
- Wang, Z. W., Ma, J., & Chen, S. (2011). Bipolar effects of settling time on active biomass retention in anaerobic sequencing batch reactors digesting flushed dairy manure. *Bioresource Technology*, 102(2), 697–702.
- Wang, Z., Wang, S., Hu, Y., Du, B., Meng, J., Wu, G., & Zhan, X. (2022). Distinguishing responses of acetoclastic and hydrogenotrophic methanogens to ammonia stress in mesophilic mixed cultures. *Water Research*, 224, 119029.
- Ware, A., & Power, N. (2016). Biogas from cattle slaughterhouse waste: Energy recovery towards an energy self-sufficient industry in Ireland. *Renewable Energy*, 97, 541–549.

- Water Environment Federation. (2005). Clarifier design (2nd ed.; WEF Manual of Practice No. FD-8). McGraw-Hill.
- Weinrich, S., & Nelles, M. (2021). Systematic simplification of the Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1): Model development and stoichiometric analysis. *Bioresource Technology*, 333, 125124.
- Weinrich, S., Mauky, E., Schmidt, T., Krebs, C., Liebetrau, J., & Nelles, M. (2021). Systematic simplification of the Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1): Laboratory experiments and model application. *Bioresource Technology*, 333, 125104.
- Weithmann, N., Mlinar, S., Sonnleitner, E., Weig, A. R., & Freitag, R. (2021). Flexible feeding in anaerobic digestion: Impact on process stability, performance and microbial community structures. *Anaerobe*, 68, 102297.
- Wiegant, W. M., & Zeeman, G. (1986). The mechanism of ammonia inhibition in the thermophilic digestion of livestock wastes. *Agricultural Wastes*, 16(4), 243–253.
- World Bank. (2009). Global study of livestock markets, slaughterhouses and related waste management systems: Final report. World Bank.
- Wu, B. (2012). Integration of mixing, heat transfer, and biochemical reaction kinetics in anaerobic methane fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 109(11), 2864–2874.
- Wu, D., Liu, H., Xing, T., Xiao, F., Liu, Y., Zhen, F., & Sun, Y. (2024). An integrated evaluation strategy for anaerobic digestion monitoring based on acid-base balance and thermodynamics of volatile fatty acid degradation. *Chemical Engineering Journal*, 486, 150340.

- Xu, F., Wang, Z. W., Tang, L., & Li, Y. (2014). A mass diffusion-based interpretation of the effect of total solids content on solid-state anaerobic digestion of cellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 167, 178–185.
- Xu, N., Chen, T., & Yin, J. (2023). The role of lipids in fermentative propionate production from the co-fermentation of lipid and food waste. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 17(7), 86.
- Xu, S., Fu, B., Zhang, L., & Liu, H. (2015). Bioconversion of H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> by acetogen enriched cultures for acetate and ethanol production: The impact of pH. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(6), 941–950.
- Yang, J., Zhang, J., Du, X., Gao, T., Cheng, Z., Fu, W., & Wang, S. (2025). Ammonia inhibition in anaerobic digestion of organic waste: A review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 22(5), 3927–3942.
- Yang, Y., Chen, Q., Guo, J., & Hu, Z. (2015). Kinetics and methane gas yields of selected C1 to C5 organic acids in anaerobic digestion. *Water Research*, 87, 112–118.
- Yazdani, M., Ebrahimi-Nik, M., Heidari, A., & Abbaspour-Fard, M. H. (2019). Improvement of biogas production from slaughterhouse wastewater using biosynthesized iron nanoparticles from water treatment sludge. *Renewable Energy*, 135, 496–501.
- Yenigün, O., & Demirel, B. (2013). Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. *Process Biochemistry*, 48, 901–911.
- Yetilmezsoy, K., Ilhan, F., Kiyan, E., & Bahramian, M. (2022). A comprehensive techno-economic analysis of income-generating sources on the conversion of real sheep slaughterhouse waste stream into valorized by-products. *Journal of Environmental Management*, 306, 114464.

- Yoon, Y., Kim, S., Oh, S., & Kim, C. (2014). Potential of anaerobic digestion for material recovery and energy production in waste biomass from a poultry slaughterhouse. *Waste Management*, 34, 204–209.
- Yu, H. Q., & Fang, H. H. P. (2002). Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels. *Water Science and Technology*, 45, 201–206.
- Yu, H. Q., & Fang, H. H. P. (2003). Acidogenesis of gelatin-rich wastewater in an upflow anaerobic reactor: Influence of pH and temperature. *Water Research*, 37, 55–66.
- Yu, L., Ma, J., Frear, C., Zhao, Q., Dillon, R., Li, X., & Chen, S. (2013). Multiphase modeling of settling and suspension in anaerobic digester. *Applied Energy*, 111, 28–39.
- Yu, X., Yin, J., Shen, D., Shentu, J., Long, Y., & Chen, T. (2018). Improvement of acidogenic fermentation for volatile fatty acid production from protein-rich substrate in food waste. *Waste Management*, 74, 177–184.
- Yuan, H., & Zhu, N. (2016). Progress in inhibition mechanisms and process control of intermediates and by-products in sewage sludge anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 429–438.
- Zeng, W., Wang, D., Wu, Z., He, L., Luo, Z., & Yang, J. (2021). Recovery of nitrogen and phosphorus fertilizer from pig farm biogas slurry and incinerated chicken manure fly ash. *Science of The Total Environment*, 782, 146856.
- Zhang, L., Liu, H., Zheng, Z., Ma, H., Yang, M., & Liu, H. (2018). Continuous liquid fermentation of pretreated waste activated sludge for high rate volatile fatty acids production and online nutrients recovery. *Bioresource Technology*, 249, 962–968.

- Zhang, J., Chen, J., Ma, R., Kumar, V., Tong, Y. W., He, Y., & Mao, F. (2022). Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of animal manure: Integrated insights from biogas productivity, microbial viability and enzymatic activity. *Fuel*, 320, 123990.
- Zhang, X., Gu, J., Wang, X., Zhang, K., Yin, Y., Zhang, R., & Zhang, S. (2019). Effects of tylosin, ciprofloxacin, and sulfadimidine on *mcrA* gene abundance and the methanogen community during anaerobic digestion of cattle manure. *Chemosphere*, 221, 81–88.
- Zhang, Y., & Banks, C. J. (2012). Co-digestion of the mechanically recovered organic fraction of municipal solid waste with slaughterhouse wastes. *Biochemical Engineering Journal*, 68, 129–137.
- Zhang, Y., Li, C., Yuan, Z., Wang, R., Angelidaki, I., & Zhu, G. (2023). Syntrophy mechanism, microbial population, and process optimization for volatile fatty acids metabolism in anaerobic digestion. *Chemical Engineering Journal*, 452, 139137.
- Zhao, J., Yang, Q., Li, X., Wang, D., Luo, K., Zhong, Y., & Zeng, G. (2015). Enhanced production of short-chain fatty acid from food waste stimulated by alkyl polyglycosides and its mechanism. *Waste Management*, 46, 133–139.
- Zhao, Q., Zhang, T., Frear, C., Bowers, K., Harrison, J., & Chen, S. (2010). Phosphorus recovery technology in conjunction with dairy anaerobic digestion. CFF Final Report-AD Component, 1–34.
- Zhao, X. F., Yuan, Y. Q., Chen, Q. K., Li, Q., Huang, Y., Wu, D., & Li, L. (2021). Effect of total solids contents on the performance of anaerobic digester treating food waste and kinetics evaluation. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 272, p. 01026). EDP Sciences.

- Zheng, Z., Liu, J., Yuan, X., Wang, X., Zhu, W., Yang, F., & Cui, Z. (2015). Effect of dairy manure to switchgrass co-digestion ratio on methane production and the bacterial community in batch anaerobic digestion. *Applied Energy*, 151, 249–257.
- Zhou, J., Ming, S., Liu, Q., Zhang, Y., & Duan, N. (2024). Revealing the synergy mechanisms of organic components anaerobic co-digestion from the prevailing tendency of endogenous inhibitors. *Chemical Engineering Journal*, 479, 147707.
- Zhou, M., Yan, B., Wong, J. W., & Zhang, Y. (2018). Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. *Bioresource Technology*, 248, 68–78.
- Zonta, Z. J., Alves, M. M., Flotats, X., & Palatsi, J. (2013). Modelling inhibitory effects of long chain fatty acids in the anaerobic digestion process. *Water Research*, 47, 1369–1380.
- Zou, H., Jiang, Q., Zhu, R., Chen, Y., Sun, T., Li, M., & He, Q. (2020). Enhanced hydrolysis of lignocellulose in corn cob by using food waste pretreatment to improve anaerobic digestion performance. *Journal of Environmental Management*, 254, 109830.

## Apéndice A: Comparativo entre las curvas de PBM experimentales y predictivas

Figura A 1

Producción acumulada de  $CH_4$  experimental ( $B_m$ ) y predicha ( $B_p$ ) de la CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB

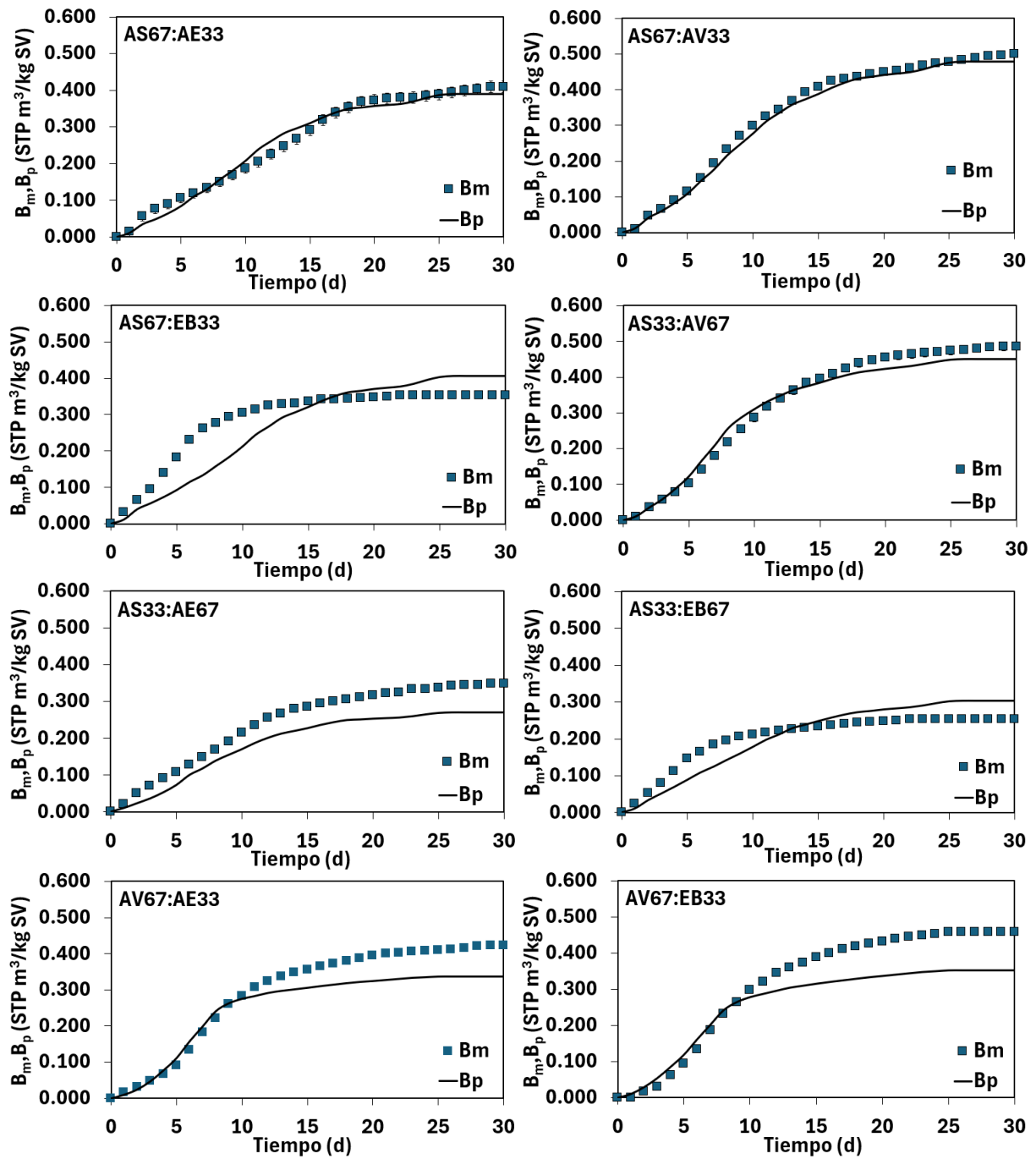


Figura A 1 (Continuación)

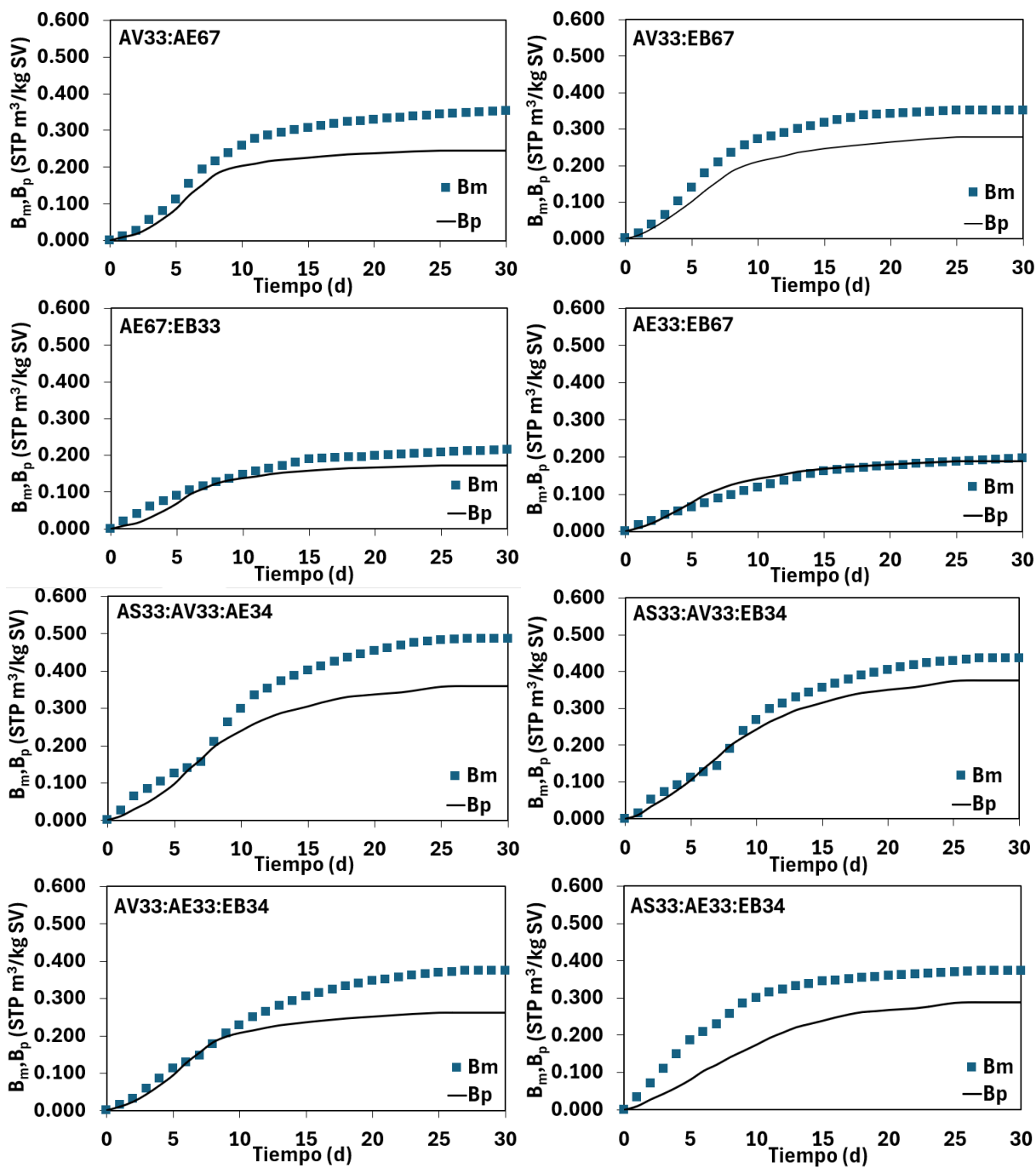
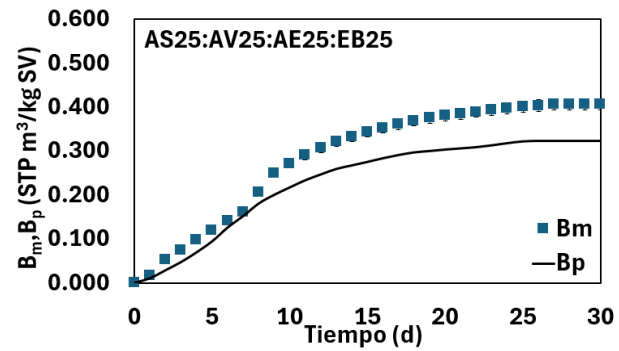


Figura A 1 (Continuación)



*Nota.* Los efectos sinérgicos de la CoDA pueden observarse al comparar las curvas  $B_m$  y  $B_p$ . La letra representa la corriente de residuo (AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado de vísceras; AE: aguas de lavado estomacal; EB: estiércol bovino) y el número su % de sólidos volátiles (SV) en la mezcla.

## Apéndice B: Ajuste de los modelos cinéticos de primer orden y Gompertz modificado

Figura B 1

Producción acumulada de  $CH_4$  experimental ( $B_m$ ) y simulada ( $B_s$ ) de la CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB

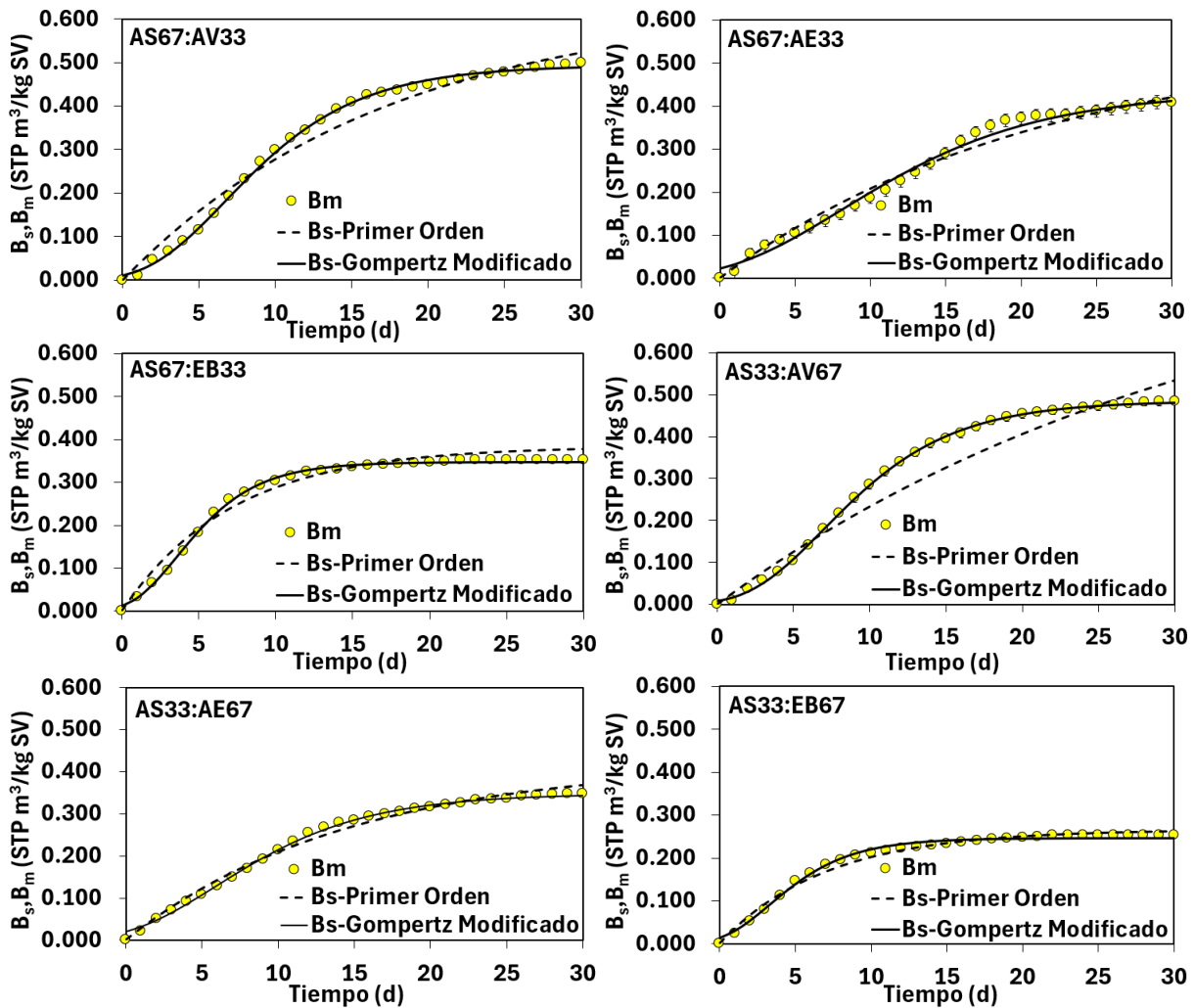


Figura B 1 (Continuación)

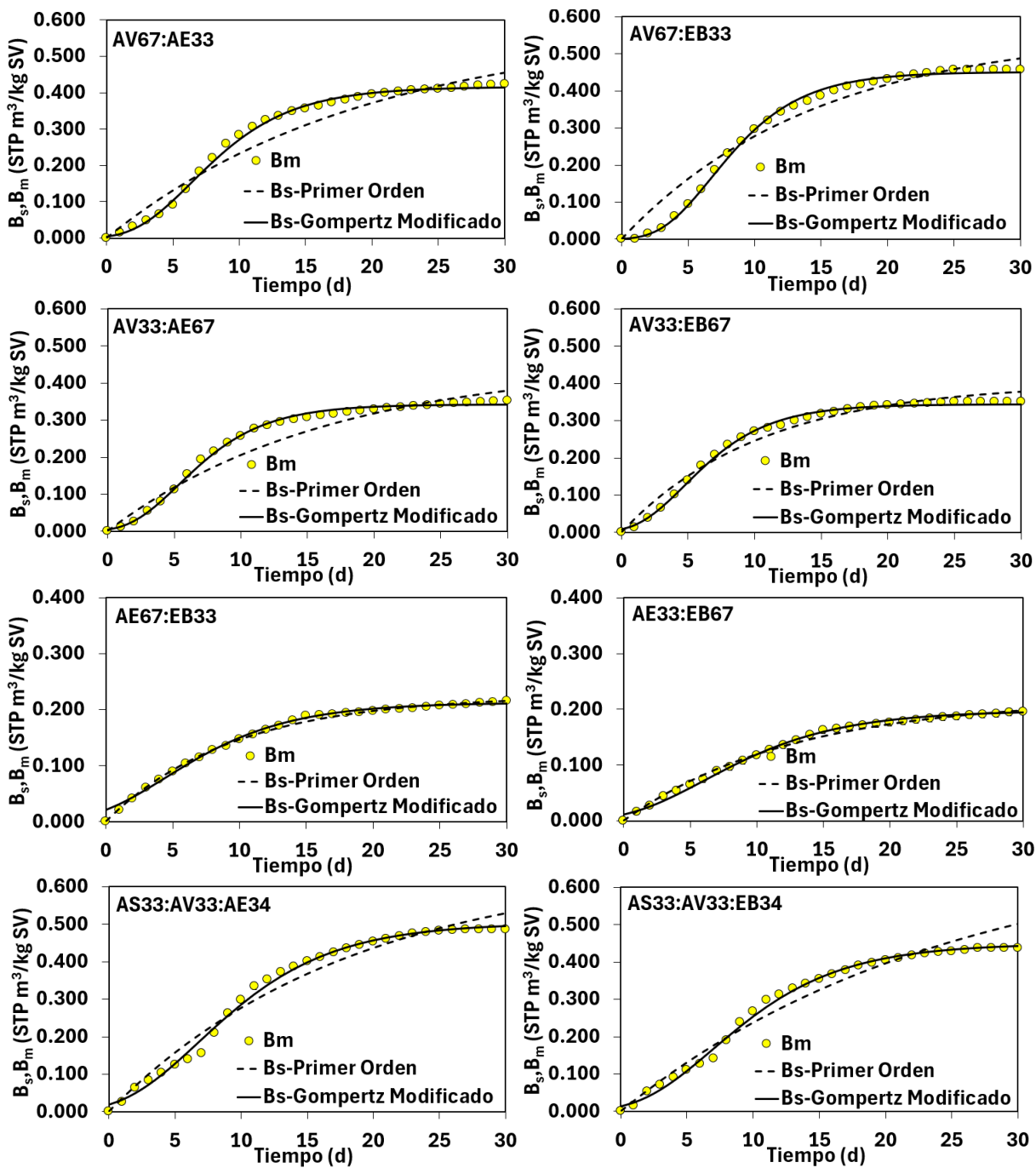
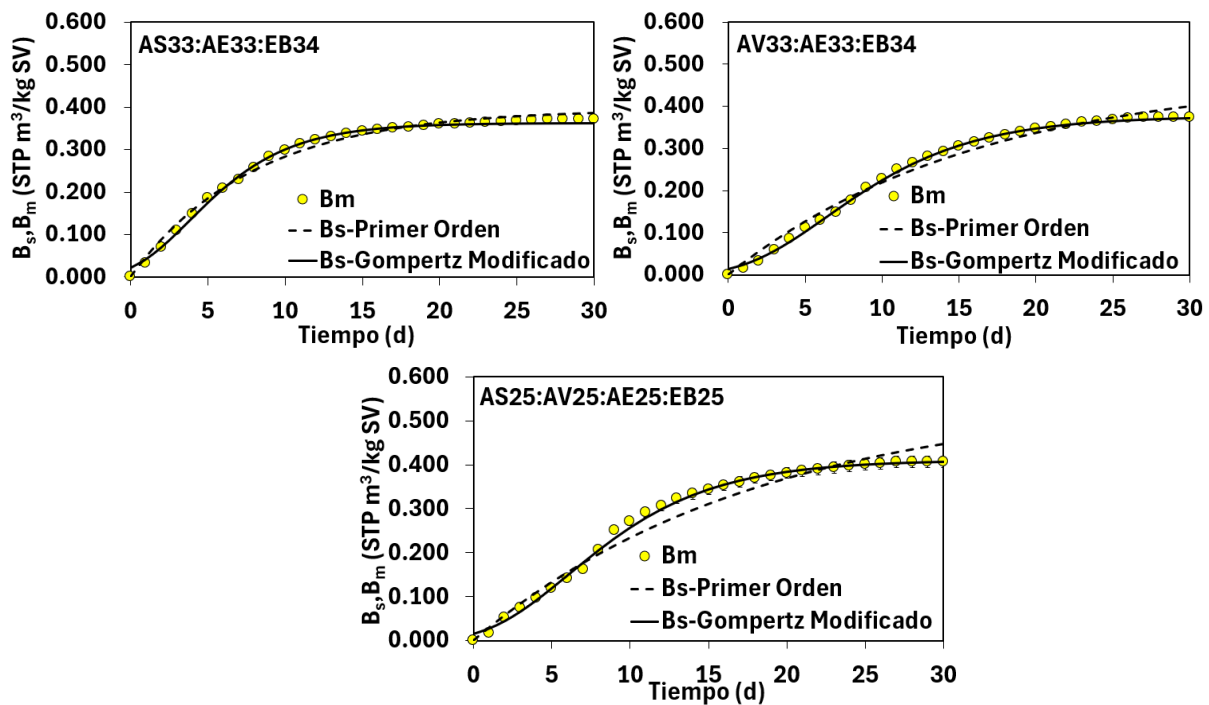


Figura B 1 (Continuación)



*Nota.* La letra representa la corriente de residuo (AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado de vísceras; AE: aguas de lavado estomacal; EB: estiércol bovino) y el número su % de sólidos volátiles (SV) en la mezcla.

Figura B 2

Producción acumulada de  $CH_4$  predicha ( $B_p$ ) de la CoDA de corrientes de aguas residuales y estiércol de PBB, ajustada con el modelo de Gompertz modificado

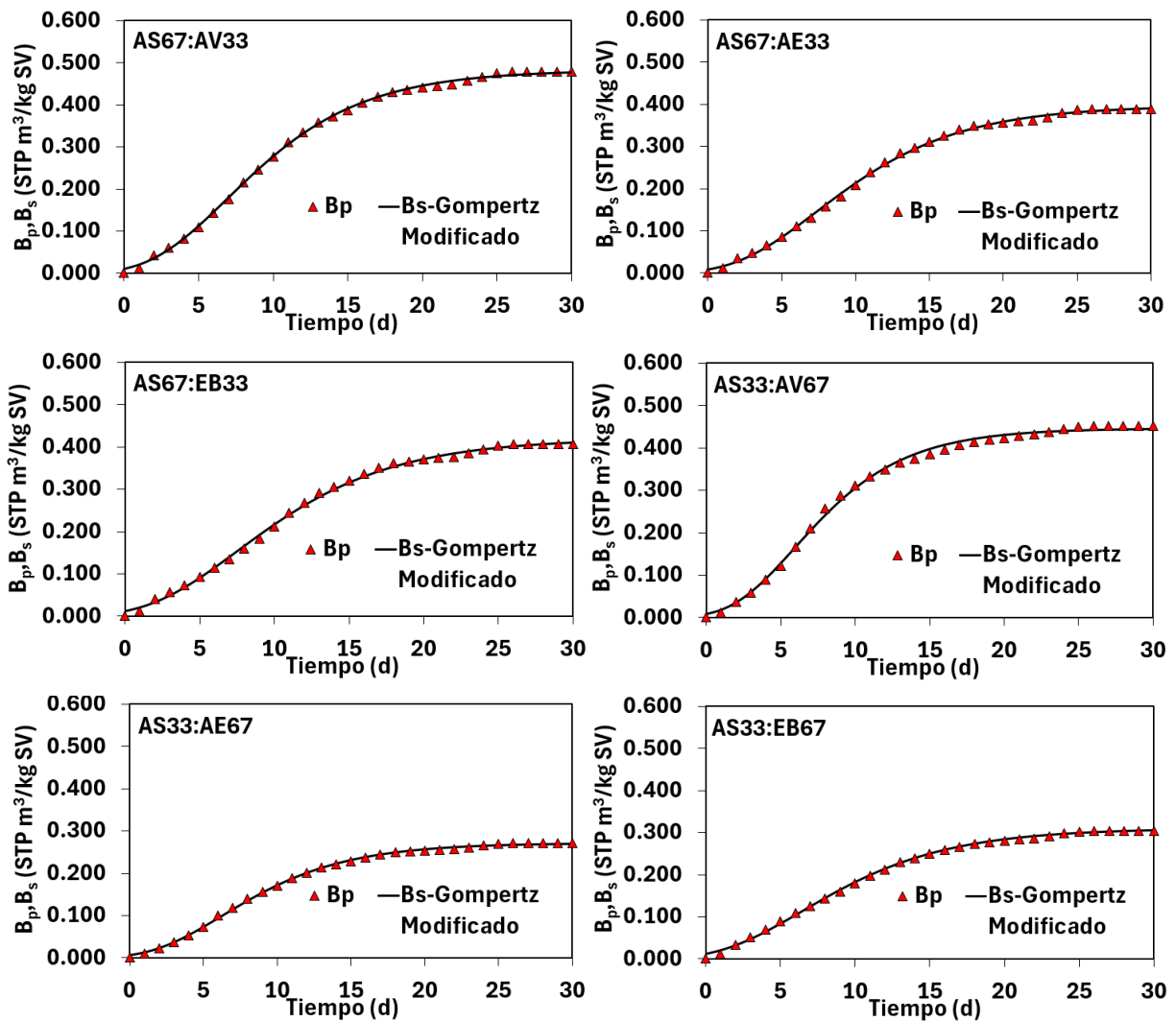


Figura B 2 (Continuación)

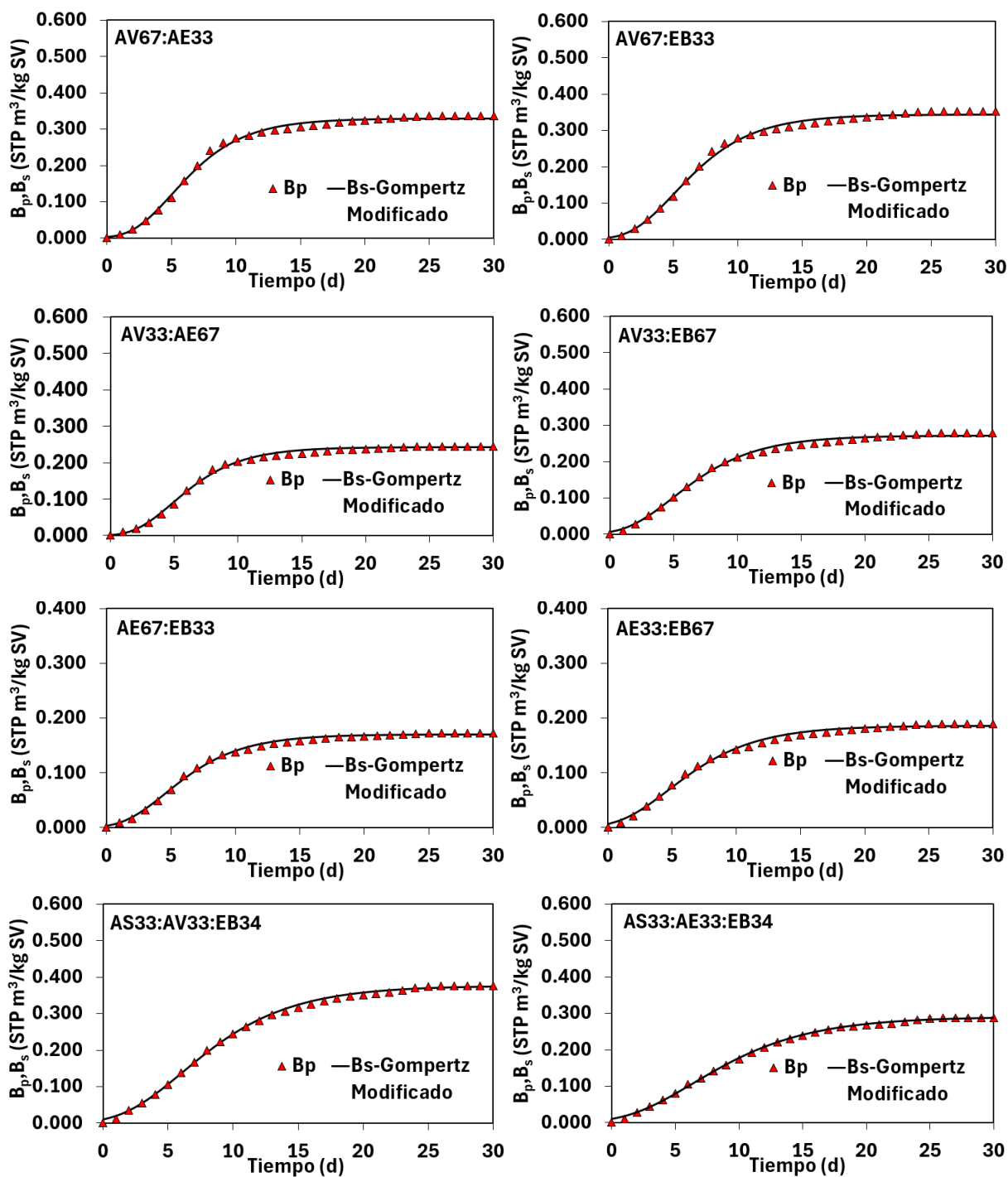
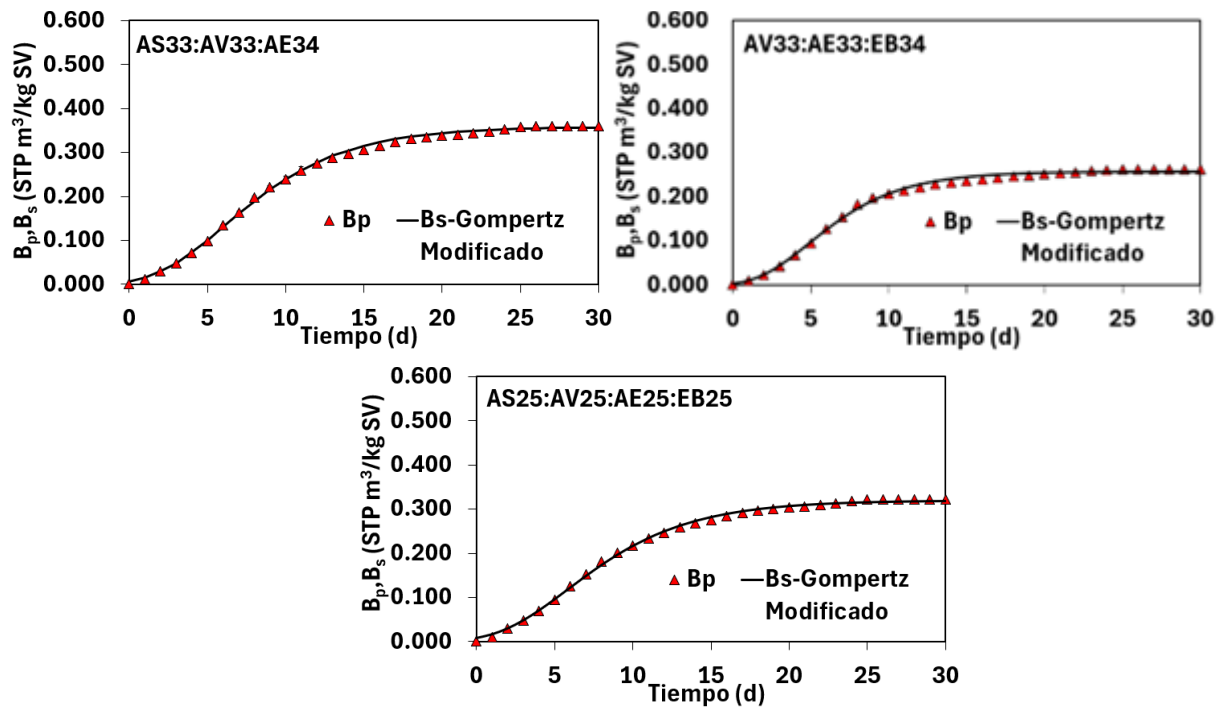


Figura B 2 (Continuación)



*Nota.* La letra representa la corriente de residuo (AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado de vísceras; AE: aguas de lavado estomacal; EB: estiércol bovino) y el número su % de sólidos volátiles (SV) en la mezcla.

**Tabla B 1**

*Error estándar de los parámetros estimados para el modelo de primer orden y el modelo*

*Gompertz modificado*

Mezcla	Error estándar de modelo de Primer orden		Error estándar del modelo Gompertz Modificado		
	$P_0$ (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg SV)	$k_h$ (d <sup>-1</sup> )	$P_0$ (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg SV)	$\lambda$ (d)	$R_{max}$ (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg SV d)
AS100	15.7%	21.1%	1.3%	7.1%	2.4%
AV100	6.4%	13.3%	0.7%	5.1%	2.9%
AE100	3.6%	10.8%	0.5%	5.9%	2.9%
EB100	5.3%	10.1%	1.4%	9.2%	3.3%
AS67:AV33	5.9%	10.8%	0.7%	6.5%	2.0%
AS67:AE33	5.7%	9.8%	1.7%	46.3%	3.6%
AS67:EB33	3.5%	8.0%	0.6%	11.6%	2.1%
AS33:AV67	17.9%	24.0%	0.9%	3.2%	1.9%
AS33:AE67	3.4%	6.0%	1.0%	41.4%	1.8%
AS33:EB67	1.8%	4.8%	0.8%	43.4%	3.4%
AV67:AE33	9.7%	16.3%	0.8%	4.6%	2.4%
AV67:EB33	5.8%	12.2%	1.0%	2.5%	2.3%
AV33:AE67	8.3%	14.7%	0.6%	3.4%	1.9%
AV33:EB67	4.2%	9.4%	0.7%	8.9%	2.4%
AE67:EB33	0.7%	1.7%	0.8%	20.9%	2.6%
AE33:EB67	1.2%	2.9%	0.7%	26.6%	1.8%
AS33:AV33:AE34	6.2%	11.6%	0.8%	12.2%	2.4%
AS33:AE33:EB34	1.7%	4.3%	0.7%	70.5%	2.3%
AS33:AV33:EB34	12.7%	17.4%	2.3%	13.3%	3.5%
AV33:AE33:EB34	4.4%	7.9%	0.6%	10.2%	1.6%
AS25:AV25:AE25:EB25	6.8%	10.2%	1.5%	15.6%	2.9%

Apéndice C: Cálculo de equilibrio  $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$ 

Tabla C 1

*Resumen de los cálculos de  $\text{NH}_3$* 

Mezcla <sup>a</sup>	$\text{NH}_4^+$ final (mg/L)	pH final	I <sup>b</sup> (mol/L)	$\gamma_1$ <sup>c</sup>	$\text{NH}_3$ final (mg/L)
AS100	244.01	7.8	0.0095	0.90	21.82
AV100	86.28	7.92	0.0035	0.94	10.62
AE100	99.78	7.71	0.0038	0.94	7.48
EB100	213.44	7.38	0.0079	0.91	7.24
AS67:AV33	175.23	7.80	0.0068	0.92	15.89
AS67:AE33	184.83	7.80	0.0072	0.92	16.73
AS67:EB33	137.70	8.07	0.0058	0.92	23.73
AS33:AV67	126.32	7.93	0.0051	0.93	15.71
AS33:AE67	150.53	7.66	0.0057	0.92	9.91
AS33:EB67	154.86	7.99	0.0063	0.92	22.01
AV67:AE33	86.67	7.83	0.0034	0.94	8.64
AV67:EB33	83.76	7.71	0.0032	0.94	6.32
AV33:AE67	99.06	7.66	0.0038	0.94	6.62
AV33:EB67	122.13	7.76	0.0047	0.93	10.22
AE67:EB33	171.45	7.63	0.0065	0.92	10.48
AE33:EB67	214.64	7.44	0.0080	0.91	8.37
AS33:AV33:AE34	118.35	7.13	0.0043	0.93	2.30
AS33:AE33:EB34	182.59	7.32	0.0067	0.92	5.43
AS33:AV33:EB34	133.89	7.05	0.0049	0.93	2.16
AV33:AE33:EB34	108.02	7.06	0.0039	0.94	1.79
AS25:AV25:AE25:EB25	132.94	7.27	0.0049	0.93	3.56

*Nota.* a. La letra representa la corriente de residuo (AS: aguas de sacrificio; AV: aguas de lavado de vísceras; AE: aguas de lavado estomacal; EB: estiércol bovino) y el número, su porcentaje de sólidos volátiles (%SV) en la mezcla. b. I: Fuerza iónica. c.  $\gamma_1$ : Coeficiente de actividad.

**Apéndice D: CAPEX y OPEX de la integración de la CoDA en la PBB caso de estudio****Tabla D 1***Costo de equipos utilizado para el análisis económico*

<b>Equipo</b>	<b>Descripción</b>	<b>Precio escalado y actualizado con importación (USD\$)</b>	<b>Proveedor/referencia</b>
<b>CoDA</b>			
Tanques	Tanque de polietileno cilíndrico horizontal de 50 m <sup>3</sup> de capacidad	\$17,893	Tustechos.com Proveedor colombiano
Bombas	Electrobomba VORTEX monofásica de 0.75 CV para aguas residuales	\$489	Prato Erbosos Shop Proveedor extranjero
Digestores	Digestor de 200 m <sup>3</sup> fabricado en polietileno de baja densidad	\$20,818	Sistema Bio Proveedor colombiano
<b>CHP/Economizador de Calor</b>			
Condensador	Doble tubo	\$1,078 <sup>a</sup>	Couper <i>et al.</i> (2012)
CHP	Generador Tiger open type de 50kW con sistema de recuperación de calor	\$28,236	Shandong Tiger Machinery Technology Co., Ltd. Proveedor extranjero
Filtro H <sub>2</sub> S	Filtro de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	\$1,924	Shandong Tiger Machinery Technology Co., Ltd. Proveedor extranjero
Blower	Turbina Soplador Canal Lateral BL 04 1.5 Hp. 220 Volt.	\$732	Ziomipompe Proveedor extranjero
Economizador	Intercambiador de calor de tubo y carcasa con quemador incluido	\$2,108	Suarez & Blanco (2024)

Equipo	Descripción	Precio escalado y actualizado con importación (USD\$)	Proveedor/referencia
<b>Producción de Estruvita</b>			
Microfiltro	USD\$ 200/m <sup>2</sup> Área de filtrado: 173 m <sup>2</sup> b	\$34,544	Pinatha <i>et al.</i> (2025)
Clarificador	Clarificador lamelar Capacidad: 10 m <sup>3</sup> /h	\$7,202	Qingdao Linzhen Environment Project Co., Ltd. Proveedor extranjero
Cristalizador	---	\$13,215	Pinatha <i>et al.</i> (2025)
<b>Compostaje</b>			
Prensa de Tornillo	Fabricado en acero al carbono	\$6,015	lepp Environmental (shandong) Group Co., Ltd. Proveedor extranjero
Maquina volteadora	Ancho de trabajo: 3 m Alto de trabajo: 1.5 m Eléctrica	\$7,243	Henan Gate Heavy Industry Machine Technology Co., Ltd. Proveedor extranjero
<b>Producción de AGV's</b>			
Criba	Criba rotatoria	\$4,500	Yangzhou Pujiang Environmental Protection Technology Co., Ltd. Proveedor extranjero
Triturador	Triturador para el tratamiento de aguas residuales	\$3,080	Henan Eco Environmental Protection Equipment Co., Ltd. Proveedor extranjero
Fermentador	Digestor de 200 m <sup>3</sup> fabricado en polietileno de baja densidad	\$20,818	Sistema Bio Proveedor colombiano

Equipo	Descripción	Precio escalado y actualizado con importación (USD\$)	Proveedor/referencia
	Digestor de 60 m <sup>3</sup> fabricado en polietileno de baja densidad	\$6,245	
Clarificador	Clarificador lamelar Capacidad: 10 m <sup>3</sup> /h	\$7,202	Qingdao Linzhen Environment Project Co., Ltd. Proveedor extranjero
Microfiltro	USD\$ 200/m <sup>2</sup> Área de filtrado: 282 m <sup>2</sup> <sup>a</sup>	\$56,470	Pinatha <i>et al.</i> (2025)
Electrodiálisis	Equipo de tratamiento de aguas por electrodiálisis 98% de eliminación de impurezas	\$10,631	Sichuan Zhuoyue Water Treatment Equipment Co., Ltd. Proveedor extranjero

Nota: a. Estimado a partir de ecuaciones de costos. b. Cálculo SuperPro Designer

**Tabla D 2**

*OPEX de la integración de la CoDA de aguas residuales y estiércol en la PBB caso de estudio*

Escenario	M/S/I/GP <sup>a</sup> (USD\$/año)	Laboratorio (USD\$/año)	Servicios (USD\$/año)	Depreciación (USD\$/año)	Costo Laboral (USD\$/año)	Materiales (USD\$/año)	Consumibles (USD\$/año)	OPEX (USD\$/año)
1	\$ 10,478	\$ 864	\$ 261	\$ 12,442	\$ 17,280	\$ 0	\$ 0	\$ 41,325
2	\$ 16,374	\$ 1,728	\$ 1,709	\$ 19,444	\$ 34,560	\$ 9,200	\$ 8,879	\$ 91,894
3	\$ 11,339	\$ 1,728	\$ 15,790	\$ 13,465	\$ 34,560	\$ 615	\$ 0	\$ 77,498
4	\$ 12,223	\$ 864	\$ 261	\$ 14,515	\$ 17,280	\$ 0	\$ 0	\$ 45,143
5	\$ 18,119	\$ 1,728	\$ 1,709	\$ 21,517	\$ 34,560	\$ 9,200	\$ 8,879	\$ 95,712
6	\$ 13,084	\$ 1,728	\$ 15,790	\$ 15,538	\$ 34,560	\$ 615	\$ 0	\$ 81,315

Nota. a.M/S/I/GP: Mantenimiento, seguro, impuestos y gastos de planta.