

Co-Digestión de Tres Tipos de Estiércol (Vaca, Cuy y Cerdo) para Obtener Biogás en el Sur del Perú

Co-Digestion of Three Types of Manure (Cow, Guinea Pig and Pig) to Obtain Biogas in Southern Peru

Jaime E. Barreda-Del-Carpio^{1*}, Midwar R. Ancco Mamani², Alexia D. Núñez Chambi³, Christopher E. Aguirre⁴, Kevin Tejada Meza⁵ y Gustavo M. Pacheco Pacheco⁶

Resumen

La falta de energía en zonas rurales es un problema que afecta principalmente a los países en vías de desarrollo. Actualmente se buscan alternativas eficientes y sostenibles que solucionen este problema. La presente investigación evaluó la producción volumétrica y composición de biogás de 12 mezclas de tres tipos de sustratos (estiércol de vaca, cerdo y cuy). Los sustratos fueron caracterizados para conocer su porcentaje de humedad, cenizas, materia orgánica, nitrógeno Kjeldahl, relación C/N y metales totales. Luego se evaluó durante 23 días la producción volumétrica de biogás en cada sistema por triplicado y finalmente se analizó la composición del biogás. Los contenidos de materia orgánica, nitrógeno y relación C/N fueron muy similares a los reportados por varios autores; en los tres sustratos se observó la presencia de metales pesados como cobre y níquel. Solo en el estiércol de vaca se observó plomo. Por otro lado, se halló elementos traza que son beneficiosos para la digestión anaerobia, como el selenio en el estiércol de cuy. El sistema que generó mayor volumen de biogás fue el sistema S3, el cual contenía 25% de estiércol de vaca, 25% de estiércol de cerdo y 50 % de estiércol de cuy. Rindió $33.6 \pm 0.42\%$ de metano. La producción volumétrica y porcentaje de metano en el biogás se vio afectada directamente por la presencia de metales que inhiben o ralentizan el desarrollo de microorganismos metanogénicos.

Palabras clave: biogás, codigestión, estiércol, metales pesados.

Abstract

The lack of energy in rural areas is a problem that mainly affects developing countries. Efficient and sustainable alternatives are currently being sought that can solve this problem. The present investigation evaluated the volumetric production and biogas composition of 12 mixtures of three types of substrates (cow, pig and guinea pig manure), the substrates were characterized to know their percentage of moisture, ashes, organic matter, Kjeldahl nitrogen, C/N ratio and total metals, then the volumetric production of biogas was evaluated for 23 days in each system in triplicate and finally the composition of the biogas was analyzed, the contents of organic matter, nitrogen and C/N ratio were very similar to that reported by several authors, in the three substrates the presence of heavy metals such as copper and nickel was observed, only in cow manure was lead observed, on the other hand the presence of trace elements that are beneficial for anaerobic digestion such as selenium was also observed in guinea pig manure. The system that generated the highest volume of biogas was system S3, which contained 25% cow manure, 25% pig manure and 50% guinea pig manure, producing $33.6 \pm 0.42\%$ methane. The volumetric production and percentage of methane in the biogas was directly affected by the presence of metals that inhibit or slow down the development of methanogenic microorganisms.

Keywords: biogas, co-digestion, manure, heavy metals.

Sección: Artículo original

Recibido: 01/06/2022

Aceptado: 27/07/2022

Publicado: 25/08/2022

*Autor correspondiente: jaime.barreda@ucsm.edu.pe

Introducción

La producción de biogás muestra un crecimiento significativo debido a las nuevas políticas ambientales y al uso de energías renovables en todo el mundo, además de otros beneficios económicos y climáticos. Alcanzó los 18 millones de metros cúbicos de metano en 2015 en la Unión Europea (UE) (Scarlat, Dallemand y Fahl, 2018). La UE tiene un ambicioso objetivo de reducir el efecto invernadero del 80% al 95% para 2050 (Rubiales, 2011). La obtención de biogás a partir de residuos biológicos es de interés mundial, ya que promueve la economía circular a través de diferentes innovaciones que buscan transformar y aprovechar residuos biológicos en energías limpias (Jain *et al.*, 2022).

¹Departamento académico de Farmacia, Bio-química y Biotecnología, Universidad Católica de Santa María – UCSM, Urb. San José, San Jose S/N, Yanahuara, Arequipa 04000, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4050-7466>

²Departamento académico de Farmacia, Bio-química y Biotecnología, Universidad Católica de Santa María – UCSM, Urb. San José, San Jose S/N, Yanahuara, Arequipa 04000, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2748-4119>

³Departamento académico de Farmacia, Bio-química y Biotecnología, Universidad Católica de Santa María – UCSM, Urb. San José, San Jose S/N, Yanahuara, Arequipa 04000, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4829-9614>

⁴Departamento académico de Farmacia, Bio-química y Biotecnología, Universidad Católica de Santa María – UCSM, Urb. San José, San Jose S/N, Yanahuara, Arequipa 04000, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0955-8070>

⁵Departamento académico de Farmacia, Bio-química y Biotecnología, Universidad Católica de Santa María – UCSM, Urb. San José, San Jose S/N, Yanahuara, Arequipa 04000, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9716-7821>

⁶Departamento de Ciencias e Ingenierías Biológicas y Químicas, Universidad Católica de Santa María – UCSM, Urb. San José S/N, Yanahuara, Arequipa 04000, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0200-8124>

Como citar: Barreda Del Carpio, J. E., Ancco Mamani, M. R., Núñez Chambi, A. D., Aguirre Gamero, C. E., Tejada Meza, K., & Pacheco Pacheco, G. M. (2022). Co-Digestión de Tres Tipos de Estiércol (Vaca, Cuy y Cerdo) para Obtener Biogás en el Sur del Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 24(3), 174–181. <https://doi.org/10.18271/ria.2022.457>



El biogás se compone principalmente de metano (50% a 75% en volumen) y dióxido de carbono (25% a 40% en volumen) y es el producto de la digestión anaeróbica (DA) de varias materias primas. La DA es llevada a cabo por comunidades microbianas a través de diversos procesos bioquímicos, donde los compuestos orgánicos complejos son hidrolizados por acción de enzimas extracelulares producidas por microorganismos hidrolíticos; los sustratos solubles generados después de la hidrólisis se dividen en intermediarios por bacterias fermentadoras (Parawira, 2012).

La codigestión anaeróbica de una mezcla de sustratos puede ser más eficiente que la DA de un solo sustrato, al proporcionar materia prima con una composición equilibrada. Ello mejora el crecimiento bacteriano, aprovecha la complementariedad de las composiciones para permitir perfiles de proceso más efectivos; además, minimiza las variaciones temporales en la composición y producción de cada residuo por separado, y reduce los costos de inversión y operación (Castro-Molano, Parrales-Ramírez y Escalante-Hernández, 2019).

En algunas ciudades del Perú, igual que en otros países en vías de desarrollo, existen sistemas poco sofisticados de producción de biogás de mediana escala cuyos propietarios son personas dedicadas al negocio agropecuario. Estos sistemas precarios son una alternativa para aprovechar la gran cantidad de residuos orgánicos producidos por la actividad agrícola y ganadera, cuyo principal residuo biológico es de ganado bovino, porcino y cuyes (Garfi *et al.*, 2011).

La digestión de estiércol de animales para obtener biogás ha sido altamente experimentada con un solo sustrato (monodigestión) y con combinación de varios tipos de sustratos o con uso de sustratos y otros residuos como la paja o rastrojos (co-digestión). Por ejemplo, la monodigestión de estiércol de vaca puede ocurrir debido a la presencia de bacterias y materia degradable. De ello se obtiene bajo rendimiento de biogás en comparación con su rendimiento teórico, principalmente debido a su alto contenido de lignina. La co-digestión con otros residuos animales ayuda con el equilibrio carbono-nitrógeno y hace más eficiente el proceso de DA; reporta una producción de hasta el 86% de biogás (Alfa *et al.*, 2021).

Según Alfa *et al.* (2021) el rendimiento del biogás disminuye si está compuesto por más de 25% de estiércol de vaca, suplementado con estiércol de caballo, por lo cual recomiendan buscar mejoras en la preparación del sustrato con el fin de obtener un mayor rendimiento de biogás. Li *et al.* (2020) también experimentaron con

desechos de vacas y de ovejas en digestores continuos y discontinuos, logrando efectos sinérgicos interesantes. Ameen *et al.* (2021) realizaron pruebas con estiércol de cerdo, pollo y vaca; lograron mayor rendimiento de metano con proporciones iguales de cada sustrato, con co-digestión, en comparación con el procesamiento de estiércol de un solo animal.

Los metales pesados (MP) que se acumulan en los sustratos de digestión pueden afectar a los rendimientos de biogás; se necesitan trazas de MP para la actividad de algunas enzimas, por ejemplo, Cu^{2+} y Cd^{2+} actúan como cofactores en el centro catalítico de la celulasa y estimulan la actividad enzimática; pequeñas cantidades de MP estimulan el crecimiento y la actividad de los metanógenos, mientras que los niveles altos tienen efectos tóxicos sobre los metanógenos (Guo *et al.*, 2019). Asimismo oligoelementos como el Mo, Se y Mn mejoran los rendimientos de metano hasta en 59% (Cai *et al.*, 2018).

El objetivo de este estudio fue evaluar la producción de biogás a partir de doce mezclas diferentes de tres sustratos (estiércol de vaca, cerdo y cuy), así como la caracterización fisicoquímica y los metales totales en los sustratos.

Materiales y Métodos

Caracterización Fisicoquímica de Sustratos

Se recolectaron dos kilogramos de estiércol de vaca, cerdo y cuy del Fundo La Católica en la localidad de Majes, Arequipa, Perú. La muestra se tomó fresca y sin restos de pastos, piedras o tierra, luego se almacenó en un recipiente estéril y se refrigeró a 4 ± 1 °C para su traslado al laboratorio. Se tomaron pequeñas porciones de los sustratos para los siguientes parámetros: determinación de humedad (%) con el método D 3173-87 (ASTM, 1998), determinación de cenizas (%) con método E1755-01 (ASTM, 2003), determinación de la materia orgánica con la metodología realizada por Kamran *et al.* (2020), determinación de nitrógeno (%) con el Método de Kjeldahl (Kirk, 1950), relación carbono-nitrógeno con el método realizado por Avnimelech (1999) y determinación de metales totales (mg/kg) según el Método EPA 200,7 (U.S. Environmental Protection Agency, 1994). Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

Pruebas de Producción de Biogás

Se utilizó estiércol diluido en agua en una proporción de 1:2 y en base a esta se elaboraron nueve mezclas y tres sistemas de estiércol puro. Las mezclas y su codificación se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Proporción y tipo de estiércol colocado en cada sistema.

Sist.	Codificación	Estiércol de Vaca, % p/v	Estiércol de Cerdo, % p/v	Estiércol de Cuy, % p/v
Sistema 01	C50.P25.GP25	50	25	25
Sistema 02	C25.P50.GP25	25	50	25
Sistema 03	C25.P25.GP50	25	25	50
Sistema 04	C60.P20.GP20	60	20	20
Sistema 05	C20.P60.GP20	20	60	20
Sistema 06	C20.P20.GP60	20	20	60
Sistema 07	C80.P10.GP10	80	10	10
Sistema 08	C10.P80.GP10	10	80	10
Sistema 09	C10.P10.GP80	10	10	80
Sistema 10	C100.P0.GP0	100	0	0
Sistema 11	C0.P100.GP0	0	100	0
Sistema 12	C0.P0.GP100	0	0	100

Las pruebas de producción de biogás se realizaron en el laboratorio de biotecnología ambiental de la Universidad Católica de Santa María en la ciudad de Arequipa, Perú a 2235 metros sobre el nivel del mar (570 mmHg), durante 23 días, en frascos de 1000 mL con un volumen operativo de 450 mL dejando espacio para la acumulación de biogás y espuma, producto de la digestión. Cada reactor se cerraba herméticamente con un tapón de goma que dejaba un conducto para la salida de biogás. Todos los sistemas colocados en un baño termostático a una temperatura constante de 37 ± 0.5 °C dentro de los rangos de temperatura mesófila (20–40 °C) (Khumalo, Oyekola y Okudoh, 2021), para optimizar el proceso de DA (Aksay, Ozkaymak y Calhan, 2018; Meneses Quelal *et al.*, 2021). La condición anaeróbica se indujo lavando el espacio de cabeza de cada frasco con nitrógeno durante cinco minutos (Khumalo, Oyekola y Okudoh, 2021).

El volumen (mL) de biogás se midió mediante el método de desplazamiento de agua, colocando la manguera de salida dentro de una muestra graduada invertida, donde el agua contenida fue desplazada por la presión del gas (Tahir *et al.*, 2015), luego fue recogido en bolsas de Tedlar para su análisis.

Análisis de la Composición del Biogás

La composición del biogás se determinó utilizando el analizador de gas portátil Biogás 5000 (Geotech, Reino Unido).

Análisis Estadístico

La significación estadística de los resultados experimentales fue evaluada por las pruebas ANOVA y Tukey, con un nivel de significancia (α) del 5%; se utilizó el software Statistica 10, Statsoft, Inc.

Resultados

Caracterización de la Composición Físicoquímica de Muestras de Estiércol de Vaca, Cerdo y Cuy

En la Tabla 2 se presentan los valores \pm desviación estándar de los análisis físicoquímicos y metales totales realizados en las materias primas, nótese que el estiércol de cuy tiene la mayor cantidad de materia orgánica y muy baja humedad.

Tabla 2. Resultados de la caracterización fisicoquímica de los tres tipos de estiércol.

Análisis	Resultado ¹		
	Vacuno	Porcino	Cuy
Humedad, %	60.27 ± 5.23	87.41 ± 8.22	12.13 ± 6.02
Cenizas, %	6.25 ± 0.66	1.58 ± 0.23	15.1 ± 2.4
Materia orgánica, %	33.48 ± 3.55	11.09 ± 1.98	72.77 ± 6.27
Nitrógeno Kjeldahl, %	0.41 ± 0.01	2.73 ± 0.06	0.81 ± 0.04
C/N	27.36 ± 4.54	12.36 ± 1.26	28.11 ± 3.98
Metales totales, mg/Kg			
Al	285.909	181.176	63.333
As	13.182	7.647	8.333
B	10.909	7.059	6.333
Ba	15.909	11.176	4.333
Ca	3535.909	751.471	680.667
Cu	155.455	11.765	11.333
Fe	226.364	100.294	65
K	1308.182	588.824	708.667
Mg	1157.273	307.941	149
Mn	87.727	5.588	11.333
Ni	5455	2.353	2.667
P	3478.636	405.882	529
Pb	9.147	nd	nd
Sb	0.015	nd	nd
Se	nd	nd	1.67
Si	222.273	136.176	2.667
Sn	nd	0.294	0.333
Sr	6.6814	9.706	0.64
Zn	341.364	21.471	341.364

Nota. Resultado ± desviación estándar.

nd: no determinado (inferior al límite de detección del método).

Producción Volumétrica de Biogás por Día

El volumen total acumulado producido de biogás durante 23 días de cada sistema evaluado se presenta en la Figura 1.

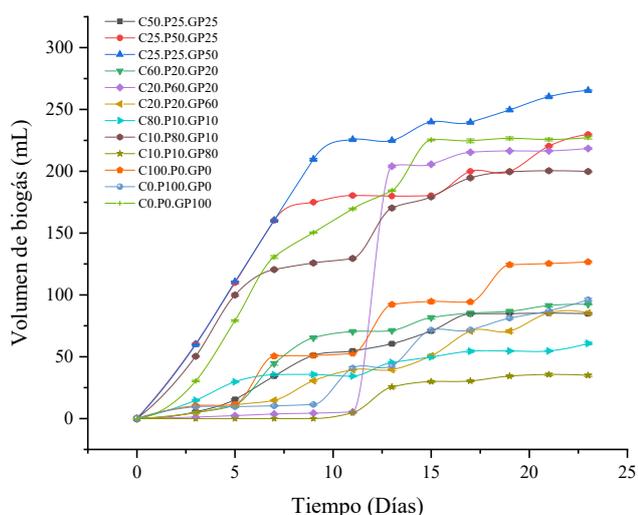


Figura 1. Producción volumétrica de biogás de cada sistema evaluado.

La Figura 2 presenta la producción volumétrica acumulada de biogás a los 23 días de co-digestión, los datos procesados no cumplieron con el supuesto de normalidad (prueba de Shapiro Wilks, $p=0.002$), sin embargo, sí cumplían con el supuesto de homocedasticidad (test de Levene, $p=0.148$), posteriormente se ejecutó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, $p=0.0003$, que mostró que existen diferencias entre los valores del volumen de biogás acumulado en cada tratamiento (sistema); finalmente se procedió a hacer una prueba de Tukey que permitió agrupar los datos con las letras azules (Figura 2), los sistemas que tienen las mismas letras indican que no hay diferencia entre estos tratamientos. S5 fue el de menor producción de biogás. Es importante señalar que altos porcentajes de estiércol de cerdo no generan altos volúmenes de biogás. Por lo tanto, se puede decir que S1, S4, S8 y S11 no tienen diferencias significativas a pesar de que están compuestos por diferentes proporciones de sustrato. Una característica que comparten estos resultados es que tienen bajos porcentajes de estiércol de cuy y altos porcentajes de estiércol de cerdo (S11 es 100% estiércol de cerdo).

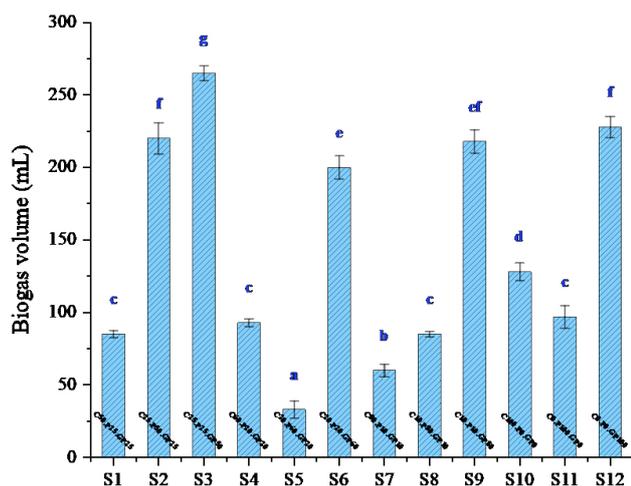


Figura 2. Producción volumétrica acumulada de biogás en los doce sistemas.

Análisis de la Composición del Biogás

La composición del biogás obtenido en S3 se presenta en la Tabla 3, en ella se pueden apreciar los valores de metano, dióxido de carbono, oxígeno y ácido sulfhídrico. Bal son los gases que el equipo no pudo identificar, posiblemente se trate de nitrógeno.

Tabla 3. Composición química del biogás.

Composición	Valor ¹
CH ₄ , %	33.6 ± 0.42
CO ₂ , %	9.7 ± 0.28
O ₂ , %	10.3 ± 0.14
H ₂ S, ppm	65.5 ± 7.78
Bal, %	46.35 ± 0.07

Nota. Promedio ± desviación estándar.

Discusión

Caracterización de la Composición Físicoquímica de Muestras de Estiércol de Vaca, Cerdo y Cuy

El contenido de cenizas y C/N de estiércol de cuy encontrado en este estudio es consistente con lo reportado por Toribio *et al.* (2020). El valor del nitrógeno Kjeldahl del estiércol de cuy es muy similar al 0.83% reportado por Garfí *et al.* (2011). El carbono constituye la fuente de energía, y el nitrógeno se utiliza para la formación de nuevas células; las bacterias metanogénicas consumen 30 veces más carbono que el nitrógeno, por lo que la proporción óptima de estos dos elementos en la materia prima se considera en un rango de 30:1 a 20:1 (Varnero, 2011).

En la Tabla 2 también se presentan las concentraciones de metales totales en los tres tipos de sustrato, elementos como Ag, Be, Cd, Co, Li, Mo, Na, Ti, Ta y V no superaron el límite de cuantificación del método en los tres tipos de estiércol analizados.

Boro, bario, calcio, cobre, hierro, potasio, magnesio, manganeso, níquel, fósforo, silicio, estroncio y zinc son elementos presentes en los tres tipos de sustratos estudiados. Todos estos elementos se encuentran en mayor concentración en el estiércol de vaca a excepción del zinc cuyo valor en estiércol de vaca y cerdo es el mismo. El plomo y el antimonio se encontraron solo en el estiércol de vaca, el selenio solo en el estiércol de cuy, el estaño solo en el estiércol de cerdo y de cuy. El plomo en el estiércol podría derivarse de varias fuentes, pero es posible suponer que las principales fuentes son el plomo ingerido con alimentos, el ingerido del suelo, el inhalado directamente de la atmósfera o que ingresó en la cadena alimentaria a través del consumo de vegetación que atrapó el plomo de la atmósfera (Bacon y Dinev, 2005). Es muy probable que las hierbas con las que se alimentan las vacas contengan altos niveles de plomo.

Producción Volumétrica de Biogás por Día

S3 y S5 fueron los sistemas con los que se obtuvo el mayor y menor volumen de biogás respectivamente. S12 fue uno de los mejores, sin embargo tenía como única materia prima estiércol de cuy. S9 que contenía un porcentaje significativo de estiércol de cuy también generó un volumen considerable. En este estudio buscamos encontrar la proporción adecuada en función de las cantidades de estiércol disponibles diariamente; de hecho, el estiércol de cuy no se produce en grandes cantidades como el de vaca o el de cerdo, por lo que el sistema S3 es el más adecuado, ya que utiliza una proporción medida de estiércol de cuy y acompaña con pequeñas cantidades de estiércol de vaca y cerdo.

En general, el estiércol de cerdo tanto en la DA como en la co-digestión con otros tipos de estiércol tiene buenos rendimientos en volumen y calidad de biogás (Sebola, Tesfagiorgis y Muzendal, 2015). Sin embargo, es mucho mejor sustrato para producir biogás cuando se realizan pretratamientos térmicos (Carrère, Sialve y Bernet, 2009), aunque esto aumentaría en gran medida los costos del proceso. El calcio bastante presente en el estiércol de vaca no podría considerarse como un inhibidor de la DA ya que la concentración en la que se observa inhibición es de 7000 mg/L (Jackson-Moss, Duncan y Cooper, 1989). Los contenidos entre 30 y 100 mg/L de Cu²⁺ aumentan los rendimientos acumulados de biogás en la DA (Hao *et al.*, 2017), el sistema S3 tiene un 25% de estiércol de vaca, que está dentro del rango antes mencionado (34.86 mg / L), lo que aportaría mejoras en la DA.

El cobre, zinc y plomo presentes en los sustratos afectan negativamente la producción de metano. Por otro lado, el níquel afecta a la población bacteriana que participa en el proceso de digestión al unirse al

grupo tiol de enzimas vitales, reemplazando los iones metálicos naturales del grupo prostético, lo que resulta en la inactivación e interrupción de la función de algunas enzimas (Mudhoo & Kumar, 2013; Muthusaravanan *et al.*, 2020). El hierro y el manganeso no tienen ningún efecto sobre la producción de biogás (S. K. Jain *et al.*, 1992).

Es muy importante destacar que los sistemas con un porcentaje mayoritario de estiércol de cuy alcanzaron mayores volúmenes de biogás (S3, S9 y S12). Este aumento y mejora se deben principalmente a que dicho sustrato contiene cantidades adecuadas de materia orgánica, nitrógeno y una óptima relación C/N (Toribio *et al.*, 2020). Un factor adicional puede ser que el sustrato tiene selenio, que es un oligoelemento que mejora la producción de biogás (Bhatnagar *et al.*, 2020; Demirel y Scherer, 2011; Feng *et al.*, 2010). Cuando la oxidación del formiato a dióxido de carbono y reductores equivalentes está mediada por la deshidrogenasa (dependiente del selenio) es más favorable para el crecimiento y producción de metano en microorganismos metanogénicos (Jones y Stadtman, 1977).

Análisis de la Composición del Biogás

Varios autores informan porcentajes más altos de metano en co-digestiones de diferentes tipos de estiércol (47 – 55 %) (Álvarez y Lidén, 2009); (59 – 67 %) (El-Mashad y Zhang, 2010). Este bajo rendimiento de metano se debe a la presencia de metales pesados que afectan la producción volumétrica de biogás y, por supuesto, la producción de metano. La tasa de producción de biogás en S3 también se vio afectada por la presencia de metales pesados (0.013 m³ biogás/ m³ digestor) valor inferior a (0.03 y 0.04 m³ biogás/ m³ digestor) (Garfí *et al.*, 2011).

Conclusiones

El Sistema S3 fue el que generó el mayor volumen de biogás; estuvo compuesto por 25% de estiércol de vaca, 25% de estiércol de cerdo y 50% de estiércol de cuy. Este sistema generó hasta 33,6 ± 0.42% de metano. Propiedades fisicoquímicas como la relación C/N y el selenio presente en el estiércol de cuy jugaron un papel positivo en el volumen de biogás producido. Sin embargo, el contenido de metales como Cu, Pb, Zn y Ni en los tres sustratos tuvo un papel antagónico provocando valores por debajo de los reportados, esto abre una vía para investigar los pretratamientos para los sustratos o su combinación con otros residuos agrícolas que permitirían obtener mejores rendimientos.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Católica de Santa María a través del fondo de investigación 2016 con número de contrato N° 25177-R-2018.

Conflictos de intereses

Los autores no tienen conflictos de intereses.

Referencias

- Aksay, M. V., Ozkaymak, M., & Calhan, R. (2018). Co-digestion of cattle manure and tea waste for biogas production. *International Journal of Renewable Energy Research*, 8(3), 1347–1353.
- Alfa, M. I., Owamah, H. I., Onokwai, A. O., Gopikumar, S., Oyeibisi, S. O., Kumar, S. S., Bajar, S., Samuel, O. D., & Ilabor, S. C. (2021). Evaluation of biogas yield and kinetics from the anaerobic co-digestion of cow dung and horse dung: a strategy for sustainable management of livestock manure. *Energy, Ecology and Environment*, 6(5), 425–434.
- Alvarez, R., & Lidén, G. (2009). Low temperature anaerobic digestion of mixtures of llama, cow and sheep manure for improved methane production. *Biomass and Bioenergy*, 33(3), 527–533. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2008.08.012>
- Ameen, F., Ranjitha, J., Ahsan, N., & Shankar, V. (2021). Co-digestion of microbial biomass with animal manure in three-stage anaerobic digestion. *Fuel*, 306, 121746.
- ASTM. (1998). ASTM Standards D 3173-87—Standard test method for moisture in the analysis sample of coal and coke. *Annual Book of ASTM Standards, Section, 5*, 301–302.
- ASTM. (2003). *E1755-01 Standard method for the determination of ash in biomass*. Annual Book of ASTM Standard.
- Avnimelech, Y. (1999). Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems. *Aquaculture*, 176(3), 227–235. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00085-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00085-X)
- Bacon, J. R., & Dinev, N. S. (2005). Isotopic characterisation of lead in contaminated soils from the vicinity of a non-ferrous metal smelter near Plovdiv, Bulgaria. *Environmental Pollution*, 134(2), 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.07.030>

- Bhatnagar, N., Ryan, D., Murphy, R., & Enright, A. M. (2020). Trace element supplementation and enzyme addition to enhance biogas production by anaerobic digestion of chicken litter. *Energies*, *13*(13). <https://doi.org/10.3390/en13133477>
- Cai, Y., Zheng, Z., Zhao, Y., Zhang, Y., Guo, S., Cui, Z., & Wang, X. (2018). Effects of molybdenum, selenium and manganese supplementation on the performance of anaerobic digestion and the characteristics of bacterial community in acidogenic stage. *Bioresource Technology*, *266*, 166–175. <https://doi.org/10.1016/j.BIORTECH.2018.06.061>
- Carrère, H., Sialve, B., & Bernet, N. (2009). Improving pig manure conversion into biogas by thermal and thermo-chemical pretreatments. *Bioresource Technology*, *100*(15), 3690–3694. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.01.015>
- Castro-Molano, L. del P., Parrales-Ramírez, Y. A., & Escalante-Hernández, H. (2019). Co-digestión anaerobia de estiércoles bovino, porcino y equino como alternativa para mejorar el potencial energético en digestores domésticos. *Revista Ion*, *32*(2), 29–39.
- Demirel, B., & Scherer, P. (2011). Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. *Biomass and Bioenergy*, *35*(3), 992–998. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.12.022>
- El-Mashad, H. M., & Zhang, R. (2010). Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. *Bioresource Technology*, *101*(11), 4021–4028. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.027>
- Feng, X. M., Karlsson, A., Svensson, B. H., & Bertilsson, S. (2010). Impact of trace element addition on biogas production from food industrial waste - Linking process to microbial communities. *FEMS Microbiology Ecology*, *74*(1), 226–240. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00932.x>
- Garfí, M., Ferrer-Martí, L., Perez, I., Flotats, X., & Ferrer, I. (2011). Codigestion of cow and guinea pig manure in low-cost tubular digesters at high altitude. *Ecological Engineering*, *37*(12), 2066–2070. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2011.08.018>
- Guo, Q., Majeed, S., Xu, R., Zhang, K., Kakade, A., Khan, A., Hafeez, F. Y., Mao, C., Liu, P., & Li, X. (2019). Heavy metals interact with the microbial community and affect biogas production in anaerobic digestion: A review. *Journal of Environmental Management*, *240*, 266–272. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2019.03.104>
- Hao, H., Tian, Y., Zhang, H., & Chai, Y. (2017). Copper stressed anaerobic fermentation: biogas properties, process stability, biodegradation and enzyme responses. *Biodegradation*, *28*(5–6), 369–381. <https://doi.org/10.1007/S10532-017-9802-0/FIGURES/7>
- Jackson-Moss, C. A., Duncan, J. R., & Cooper, D. R. (1989). The effect of calcium on anaerobic digestion. *Biotechnology Letters* *1989 11:3*, *11*(3), 219–224. <https://doi.org/10.1007/BF01026064>
- Jain, A., Sarsaiya, S., Awasthi, M. K., Singh, R., Rajput, R., Mishra, U. C., Chen, J., & Shi, J. (2022). Bioenergy and bio-products from bio-waste and its associated modern circular economy: Current research trends, challenges, and future outlooks. *Fuel*, *307*, 121859.
- Jain, S. K., Gujral, G. S., Jha, N. K., & Vasudevan, P. (1992). Production of biogas from *Azolla pinnata* R. Br and *Lemna minor* L.: Effect of heavy metal contamination. *Bioresource Technology*, *41*(3), 273–277.
- Jones, J. B., & Stadtman, T. C. (1977). *Methanococcus vannielii*: culture and effects of selenium and tungsten on growth. *Journal of Bacteriology*, *130*(3), 1404–1406. <https://doi.org/10.1128/jb.130.3.1404-1406.1977>
- Kamran, M., Ali, H., Saeed, M. F., Bakhat, H. F., Hassan, Z., Tahir, M., Abbas, G., Naeem, M. A., Rashid, M. I., & Shah, G. M. (2020). Unraveling the toxic effects of iron oxide nanoparticles on nitrogen cycling through manure-soil-plant continuum. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *205*, 111099.
- Khumalo, S. C., Oyekola, O. O., & Okudoh, V. I. (2021). Evaluating input parameter effects on the overall anaerobic co-digestion performance of abattoir and winery solid wastes. *Bioresource Technology Reports*, *13*, 100635.
- Kirk, P. L. (1950). Kjeldahl method for total nitrogen. *Analytical Chemistry*, *22*(2), 354–358.
- Li, Y., Achinas, S., Zhao, J., Geurkink, B., Krooneman, J., & Euverink, G. J. W. (2020). Co-digestion of cow and sheep manure: Performance evaluation and relative microbial activity. *Renewable Energy*, *153*, 553–563.
- Meneses Quelal, W. O., Velázquez-Martí, B., Gaibor Chávez, J., Niño Ruiz, Z., & Ferrer Gisbert, A. (2021). Evaluation of methane production from the

anaerobic co-digestion of manure of guinea pig with lignocellulosic Andean residues. *Environmental Science and Pollution Research* 2021 29:2, 29(2), 2227–2243. <https://doi.org/10.1007/S11356-021-15610-X>

- Mudhoo, A., & Kumar, S. (2013). Effects of heavy metals as stress factors on anaerobic digestion processes and biogas production from biomass. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10(6), 1383–1398. <https://doi.org/10.1007/S13762-012-0167-Y/TABLES/1>
- Muthusaravanan, S., Sivarajasekar, N., Vivek, J. S., Vasudha Priyadharshini, S., Paramasivan, T., Dhakal, N., & Naushad, Mu. (2020). *Research Updates on Heavy Metal Phytoremediation: Enhancements, Efficient Post-harvesting Strategies and Economic Opportunities* (Issue January). https://doi.org/10.1007/978-3-030-17724-9_9
- Parawira, W. (2012). Enzyme research and applications in biotechnological intensification of biogas production. *Critical Reviews in Biotechnology*, 32(2), 172–186.
- Rubiales, I. S. (2011). Notas sobre la hoja de ruta hacia una economía hipocarbónica competitiva en 2050 (Comunicación de la Comisión de 8 de marzo de 2011, COM (2011) 112 final). *Revista Catalana de Dret Ambiental*, 2(1).
- Scarlat, N., Dallemand, J.-F., & Fahl, F. (2018). Biogas: Developments and perspectives in Europe. *Renewable Energy*, 129, 457–472.
- Sebola, M. R., Tesfagiorgis, H. B., & Muzenda, E. (2015). Methane production from anaerobic co-digestion of cow dung, chicken manure, pig manure and sewage waste. *Lecture Notes in Engineering and Computer Science*, 2217, 592–598.
- Tahir, M. S., Shahzad, K., Shahid, Z., Sagir, M., Rehan, M., & Nizami, A. (2015). Producing methane enriched biogas using solvent absorption method. *Chemical Engineering Transactions*, 45, 1309–1314.
- Toribio, L. K. P., Castro, G. O., Flores, J. W. V., Olivera, C. A. C., & Benites-Alfaro, E. G. (2020). Calorific value of biogas obtained by cavia porcellus biomass. *Chemical Engineering Transactions*, 80(October), 271–276. <https://doi.org/10.3303/CET2080046>
- U.S. Environmental Protection Agency. (1994). Method 200.7 - Determination of elements and trace elements in water and wastes by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry. *USEnvironmental Protection Agency, EPA/600/4-*, 31–82.
- Varnero, M. (2011). *Manual del Biogás* (Proyecto de barreras para la electrificación rural con energías renovables, Ed.; 1st ed.). Gobierno de Chile.