



Revisión bibliográfica

CARACTERÍSTICAS DE LA GLICERINA GENERADA EN LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL, APLICACIONES GENERALES Y SU USO EN EL SUELO

Review

Glycerin as byproduct of biodiesel production, its characteristics, applications and soil use

Carmen Betancourt Aguilar¹✉, Renato de Mello Prado¹,
Leónides Castellanos Gonzáles² y Cid N. Silva Campos³

ABSTRACT. Biofuels, such as bioethanol and biodiesel, represent attractive energy sources because they are made from renewable materials. Crude Glycerol is the major byproduct of the biodiesel industry.; about 2 million tons of glycerol consistently reaches the market every year, consequently several research efforts being made in order to find ways for utilizing glycerol. The aim of this work was to carry out an up-to-date revision of the information related to the characteristics of this glycerol and its general applications with emphasis on its use in the soil. The characterization of crude glycerol from biodiesel production, for different research worker, revealed heterogeneous results on the composed of each variable and its intervals. A total application of this glycerol that have already studied, demand a deep consideration in each characterization. Aspects like row materials employed in the biodiesel process production and methods of purification used by producers should pay particular attention. The use of glycerol seems to be a convenient way for increasing soil fertility, by increasing the amount of microorganisms; main fixed nitrogen microorganism, however, issue like the glycerol characteristic (saline contents, pH, methanol contents), and the applications frequency must be taking in to account.

RESUMEN. Los biocombustibles como el bioetanol y el biodiesel constituyen una fuente atractiva de energía porque se obtienen de recursos renovables. El principal subproducto del biodiesel es la glicerina cruda; se estima que más de dos millones de toneladas llegan al mercado cada año, por lo que la búsqueda de aplicaciones ha atrapado el interés de la comunidad científica. El objetivo del presente trabajo fue realizar una revisión actualizada de la información relacionada con las características de esta glicerina y sus aplicaciones generales con énfasis sobre su uso en el suelo, así como aportar algunos criterios y puntos de vista de los autores. La caracterización realizada por los investigadores a este subproducto, reveló resultados heterogéneos en las variables medidas y en los intervalos reportados para cada variable. Las múltiples aplicaciones de la glicerina que ya han sido estudiadas, demandan una consideración más profunda en cada caracterización. Aspectos como la materia prima empleada y proceso de producción y purificación aplicados en la obtención del biodiesel, merecen particular atención. El uso de la glicerina cruda se revela como una contribución a la fertilidad del suelo por el impacto positivo sobre el desarrollo de los microorganismos, principalmente los fijadores de nitrógeno; sin embargo, aspectos como las características de este subproducto (contenido salino, pH, contenido de metanol) y la frecuencia de aplicación, deben ser considerados.

Key words: organic matter, microorganisms,
nitrogen fixation

Palabras clave: materia orgánica, microorganismos,
fijación del nitrógeno

¹ Centro de Estudio para la transformación Agraria Sostenible, Universidad de Cienfuegos, carretera a Rodas, km 4, Cienfuegos, Cuba.

² Universidad de Pamplona, km 1, Vía Bucaramanga. Campus Universitario, Norte de Santander, Colombia.

³ Departamento de Suelos, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, SP, Brasil.

✉ crbetancourt@ucf.edu.cu

INTRODUCCIÓN

Los biocombustibles constituyen una fuente atractiva de energía; se producen a partir de una materia prima renovable, son biodegradables, no

tóxicos, con menos emisiones indeseables (CO, hidrocarburos aromáticos, partículas de hollín, óxidos de azufre y nitrógeno y metales) (1). Se estima que la producción mundial está alrededor de 750 000 t por año y que el crecimiento de esta industria continúa de forma espectacular (2).

El biodiesel (biocombustible) es un alquil-éster de ácidos grasos que se obtiene a partir de la esterificación de la grasa animal o aceite vegetal (triglicéridos) con un alcohol de cadena corta (usualmente metanol o etanol). Los principales materiales oleaginosos usados proceden de la palma, colza, soya, girasol, cacahuete, oliva, mostaza entre otros (3). Para mitigar las afectaciones ambientales se ha planteado el uso de cultivos marginales tales como *Jatropha curcas* (piñón), y otros cultivos que no requieren de terrenos fértiles, porque proliferan en suelos áridos, pobres en nutrientes, con altos niveles de radiación y baja precipitación pluvial (4).

La glicerina es el principal subproducto generado en la producción de biodiesel, se estima que más de 2 millones de toneladas llegan al mercado cada año (5). Por cada 10 kg de biodiesel producido se genera 1 kg de glicerina (6). Se considera que solo una fracción insignificante (menos de 5000 toneladas) se obtiene de forma sintética (5). Tanto su purificación como la búsqueda de aplicaciones de la glicerina cruda han atrapado el interés de la comunidad científica, producto del crecimiento acelerado de la producción de biodiesel y la marcada tendencia a su incremento.

La problemática relacionada con la alta generación de glicerina cruda se puede mitigar si se investigan los resultados de los múltiples usos actuales y se implementa su uso en diferentes sectores de la economía. En particular el uso de la glicerina

cruda como materia orgánica añadida al suelo está cobrando interés cada día. Se ha comprobado que cuando se aplica glicerina cruda al suelo se incrementa el crecimiento de las plantas y se inmoviliza el nitrógeno añadido al suelo como nitrato de amonio (7), lo cual disminuye el uso de fertilizantes y mitiga la contaminación ambiental en este sentido.

El objetivo del presente trabajo fue realizar una revisión actualizada de la información relacionada con las características de esta glicerina y sus aplicaciones generales con énfasis sobre su uso en el suelo.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA GLICERINA

La glicerina pura es un polialcohol de una cadena carbonada de tres átomos de carbono y tres grupos hidroxilos ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$).

Su molécula posee un gran número de posibles reacciones debido a la presencia de grupos alcohólicos (primario y secundario) que pueden ser reemplazados por otros grupos funcionales y formar derivados como los ésteres, aminas y aldehídos. Es estable frente al oxígeno en condiciones atmosféricas normales, pero frente a oxidantes fuertes se convierte en CO_2 y agua. Teóricamente se puede oxidar y formar once productos oxidados de una cadena con tres átomos de carbono. Una exposición prolongada a radiaciones intensas en presencia del aire produce su oxidación, principalmente si están presentes iones de hierro y cobre. También se ha demostrado que la glicerina puede actuar como agente reductor y fuente de hidrógeno en la hidrogenación de compuestos orgánicos (8).

Es un líquido incoloro, inodoro, de baja toxicidad

ambiental, soluble en agua y otros disolventes polares, insoluble en hidrocarburos, hidrocarburos clorinados y éteres, no se considera un líquido volátil. Es una sustancia higroscópica con un pH neutro (no libera cationes hidronio, ni hidroxilo cuando se disuelve en agua), es químicamente estable bajo condiciones normales de almacenamiento y manejo. Sin embargo, puede ser explosivo cuando entra en contacto con agentes oxidantes como el clorato de potasio. Tiene un alto punto de ebullición y viscosidad provocado por los puentes de hidrógeno que se forman entre sus moléculas (2).

Las características físico-químicas de la glicerina cruda han sido ampliamente descritas en la bibliografía internacional. La aplicación exitosa de este subproducto en las distintas esferas de la economía, depende del conocimiento y manejo de dichas características. La expresión de las mismas es muy diversa. Algunos autores las refieren de acuerdo al tipo de reacción que caracteriza su obtención (transesterificación, saponificación e hidrólisis) (6), otros a la purificación y catálisis aplicada, o a la naturaleza de la materia prima que se usa para la obtención del biodiesel (9). La cantidad de impurezas presentes también depende de los factores antes mencionados. A pesar que el proceso de transesterificación es el que produce los porcentajes más bajos de glicerina y más altos de las impurezas es el que tiene una mayor aplicación (2).

La glicerina cruda constituye una mezcla que contiene diferentes cantidades de glicerina (mayor porcentaje), detergente, alcohol (fundamentalmente metanol), sales de sodio o potasio (10) en dependencia del catalizador usado, materia orgánica no glicérol (MONG) y agua (11). La composición de la glicerina cruda registra marcadas diferencias en los valores reportados por diferentes autores (3, 10, 12, 13)

(porcentajes o intervalos) y en el tipo de variables medidas (Tabla). El comienzo y final de los intervalos representan magnitudes marcadamente diferentes para la mayoría de las variables.

Debido a la gran variabilidad en la información reportada por cada investigador, se hace necesario, que para usar este subproducto y que no ocurran afectaciones indeseables, tener una exhaustiva caracterización del mismo. Junto a las muestras tomadas para el análisis se necesita incluir información sobre las particularidades del proceso de producción (tipo de reacción usada, productos adicionados, características de la materia prima para la obtención del biodiesel, entre otros), para lograr que el set de datos sea estadísticamente representativo y confiable. Por ejemplo, a pesar de que la adición de glicerina mejora el proceso de obtención de biogás, el uso de altas proporciones puede afectar negativamente el proceso de metanogénesis verificado por los microorganismos debido a su alto contenido salino (12).

A pesar de que la glicerina es un subproducto valioso que tiene más de 2000 aplicaciones industriales, su comercialización es baja debido a la presencia abundante de impurezas (2).

El uso de la glicerina cruda como fuente de energía, en la obtención de diferentes productos

químicos mediante el uso de microorganismos y para sintetizar productos químicos en general, son las principales variantes encontradas por diferentes investigadores (Esquema).

EFFECTOS BENEFICIOSOS DEL EMPLEO DE LA GLICERINA SOBRE EL SUELO

El estudio de la glicerina como fuente de carbono para la fijación de nitrógeno al suelo se remonta a más de 50 años. En un estudio realizado sobre la descomposición de este polialcohol por bacterias (27), se encontró que puede ser descompuesto por diversos géneros de microorganismos como: *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Paracolobactrum*, *Aerobacter*, *Serratia*, *Sarcina*, *Streptomyces* y *Azotobacter*. Casi todas las especies de *Streptomyces* y algunas levaduras tuvieron esta capacidad. El mayor crecimiento de bacterias se observó cuando emplearon como fuente de nitrógeno sales amoniacaes en lugar de sales de nitrato. En la segunda parte de esta investigación (28), los autores encontraron que determinadas especies de *Azotobacter*, además de descomponer la glicerina, fijan el nitrógeno. Este mecanismo fue

justificado mediante el argumento de que la vigorosa oxidación del carbono de la glicerina provocaba una reducción simultánea del nitrógeno atmosférico.

Los microorganismos fijadores de nitrógeno mejoran la fertilidad de los suelos y constituyen un tema de estudio para contribuir a la sostenibilidad agrícola. La adición al suelo de glicerina puede estimular la sobrevivencia y el número de bacterias del género *Rhizobium*, incrementar la formación de nódulos y la fijación de nitrógeno (29).

Otros investigadores (30), estudiaron el crecimiento con diferentes fuentes de carbono y nitrógeno de un microorganismo (fijador de nitrógeno) identificado como (*Bacillus sphaericus* UPMB10). Los resultados de su investigación revelaron que el rendimiento más alto (cantidad de células producidas por gramo de carbono consumido) se obtuvo cuando se usó la glicerina como fuente de carbono. En este caso el costo de producción fue 15 veces más bajo que cuando se usó como fuente de carbono los lactatos.

En un suelo arenoso tratado con nitrato de amonio como fertilizante nitrogenado y con un 1 % de glicerina (porcentaje en relación al peso) se observó que el 50 % del nitrógeno fue inmovilizado después de los dos días de haber comenzado el estudio y a los cinco días fue totalmente inmovilizado (31).

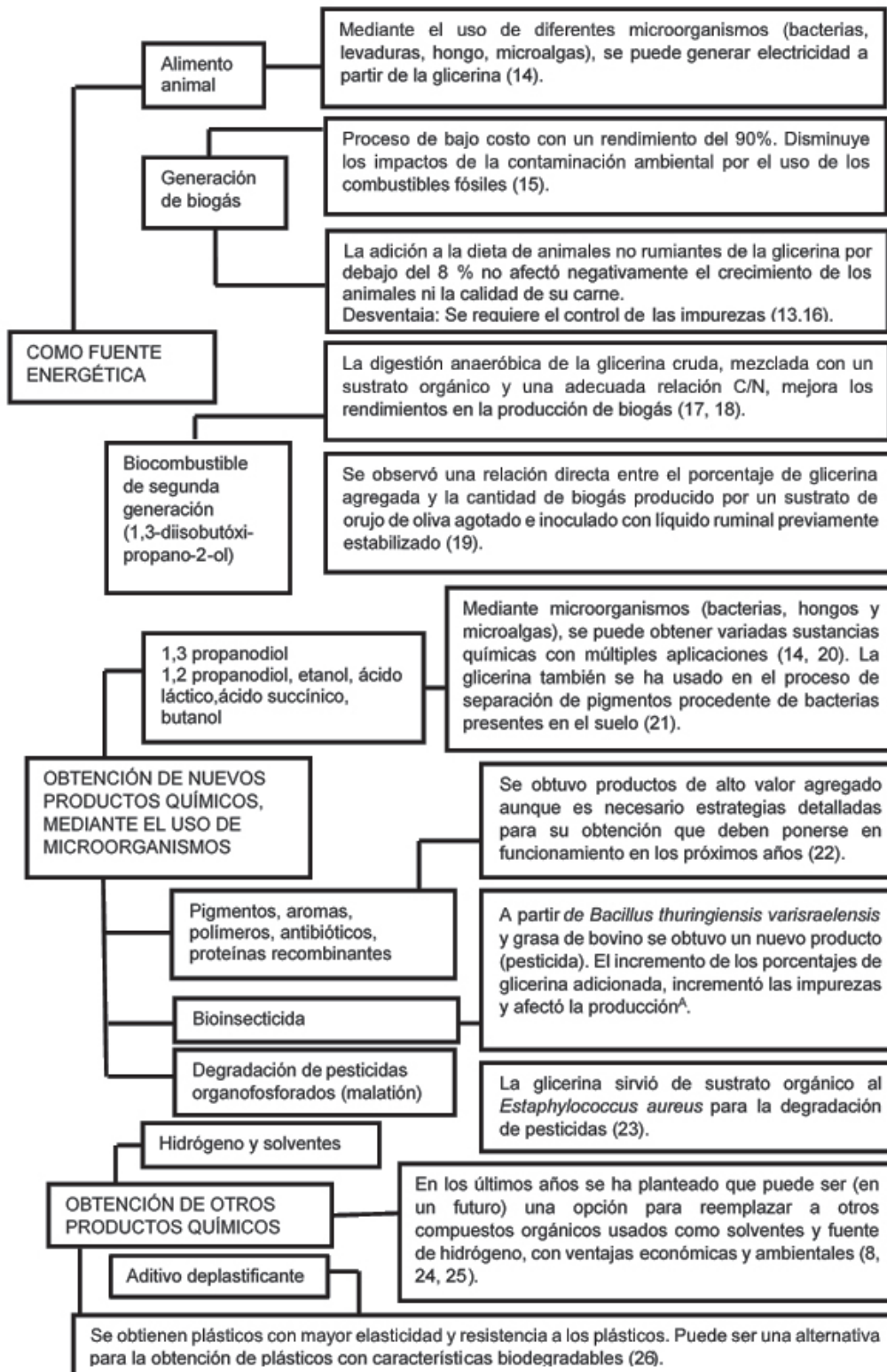
Tabla. Composición de la glicerina cruda según el criterio de varios autores

| Características en porcentajes, según el tipo de reacción usada para la obtención de la glicerina (3, 10) | | | | Intervalos que pueden tomar los diferentes componentes de la glicerina cruda (12) | | Características de la glicerina cruda obtenida en diferentes plantas de biodiesel de Australia (expresado en %) (13) | |
|---|----|---------|---------|---|-----------|--|----------|
| Componente | T* | S** | H*** | | | | |
| Glicerina | 75 | 83-84 | 88-90 | K (ppm) | 0-217 | Glicerina | 38-97 |
| Cenizas | 10 | 8,5-9,5 | 0,7-1,0 | P (ppm) | 12-37 | Cenizas | 0-29 |
| Agua | 10 | 6-7 | 8-9 | S (ppm) | 14-128 | Metanol | <0,01-14 |
| MONG | 5 | 3-4 | 0,7-1,0 | C (%) | 24-37 | pH (U) | 2-10,8 |
| Trimetil glicol | 1 | 0,1 | 0,2 | N (%) | 0,04-0,12 | MONG | 1-57 |
| | | | | Proteína (%) | 0,05-0,44 | Humedad | 0-16 |

*Transesterificación

**Saponificación

***Hidrólisis



^ARodriguez, B. C. *Avaliação do glycerol proveniente da fabricação do biodiesel como sustrato para produção de endotoxinas por Bacillus thuringiensis var Israelensis*. Tesis de Maestría, Universidad de São Pablo, São Pablo, Brasil, 2009, 131 p.

Esquema. Principales aplicaciones de la glicerina cruda; productos obtenidos, ventajas y alternativas

Otros investigadores también han encontrado que la glicerina constituye una fuente adecuada de carbono para los microorganismos (27) y puede incrementar la actividad microbiana en el suelo, con el respectivo aumento de la disponibilidad de nutrientes. Este polialcohol incrementa la capacidad de retención del suelo y ayuda a la adsorción de nutrientes. La aplicación de glicerina en áreas de cultivo tratadas con nitrato de potasio, reduce significativamente las concentraciones de nitrato en las aguas lixiviadas de dicho suelo (7). El nitrógeno inmovilizado por los microorganismos en un momento determinado, puede liberarse (31), lo cual tributa a un incremento en la fertilidad del suelo y a la disminución de la cantidad de nutrientes que pueden contaminar las aguas superficiales y subterráneas.

En un experimento realizado en Murcia, España (32) fue revelado que el uso de la glicerina contribuyó al incremento de las cantidades de carbono orgánico mineralizado y de nitrógeno inmovilizado o eliminado en procesos de desnitrificación. En las mezclas donde utilizaron concentraciones de glicerina al 4 y 6 %, hubo una rápida mineralización de la materia orgánica presente y a los 56 días ya había ocurrido en un 60 y 63 % respectivamente. Al comienzo de la incubación la forma predominante de nitrógeno fue la amoniacal, pero a los siete días predominaban los nitratos en todos los tratamientos (con glicerina y con otras fuentes de carbono).

En los tratamientos con glicerina (alta proporción de materia orgánica lábil) observaron una disminución en las concentraciones de nitrógeno inorgánico desde la primera semana, lo cual sugiere la ocurrencia de procesos de inmovilización del nitrógeno o desnitrificación. Ambos procesos pudieron favorecerse por el desarrollo de los microorganismos del suelo.

La pérdida de nitrógeno inorgánico no solo se debe a los procesos de desnitrificación y fijación de nitrógeno. El uso de urea como fuente de nitrógeno, puede provocar pérdidas por la volatilización del amonio y emisión a la atmósfera de amoniaco. Cuando se aplica urea al suelo ocurre una rápida hidrólisis provocada por la enzima ureasa presente en el suelo y la materia orgánica. Por cada molécula de urea se forman dos cationes de amonio (33). Las características físico-química del suelo, la temperatura, el pH y la humedad pueden afectar la volatilización (34). Los valores elevados de pH incrementan la volatilización. Esta pérdida de nitrógeno debe ser considerada para no incluirla en la desnitrificación y fijación de nitrógeno que puede provocar el uso de la glicerina por el incremento de actividad microbiana.

Como la glicerina es un compuesto orgánico con alta proporción de carbono lábil, favorece el desarrollo de los microorganismos y estos a su vez se involucran e incrementan los procesos de desnitrificación e inmovilización del nitrógeno. Los microorganismos desempeñan una función vital en el ciclo biogeoquímico de los nutrientes en el suelo. La fertilidad de los suelos está directamente relacionada y definida por la actividad heterotrófica de los microorganismos (35).

El incremento del contenido de materia orgánica en el suelo incide en sus propiedades físico-mecánicas. Se considera que la materia orgánica es el principal factor que interviene en la estabilidad estructural del suelo, lo cual origina mayor resistencia a la compactación y a los procesos erosivos y mejora la profundidad efectiva entre otros^B.

^B Balmaseda, C.; Ponce de León, D.; Martín, N. J. y Vargas, H. *Compendio de suelo*. edit. Universidad Agraria de La Habana, La Habana, Cuba, 2006, 227 p.

La descomposición de la glicerina se ve favorecida si se consideran los siguientes aspectos: (i) relación N:C, (ii) contenido de materia orgánica y actividad microbiana (alta) del suelo, (iii) proporción de glicerina (en relación al área donde se aplique no debe ser alta) (36). Estos autores recomendaron una dosis de aplicación de 4 m³ha⁻¹.

ALGUNOS EFECTOS PERJUDICIALES QUE PUEDEN MANIFESTARSE EN EL SUELO POR EL USO DE LA GLICERINA

La glicerina cruda tiene un porcentaje de metanol (Tabla) que puede ser tóxico para los microorganismos presentes en el suelo y para el desarrollo de las plantas.

Existen estudios que revelan que las adiciones de glicerina retardan el crecimiento de las plantas cuando las concentraciones son mayores al 10 % (37). Para aplicaciones del 10 % de glicerina estos autores observaron que el crecimiento era similar al experimento que tiene el suelo solamente con el compost. Estos resultados manifestaron la necesidad sobre el conocimiento y manejo de las características de la glicerina cruda. En la Tabla se puede observar el amplio intervalo en algunas características.

La glicerina puede tener grandes cantidades de sales en dependencia del tipo de catálisis (12), esto puede traer afectaciones a la sostenibilidad agrícola si no se maneja adecuadamente. El cloruro presente tanto en las sales de sodio como de potasio, puede resultar tóxico para las plantas. El amplio intervalo en los valores del pH (van desde los valores ácidos hasta alcalinos), pueden afectar los procesos de desnitrificación e inmovilización del nitrógeno (38) de manera diferente y en general la bioquímica del suelo.

CONSIDERACIONES FINALES

- ◆ La tendencia creciente en la producción de biodiesel ha generado grandes volúmenes de glicerina cruda, la cual representa un problema tecnológico para la producción de biodiesel. Las investigaciones realizadas para buscar nuevas aplicaciones aún son insuficientes y el volumen generado es muy superior al demandado. La elaboración de nuevos productos de interés comercial se convierte en una necesidad para valorizar su comercialización y evitar los daños medioambientales, lo cual tributa a la sostenibilidad de la producción del biodiesel.
- ◆ El uso de la glicerina como solvente y fuente de hidrógeno en las reacciones de hidrogenación es muy incipiente y se necesita un incremento en el número de investigaciones al respecto. Esta aplicación es económicamente atractiva y amigable con el medio ambiente. Se espera que en un futuro cercano haya un incremento en el uso de la glicerina para la producción de nuevos nanomateriales.
- ◆ La biotecnología representa una alternativa para la obtención de nuevos productos de alto valor agregado pero es preciso estudiar con más detalles aspectos sobre la bioquímica de los procesos y trazar estrategias detalladas para el uso de este subproducto.
- ◆ La glicerina cruda es una excelente fuente de calorías para la dieta de animales no rumiantes; sin embargo, su uso precisa de un control y manejo de la cantidad de sales y metanol presente.
- ◆ La co-digestión anaeróbica con diferentes residuos orgánicos generados, puede ser una solución integrada para gestionar residuos y producir energía. El carbono de la glicerina incrementa la relación

C:N y mejora la producción de biogás, pero hay que considerar la cantidad de sales presentes porque pueden inhibir el proceso de metanogénesis. El residuo sólido generado en este proceso es rico en materia orgánica y merece un estudio sobre su efecto en la fertilidad de los suelos.

Son abundantes las investigaciones realizadas en los últimos años para evaluar el efecto de la adición de la glicerina al suelo. Estos estudios en su mayoría han estado dirigidos a evaluar el efecto de este subproducto en el incremento de las concentraciones de materia orgánica, la fijación de nitrógeno en el suelo con el respectivo incremento de la fertilidad. Sin embargo, cada vez que se realice una investigación de este tipo se debe caracterizar la glicerina empleada. Es preciso un diseño de monitoreo de este subproducto que garantice la representatividad de la muestra y la oportuna selección de las variables a medir.

Para una evaluación integral de los efectos de la glicerina en el suelo es necesario entre otros temas, investigar aspectos como:

- ◆ el efecto de la aplicación repetida de glicerina en una misma área y su posible lixiviación en las aguas de escorrentías.
- ◆ la modificación del contenido salino del suelo como resultado de la aplicación.
- ◆ el efecto de la glicerina sobre los nutrientes requeridos por las plantas, como por ejemplo el fósforo y otros.
- ◆ la proporción de nitrógeno vinculada a los procesos de desnitrificación, volatilización y fijación al suelo y su repercusión en la mitigación de impactos ambientales.
- ◆ el efecto de las concentraciones de metanol (impureza que está presente en la glicerina cruda) sobre los factores bióticos y abióticos (características físicas) del suelo.

- ◆ la determinación de otros componentes residuales de la glicerina cruda.

En la actualidad son abundantes las preguntas sobre el uso de la glicerina cruda. Sin embargo, representa una fuente de carbono disponible a relativamente bajo costo y potencialmente apropiada para múltiples aplicaciones, que pueden producir beneficios económicos, sociales y ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Atadashi, I. M.; Aroua, M. K. y Aziz, A. A. "High quality biodiesel and its diesel engine application: A review". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, no. 7, septiembre de 2010, pp. 1999-2008, ISSN 1364-0321, DOI 10.1016/j.rser.2010.03.020.
2. Tan, H. W.; Abdul Aziz, A. R. y Aroua, M. K. "Glycerol production and its applications as a raw material: A review". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 27, noviembre de 2013, pp. 118-127, ISSN 1364-0321, DOI 10.1016/j.rser.2013.06.035.
3. Song, D.; Fu, J. y Shi, D. "Exploitation of Oil-bearing Microalgae for Biodiesel". *Chinese Journal of Biotechnology*, vol. 24, no. 3, marzo de 2008, pp. 341-348, ISSN 1872-2075, DOI 10.1016/S1872-2075(08)60016-3.
4. Sharma, Y. C.; Singh, B. y Upadhyay, S. N. "Advancements in development and characterization of biodiesel: A review". *Fuel*, vol. 87, no. 12, septiembre de 2008, pp. 2355-2373, ISSN 0016-2361, DOI 10.1016/j.fuel.2008.01.014.
5. Ciriminna, R.; Pina, C. D.; Rossi, M. y Pagliaro, M. "Understanding the glycerol market". *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 116, no. 10, 1 de octubre de 2014, pp. 1432-1439, ISSN 1438-9312, DOI 10.1002/ejlt.201400229.
6. Ooi, T. L.; Yong, K. C.; Hazimah, A. H.; Dzulkefly, K. y Wan, Y. W. M. Z. "Crude glycerine recovery from glycerol residue waste from a palm kernel oil methyl ester plant". *Journal of Oil Palm Research*, vol. 13, no. 2, 2001, pp. 6-22, ISSN 1511-2780.

7. Tolner, L.; Réthati, G. y Kovács, A. "Examination of an alternative way to prevent nitrate leaching in soil by using glycerol as a Biodiesel by-product". *Növénytermelés*, vol. 61, no. 0, 1 de marzo de 2012, pp. 185-302, ISSN 0546-8191, 2060-8543, DOI 10.1556/Novenyterm.61.2012.Suppl.3.
8. Díaz, Á. A. E. y Cadierno, V. "Glycerol: A promising Green Solvent and Reducing Agent for Metal-Catalyzed Transfer Hydrogenation Reactions and Nanoparticles Formation". *Applied Sciences*, vol. 3, no. 1, 23 de enero de 2013, pp. 55-69, ISSN 2076-3417, DOI 10.3390/app3010055.
9. Thompson, J. C. y He, B. B. "Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks". *Applied Engineering in Agriculture*, vol. 22, no. 2, 2006, pp. 261-265, ISSN 1943-7838, DOI 10.13031/2013.20272.
10. Singhabhandhu, A. y Tezuka, T. "A perspective on incorporation of glycerin purification process in biodiesel plants using waste cooking oil as feedstock". *Energy*, vol. 35, no. 6, junio de 2010, pp. 2493-2504, ISSN 0360-5442, DOI 10.1016/j.energy.2010.02.047.
11. Gerpen, J. V. "Biodiesel processing and production". *Fuel Processing Technology*, vol. 86, no. 10, 25 de junio de 2005, pp. 1097-1107, ISSN 0378-3820, DOI 10.1016/j.fuproc.2004.11.005.
12. Santibáñez, C.; Varnero, M. T. y Bustamante, M. "Glicerol Residual de la Producción de Biodiesel, Residuo o Potencial Fuente de Energía: Una Revisión". *Chilean Journal of Agricultural Research*, vol. 71, no. 3, septiembre de 2011, pp. 469-475, ISSN 0718-5839, DOI 10.4067/S0718-58392011000300019.
13. Hansen, C. F.; Hernandez, A.; Mullan, B. P.; Moore, K.; Trezona-Murray, M.; King, R. H. y Pluske, J. R. "A chemical analysis of samples of crude glycerol from the production of biodiesel in Australia, and the effects of feeding crude glycerol to growing-finishing pigs on performance, plasma metabolites and meat quality at slaughter". *Animal Production Science*, vol. 49, no. 2, 2009, pp. 154-161, ISSN 1836-5787.
14. Li, C.; Lesnik, K. L. y Liu, H. "Microbial Conversion of Waste Glycerol from Biodiesel Production into Value-Added Products". *Energies*, vol. 6, no. 9, 10 de septiembre de 2013, pp. 4739-4768, ISSN 1996-1073, DOI 10.3390/en6094739.
15. Rodrigues, B. M. C.; Cunha, R. D.; Almeida, C. M. A.; Dionísio, S. J. K. y da Silva, F. E. D. "Aproveitamento da Glicerina para Desenvolvimento de Combustível Líquido de Segunda Geração" [en línea]. En: *VII CONNEPI - Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação, VII CONNEPI - Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação*, 7 de septiembre de 2012, ISBN 978-85-62830-10-5, [Consultado: 22 de marzo de 2016], Disponible en: <<http://propi.ifto.edu.br/ocs/index.php/connepi/vii/paper/view/4513>>.
16. Yang, F.; Hanna, M. A. y Sun, R. "Value-added uses for crude glycerol--a byproduct of biodiesel production". *Biotechnology for Biofuels*, vol. 5, 2012, p. 13, ISSN 1754-6834, DOI 10.1186/1754-6834-5-13.
17. Yen, H.-W. y Brune, D. E. "Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane". *Bioresource Technology*, vol. 98, no. 1, enero de 2007, pp. 130-134, ISSN 0960-8524, DOI 10.1016/j.biortech.2005.11.010.
18. Astals, S.; Nolla, A. V. y Mata, A. J. "Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: Biogas and digestate". *Bioresource Technology*, vol. 110, abril de 2012, pp. 63-70, ISSN 0960-8524, DOI 10.1016/j.biortech.2012.01.080.
19. Indiveri, M. E.; Pérez, P. S.; Van Stralen, N.; Oliva, A.; Núñez, M. L. J. y Llamas, S. "Utilización de glicerina residual de producción de biodiesel como cosubstrato para la producción de biogás". En: *IV Congreso Nacional y Tercer Congreso Iberoamericano Hidrógeno y Fuentes Sustentables de Energía HYFUSEN 2011*, edit. Comisión Nacional de Energía Atómica-CNEA, Mar del Plata, Argentina, 2011, ISBN 978-987-1323-23-4.
20. Gungormusler, M.; Gonen, C. y Azbar, N. "Continuous production of 1,3-propanediol using raw glycerol with immobilized *Clostridium beijerinckii* NRRL B-593 in comparison to suspended culture". *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 34, no. 6, 19 de febrero de 2011, pp. 727-733, ISSN 1615-7591, 1615-7605, DOI 10.1007/s00449-011-0522-2.
21. Rashid, M. M.; Fakruddin, M.; Mazumdar, R. M.; Kaniz, F. y Chowdhury, M. A. "Anti-Bacterial Activity of Pigments Isolated From Pigment-Forming Soil Bacteria". *British Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 4, no. 8, 2014, pp. 880-894, ISSN 2231-2919.
22. Rivaldi, J. D.; Sarrouh, B. F.; Fiorilo, R. y da Silva, S. S. "Glicerol de biodiesel: Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel". *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, vol. 37, 2007, pp. 44-51, ISSN 1414-6347.
23. Akilandeswari, K. y Sona, V. "Efficiency of *Staphylococcus aureus* in the degradation an organo phosphorous pesticide Malathion". *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, vol. 2, no. 6, 15 de diciembre de 2013, pp. 13-21, ISSN 22774572, DOI 10.7897/2277-4572.02686.
24. Selembo, P. A.; Perez, J. M.; Lloyd, W. A. y Logan, B. E. "High hydrogen production from glycerol or glucose by electrohydrogenesis using microbial electrolysis cells". *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 34, no. 13, julio de 2009, pp. 5373-5381, ISSN 0360-3199, DOI 10.1016/j.ijhydene.2009.05.002.
25. Fan, X.; Burton, R. y Zhou, Y. "Glycerol (by product of biodiesel production) as a source for fuel sand chemicals—mini review". *The Open Fuels & Energy Science Journal*, vol. 3, no. 1, 15 de abril de 2010, pp. 17-22, ISSN 1876973X, DOI 10.2174/1876973X01003010017.
26. Dimas, B. A. F.; Gilliaster, F. P. y Ferreira, J. P. "Biodiesel e Alternativas para utilização da glicerina resultante do processo de produção de biodiesel". *Bolsista de Valor*, vol. 2, no. 1, 2012, pp. 141-146, ISSN 2179-6971.

27. Shethna, Y. I. y Bhat, J. V. "Studies on soil bacteria decomposing glycerol. Part I Isolation, identification and test for glycerol decomposition by different bacteria". *Journal of the Indian Institute of Science*, vol. 44, no. 1, 1961, p. 8, ISSN 0970-4140.
28. Shethna, Y. I. y Bhat, J. V. "Studies on soil bacteria decomposing glycerol. Part II Metabolism of Streptomyces and Azotobacter species". *Journal of the Indian Institute of Science*, vol. 44, no. 4, 1961, pp. 141-147, ISSN 0970-4140.
29. Rynne, F. G.; Glenn, A. R. y Dilworth, M. J. "Effect of mutations in aromatic catabolism on the persistence and competitiveness of *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii". *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 26, no. 6, 1 de junio de 1994, pp. 703-710, ISSN 0038-0717, DOI 10.1016/0038-0717(94)90262-3.
30. Ooi, T.; Ariff, A. B.; Halimi, M. S. y Shamsuddin, Z. H. "Growth kinetics of diazotrophic *Bacillus sphaericus* UPMB10 cultured using different types and concentrations of carbon and nitrogen sources". *Malaysian Journal of Microbiology*, vol. 4, no. 2, 2008, pp. 15-25, ISSN 2231-7538.
31. Tolner, L.; Czinkota, I.; Sándor, G. y Tolner, K. "Testing the effect of redirected glycerol by-products on the nutrition providing ability of the soil" [en línea]. En: *19th world congress of soil science, soil solutions for a changing world*, Brisbane, Australia, 2010, ISBN 978-0-646-53783-2, [Consultado: 22 de marzo de 2016], Disponible en: <<http://www.mkk.szie.hu/~tolner/2010/Brisbane/TolnerBrisbane.pdf>>.
32. Albuquerque, J. A.; de la Fuente, C. y Bernal, M. P. "Chemical properties of anaerobic digestates affecting C and N dynamics in amended soils". *Agriculture, Ecosystems & Environment*, vol. 160, 1 de octubre de 2012, pp. 15-22, ISSN 0167-8809, DOI 10.1016/j.agee.2011.03.007.
33. Sherlock, R. R. y Goh, K. M. "Dynamics of ammonia volatilization from simulated urine patches and aqueous urea applied to pasture. II. Theoretical derivation of a simplified model". *Fertilizer research*, vol. 6, no. 1, febrero de 1985, pp. 3-22, ISSN 0167-1731, 1573-0867, DOI 10.1007/BF01058161.
34. Franzen, D.; Goos, R. J.; Norman, R. J.; Walker, T. W.; Roberts, T. L.; Slaton, N. A.; Endres, G.; Ashley, R.; Staricka, J. y Lukach, J. "Field and Laboratory Studies Comparing Nutrisphere-Nitrogen Urea with Urea in North Dakota, Arkansas, and Mississippi". *Journal of Plant Nutrition*, vol. 34, no. 8, 15 de mayo de 2011, pp. 1198-1222, ISSN 0190-4167, DOI 10.1080/01904167.2011.558162.
35. Alef, K.; Beck, T.; Zelles, L. y Kleiner, D. "A comparison of methods to estimate microbial biomass and N-mineralization in agricultural and grassland soils". *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 20, no. 4, 1 de enero de 1988, pp. 561-565, ISSN 0038-0717, DOI 10.1016/0038-0717(88)90073-9.
36. Dalias, P. y Polycarpou, P. "Decomposition of the biodiesel by-product, crude glycerol, in soil". *Research in Agricultural Engineering*, vol. 60, no. 1, 2014, pp. 17-23, ISSN 1212-9151.
37. Soerens, T. S. y Parker, S. W. *Biodiesel Waste Products as Soil Amendments - Field Study and Runoff Impacts* [en línea]. Technical Report, no. MBTC DOT 3034, Inst. National Technical Information Service, agosto de 2012, p. 45, [Consultado: 22 de marzo de 2016], Disponible en: <<http://www.arkansastrc.com/MBTC%20REPORTS/MBTC%203034.pdf>>.
38. Mohammadi, K.; Sohrabi, Y.; Heidari, G.; Khaledro, S. y Majidi, M. "Effective factors on biological nitrogen fixation". *African Journal of Agricultural Research*, vol. 7, no. 12, 2012, pp. 1782-1788, ISSN 1991-637X.

Recibido: 9 de abril de 2015

Aceptado: 2 de noviembre de 2015