

Evaluación técnica y ambiental de la influencia de la temperatura en la producción de biohidrógeno en procesos de fermentación oscura de biomasa residual a gran escala.

Valentina Rodríguez¹, Miguel Romero¹, Paola Acevedo¹, Carol Rangel².

¹ *Facultad de Ingeniería Ambiental – Universidad Santo Tomás.*

² *Facultad de Ingeniería – Universidad EAN.*

valentinarodriguezr@usantotomas.edu.co

miguelromerom@usantotomas.edu.co

paolaacevedo@usantotomas.edu.co

crangel46372@universidadean.edu.co

Resumen

La producción de biohidrógeno a partir de biomasa residual ha sido tema de interés en los últimos años, debido a la necesidad de fomentar la investigación y desarrollo de las energías renovables. Por tal razón, el presente estudio se centra en evaluar el efecto de dos temperaturas bajo las cuales se desarrolló la fermentación oscura, que es la ruta más efectiva para la degradación de la biomasa residual con miras a la obtención de biohidrógeno. Con base en información derivada de una simulación en AspenPlus del macroproyecto “Evaluación de rutas de aprovechamiento de biomasa residual bajo el esquema de biorrefinerías”, se desarrolló una evaluación técnica y ambiental de fermentación oscura a 35 y 45 °C mediante dos balances de masa y energía enfocados a la producción de biohidrógeno y el digestato resultante.

A partir de los resultados obtenidos, se estableció que a 35 °C se obtiene un mayor rendimiento de producción energética. Del mismo modo, siguiendo la metodología propuesta en la ISO 14040:2006 para el Análisis de Ciclo de Vida, simulado en el software SimaPro, se identificaron el calentamiento global (GW), la escasez de agua (WS) y la degradación abiótica por el uso de combustibles fósiles (ADFF), como las categorías de impacto ambiental donde se presenta una mayor contribución de efectos ambientales adversos. Es preciso mencionar que la continuidad en la investigación es importante para garantizar el pleno desarrollo de las tecnologías que permitan llevar a cabo la generación de energía a través del aprovechamiento de biomasa residual.

I. INTRODUCCIÓN

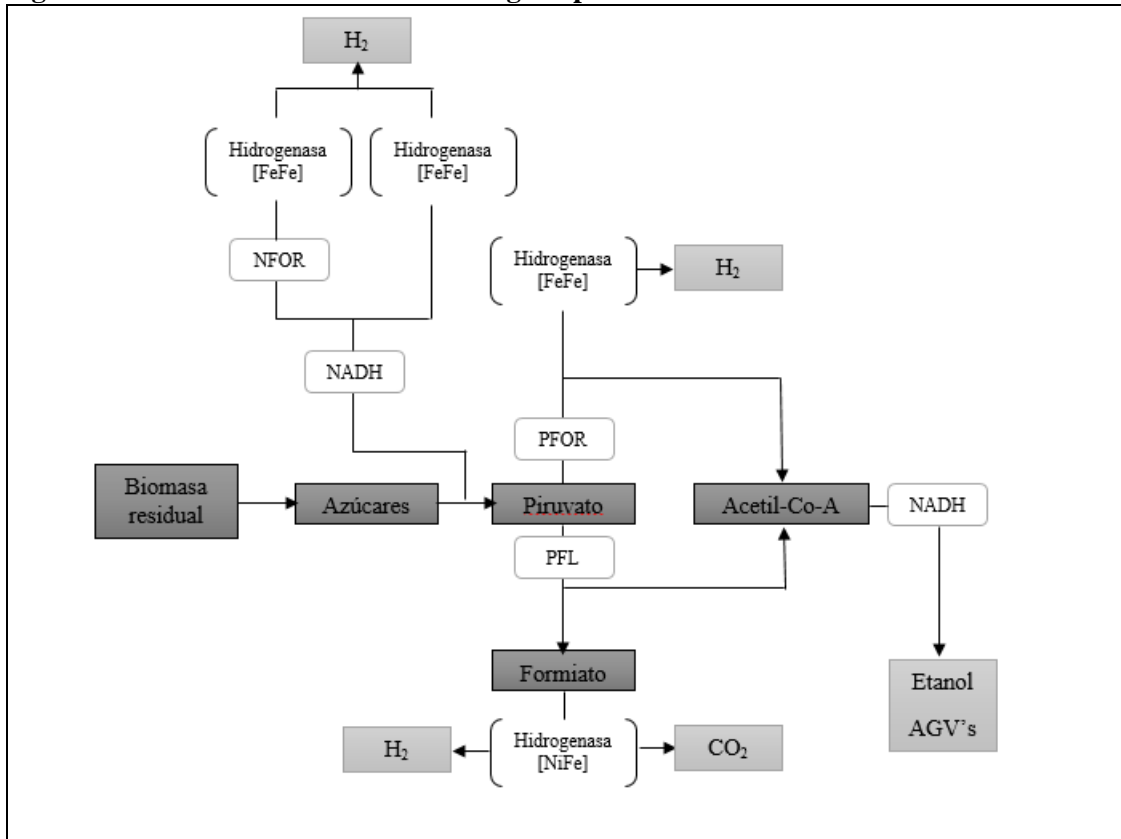
El incremento en la demanda de energía ocasionado por el crecimiento demográfico a nivel mundial ha impulsado el uso de los combustibles fósiles que son, en gran parte, responsables de la contaminación ambiental y del aceleramiento del cambio climático [1] por lo que es necesaria la búsqueda de nuevas fuentes de energía que sean sostenibles y que generen un menor impacto al medio ambiente. Bajo este contexto, se define como una nueva alternativa de generación de electricidad el hidrógeno obtenido a partir de biomasa residual por su rendimiento energético (122 kJ/g) [2], sus nulas emisiones de CO y CO₂ y su aporte al incremento de la vida útil de los rellenos sanitarios al permitir el aprovechamiento de los residuos [3].

Uno de los procesos que se llevan a cabo para la obtención del hidrógeno se conoce como digestión anaerobia (DA) que consiste en el pretratamiento biológico natural de sustratos orgánicos realizado por comunidades de microorganismos que convierten la estructura de la biomasa en componentes más simples sin presencia de oxígeno [4]. En un biorreactor anaeróbico se reducen carbohidratos complejos y materia orgánica que se transforman en biogás, una mezcla constituida mayormente por metano, dióxido de carbono y un residuo orgánico rico en nitrógeno [5]. La DA sigue una secuencia de cuatro etapas dentro de las que se encuentran la hidrólisis, la acidogénesis, la acetogénesis y la metanogénesis [6], [7]. Durante la acidogénesis y la acetogénesis ocurre la fermentación oscura (FO) que consiste en convertir azúcares o disacáridos simples en hidrógeno, dióxido de carbono y ácidos orgánicos usando diferentes grupos microbianos [7, 9].

La figura 1 muestra la ruta de síntesis de biohidrógeno por la fermentación oscura (FO). Dicho proceso de fermentación, se lleva a cabo en condiciones anaerobias facilitando la conversión de una amplia gama de biomasa residual, a biohidrógeno y otros compuestos que pueden ser usados como subproductos bajo un enfoque de biorrefinería. Particularmente, la FO es considerada como la ruta más viable para la síntesis de biohidrógeno, donde la glucosa puede ser degradada bajo diferentes rutas de fermentación [10, 11].

La degradación de la biomasa residual bajo el esquema de la DA implica la reducción primaria de las macromoléculas, como carbohidratos y lípidos, mediante la hidrólisis, en moléculas con un grado menor de complejidad llevando a la síntesis de azúcares y alcoholes. A su vez, estos últimos por acción de las bacterias acidogénicas y acetogénicas, se convierten en biohidrógeno y CO₂ [12]. Se han reportado dos grupos de microorganismos que cumplen un rol fundamental en la producción de biohidrógeno: bacterias anaerobias, del género *Clostridium*, incluyendo especies como *C. thermolacticum*, *C. bifementants*, *C. thermocellum*, entre otras; y bacterias facultativas, del género *Enterobacter*, que cobija a especies como *Cronobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella* y *Yersinia*, por mencionar algunas [10, 12, 13].

Figura 1. Ruta de obtención de biohidrógeno por FO.



Fuente: autores, basados en R. Lukajtis *et al* [10].

La síntesis específica del biohidrógeno por FO, se ve mediada por la acción de la enzima hidrogenasa de la cual se derivan dos formas molecularmente diferentes, la hidrogenasa [NiFe] y la hidrogenasa [FeFe]. La primera de estas, participa en la ruta de fermentación de la glucosa que resulta en la reducción de los azúcares a acetil-Co-A y CO₂. La segunda, actúa en la conversión del piruvato que se forma por la acción de la coenzima NADH, a formiato, llevando a la síntesis de biohidrógeno. El proceso es mediado por enzimas como piruvato ferredoxina oxidoreductosa (PFOR) y piruvato formiato liasa (PFL) [10].

En la última década, se han estudiado diferentes sustratos provenientes de biomasa residual de diversas industrias alimenticias y del saneamiento ambiental para determinar el potencial de generación de biohidrógeno y su posible escalamiento. La elección de los sustratos se efectúa bajo cinco criterios: ser ricos en carbohidratos, de fácil acceso, costo bajo de adquisición, provenir de fuentes renovables de generación y que los requerimientos de pretratamiento de los sustratos sean mínimos [2] con el fin de que la FO se desarrolle bajo las condiciones adecuadas para garantizar la correcta operación del proceso. La Tabla 1, muestra el consolidado de los sustratos empleados en la producción de biohidrógeno.

Tabla 1. Sustratos empleados en la FO.

Sustrato empleado	Inóculo	T (°C)	pH	TRH (h)	Producción de H ₂	Rendimiento de H ₂	Referencia
Racimo de fruta vacía de palma de aceite	Cultivo mixto (lodo anaerobio de un reactor UASB)	35	7.0-7.5	72	S.I.	169.53- 286.98 mLH ₂ /g biomasa	[17]
Paja de avena	Cultivo mixto (lodo anaerobio de un reactor UASB)	35	7.0	S.I.	643.25-1374.13 mLH ₂ /L	1.10–2.39 mol H ₂ /mol reducing sugars	[18]
Agua residual de fábrica de papel	Cultivo mixto (lodo anaerobio de PTAR)	35	5.0	9.6	S.I.	1.22 ± 0.11 mmol/g	[19]
Agua residual de la industria de alcohol	Cultivo mixto (lodo anaerobio de PTAR)	37	5.5	23	S.I.	125.1 ml H ₂ /g DQO removida	[20]
Agua residual de producción de melaza	Cultivo puro (<i>Enterobacter aerogenes</i>)	30	S.I.	24	S.I.	6.02 mm/g azúcar	[21]
Granos de cervecería usados	Cultivo puro (<i>Escherichia coli</i>)	37	7.5	S.I.	52–92 mL H ₂ /L	100–175 mL H ₂ /g peso seco	[22]
Residuos de hoja de caña de azúcar	Cultivo mixto (lodo anaerobio de PTAR)	37	6.5	72	127.69 mL H ₂ /L	18.6 mL H ₂ /g azúcar	[23]
Bagazo de caña de azúcar	Cultivo mixto (lodo anaerobio de PTAR)	30	3.0-9.0	S.I.	121.7–402.0 mL H ₂ /L	0.092–1.211 mol H ₂ /mol glucosa	[24]
Residuos de hojas de sorgo	Cultivo mixto (lodo anaerobio de PTAR)	37.5	4.0-7.0	S.I.	369 mL H ₂ /L	213.14 mL H ₂ /g azúcar	[25]
Salvado de arroz	Cultivo puro (<i>Enterobacter ludwigii</i>)	70	S.I.	72	S.I.	147.7–317.6 mL H ₂ /g azúcar	[26]
Agua residual de molino de arroz	Cultivo puro (<i>Clostridium beijerinckii DSM 791</i>)	37	7.0	72	195.7-214.9 mL H ₂ /L	S.I.	[27]
Lenteja de agua	Cultivo mixto (lodo anaerobio de PTAR municipal)	35-55	7.0	96	S.I.	54.0–163.5 mLH ₂ /g peso seco	[28]
Estiércol de vaca	Cultivo mixto (leche residual de vacas enfermas de mastitis tratadas con cefazolin)	55	7–7.5	S.I.	S.I.	59.5 mLH ₂ /g SV	[29]

Fuente: autores.

TRH*: tiempo de retención hidráulico.

S.I.*: sin información.

Las variables de operación de los procesos de FO a nivel experimental toman mayor importancia para garantizar la producción de biohidrógeno, dado que, con las condiciones adecuadas, se pueden alcanzar mayores rendimientos en la producción del gas [14]. Del mismo modo, los análisis y pruebas de caracterización de los sustratos son determinantes a la hora de evaluar el potencial de la biomasa residual, por lo que parámetros fisicoquímicos como la Demanda Química de Oxígeno (DQO), Sólidos Totales (ST),

Sólidos Volátiles (SV), la relación de Carbono-Nitrógeno (C:N), Nitrógeno Total (NT), entre otros, son medidos con regularidad con el fin de que la biomasa residual cumpla con las condiciones para la FO [15, 16]. Por tanto, en la puesta en marcha de los reactores, el seguimiento a las variables presentes en la Tabla 2, se debe ejecutar con mediciones en tiempo real, para un control adecuado de la fermentación.

Tabla 2. Variables de operación en la FO.

Variable de operación	Influencia en la FO	Valores reportados	Referencia
Temperatura	Asegura el crecimiento de los microorganismos en los reactores. Está estrechamente ligada al tipo de cultivo microbiano que se emplea en la fermentación. La actividad de algunas de las enzimas que contribuyen a la producción de hidrógeno depende de manera directa de la temperatura de operación de los reactores [10, 30].	35°C	[10]
		37°C	[31]
		45°C	[30]
		50°C	[32]
		55°C	[30]
pH	Favorece el metabolismo microbiano, así como la estabilidad del medio e influye drásticamente en la producción de biohidrógeno, dado que cambios en dicha variable, se relacionan con el rendimiento del proceso de FO. La formación de subproductos depende de los rangos del pH, dado que, a valores bajos, se favorece la síntesis de ácido acético y ácido butírico, en contraposición con valores altos, con la formación de etanol [10,13].	5 - 7	[10] [33]
			[34] [35]
Tiempo de retención hidráulico	Determina el punto óptimo de producción de biohidrógeno, estableciendo el tiempo que el sustrato permanece en el proceso de fermentación. La producción del gas alcanza un máximo en un rango de tiempo determinado y, disminuye, cuando se excede el rango de retención hidráulico [10].	2 h	[36]
		4 h	[37]
		12 h	[38]
		20 h	[39]
		24 h	[40]
		6 a 10 días	[41]
Presión parcial de H ₂	Mantiene una relación inversamente proporcional con el rendimiento en la producción de biohidrógeno en la FO. A medida que la presión parcial aumenta, disminuye de manera significativa la síntesis del gas. La cuantificación de dicha variable es casi que obligatoria en el proceso [10].	< 400 mm Hg	[42]

Fuente: autores.

Actualmente, pese a las numerosas ventajas asociadas a la producción de biohidrógeno mediante biomasa residual, hay diversas barreras que impiden la comercialización, el escalamiento a nivel industrial y la distribución de éste. Dentro de estas barreras, se encuentran los costos relacionados al almacenamiento y transporte del biohidrógeno, así como los costos asociados al pretratamiento de los residuos de biomasa y de los inóculos [43]. Adicionalmente, no hay ningún tipo de comunidad microbiana que pueda emplearse

para generar un alto rendimiento de biohidrógeno a nivel industrial y el uso de cultivos mixtos limita los rendimientos ya que puede haber presencia de bacterias metanógenas que inhiben la producción del hidrógeno [10, 13, 44, 46]. Durante la FO, dichas bacterias incorporan a su metabolismo el hidrógeno que se sintetiza por acción de las enzimas hidrogenasas, por lo cual, el pretratamiento de los sustratos es indispensable, con el fin de inhibir el crecimiento de éstas [46]. En la literatura se encuentra una serie de procedimientos relacionados con la inhibición de las bacterias metanógenas. *R. Rafieenia et al*, proponen el desarrollo de modelos de redes de medición metabólica, con el fin de estudiar a profundidad las reacciones químicas generadas por los microorganismos en la FO, detallando el rol de los consumidores y productores de hidrógeno y plantean reducir la actividad microbiana de los primeros, llevando a cabo el pretratamiento del inóculo con aceite de cocina usado [45].

El pretratamiento, no solo del inóculo, sino de los sustratos empleados en la síntesis de biohidrógeno, es uno de los aspectos técnicos más importantes dentro de la FO. Diversas técnicas como el choque térmico, la estabilización ácido-alcalina, la radiación e inhibición química [45], así como combinaciones de pretratamiento como modificación de pH con sometimiento inmediato a calor, desarrollado por *F. D. Faloye et al*, se constituyen en herramientas que permiten mejorar y asegurar la producción de biohidrógeno [46]. Algunas causas que se han identificado como dificultades asociadas de manera directa a la composición microbiana en los reactores de fermentación y su rol en la degradación de los sustratos incluyen la competencia por el sustrato a degradar, la presencia y acumulación de los compuestos de fermentación, presencia específica de bacterias fermentadoras de ácido láctico, así como los cambios no controlados en la operación del sistema [13]. Por ende, es importante tener en cuenta que deben enfocarse los esfuerzos en la adecuada configuración de los reactores para que el proceso pueda llevarse a cabo acorde a los principios de la FO [47].

El Análisis de Ciclo de Vida (ACV) es una herramienta que permite identificar y evaluar los impactos ambientales asociados a un proceso o producto mediante la cuantificación de las corrientes de entrada (energía y materiales) y las de salida (residuos y descargas) para, posteriormente definir posibles mejoras en la gestión ambiental del proceso [63].

La realización del ACV sigue cuatro fases: identificación de objetivo y alcance, en el que se establece el motivo del estudio, su aplicación y a quién va dirigido. Cabe resaltar que el ACV puede tener diferentes alcances dependiendo de las etapas del ciclo de vida que desean analizarse, dentro de los cuales se encuentran el ACV de puerta a puerta, que incluye únicamente las etapas del proceso productivo que se siguen para la obtención del producto final; el ACV de cuna a puerta, que considera, además de las etapas del proceso productivo, la extracción y preparación de las materias primas; el ACV de puerta a tumba, que abarca el proceso productivo del producto y su posterior disposición final, el ACV de cuna a tumba, que estudia la extracción y transporte de las materias primas; la producción, distribución y uso del producto y su disposición final y el ACV de cuna a cuna, que además de las etapas mencionadas anteriormente, toma en consideración la

reintroducción del producto en el mismo ciclo productivo o en otro [65]. La siguiente fase es el análisis de inventario, en el que se identifican y cuantifican las corrientes de entrada y salida del proceso productivo. Posteriormente, en la evaluación de impacto, se emplean los resultados del análisis de inventario para determinar el aporte del proceso productivo a cada categoría de impacto. Finalmente, se realiza la interpretación de resultados en la que se realizan conclusiones y recomendaciones de acuerdo a los objetivos y al alcance del estudio que permitan la toma de decisiones [66, 67]. A pesar de que se han desarrollado estudios de producción de energía proveniente de biomasa residual bajo el enfoque del ACV, existe muy poca información asociada a los impactos ambientales potenciales en la síntesis de biohidrógeno siguiendo la ruta de FO.

El presente artículo evalúa la FO de tres sustratos: mucílago de café (MCF), mucílago de cacao (MC) y estiércol de cerdo (EC) por su disponibilidad, contenido de carbohidratos y los estudios que se han realizado con estos en los últimos años como biomasa potencial para la producción de biohidrógeno [15, 16, 30], presentando la modelación de dos balances de masa a 35 y 45°C, debido a la influencia de la temperatura en el proceso. Se incluye el ACV, teniendo en cuenta el esquema de biorrefinería, con el fin de determinar los impactos ambientales de cada una de las tecnologías y etapas implicadas en la producción del biohidrógeno, ya que, en la actualidad, la información de los impactos ambientales en la producción de biohidrógeno es escasa y se considera primordial para su escalamiento enfocado en contribuir a la gran demanda de energía actual.

II. METODOLOGÍA

Con el fin de realizar el análisis comparativo entre el proceso de FO a 35 y 45 °C, la metodología propuesta se divide en dos partes: evaluación técnica y evaluación ambiental de la producción de biohidrógeno a gran escala, teniendo en cuenta la información derivada del macroproyecto “*Evaluación de rutas de aprovechamiento de biomasa residual bajo el esquema de biorrefinerías*” [7].

2.1 EVALUACIÓN TÉCNICA

En aras de llevar a cabo la evaluación técnica, se recopiló información que permitió la cuantificación de los flujos másicos de entrada y salida de cada corriente del proceso para, posteriormente, elaborar los balances de materia y energía de la FO a 35 y 45 °C. En dicha elaboración se tuvieron en cuenta factores tecnológicos y la simulación de las reacciones químicas ocurridas en la fermentación usando el software de AspenPlus [7]. La información fue recolectada de acuerdo con la disponibilidad de los sustratos (MCF, MC y EC) en el departamento de Santander, Colombia, entre los años 2007 a 2018 para los dos tipos de mucílago empleados y la producción porcícola en el departamento entre el 2016 y el 2019 [48, 49, 50].

Para la evaluación de la influencia de la temperatura en la producción de biohidrógeno a gran escala se planteó el equipamiento industrial requerido para la FO, el cual incluye un mezclador, enfocado a garantizar la homogeneidad de los sustratos; una caldera y tres intercambiadores de calor que garantizan las temperaturas de operación; un reactor para la FO, un decantador convencional y uno centrífugo, que reducen la humedad del digestato producido en el sistema; un biofiltro enfocado a reducir la concentración de sulfuro de hidrógeno (H₂S), así como un separador flash y un compresor, que disminuyen la humedad del biogás y aumentan la presión de la corriente gaseosa, respectivamente. Finalmente, un generador eléctrico a partir de biogás, que muestra la producción de energía del sistema, en función de los balances de masa y energía.

2.2 EVALUACIÓN AMBIENTAL

Aplicando la metodología de evaluación ambiental de análisis de ciclo de vida (ACV) estipulada en la norma ISO 14040:2006, se realizó la modelación de los impactos ambientales con el software SimaPro, para la producción de biohidrógeno a 35 y 45 °C, definiendo el objetivo, alcance, inventario de ciclo de vida (ICC) y las categorías de impacto ambiental.

2.2.1 Objetivo y alcance

Dado el contexto de la información escasa acerca del ACV para la producción de biohidrógeno, el objetivo fundamental de la evaluación ambiental está encaminado a realizar un análisis de perspectivas tecnológicas llevando a determinar la condición de operación en la producción de biohidrógeno más favorable a gran escala. En función de la modelación de los balances de masa y energía del proceso, el tipo de ACV se constituye como puerta a puerta, ya que la producción del gas implica el desarrollo de diversas operaciones dentro de dicha producción, desde que la biomasa residual ingresa al sistema

de producción bajo la FO, hasta que se sintetiza el biohidrógeno como biocombustible, dado que son los mismos equipos y etapas para la producción a 35 y 45°C.

2.2.2 Inventario de Ciclo de Vida (ICC)

La información específica para el ICC corresponde a los datos de entradas y salidas de los balances de producción de biohidrógeno descritos en el numeral 2.1.

2.2.3 Categorías de impacto ambiental

SimaPro, cuenta con bases de datos para la modelación de impactos ambientales, de las cuales se utilizó *EcoInvent3*. La metodología empleada es *la Environmental Product Declaration* (EPD), ampliamente utilizada con indicadores y categorías de impacto que permiten establecer el comportamiento de las entradas y salidas en la producción de biohidrógeno sobre el medio ambiente, con las afectaciones y presiones que se pueden ejercer sobre este [51]. La tabla 3, muestra las categorías de impacto ambiental potencial, analizadas en el presente trabajo.

Tabla 3. Categorías de impacto de la metodología EDP.

Categoría de impacto	Unidad de medida (eq*)
Acidificación (AC)	kg SO ₂ eq
Eutrofización (ET)	kg PO ₄ eq
Calentamiento global (GW)	kg CO ₂ eq
Degradación de la capa de ozono (OLP)	kg CFC-11 eq
Formación de oxidantes fotoquímicos (PO)	kg C ₂ H ₄ eq
Degradación abiótica (AD)	kg Sb eq
Degradación abiótica por combustibles fósiles (ADFF)	MJ
Escasez de agua (WS)	m ³ eq

Fuente: autores

eq*: equivalentes.

MJ: mega joule.

2.2.4 Interpretación de resultados de ACV

El procesamiento de los datos en el software posibilita la cuantificación de los impactos ambientales potenciales en los dos procesos objeto de estudio, medidos en las unidades relacionadas de la tabla 3. Por consiguiente, la evaluación de impacto ambiental, es obtenida a través de un perfil medioambiental, que permite identificar la categoría de impacto con mayor incidencia ambiental y, de manera conjunta al perfil, los resultados por cada una de las categorías evaluadas. Así mismo, la evaluación ambiental permite identificar la etapa de procesamiento industrial que tiene mayor incidencia en los impactos generados, mediante un análisis comparativo entre el proceso realizado a 35 y 45°C.

III. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

De acuerdo al objeto de estudio, los resultados consolidados de las simulaciones en AspenPlus y los balances de masa y energía a 35 y 45°C para la producción de biohidrógeno mediante FO, se muestran en las siguientes secciones.

3.1 EVALUACIÓN TÉCNICA

3.1.1 Simulación en AspenPlus.

La información de la producción de biogás fue obtenida del trabajo “Evaluación de un esquema de biorefinería mediante fermentación oscura a partir de biomasa residual de Santander” [7]. La simulación empleó los modelos termodinámicos NRTL y SRK, los cuales permitieron evaluar el comportamiento termodinámico de la mezcla de sustratos y tuvo en cuenta las fases de hidrólisis, acidogénesis y acetogénesis para la cuantificación de la salida de las corrientes líquidas y gaseosas del reactor de fermentación. La tabla 4, sintetiza los valores de dichas salidas, así como la capacidad de operación del equipamiento industrial y los volúmenes de los reactores en función de las temperaturas de estudio. Del mismo modo, la simulación arrojó las concentraciones de los compuestos que se encuentran en las corrientes de salida, los cuales se emplearon para la realización de la evaluación de impacto ambiental.

Tabla 4. Resultados de la simulación en AspenPlus.

Variable	Temperatura	
	35 °C	45° C
Capacidad a instalar (ton)	4760,8	5669,9
Volumen del reactor (m ³)	5132,9	11482,4
Biogás producido (ton/d)	0,113	0,541
Digestato producido (ton/d)	441,539	1240,86
Calor del reactor (kJ/d)	2.556.820,76	89.044.938,36

Fuente: Rangel, C [52].

kJ*: kilo joule/día.

3.1.2 Balances de materia y energía.

Con el fin de realizar los balances de masa y energía del proceso a 35 y 45 °C se partió de los valores de disponibilidad en ton/año de los sustratos seleccionados para llevar a cabo la FO. Estos valores se obtuvieron mediante consolidados de información del Instituto Colombiano Agropecuario – ICA y el Ministerio de Agricultura [48, 49, 50] para el departamento de Santander y se proyectaron a veinte años de operación en ton/día. A nivel experimental, se determinó el porcentaje en peso de los sustratos, estableciendo el sustrato limitante, que en las dos temperaturas de estudio fue el MCF.

Tabla 5. Porcentaje en peso de los sustratos.

Mejor mezcla en peso (% p)		
Sustratos	35 °C	45 °C
Temperatura		
EC	23,196	42,062
MCF	46,01	38,633
MCC	30,794	19,305

Fuente: autores.

La tabla 5 muestra los valores de las proyecciones realizadas para determinar la alimentación de biomasa residual que ingresa al reactor para la síntesis del biogás teniendo en cuenta el sustrato limitante. Los valores promedio de las proyecciones se emplearon para la elaboración de los balances de las dos temperaturas de estudio.

Tabla 6. Proyección de sustratos.

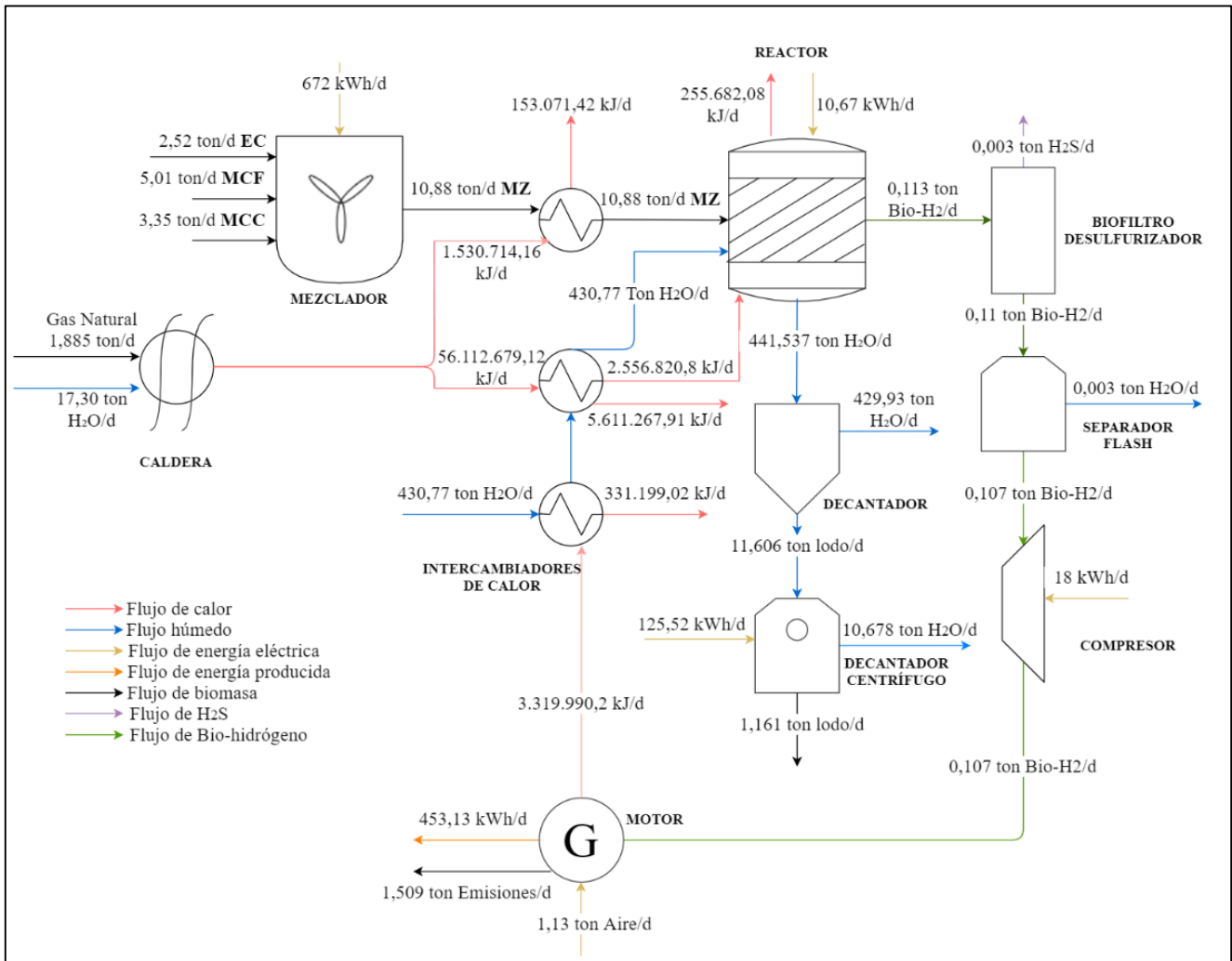
Año	Proceso a 35°C (ton/d)			Proceso a 45°C (ton/d)		
	EC	MCF	MC	EC	MCF	MC
2021	2.365	4.692	3.140	5.108	4.692	2.344
2022	2.381	4.722	3.160	5.141	4.722	2.360
2023	2.396	4.752	3.181	5.174	4.752	2.375
2024	2.411	4.783	3.201	5.208	4.783	2.390
2025	2.427	4.814	3.222	5.241	4.814	2.405
2023	2.443	4.845	3.243	5.275	4.845	2.421
2024	2.458	4.876	3.263	5.309	4.876	2.437
2025	2.474	4.907	3.285	5.343	4.907	2.452
2026	2.490	4.939	3.306	5.377	4.939	2.468
2027	2.506	4.971	3.327	5.412	4.971	2.484
2028	2.522	5.003	3.348	5.447	5.003	2.500
2029	2.538	5.035	3.370	5.482	5.035	2.516
2030	2.555	5.068	3.392	5.517	5.068	2.532
2031	2.571	5.100	3.414	5.553	5.100	2.549
2032	2.588	5.133	3.436	5.589	5.133	2.565
2033	2.605	5.166	3.458	5.625	5.166	2.582
2034	2.621	5.200	3.480	5.661	5.200	2.598
2035	2.638	5.233	3.502	5.698	5.233	2.615
2036	2.655	5.267	3.525	5.734	5.267	2.632
2037	2.672	5.301	3.548	5.771	5.301	2.649
2038	2.690	5.335	3.571	5.808	5.335	2.666
2039	2.365	4.692	3.140	5.108	4.692	2.344
2040	2.381	4.722	3.160	5.141	4.722	2.360
2041	2.396	4.752	3.181	5.174	4.752	2.375
PROMEDIO	2.52	5.01	3.35	5.451	5.007	2.502

Fuente: autores.

La biomasa residual ingresa a un mezclador para garantizar su homogenización, el cual funciona con una energía de 672 kWh. La entrada de los sustratos y el agua de alimentación, que corresponde al agua empleada en la preparación de las diluciones de los sustratos y en el funcionamiento del reactor de fermentación corresponde a 430,77 ton

H₂O/d para el proceso a 35 °C y 1228,42 ton H₂O/d para el proceso a 45 °C. El agua y los sustratos ingresan a 25°C y deben ser llevados a las temperaturas de operación para garantizar la degradación de la materia orgánica mediante la FO por lo que se hace necesaria la instalación de una caldera a gas natural y tres intercambiadores de calor con una eficiencia del 90%. El funcionamiento de la caldera se simuló a partir de factores heurísticos, considerando una eficiencia del 80% y la entalpía del agua en kJ/kg a 500°C y 1 MPa para determinar la cantidad de agua de alimentación.

Figura 2. Balance de materia y energía a 35°C.

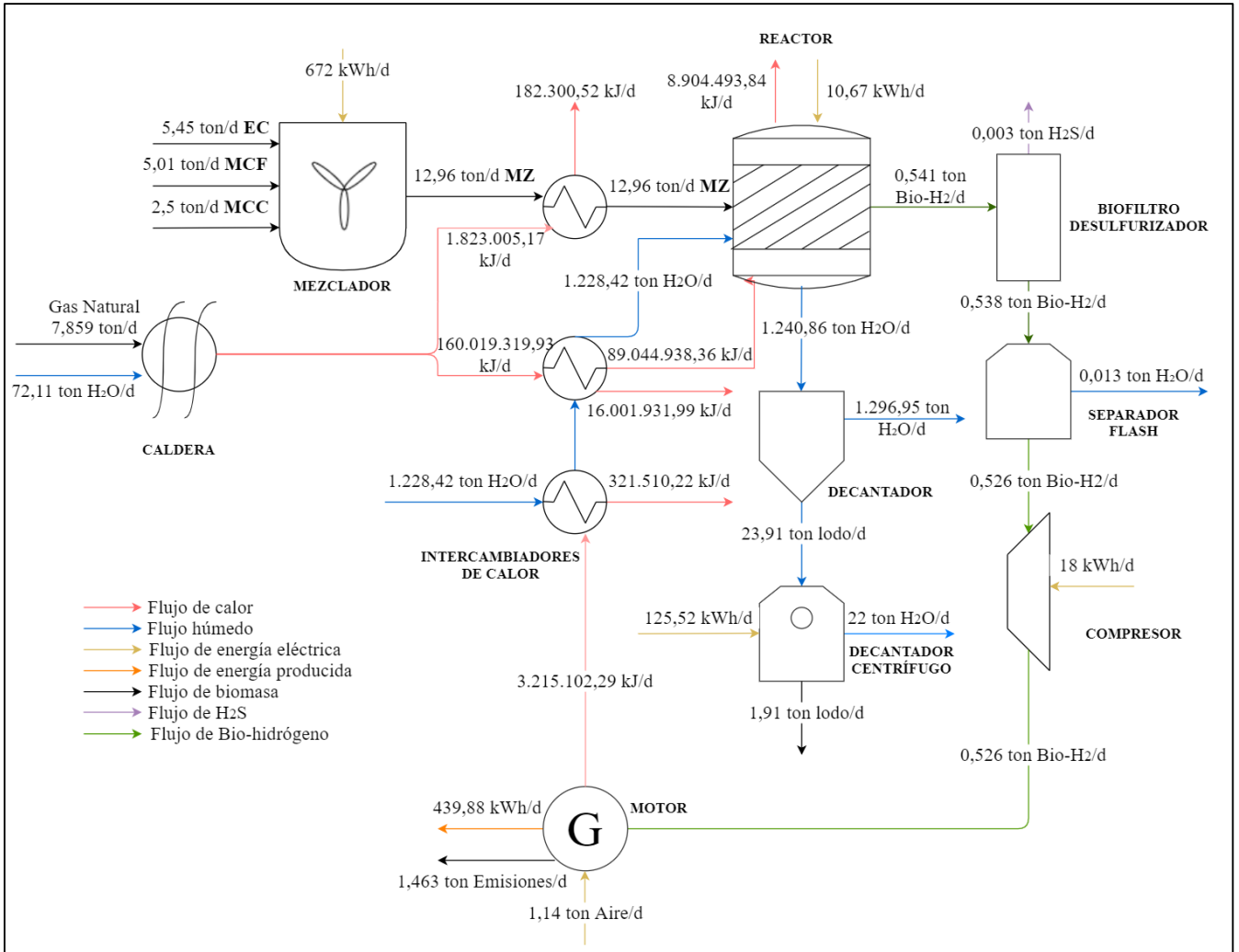


Fuente: autores.

Ahora bien, del reactor de fermentación se produce una salida importante de digestato obtenido por la diferencia de la entrada total al reactor y la producción de biogás, que se somete a un sistema de decantación conformado por un decantador de gravedad, cuyo decantado húmedo incluye los compuestos solubles obtenidos a través de AspenPlus totalizados en la diferencia en la entrada al decantador y el valor del lodo de salida arrojado por el software y un decantador centrífugo. Dado que el lodo de salida contiene un porcentaje de humedad del 98 %, el decantador centrífugo considera como entrada a dicho lodo proveniente del decantador de gravedad para calcular la salida húmeda y el

lodo seco de todo el proceso, en función de una eficiencia de remoción de humedad del 92%.

Figura 3. Balance de masa y energía a 45°C.



Fuente: autores

La salida del reactor comprende el biogás derivado de la fermentación, el cual debe pasar por un biofiltro con una eficiencia del 97%, que tiene la función de eliminar las trazas de H₂S con el fin de evitar el daño en los equipos del sistema por su corrosividad y garantizar que el biohidrógeno ingrese al separador flash. Dicho equipo aparta la humedad del gas, con una eficiencia del 80% para su posterior ingreso al compresor. La instalación de este último es necesaria, dados los requerimientos de presión para la entrada del biogás en el motor que hace la función de generador eléctrico, llevándola de 1 atm a 8 kPa. En el motor se tuvieron en cuenta las reacciones de combustión de hidrógeno y metano, llevando a determinar la energía producida en función de un exceso simulado del 50% de oxígeno para la combustión. Con base en ello, se calculó el aire que debe ingresar para el proceso, teniendo en cuenta las relaciones porcentuales de 78,9% de nitrógeno (N₂) y 21,9% de oxígeno (O₂). Se hizo una suposición de reacción ideal en el motor con una eficiencia del 100% del cual el 67% se convierte en calor que se enlaza al intercambiador de entrada de

agua para la FO, como integración energética para mantener las condiciones de temperatura del proceso, mientras que el 33% representa la generación energética [52]. La tabla 7, muestra los valores finales de las variables resultantes de las simulaciones en AspenPlus y los balances de masa y energía.

Tabla 7. Consolidado de resultados del proceso.

Temperatura (°C)	Energía generada (kWh/d)	Calor generado (kJ)
35	453,13	3.311.990,20
45	439,88	3.215.102,29

Fuente: autores.

Ampliamente se ha reportado que la producción de biohidrógeno aumenta con la temperatura bajo la ruta de FO [10, 30, 31, 32]. Sin embargo, en la cuantificación derivada de los balances, se aprecia que la producción de energía es menor a 45°C en comparación con la energía generada a 35°C. Dicho comportamiento se asocia a la disminución de la carga orgánica simulada en AspenPlus por *Rangel, C et al*, donde para el proceso de 35°C se realizó dicha simulación con una carga inicial de 8 g/L de DQO, mientras que disminuye a 2 g/L de DQO en el proceso bajo 45°C [52]. El efecto de la temperatura se puede asociar con la cantidad de carga orgánica inicial y la caracterización de los sustratos, estableciéndose una relación de proporcionalidad en la producción de biohidrógeno. Adicionalmente, la temperatura también se constituye una limitante en el proceso, dado que los mayores rendimientos del proceso de FO se alcanzan rondando los 60 °C. Sin embargo, con valores más altos de temperatura el proceso es inviable y no es posible la fermentación de la biomasa residual empleada [10]. Uno de los aspectos más importantes que se establece como limitante para la producción de biohidrógeno a gran escala se relaciona con el rendimiento del biogás como energía generada del proceso, dado que es menor en comparación con los requerimientos energéticos para que el proceso de FO se lleve a cabo a nivel industrial.

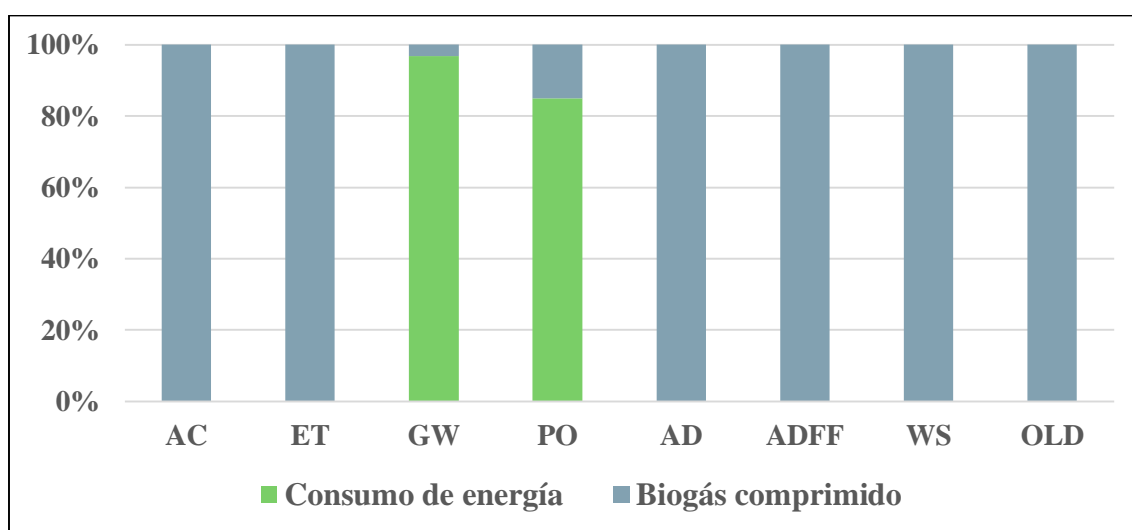
3.2.2 Análisis de Ciclo de Vida

Para las dos temperaturas de estudio, la representación gráfica de los impactos ambientales potenciales simulados en SimaPro comprenden los dos flujos másicos más importantes del proceso de producción de biohidrógeno: el digestato y el biogás generados como salidas del reactor de fermentación. La base de datos empleada para la evaluación de impacto ambiental, consolida las entradas de masa y energía que se convierten en descargas al medio ambiente. El análisis del ICC, permitió establecer que el consumo de agua para el proceso, el consumo de energía, la generación de aguas residuales resultantes de los procesos de separación del digestato y las emisiones asociadas al uso de combustibles convencionales en la caldera son los aspectos ambientales de mayor relevancia en la producción de biohidrógeno. Cabe resaltar que las emisiones de la caldera no se tomaron en cuenta en los balances de materia y energía, dado que el software considera las emisiones de gas natural en la cuantificación de los impactos en las categorías evaluadas.

3.2.2.1 Evaluación ambiental del proceso a 35°C

La producción de biohidrógeno a menor temperatura, implica que las contribuciones de las categorías para los impactos ambientales, presenten variaciones significativas. El biogás comprimido arroja la totalidad de impacto para las categorías de acidificación, eutrofización (ET), degradación abiótica (AD), degradación abiótica por combustibles fósiles (ADFF), escasez de agua (WS) y degradación de la capa de ozono (OLD), dada la presencia de los compuestos en el biogás que causan el deterioro de calidad de diversos recursos ambientales. Para el calentamiento global, la energía del proceso contribuye con el 96,7% de los impactos, en contraposición del biogás comprimido, con el 3,3%. Para la formación de los oxidantes fotoquímicos, el porcentaje de la energía corresponde al 85% y para el biogás comprimido en 15%. La presencia de una gran cantidad de compuestos que se derivan del proceso, hace que la contribución a las categorías se comporte con los porcentajes mencionados, dado que, en primer lugar, el recurso afectado es el aire, trayendo no solo implicaciones para el medio ambiente, sino para la salud humana. La tecnología empleada, cuenta con operaciones específicas para la separación de los gases generados, sin embargo, los resultados obtenidos muestran que el impacto ambiental es elevado para las categorías de la metodología EPD, dado que, dentro de la fermentación de la biomasa y en el uso de energía, son transversales los impactos ambientales de dichas actividades [53].

Gráfica 1. Contribución de biohidrógeno a las categorías de impacto ambiental.

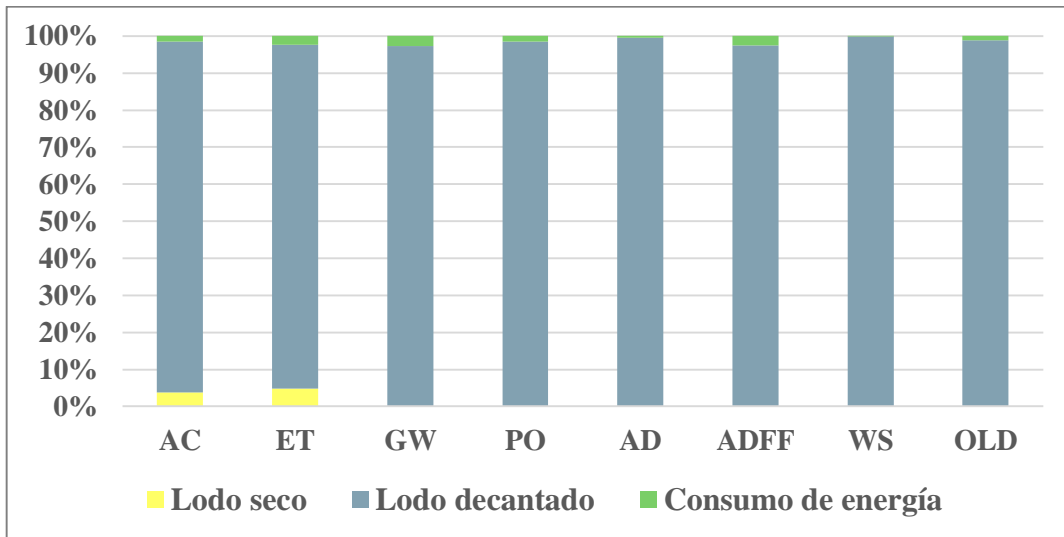


Fuente: autores.

Los porcentajes para el impacto ambiental del lodo decantado, proveniente del reactor de fermentación, que se muestran en la gráfica 2, comprenden las mayores ponderaciones para las categorías evaluadas. La acidificación se gesta por acción del lodo con un 94,7%, el valor para la eutrofización corresponde a 92,8%, en la categoría de calentamiento global comprende el 97,3%, el 98,5% para la formación de oxidantes fotoquímicos, para la degradación abiótica el 99,6%, lo propio con el 97,4% para la degradación abiótica por combustibles fósiles y el 99% asociado a la categoría de escasez de agua y un 98,9% asociado a la degradación de la capa de ozono. El lodo que primariamente es una salida

del reactor, se caracteriza por su contenido elevado de materia orgánica y nutrientes, que pueden cambiar la calidad del medio en función de su disposición [54]. Posterior a la decantación, se encuentra el secador de lodos, que permite reducir la humedad de la materia orgánica obtenida, llevando a la obtención de un lodo con las condiciones más adecuadas para diferentes aplicaciones. El impacto del lodo seco es mínimo, en comparación con el lodo decantado, dada su naturaleza y composición química.

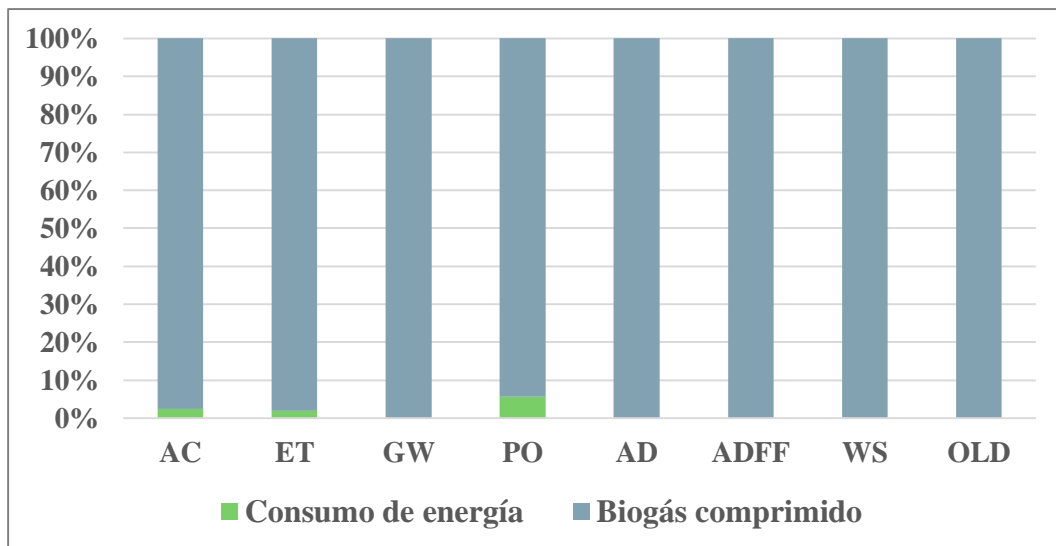
Gráfica 2. Contribución del digestato a las categorías de impacto ambiental.



Fuente: autores.

3.2.2.1 Evaluación ambiental del proceso a 45°C

Gráfica 3. Contribución de biohidrógeno a las categorías de impacto ambiental.



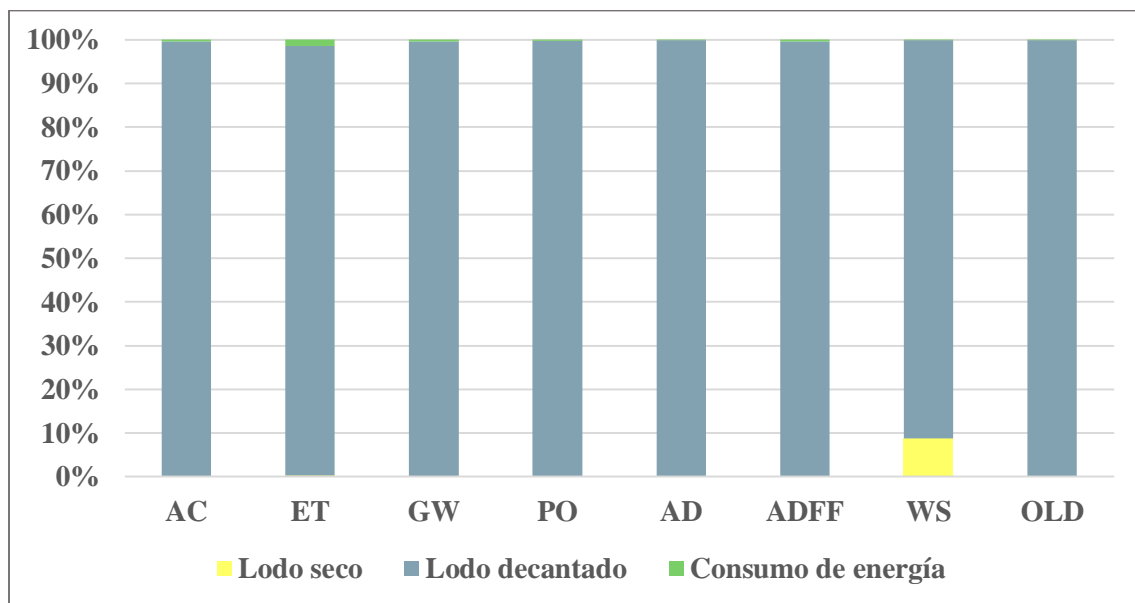
Fuente: autores.

Para la producción de biohidrógeno a 45°C es fundamental determinar el impacto ambiental asociado a la corriente gaseosa, dado que esta presenta una serie de compuestos que se asocian a diferentes implicaciones ambientales. El biogás comprimido representa

el mayor porcentaje para las categorías de impacto: 97,6% para la acidificación, 98,2% correspondiente a la eutrofización, 100% direccionado al calentamiento global, la escasez de agua, la degradación de la capa de ozono, degradación abiótica y la degradación abiótica por el uso de combustible fósiles; finalmente, un valor de 94,4% ligado a la formación de oxidantes fotoquímicos. La presencia de compuestos que reaccionan con el aire, puede fomentar la formación de diversos contaminantes que contribuyen a cambiar las condiciones normales del medio ambiente, dado es el caso de las emisiones cuantificadas en el inventario desplegado por el software, en diversas formas del nitrógeno como el amoníaco y los óxidos de este elemento, y compuestos orgánicos que generan algunos procesos de degradación ambiental como la contaminación atmosférica, la lluvia ácida, y el cambio en la calidad de medios como agua y el suelo [55].

Por otra parte, el consumo de energía dentro del proceso, y su cuantificación en porcentaje asociado al impacto ambiental, solo se puede evidenciar en las categorías de acidificación, eutrofización y la formación de oxidantes fotoquímicos, con porcentajes de 2,44%, 1,84% y 5.59%, respectivamente. El uso de la energía implica una serie de impactos ambientales que se dan a lo largo del ciclo de vida del recurso, significativamente, la generación de compuestos con presencia de azufre, carbono y cloro, lo que se traduce en que el mayor potencial de impacto ambiental se ve reflejado en la formación de oxidantes fotoquímicos, asociados a la contaminación atmosférica [56].

Gráfica 4. Contribución del digestato a las categorías de impacto ambiental.



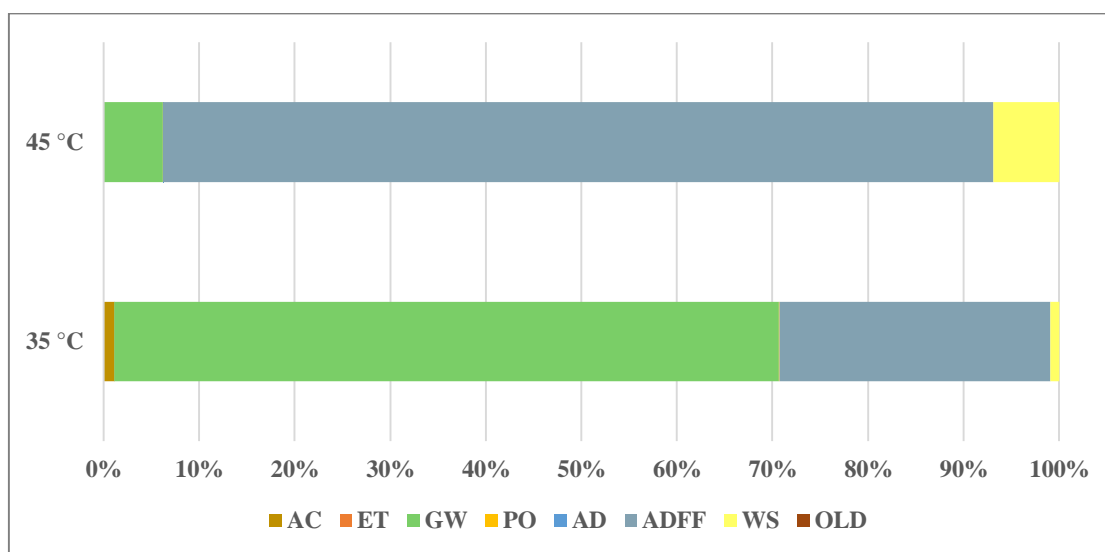
Fuente: autores.

El lodo decantado comprende los mayores porcentajes de la evaluación de impacto ambiental para las categorías de la metodología aplicada: 99,62% para la acidificación, 99,63% para el calentamiento global, 99,7% para la formación de oxidantes fotoquímicos, 99,8% asociada a la degradación abiótica, 99,67% relacionada a la degradación abiótica derivada del uso de combustibles fósiles y 99,85% de la categoría de degradación de la capa de ozono. En la categoría de escasez de agua, hay un porcentaje destacado del

impacto del lodo seco, con un valor de 8,7%. El uso de la energía lleva a la generación de algunos gases que pueden causar deterioro de diversos recursos, específicamente, el recurso aire. La producción del digestato se asocia a la contaminación de fuentes hídricas, dado que el contenido de nutrientes presentes en éste, puede agotar los niveles de oxígeno del agua y propiciar la formación de ambientes que contribuyen a la eutrofización. Adicionalmente, en la síntesis de biohidrógeno, se producen cantidades importantes de ácidos grasos volátiles (AGV's), en las corrientes húmedas que se han separado del biogás, por el sistema de decantación [54, 64].

Uno de los supuestos de la producción simulada de biohidrógeno para las dos temperaturas de estudio, se basó en que la operación de la planta se desarrolló en condiciones óptimas. Sin embargo, es importante mencionar que en la producción a gran escala pueden presentarse una serie de fugas de biogás propiciando la generación de aspectos ambientales que afectan el componente aire, llevando a incidir de manera directa en el calentamiento global y cambio climático [57]. Adicionalmente, al finalizar la vida útil del biofiltro que se emplea como desulfurizador, se pueden generar emisiones de H₂S que afectan de manera directa la salud humana con implicaciones en las vías respiratorias [58] y al medio ambiente, donde puede ser oxidado en la atmósfera y convertirse en SO₂, que, al combinarse con agua, produce ácido sulfuroso, (H₂SO₃) contribuyendo a la formación de la lluvia ácida [59].

Gráfica 5. Comparación de temperaturas para el biogás comprimido.

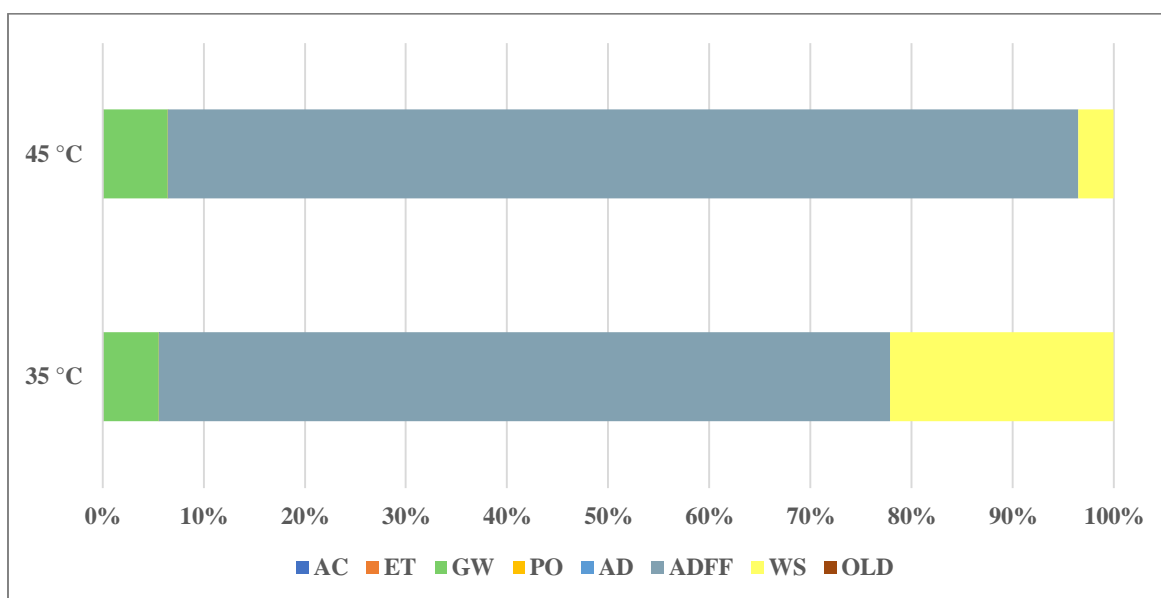


Fuente: autores.

La gráfica 5, representa la distribución porcentual de cada categoría de impacto del proceso de producción de biohidrógeno para las temperaturas de estudio. Las categorías con un mayor porcentaje de contribución corresponden a calentamiento global con más del 69,6% y la degradación abiótica por el uso de combustibles fósiles cercano al 28,3% para los 35°C. En contraposición, para el proceso a 45°C, el 86,9% de los impactos ambientales potenciales se asocian a la ADF, cerca de un 6,9%, a la escasez de agua y 6,2% para el calentamiento global. Dichos impactos pueden asociarse al transporte de la

biomasa para el proceso, así como a las reacciones de combustión en la caldera y generador eléctrico y los consumos de energía eléctrica del equipamiento industrial de la planta de producción. La escasez de agua se relaciona con el elevado consumo de agua que se requiere en el proceso, tanto para la alimentación de la caldera, como para el funcionamiento del reactor y las disoluciones empleadas para la preparación previa de los sustratos.

Gráfica 6. Comparación de temperaturas para el digestato.



Fuente: autores.

Para la salida del digestato que pasa por el sistema de decantación, la gráfica 6 muestra que, para los procesos bajo las dos temperaturas de estudio, la incidencia de los impactos ambientales potenciales se distribuye en las categorías de calentamiento global, degradación abiótica por el uso de combustibles fósiles y escasez de agua, con porcentajes para la temperatura de 35°C de 5,5; 72,3 y 5,5% y para el proceso a 45°C, porcentajes de 6,4; 90 y 3,5%, respectivamente. El tratamiento de las corrientes líquidas de las salidas del sistema de decantación es necesario dadas las emisiones de dióxido de carbono (CO₂), dióxido de nitrógeno (NO₂) y metano (CH₄), gases que contribuyen ampliamente en los valores de la cuantificación de los impactos en la categoría de calentamiento global. Así mismo, el tratamiento de aguas residuales en sus fases de almacenamiento y disposición, genera emisiones directas e indirectas de gases de efecto invernadero (GEI) [60]. El transporte de la biomasa y la operación del equipamiento industrial siguen teniendo influencia en la categoría de degradación abiótica por combustibles fósiles y calentamiento global dado que la quema de dichos combustibles y su explotación impacta de manera negativa al medio ambiente, contribuyendo a potenciar la contaminación de los recursos aire, agua y suelo [61]. Del mismo modo, las cantidades elevadas de agua para el proceso, representan el impacto potencial en la categoría de escasez de agua, para las dos temperaturas de estudio, la cual se constituye en un factor determinante para la producción a gran escala.

La aplicación del enfoque de biorefinería, que se basa en el aprovechamiento de las salidas de los procesos industriales, así como el aumento de la eficiencia energética y el uso de materias primas menos contaminantes, tiene estrecha relación con el ACV, toda vez que los impactos ambientales potenciales derivados de éste, se pueden tratar, e incluso, eliminar, bajo los principios de biorefinería, que están de la mano con la economía circular [62]. Dentro de dicho enfoque, se han propuesto una serie de tecnologías que incluyen el pretratamiento de materias primas y sustratos, de conversión química y biológica, para las salidas de los procesos a gran escala, así como perfiles de biorefinería específicamente encaminados a las aplicaciones concretas de los productos que se pueden obtener derivados de este principio [62, 63].

Para la producción de biohidrógeno a gran escala, es importante considerar que en la separación de la fase sólida del digestato, compuesta mayoritariamente por materia orgánica que se convierte en lodos, de su fase líquida, se genera una concentración importante de los compuestos de fermentación como AGV's los cuales tienen diversas formas de aprovechamiento como sistemas de tratamiento de aguas residuales que posibilitan la transformación de los lodos que el tratamiento genera en biopolímeros, alcoholes, conservadores y desinfectantes de alimentos, productos agrícolas e intermediarios en la producción energética [64]. Del mismo modo, el calor que se genera en el motor de generación eléctrica y que se integra al intercambiador de calor donde ingresa el agua para todo el proceso de FO a 35 y 45°C, posibilita que no se pierda al ambiente y se recircule por el equipamiento industrial.

IV. CONCLUSIONES

La producción de biohidrógeno a gran escala a partir del aprovechamiento del MCC, MCF y EC para la generación de energía eléctrica, tiene algunas limitaciones que deben ser tenidas en cuenta a la hora de considerar su escalamiento, como el elevado consumo de agua para el proceso de fermentación, así como el transporte de los sustratos, su pretratamiento, la elección del inóculo y las pérdidas de calor que se presentan en el equipamiento industrial. La influencia de la temperatura en la producción del gas en cuestión, se refleja en el total de energía producida dado que, a mayor temperatura, se alcanza el mayor rendimiento energético, sin sobrepasar los 60°C. Sin embargo, esta variable está estrechamente ligada a la carga orgánica inicial de los sustratos, toda vez que para el proceso evaluado a 35°C con una carga orgánica de 8 g/L de DQO, se obtuvieron 453,13 kWh/d, en contraposición al mismo proceso, pero a 45°C y con una carga orgánica inicial de 2 g/L de DQO, alcanzando una producción de 439,88 kWh/d.

Bajo el esquema de biorefinería, es posible reducir las limitaciones que tiene la producción de biohidrógeno a gran escala a través de la puesta en marcha de tecnologías que integren el proceso entre sí y permitan dar valor agregado a los productos finales de la FO. Adicionalmente, el ACV permite evaluar la sostenibilidad ambiental, e incluso social y económica, de la ruta de aprovechamiento estudiada. Las categorías de impacto ambiental a las que la FO y los sustratos estudiados a 35 y 45°C tuvieron una mayor contribución fueron GW, ADFE y WS. No obstante, las implicaciones ambientales se pueden aminorar llevando a que todo el proceso se desarrolle en función de criterios orientados a incrementar la eficiencia energética del equipamiento industrial, minimizando pérdidas y consumos, así como garantizando el aprovechamiento de las corrientes de salida.

La valorización de la biomasa residual que se genera a nivel agroindustrial, constituye un eje fundamental en la transición energética hacia fuentes renovables. Es por esto que, no solo es primordial el desarrollo a nivel local y regional de iniciativas que permitan dicha valorización, sino que, se desarrolle una hoja de ruta para la formulación de políticas de gestión energética basadas en el ACV. A pesar de las ventajas que ofrece esta herramienta para la cuantificación de los potenciales impactos ambientales de un proceso, cabe resaltar que la falta de concordancia entre las metodologías, bases de datos y paquetes de software que se emplean en el ACV, son una limitación al momento de interpretar y comunicar los resultados del análisis.

REFERENCIAS

- [1] S.Z. Baykara, “Hydrogen: a brief overview on its sources, production and environmental impact”, *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 43, pp. 10605–10614. 2018. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.02.022> DOI: 10.1016/j.ijhydene.2018.02.022
- [2] W. Cieciora-Włoch *et al.*, “Biohydrogen production from fruit and vegetable waste, sugar beet pulp and corn silage via dark fermentation”, *Renewable Energy*, vol. 153, pp. 1226–1237, 2020. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2020.02.085>. DOI: 10.1016/j.renene.2020.02.085
- [3] T. Keskin *et al.*, “Determining the effect of trace elements on biohydrogen production from fruit and vegetable wastes”, *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 43, pp. 10666-10677. 2018. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.01.028> DOI: 10.1016/j.ijhydene.2018.01.028
- [4] C. Sawatdeenarunat *et al.*, “Anaerobic biorefinery: Current status, challenges, and opportunities,” *Bioresource Technology* vol. 215, pp. 304–313. 2016. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.074> DOI: 10.1016/j.biortech.2016.03.074
- [5] M. R. Atelge *et al.*, "Anaerobic co-digestion of oil-extracted spent coffee grounds with various wastes: Experimental and kinetic modeling studies," *Bioresource Technology*, vol. 322, pp. 124470, 2021. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124470>. DOI: 10.1016/j.biortech.2020.124470
- [6] Weiland, P. “Biogas production: current state and perspectives”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 85, pp. 849–860, 2010. Available: <https://dx.doi.org/10.1007/s00253-09-2246-7> DOI: 10.1007/s00253-09-2246-7
- [7] M. A. Hernández, “Evaluación de rutas de aprovechamiento de biomasa residual bajo el esquema de biorrefinerías”. Colciencias, 2016.
- [8] Q. Zhang, J. Hu, and D.-J. Lee, “Biogas from anaerobic digestion processes: Research updates”, *Renewable Energy*, vol. 98, pp. 108–119, 2016. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2016.02.029>. DOI: 10.1016/j.renene.2016.02.029
- [9] K. Urbaniec *et al.* “Biomass residues as raw material for dark hydrogen fermentation – A review,” vol. 40, no. 9, pp. 3648–3658, Mar. 2015. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.01.073> DOI: 10.1016/j.ijhydene.2015.01.073
- [10] R. Łukajtis *et al.* “Hydrogen production from biomass using dark fermentation,” *Renewable and Sustainable Energy Review* vol. 91. pp. 665–694, 2018. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.043> DOI: 10.1016/j.rser.2018.04.043
- [11] J. Rajesh Banu *et al.* "Industrial wastewater to biohydrogen: Possibilities towards successful biorefinery route," *Bioresource Technology*, vol. 298, pp. 122378, 2020. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122378> DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122378

- [12] A. Schievano *et al.* "Dark fermentation, anaerobic digestion and microbial fuel cells: An integrated system to valorize swine manure and rice bran," *Waste Management (Elmsford)*, vol. 56, pp. 519-529, 2016. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27406307> . DOI: 10.1016/j.wasman.2016.07.001
- [13] E. Castelló *et al.* "Stability problems in the hydrogen production by dark fermentation: Possible causes and solutions," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 119, pp. 109602, 2020. Available: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109602> DOI: 10.1016/j.rser.2019.109602
- [14] S. Dahiya *et al.* "Renewable hydrogen production by dark-fermentation: Current status, challenges and perspectives," *Bioresource Technology.*, vol. 321, pp. 124354, 2021. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124354> DOI: 10.1016/j.biortech.2020.124354.
- [15] M. A. Hernández *et al.* "Use of coffee mucilage as a new substrate for hydrogen production in anaerobic co-digestion with swine manure," *Bioresource Technology*, vol. 168, (SI), pp. 112-118, 2014. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.101> DOI: 10.1016/j.biortech.2014.02.101.
- [16] M. Hernandez *et al.* "Assessment of the Biohydrogen Production Potential of Different Organic Residues In Colombia: Cocoa Waste, Pig Manure and Coffee Mucilage", *Chemical Engineering Transactions*, vol. 65, pp. 247-252, Jun. 2018. Available: <https://dx.doi.org/10.3303/CET1865042> DOI: 10.3303/CET1865042.
- [17] Gonzales RR *et al.* "Optimization of dilute acid and enzymatic hydrolysis for dark fermentative hydrogen production from the empty fruit bunch of oil palm", *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 44, pp. 2191–2202, 2019. Available: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.08.022>. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2018.08.022.
- [18] Arreola-Vargas J. *et al.* "Sequential hydrolysis of oat straw and hydrogen production from hydrolysates: role of hydrolysates constituents". *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 40, pp. 10756-10765, 2015. Available: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2015.05.200>. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2015.05.200.
- [19] Farghaly, A. *et al.* "Inoculation of paperboard mill sludge versus mixed culture bacteria for hydrogen production from paperboard mill wastewater". *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 23, pp. 3834–3846, 2016. Available: <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5652-7>. DOI: 10.1007/s11356-015-5652-7
- [20] Poontaweegeratigarn, T. *et al.* "Hydrogen production from alcohol wastewater by upflow anaerobic sludge blanket reactors under mesophilic temperature". *International Scholarly and Scientific Research and Innovation*, vol. 6, pp. 293-296, 2012. Available: <https://doi.org/10.5281/zenodo.1076096> DOI: 10.5281/zenodo.1076096.
- [21] Kumar, G. *et al.* "A comprehensive overview on light independent fermentative hydrogen production from wastewater feedstock and possible integrative options". *Energy Conversion and Management*, vol. 141, pp. 390–402, 2017. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2016.09.087>. DOI: 10.1016/j.enconman.2016.09.087.
- [22] Poladyan A *et al.* "Hydrogen production by *Escherichia coli* using brewery waste: optimal pretreatment of waste and role of different hydrogenases". *Renew Energy*, vol. 115, pp. 931-936, 2018. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2017.09.022>. DOI: 10.1016/j.renene.2017.09.022.

- [23] Moodley P. *et al.* “Comparative study of three optimized acid-based pretreatments for sugar recovery from sugarcane leaf waste: a sustainable feedstock for biohydrogen production”. *Engineering Science and Technology an International Journal*, vol. 21, pp. 107-116, 2018. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jestch.2017.11.010>. DOI: 10.1016/j.jestch.2017.11.010.
- [24] Reddy K. *et al.* “Biohydrogen production from sugarcane bagasse hydrolysate: effects of pH, S/X, Fe²⁺, and magnetite nanoparticles”. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 24, pp. 8790- 8804, 2017. Available: <https://dx.doi.org/10.1007/s11356-017-8560-1>. DOI: 10.1007/s11356-017-8560-1.
- [25] Rorke D. *et al.*, “Biohydrogen process development on waste sorghum (*Sorghum bicolor*) leaves: optimization of saccharification, hydrogen production and preliminary scale up”. *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 41, pp. 12941- 12952, 2016. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.06.112>. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2016.06.112.
- [26] Tandon M. *et al.* “*Enterobacter ludwigii* strain IF2SW-B4 isolated for bio-hydrogen production from rice bran and de-oiled rice bran”. *Environmental Technology and Innovation*, vol. 10, pp. 345- 354, 2018. Available: <https://dx.doi.org/10.1016/j.eti.2018.03.008>. DOI: 10.1016/j.eti.2018.03.008.
- [27] K. Rambabu *et al.*, "Augmented biohydrogen production from rice mill wastewater through nano-metal oxides assisted dark fermentation," *Bioresource Technology.*, vol. 319, pp. 124243, 2021. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124243> DOI: 10.1016/j.biortech.2020.124243.
- [28] D. Mu *et al.*, "Simultaneous biohydrogen production from dark fermentation of duckweed and waste utilization for microalgal lipid production," *Bioresource Technology.*, vol. 302, pp. 122879, 2020. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122879> DOI: 10.1016/j.biortech.2020.122879.
- [29] S. A. Lateef *et al.*, "Biohydrogen production from co-digestion of cow manure and waste milk under thermophilic temperature," *Bioresource Technology*, vol. 110, pp. 251-257, 2012. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.102>. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.01.102.
- [30] Rangel, Carol J. *et al.* “Hydrogen production by dark fermentation process from pig manure, cocoa mucilage and coffee mucilage”, *Biomass Conv. Bioref.* 2020. Available: <https://dx.doi.org/10.1007/s13399-020-00618-z> DOI: /10.1007/s13399-020-00618-z.
- [31] Zhang Y, *et al.* “Effect of temperature and iron concentration on the growth and hydrogen production of mixed bacteria”. *International Journey of Hydrogen Energy*. ol 31 pp. 441-446. 2006. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2005.05.006> DOI: 10.1016/j.ijhydene.2005.05.006
- [32] Yokoyama H *et al.* “Effect of fermentation temperature on hydrogen production from cow waste slurry by using anaerobic microflora within the slurry”. *Applied Microbiology and Biotechnology* vol. 74, pp. 474–483. 2007. Available: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-006-0647-4> DOI: 10.1007/s00253-006-0647-4.
- [33] Fang HHP *et al.* “Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture”. *Bioresource Technology*. 2002; vol 82, pp. 87–93. 2007. Available: [https://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00110-9](https://dx.doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00110-9) DOI: 10.1016/S0960-8524(01)00110-9.

- [34] Ginkel SV *et al.* "Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration". *Environmental Science and Technology* vol 35: pp. 4726–4730. 2001. Available: <https://dx.doi.org/10.1021/es001979r> DOI: 10.1021/es001979r.
- [35] Temudo MF *et al.* "Influence of the pH on (open) mixed culture fermentation of glucose: a chemostat study". *Biotechnology and Bioengineering* vol 98, pp. 69–79. 2007. Available: <http://dx.doi.org/10.1002/bit.21412> DOI: 10.1002/bit.21412.
- [36] Lin CY *et al.* "Fermentative hydrogen production from wastewaters: a review and prognosis". *International Journey of Hydrogen Energy*. vol 37, pp. :15632–15642. 2012. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.02.072> DOI: 10.1016/j.ijhydene.2012.02.072.
- [37] Chen CC *et al.* "Fermentative hydrogen production at high sulfate concentration". *International Journey of Hydrogen Energy*. vol 33, pp. :1573–1578. 2008. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2007.09.042> DOI: 10.1016/j.ijhydene.2007.09.042.
- [38] Wu SY *et al.* "Hydrogen production with immobilized sewage sludge in three phase fluidized bed bioreactors". *Biotechnology Progress*. vol. 19, pp. 828–832. 2003. Available: <http://dx.doi.org/10.1021/bp0201354> DOI: 10.1021/bp0201354.
- [39] Zhu J *et al.* "Swine manure fermentation for hydrogen production. *Bioresource Technology* vol 100, pp. 5472–54727. 2009. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.045> DOI: 10.1016/j.biortech.2008.11.045.
- [40] Zahedi S *et al.* "Hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste in anaerobic thermophilic acidogenesis: influence of organic loading rate and microbial content of the solid waste". *Bioresource Technology*. 2013. vol 129, pp. 85–91. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.003> DOI: 10.1016/j.biortech.2012.11.003.
- [41] Massanet-Nicolau J *et al.* "Production of hydrogen from sewage biosolids in a continuously fed bioreactor: effect of hydraulic retention time and sparging". *International Journey of Hydrogen Energy*. 2010. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.10.076> DOI: 10.1016/j.ijhydene.2009.10.076.
- [42] Mandal B, *et al.* "Improvement of biohydrogen production under decreased partial pressure of H₂ by *Enterobacter cloacae*". *Biotechnology Letters* vol 28, pp. 831–835. 2006. <http://dx.doi.org/10.1007/s10529-006-9008-8> DOI: 10.1007/s10529-006-9008-8.
- [43] Prabakar *et al.* "Advanced biohydrogen production using pretreated industrial waste: Outlook and prospects," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*., vol. 96, pp. 306-324, 2018. Available: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.08.006> DOI: 10.1016/j.rser.2018.08.006.
- [44] Linder, T. "Making the case for edible microorganisms as an integral part of a more sustainable and resilient food production system". *Food Security Journal*., vol. 11, pp. 265–278, 2019. Available: <https://doi.org/10.1007/s12571-019-00912-3> DOI: 10.1007/s12571-019-00912-3.
- [45] R. Rafieenia *et al.* "Dark fermentation metabolic models to study strategies for hydrogen consumers inhibition," *Bioresource Technology*, vol. 267, pp. 445-457, 2018. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.054> . DOI: 10.1016/j.biortech.2018.07.054.

- [46] F. D. Faloye, *et al.* "Optimization of biohydrogen inoculum development via a hybrid pH and microwave treatment technique – Semi pilot scale production assessment," *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 39, (11), pp. 5607-5616, 2014. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.01.163> . DOI: 10.1016/j.ijhydene.2014.01.163.
- [47] Kitashima, M. *et al.* "Flexible plastic bioreactors for photobiological hydrogen production by hydrogenase-deficient cyanobacteria". *Bioscience, biotechnology and biochemistry.*, vol. 76, pp. 831-833, 2012. Available: <https://doi.org/10.1271/bbb.110808> DOI: 10.1271/bbb.110808
- [48] Instituto Colombiano Agropecuario – ICA. "Censo Pecuario Nacional" [Online]. Available: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2018.aspx>.
- [49] Agronet. "Café: Evaluaciones agropecuarias municipales". [Online] Available: <https://www.agronet.gov.co/Documents/Caf%C3%A9.pdf>.
- [50] Agronet. "Cacao: Evaluaciones agropecuarias municipales". [Online] Available: <https://www.agronet.gov.co/Documents/Cacao.pdf>
- [51] A. P. Becerra-Quiróz, *et al.* "Sostenibilidad del aprovechamiento del bagazo de caña de azúcar en el Valle del Cauca, Colombia", *Ingeniería Solidaria*, vol. 12, n.º 20, pp. 133-149, oct. 2016. Available: <http://dx.doi.org/10.16925/in.v12i20.1548> DOI: 10.16925/in.v12i20.1548
- [52] C. J. Rangel Villegas, "Evaluación de un esquema de biorefinería mediante fermentación oscura a partir de biomasa residual de Santander". Universidad EAN, Bogotá D.C., 2021.
- [53] E. Cerdá, "Cambio climático y energía: Una visión a nivel global", *Papeles de Europa*, vol. I, nº 31, pp. 1-17, 2018. Available: <https://doi.org/10.5209/PADE.61486> DOI: 10.5209/PADE.61486.
- [54] B. Paul, *et al.* "Primacy of ecological engineering tools for combating eutrophication: An ecohydrological assessment pathway," *Science of The Total Environment*, vol. 762, pp. 143171, 2021. Available: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143171> DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.143171
- [55] Environmental Protection Agency, "Effects of the Acid Rain" EPA, 4 Mayo 2020. [Online]. Available: <https://www.epa.gov/acidrain/effects-acid-rain>
- [56] Ministerio de Ciencia - España, "Impactos ambientales de la producción de electricidad", [Online]. Available: http://proyectoislarenovable.iter.es/wp-content/uploads/2014/05/17_Estudio_Impactos_MA_mix_electrico_APPA.pdf
- [57] B. Khoshnevisan *et al.*, "Environmental life cycle assessment of different biorefinery platforms valorizing municipal solid waste to bioenergy, microbial protein, lactic and succinic acid," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 117, pp. 109493, 2020. Available: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109493> DOI: 10.1016/j.rser.2019.109493
- [58] F. Gorini *et al.*, "Hydrogen sulfide and cardiovascular disease: Doubts, clues, and interpretation difficulties from studies in geothermal areas," *Sci. Total Environ.*, vol. 743, pp. 140818, 2020. Available: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140818> DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.140818

- [59] J. Du *et al*, "Simulated sulfuric and nitric acid rain inhibits leaf breakdown in streams: A microcosm study with artificial reconstituted fresh water," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 196, pp. 110535, 2020. Available: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110535> DOI: /10.1016/j.ecoenv.2020.110535.
- [60] J. P. Riffo Rivas, "Análisis de ciclo de vida para una planta de tratamiento de aguas residuales: Potencial de calentamiento global generado por PTAR Talagante", *Universidad de Chile, Santiago de Chile*, 2017. Available: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/148239>
- [61] M. Davis *et al*, "Assessment of renewable energy transition pathways for a fossil fuel-dependent electricity-producing jurisdiction," *Energy for Sustainable Development*, vol. 59, pp. 243-261, 2020. Available: <https://doi.org/10.1016/j.esd.2020.10.011> DOI: 10.1016/j.esd.2020.10.011.
- [62] Y. Liu *et al*, "Review of waste biorefinery development towards a circular economy: From the perspective of a life cycle assessment," *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, vol. 139, pp. 110716, 2021. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2021.110716> DOI: 10.1016/j.rser.2021.110716.
- [63] S. Prasad *et al*, "Sustainable utilization of crop residues for energy generation: A life cycle assessment (LCA) perspective," *Bioresource Technology*, vol. 303, (C), pp. 122964, 2020. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122964> DOI: 10.1016/j.biortech.2020.122964.
- [64] A. Patel *et al*, "Valorization of volatile fatty acids derived from low-cost organic waste for lipogenesis in oleaginous microorganisms-A review," *Bioresource Technology*, vol. 321, pp. 124457, 2021. Available: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124457> DOI: 10.1016/j.biortech.2020.124457.
- [65] Hauschild, M. Z., Rosenbaum, R. K., & Olsen, S. I. "Life cycle assessment". Springer International Publishing, 2018. Available: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-56475-3> DOI: 10.1007/978-3-319-56475-3.
- [66] Haya, E. "Análisis de ciclo de vida". Escuela de Organización Industrial. España, 2016.
- [67] Antón Vallejo, M. A. "Utilización del Análisis del ciclo de vida en la evaluación del impacto ambiental del cultivo bajo invernadero mediterráneo". Universitat Politècnica de Catalunya, 2004. Available: <http://hdl.handle.net/2117/94137>