

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRICOLAS



**PRODUCCIÓN DE BIOGÁS Y DERIVADOS RESIDUALES DE LA DIGESTION DE DIFERENTES
PROPORCIONES DE PAJA DE TRIGO Y EXCRETA DE CERDO EN CONDICIONES ANAEROBIAS**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS EN PRODUCCION ANIMAL**

PRESENTA:

PEDRO CARRILLO LOPEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. BENEDICTO ALFONSO ARAIZA PIÑA

MEXICALI, Septiembre del 2011

CONTENIDO

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN	5
2.1 Contaminación	7
2.1.1 Fuentes de contaminación.....	7
2.1.2 Residuos agrícolas	8
2.1.3 Desechos de origen animal	9
2.1.4 Gases de efecto invernadero.....	10
2.2 Digestión anaerobia	11
2.2.1 Fuentes de biomasa	11
2.2.2 Diseño de biodigestor	12
2.2.3 Consorcio microbiano	13
2.3 Proceso microbiológico y bioquímico en las etapas de la digestión anaerobia	14
2.3.1 Hidrólisis	15
2.3.2 Fase fermentativa o Acidogénica.....	16
2.3.3 Acetogénesis	17
2.3.4 Metanogénesis	18
2.4 Parámetros en la digestión anaerobia	19
2.4.1 Temperatura	20
2.4.2 pH	21
2.4.3 Relación C:N.....	23
2.4.4 Tiempo de retención	24
2.4.5 Velocidad de carga o tasa de carga orgánica.....	25
2.4.6 Agitación – mezclado.....	25
2.5 Productos finales	26
2.5.1 Biogás.....	26
2.5.2 Metano.....	27
2.5.3 Efluente.....	28

2.6 Co-digestión	28
3. HIPÓTESIS.....	29
4. OBJETIVOS	29
4.1 General	29
4.2 Específicos.....	29
5. MATERIALES Y METODOS	30
5.1 Localización	30
5.2 Generalidades.....	30
6. RESULTADOS	38
7. DISCUSION.....	61
8. CONCLUSIÓN.....	70
9. LITERATURA CITADA	71

INDICE DE CUADROS Y FUGURAS

Cuadro 1. Cantidad en kilos de contaminantes emitidos en la quema de residuos por hectárea de diferentes cultivos.	8
Cuadro 2. Clasificación de bacterias metanogénicas.....	19
Cuadro 3. Composición química del biogás	27
Cuadro 4. Propiedades típicas de combustión del biogás.....	27
Cuadro 5. Modelos de predicción para la producción de biogás en el periodo de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de PC:EC.	44
Cuadro 6. Modelos de predicción para pH en el periodo de TR de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de PC:EC. ...	45
Cuadro 7. Modelos de predicción para la producción de biogás en el periodo de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de paja de trigo y excreta de cerdo. Experimento 2.	51
Cuadro 8. Modelos de predicción para pH en el periodo de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de paja de trigo y excreta de cerdo. Experimento 2.....	53
Cuadro 10. Valores en partes por millón de Nitrógeno (N), Fosforo (P) y Potasio (K) en residuos de la biodigestión de diferentes niveles de mezcla paja de trigo y excreta de cerdo de dos experimentos.	58
Figura 1. Proceso de la digestión anaerobia	15

Figura 2. Producción promedio de biogás (cc) de 5 niveles de mezcla paja de trigo con excreta de cerdo sometidos a biodigestión por un periodo de 60 días. Experimento 1.....	39
Figura 3. Valores promedio de pH registrados en un periodo de 60 días de biodigestión de 5 diferentes niveles de mezcla de PC:EC. Experimento 1.....	40
Figura 4. Temperaturas registradas en los biodigestores en las fechas de medición de la producción de gas: Experimento 1.....	41
Figura 5. Producción de biogás (cc) de la biodigestión de 3 niveles de mezcla paja de trigo con excreta de cerdo respecto al pH.....	41
Figura 6. Producción de biogás (cc) de la biodigestión de 2 niveles de mezcla paja de trigo con excreta de cerdo respecto al pH.....	42
Figura 7. Producción de biogás (cc) generado a partir de un tiempo de retención de 8 días y hasta el cumplimiento de los 60 días de la biodigestión de 5 niveles de mezcla PC:EC. Experimento 1.....	43
Figura 8. Predicción bajo un modelo lineal de la producción de biogás respecto al periodo de tiempo de retención de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de PC:EC.....	44
Figura 9. Predicción de la respuesta de pH respecto al periodo de TR de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de PC:EC.....	45
Figura 10. Producción promedio de biogás (cc) de 5 niveles de mezcla de PC:EC sometidos a biodigestión por un periodo de 52 días. Experimento 2.....	46
Figura 11. Valores promedio de pH registrados en un periodo de 52 días de biodigestión de 5 diferentes niveles de mezcla de PC:EC. Experimento 2.....	47
Figura 12. Temperaturas mínimas y máximas registradas en los biodigestores en las fechas de medición de la producción de gas: Experimento 2.....	48
Figura 13. Producción de biogás (cc) de la biodigestión de 5 niveles de mezcla de PC:EC respecto al pH. Experimento 2.....	49
Figura 14. Producción de biogás (cc) generado a partir de un tiempo de retención de 4 días y hasta el cumplimiento de los 52 días de la biodigestión de 5 niveles de mezcla PC:EC. Experimento 2.....	50
Figura 15. Predicción de la producción de biogás respecto al periodo de TR de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de PC:EC. Experimento 2.....	51
Figura 16. Predicción de la respuesta de pH respecto al periodo de tiempo de retención de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de paja de trigo con excreta de cerdo. Experimento 2.....	52
Figura 17. Unidades formadoras de colonias de Shigella y E. coli en excreta de cerdo previo al proceso de digestión anaerobia y en residuos de la biodigestión de diferentes niveles de mezcla paja de trigo y excreta de cerdo. Experimento 1.....	56

Figura 18. Unidades formadoras de colonias de Shigella y E. coli en excreta de cerdo previo al proceso de digestión anaerobia y en residuos de la biodigestión de diferentes niveles de mezcla paja de trigo y excreta de cerdo. Experimento 2.	57
Figura 19. Producción de biogás (cc) de la biodigestión de dos niveles de mezcla de paja de trigo y excreta de cerdo con respecto al día de muestreo. Experimento 3.	59
Figura 20. Tasa de degradación de la materia orgánica de paja de trigo y excreta de cerdo mezclada en dos niveles de proporción con respecto al día de muestreo. Experimento 3.	60
Figura 21. Materia orgánica residual (%) de paja de trigo y excreta de cerdo mezclada en dos niveles de proporción con respecto al día de muestreo durante el proceso de digestión anaerobia. Experimento 3.	60

1. INTRODUCCIÓN

En el Valle de Mexicali se tienen destinadas más de 90,000 hectáreas para la producción de trigo, lo cual sitúa a este cultivo como el de mayor importancia económica en la región, los registros en los rendimientos promedio hasta el año 2009 eran de 6.64 toneladas/hectárea de grano. Sin embargo, por cada tonelada de trigo producido también se generan alrededor de 2 ton de paja. Debido al pobre valor nutricional de la paja y, en consecuencia, el pobre valor comercial, la mayor parte de la paja se quema a cielo abierto para su eliminación.

A pesar de que la Ley de Protección al Ambiente en Baja California, en su Artículo 120 y 121, inciso III, prohíbe tácitamente la quema de residuos agrícolas cuando esta provoca contaminación del aire, cada año se queman alrededor de un millón de toneladas de paja de trigo en el valle de Mexicali. Con base en un cálculo estequiométrico teórico, esas quemas equivalen a la emisión de más de un millón de toneladas de dióxido de carbono (CO_2) al ambiente, lo cual se traduce en enfermedades respiratorias y contribución al calentamiento global. De igual forma mediante la quema de la paja de trigo se genera una fuente importante de emisión de contaminantes al aire, de compuestos como el monóxido de carbono (CO), dióxido de nitrógeno (NO_2), hidrocarburos (NMHC), partículas menores a 10 micras (PM_{10}), y metano (CH_4), este último considerado un gas de efecto invernadero relativamente potente que podría contribuir al calentamiento global del planeta, ya que tiene un potencial de calentamiento global de 23; pero que su concentración es baja. Esto significa que en una media de tiempo de 100 años cada kilo de CH_4 calienta la tierra 23 veces más que la misma masa de CO_2 .

Por su parte la biodegradación anaerobia, proceso biológico en el que participa un conjunto de microorganismos que tienen acción de manera natural en ambientes claramente anaerobios, ha demostrado ser una alternativa de aprovechamiento de diferentes tipos de residuos, por lo que a través de este medio se visualiza la posibilidad de generar oportunidades para darle valor agregado a la paja de trigo, y que a través de la co-digestion con excretas de cerdo se convierta en un ingrediente atractivo y de interés industrial.

1. REVISION DE LITERATURA

2.1 Contaminación

La contaminación puede ser definida como la alteración desfavorable, deterioro o degradación del medio, debido a la introducción de sustancias nocivas o al aumento exagerado de algunas sustancias que forman parte del medio. Al aparecer determinados agentes físicos, químicos, o biológicos se producen efectos nocivos en los seres vivos que pueden hacer peligrar la existencia de vida en el planeta (Inche, 2004).

La explosión demográfica creciente, el desarrollo industrial y la flota vehicular son la causa, en la mayoría de los casos, de los problemas de contaminación que afectan al planeta; además a medida que aumenta la población humana, los problemas de contaminación se hacen mayores y más diversos, lo cual trae como consecuencia que la calidad del agua, aire o suelo se vean modificados negativamente y con ello la salud de millones de personas (Quintero y Moncada, 2008).

2.1.1 Fuentes de contaminación

Entre los contaminantes de origen industrial, vehicular y de más que impliquen combustión se encuentra el dióxido y monóxido de carbono, óxidos de nitrógeno y azufre además de otros contaminantes; dentro de los procesos industriales también se genera una gran variedad de aguas residuales, que aunado a todos los desechos de origen doméstico provocan efectos negativos en la calidad del agua, suelo y aire (Inche, 2004).

2.1.2 Residuos agrícolas

Mucho se habla de la contaminación del aire provocada por el parque vehicular y la industria, pero no de las enormes columnas de humo que se observan a grandes distancias, producto de la quema de los residuos agrícolas que igualmente emiten un buen número de contaminantes a la atmósfera, tales como el metano (CH₄), monóxido de carbono (CO), bióxido de nitrógeno (NO₂), hidrocarburos (NMHC) y partículas menores a 10 micras (PM₁₀) (Quintero y Moncada, 2008).

Los desechos agrícolas constituyen un combustible sólido, y varía desde una paja ligera hasta una madera densa; en la mayoría de los casos el pobre valor nutricional de los residuos agrícolas y en consecuencia el pobre valor comercial, orillan a los productores a recurrir a la práctica tradicional de la quema agrícola a cielo abierto como alternativa de eliminación.

Cuadro 1. Cantidad en kilos de contaminantes emitidos en la quema de residuos por hectárea de diferentes cultivos.

Cultivo	Hectáreas	FC/ha*	CO	HC**	PM10	NO ₂
Aguacate	30 485	3.75	197.5	42.5	35.75	7.50
Cebada	141 869	4.25	303.0	29.0	42.50	10.50
Cítricos	96 741	2.50	92.0	10.25	6.75	5.00
Maíz	88 148	10.25	514.75	57.25	66.75	20.00
Ciruela	29 725	3.00	57.25	2.75	4.00	6.00
Arroz	161 382	7.50	299.75	27.25	30.75	19.75
Cártamo	29 519	3.25	212.50	29.50	26.50	6.25
Nuez/nogal	74 215	3.00	64.00	8.25	8.25	6.00
Trigo	273 643	4.75	233.00	19.50	28.00	8.75

Fuente: EPA AP-42 (Recopilación de los factores de emisiones de contaminantes del aire), edición 1983. Proyecto A7-068-30 de CAL/ARB de E.F., Darley, 1979.

* Factor de carga: toneladas de desperdicios del cultivo por hectárea.

** Hidrocarburos. Se excluye el metano.

2.1.3 Desechos de origen animal

Como resultado de la intensificación de los sistemas ganaderos, se ha observado un incremento de los flujos de energía y de nutrientes, así como el riesgo de contaminación (Viglizzo y Roberto, 1997). Los residuos generados en los procesos de producción animal, fundamentalmente excretas, son en parte responsables de los impactos sobre el aire, el suelo y el agua, dado a que, estos residuos generados bajo sistemas intensivos se concentran en áreas reducidas y son la fuente principal de nutrientes, metales pesados, antibióticos y patógenos (Burton y Turner, 2003).

El nitrógeno (N) y el fósforo (P) son los principales contaminantes que provienen tanto de sistemas pastoriles como confinados, y los metales pesados que provienen de bovinos, aves y porcinos en confinamiento (Herrero y Gil, 2008). La acumulación de cualquiera de ellos puede afectar la calidad del suelo e incidir en la calidad de otros recursos, como el agua y el aire. Van Horn et al., (1994) mencionan que los animales excretan al ambiente alrededor del 60 y 80% del nitrógeno (N) y el fósforo (P) que ingieren, a través de las heces y de la orina. Los contaminantes más relevantes, dentro del grupo de los metales, son arsénico (As), cobre (Cu), cobalto (Co), manganeso (Mn), selenio (Se) y cinc (Zn), y sus proporciones dependen de la dieta de los animales (Herrero y Gil, 2008).

En lo que respecta a la contaminación del aire proveniente de sistemas ganaderos intensificados tiene origen en diversas causas, tales como la emisión de gases con efecto invernadero (GEI), amoníaco, compuestos orgánicos volátiles (COV) y partículas aéreas (Herrero y Gil, 2008).

2.1.4 Gases de efecto invernadero

El efecto de invernadero es un término empleado para designar el hecho de que la radiación solar de ondas cortas puede pasar fácilmente a través de la atmósfera hasta la superficie terrestre, mientras que, una parte del calor resultante es retenido en la atmósfera porque las ondas largas reflejadas hacia el exterior no pueden penetrar tan fácilmente en la atmósfera, en especial cuando hay una cobertura de nubes y la presencia de algunos gases que contribuyen al efecto invernadero; los principales son el dióxido de carbono, metano y el óxido nitroso (Canziani y Mielinicki, 2007).

Montely et al., (2005) mencionan que la concentración atmosférica global de los principales gases de efecto invernadero ha incrementado significativamente dentro de los últimos 150 años.

Aproximadamente el 60 % de las emisiones de metano son provenientes de fuentes antropogénicas (causadas por los seres humanos), y posiblemente el 18% del calentamiento global se cree sea debido particularmente a las emisiones antropogénicas de metano (Ghosh, 1997).

El metano es un gas de efecto invernadero relativamente potente que podría contribuir al calentamiento global del planeta, ya que tiene un potencial de calentamiento global de 23; pero que su concentración es baja. Esto significa que en una media de tiempo de 100 años cada kilo de CH₄ calienta la tierra 23 veces más que la misma masa de CO₂.

La agricultura y la ganadería contribuyen con las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) con aproximadamente 20 y 35 % (Montely et al., 2005) destacando el metano con una proporción mayor.

2.2 Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es el proceso de descomposición de materia orgánica por un consorcio microbiano en un ambiente libre de oxígeno (Alastair et al., 2008). Este proceso se lleva a cabo de manera natural en ambientes claramente anaerobios, tales como lodos residuales, pantanos, en el tracto digestivo de los vertebrados y de insectos que consumen madera tal es el caso de las termitas. Este proceso de biodigestión puede ser aplicado a una amplia gama de materiales de diferente origen (fuente de biomasa, residuos), tales como los desechos municipales, agrícolas y la industria (Leena, 2003; Alastair et al., 2008).

Un producto importante que se genera de la digestión anaerobia es el biogás, aunado a ello este proceso ofrece una serie de ventajas:

Muy efectivo para la eliminación de patógenos, debido a las diferentes fases que se llevan a cabo en el proceso, particularmente la etapa de pasteurización (Kunte et al., 2004).

La digesta final es un fertilizante orgánico mejorado en términos de la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Tafdrup, 1995).

En comparación con un tratamiento aerobio la tasa de degradación de la materia orgánica contenida en un sustrato es mayor en el proceso de biodigestión anaerobia (Alastair et al., 2008).

2.2.1 Fuentes de biomasa

La actividad doméstica, industrial, agrícola y ganadera genera una gran cantidad de residuos y subproductos que pueden ser fuente de biomasa (líquidos y sólidos) para los procesos de conversión que involucran la generación de energía, ya que estos compuestos tienen considerable valor energético que puede

ser utilizado para la generación de energía limpia, sin embargo la composición química entre un material y otro puede ser muy variable (Archana et al., 1999).

La digestión anaerobia es un proceso de bioconversión que puede ser usada para tratar una gran diversidad de desechos orgánicos obteniendo como resultado una fuente de energía renovable (Romano y Zhang, 2008).

Sin embargo Archana et al., (1999) mencionan que el desarrollo de un digestor es altamente sensitivo a la calidad del material que es sometido a biodigestión, en este sentido el rendimiento y la cinética de la reacción biológica involucrada en la digestión anaerobia tiene por lo tanto una fuerte dependencia de la composición de los diferentes tipos de biomasa.

A continuación se enlistan algunos residuos y subproductos con su respectiva fuente:

Residuos Forestales: Restos de plantaciones; ramas, corteza, raíces.

Residuos agrícolas: Residuos de cosechas: tallos y hojas, cáscaras, maleza y rastrojos.

Residuos pecuarios: Heces y orina principalmente.

Residuos industriales: Pulpa y cáscara de frutas y vegetales, residuos de procesamiento de carnes, aguas de lavado y precocido de carnes y vegetales.

Residuos urbanos: Aguas negras, desechos domésticos orgánicos (cáscaras de vegetales, frutas y residuos de comida).

2.2.2 Diseño de biodigestor

Cargas de material orgánico altas y continuas, cortos tiempos de retención y los máximos volúmenes de metano son algunas de las principales consideraciones para el diseño de un reactor (Alastair et al., 2008), en la

actualidad existe un gran número de biodigestores cuyo diseño y dimensión son acorde al tipo de material a digerir.

De manera general se contemplan tres diseños básicos para la construcción de un biodigestor, el primero de ellos es el denominado de ciclo cerrado, en el cual, una cierta carga de material es depositada en el reactor y después de haberlo mantenido por un periodo de tiempo en digestión es vaciado; el segundo de ellos es llamado reactor de alimentación o carga continua, esto es debido a que solo se realizan recargas de material en el reactor en funcionamiento y sin necesidad de hacer un vaciado completo.

El tercer diseño es el de doble fase o también conocido con el nombre de multifases, al igual que el anterior es de alimentación continua, sin embargo este sistema intenta separar el proceso de hidrólisis y acidificación de la acetogenesis y metanogenesis, ya que se argumenta que de esa manera se podría compartir las mismas condiciones óptimas ambientales para cada grupo (Zoetemeyer et al., 1982). Esta separación de etapas permite que el material que pasa de una fase a otra sea más homogénea y más estable, haciendo así que este sistema alcance mejores resultados comparado con los sistemas de ciclo cerrado; (Bouallagui et al., 2005), esto sin duda es una gran ventaja, pero en cuestión de construcción y mantenimiento el reactor de las múltiples etapas es más costoso.

2.2.3 Consorcio microbiano

Se denomina así al grupo de microorganismos de diferentes especies, que actúan conjuntamente en sistemas complejos, donde todos se benefician de las actividades de los demás a través de una relación sintrófica (sintrofia: comiendo juntos) (Carrillo, 2003).

A pesar de la gran diversidad de microorganismos que conforman un consorcio y que participan en los procesos aerobios y anaerobios tienen habilidades metabólicas específicas, incluyendo actividad proteolítica (degradación de proteínas y aminoácidos), sacarolítica (degradación de diversos tipos de azúcares), lipolítica (digestión de lípidos o grasas) y celulolítica (degradación de celulosa o material vegetal). Sin embargo, el grado de respuesta de los microorganismos responde a diversos factores entre los que destacan la temperatura y pH; Valdez y Poggi (2009) mencionan que para mejorar la actividad de un proceso digestivo a través de una producción atractiva, es aconsejable ganar la perspectiva sobre la estructura de la comunidad de microorganismos que conforman un consorcio y la dinámica del mismo.

2.3 Proceso microbiológico y bioquímico en las etapas de la digestión anaerobia

Debido al número de reacciones bioquímicas que tienen lugar en la biodigestión, así como por la cantidad de microorganismos involucrados hacen que el proceso sea complejo (Ortega, 2006).

El proceso de digestión anaerobia de la materia orgánica se divide en cuatro fases, las cuales se mencionan a continuación: Hidrólisis, Fase fermentativa o acidogénica, etapa acetogénica y por último la metanogénesis; Cada fase tiene una población de bacterias fisiológicamente única responsable del proceso, y requieren condiciones ambientales distintas.

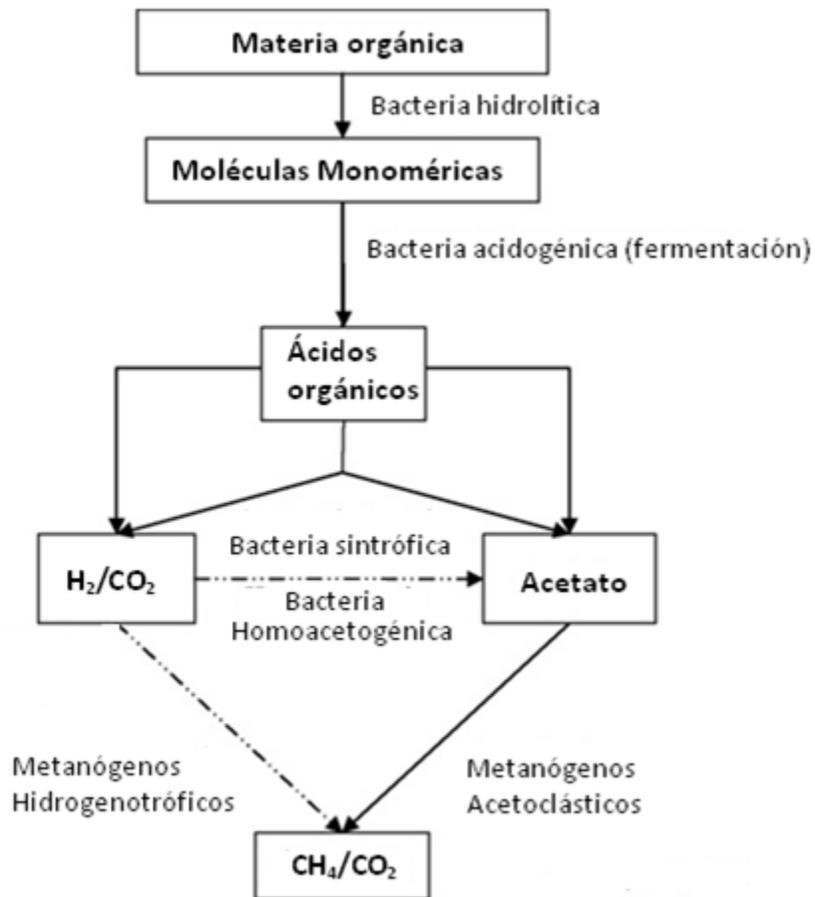


Figura 1. Proceso de la digestión anaerobia

2.3.1 Hidrólisis

En la hidrólisis participan consorcios de bacterias anaerobias como Vg. *Clostridium*, *Stafhylococcus* y *Bacteroides* que hidrolizan la materia orgánica compleja (carbohidratos, proteínas, lípidos) hasta monómeros solubles (aminoácidos, glucosa, ácidos grasos, glicerol), los cuales son utilizados por el siguiente grupo; la hidrólisis de estas partículas orgánicas se lleva a cabo por enzimas extracelulares, tales como celulasas, proteasas y lipasas (Bitton, 2005),

pues si bien es cierto la materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos.

La temperatura, pH, tipo de material orgánico, la concentración de productos de la hidrólisis y el tamaño de partícula de la biomasa, este último por la disponibilidad de superficie de absorción de las enzimas hidrolíticas, son entre otros los principales factores de los cuales depende el grado de hidrólisis y velocidad del proceso (Hills y Nakano, 1984; Pavlostathis y Giraldo, 1991).

En la agricultura se generan residuos cuyos componentes principales son materiales lignocelulósicos, compuestos básicamente de lignina, celulosa y hemicelulosa, si bien la lignina es un material altamente resistente a la degradación por parte de los microorganismos anaerobios, lo cual bajo un efecto cadena la biodegradabilidad de la celulosa la hemicelulosa y otros polimeros también se ve perjudicada (Pavlostathis y Giraldo, 1991).

Los principales productos de la hidrólisis de la celulosa son celobiasa y glucosa, mientras que la hemicelulosa produce pentosas, hexosas y ácidos uránicos. Por su parte las proteínas son hidrolizadas en péptidos y aminoácidos; donde una porción de estos aminoácidos es destinada para la síntesis de nuevo material celular y el resto son degradados hasta ácidos grasos volátiles, dióxido de carbono, hidrógeno, amonio y sulfuro en posteriores etapas del proceso digestivo (Pavlostathis y Giraldo, 1991; Ortega, 2006).

2.3.2 Fase fermentativa o Acidogénica

En esta fase del proceso digestivo se lleva a cabo la fermentación de las moléculas orgánicas solubles, obteniéndose de esta acción, compuestos que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénas (Acético,

fórmico, H₂), además se generan también compuestos orgánicos más reducidos (láctico, etanol, propiónico, butírico básicamente), pero que sin embargo deben ser oxidados en la tercera fase de la biodigestión por bacterias acetogénicas a sustratos que puedan utilizar las metanogénicas (Stams, 1994).

La degradación de la glucosa se lleva a cabo principalmente por la ruta metabólica Embden-Meyerhof, donde se tiene como intermediario principal al piruvato (Mosey, 1983); a través de esta ruta la glucosa se convierte en piruvato, y este último se desdobla en Acetil-CoA y CO₂ (Madigan et al., 1998), el Acetil-CoA se reduce en los productos de fermentación empleando como transportador de electrones el NADH derivado de las reacciones glucolíticas de la ruta Embden-Meyerhof.

Los principales microorganismos asociados con la degradación de la glucosa son del género *Clostridium*, las cuales convierten la glucosa en butírico, acético, CO₂ e H₂ (Bitton, 2005), mientras que las bacterias proteolíticas también pertenecen en su gran mayoría al género *Clostridium*, sin embargo también se han identificado otras especies tales como *Peptococcus* y *Bacteroides*.

2.3.3 Acetogénesis

Las bacterias acetogénicas representadas principalmente por *Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacter wolini* convierten los ácidos grasos (ácido propiónico, ácido butírico) y alcoholes en acetato, CO₂ e H₂, los cuales son utilizados en la siguiente fase por las bacterias metanogénicas (Bitton, 2005).

El grupo de bacterias acetogénicas requiere de presiones parciales de H₂ bajas para la conversión de ácidos grasos, sin embargo a presiones relativamente altas la formación de acetato se reduce y se genera ácido propiónico, ácido

butírico y etanol en lugar de metano (Bitton, 2005). Por lo tanto, para esta etapa digestiva la acumulación de hidrogeno molecular es considerada su principal inhibidor; afortunadamente existe una estrecha relación simbiótica entre acetogénicas y metanogénicas, puesto que estas últimas ayudan a reducir la presión parcial de H_2 requerida por las acetogénicas (Bitton, 2005; Ortega, 2006).

2.3.4 Metanogénesis

En la fase metanogénica, se lleva a cabo la formación de metano (CH_4) a partir de sustratos tales como el acetato, H_2 , CO_2 , formato, metanol y algunas metilaminas generados en fases previas; los microorganismos metanogénicos que participan en esta etapa son por lo tanto los responsables de completar el proceso de digestión anaerobia (Bitton, 2005).

Las bacterias intervinientes en esta etapa se clasifican dentro del dominio *Archea* y poseen características únicas que las diferencian de todo el resto de las bacterias (Carrillo, 2003). De los microorganismos conocidos, las metanogénicas tienen una tasa reproductiva muy lenta, con tiempos de generación que van desde los 3 días a 35 °C hasta los 50 días a 10 °C de temperatura, además estas bacterias son las más sensibles a la presencia de O_2 , no pueden utilizar productos orgánicos complejos y su metabolismo energético está dirigido hacia la producción de CH_4 como producto final (Bitton, 2005).

Los microorganismos metanogénicos pueden ser clasificados en dos grandes grupos, en función del sustrato que metabolizan: los que consumen H_2 , CO_2 , formato se les denomina *hidrogenotróficos* y los que consumen acetato, etanol, metanol y algunas aminas se les conoce como *acetoclásticos* (Bitton, 2005). Sin embargo dos terceras partes del CH_4 producido en los reactores

anaeróbios es derivado de la conversión de acetato por las bacterias metanogénicas acetoclásticas (*Methanosarcina*, *Methanosaeta*), mientras que la otra tercera parte es el resultado de la acción de las metanógenas hidrogenotróficas (*Methanobacterium*, *Methanospirillum*) (Bitton, 2005).

Cuadro 2. Clasificación de bacterias metanogénicas (Bitton, 2005).

Orden	Familia	Género	Especie	
Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	Methanobacterium	<i>M. formicicum</i>	
			<i>M. bryanti</i>	
			<i>M. thermoautotrophicum</i>	
			<i>M. ruminantium</i>	
		Methanobrevibacter	<i>M. arboriphilus</i>	
			<i>M. smithii</i>	
Methanococcales	Methanococcaceae	Methanococcus	<i>M. voltae</i>	
		Methanomicrobium	<i>M. mobile</i>	
		Methanogenium	<i>M. cariaci</i>	
<i>M. marisnigri</i>				
Methanomicrobiliaes	Methanomicrobiaceae	Methanospirillum	<i>M. hungatei</i>	
			<i>M. barkeri</i>	
		Methanosarcinaceae	Methanosarcina	<i>M. mazei</i>

2.4 Parámetros en la digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso complejo donde la temperatura, pH, relación C:N y el tiempo de retención son factores de gran incidencia para su desarrollo (Ostrem, 2004), por lo tanto estos parámetros deben ser estudiados monitoreados e incluso controlados pues de ello depende el grado de interacción equilibrio y respuesta por parte de los microorganismos que participan en el proceso.

Ostrem (2004) menciona que de presentarse algún cambio físico en el biodigestor se verá afectada la tasa de digestión y la producción de biogás, máxime si son cambios drásticos, ya que se puede llegar incluso a la inhibición

total del proceso. Por otro lado Santhosh et al., (2004) mencionan que los parámetros de la biodigestión pueden presentar cierto grado de variabilidad, sin embargo es recomendable trabajar con rangos que estén dentro de lo aceptable para poder operar eficientemente una planta de biogás.

2.4.1 Temperatura

En el proceso de biodigestión, la temperatura se relaciona íntimamente con el tiempo de retención y velocidad de degradación de la biomasa, es por eso que se considera uno de los principales parámetros para la operación de un reactor, pues si bien es cierto, la velocidad de las reacciones biológicas en el proceso depende del crecimiento de los microorganismos involucrados, dependiendo estos a su vez de la temperatura (Llabrés y Mata, 1987; Ortega, 2006).

Generalmente se realiza una diferenciación en tres rangos de temperatura en el que los microorganismos anaerobios pueden trabajar; el primero de ellos es el psicrófilico y da lugar a la digestión anaerobia a temperaturas por debajo de los 20 °C (Bouallagui et al., 2003), mientras que el rango mesófilico va de los 25 a los 40 °C y finalmente el denominado termófilico que opera a temperaturas por arriba de los 45 hasta los 65 °C (Ostrem, 2004).

Se ha documentado producción de metano en los diferentes rangos de temperatura, pero existe evidencia de que las bacterias involucradas en el proceso responden mejor en los rangos mesófilo y termófilo (Elango et al., 2006), además algunos estudios indican que los reactores que operan en el rango mesófilico

pueden alcanzar funcionalidad óptima a temperaturas de 30 a 35 °C, mientras que los termófilos lo logran cerca de los 50 °C (Bouallagui et al., 2003; Ostrem, 2004).

Actualmente el rango termófilo está siendo utilizado en los procesos de biodigestión, pues si bien es cierto con la digestión termofílica se logra realizar altas tasas de carga de biomasa y con ello altas tasas de degradación del sustrato, además se alcanza una alta tasa de destrucción de patógenos; sin embargo, es más sensible a toxinas y suele ser más susceptible a los cambios ambientales, y requiere altos costos de manutención (Ostrem, 2004; Kunte, et al., 2004; Ortega, 2006). A temperaturas mesófilicas las bacterias suelen ser más tolerables, por ello la tendencia actual es combinar los dos regímenes de temperatura en dos fases de digestión y tratar de aprovechar las ventajas que ofrece cada uno de los rangos de temperatura (Ortega, 2006).

Sin embargo Alastair et al., (2008) mencionan que un cambio de temperatura mesófila a termófila y viceversa puede acarrear drásticos descensos en la producción de biogás, por su parte Chae et al., 2008 encontraron que pequeños cambios en la temperatura en rangos de 35 a 30 °C y de 30 a 32 °C reducen las tasas de producción de biogás.

2.4.2 pH

Un indicativo que permite diagnosticar el desempeño de un biodigestor en los sistemas anaerobios es el pH, el cual va cambiando en respuesta a las conversiones biológicas durante las diferentes fases del proceso digestivo

(Ostrem, 2004). Por lo tanto el pH es una variable que requiere ser monitoreada y controlada (Balat y Balat., 2009).

El rango de pH aceptable en la biodigestión teóricamente va de 5.5 a 8.5, sin embargo, las mejores respuestas en la fase metanogénica se logran en un rango de pH de 6.7 a 7.5 (Mosey y Fernandes, 1989; Buekens, 2005), mientras que en la hidrólisis y la acidogénesis el pH óptimo reportado oscila entre 5.5 y 6.5 (Yu y Fang, 2002; Kim et al., 2003a, b). En base a lo anterior Alastair et al., (2008) resaltan la razón por la cual algunos diseños de biodigestores prefieren la separación de la hidrólisis/acidogénesis de la acetogénesis/metanogénesis en un proceso de doble fase o también denominada multifase.

Dentro del proceso anaerobio el pH se va modificando, y puede llegar a sufrir severas alteraciones por el grado de concentración de ácidos grasos (Siegert y Banks, 2005); los ácidos grasos de cadena corta son clave e intermediarios en el proceso de digestión anaerobia, sin embargo altas concentraciones pueden ser capaces de inhibir la fase metanogénica. Wang et al., (1999) mencionan que durante el proceso de biodigestión el ácido acético se encuentra en altas concentraciones con respecto a otros ácidos grasos, pero el ácido butírico y propiónico tiene mayor efecto inhibidor sobre la metanogénesis.

El proceso de digestión anaerobia en sí mismo tiene capacidad de regular diferencias en el pH del material que se incorpora , debido a los efectos buffer que producen los compuestos bicarbonato HCO_3 , Dióxido de carbono CO_2 , Amonio NH_4 y Amoníaco NH_3 .

2.4.3 Relación C:N

La gama de materiales que puede ser sometido al proceso de degradación anaerobia es muy amplia, pero es necesario tratar de mantener una composición adecuada en cada material que se somete a este proceso, el objetivo es tratar obtener mejores resultados productivos (Balat y Balat, 2009), finalmente lo que se busca con esta acción es que la relación Carbono:Nitrógeno (C:N) se encuentre dentro de un rango de proporción deseado.

La proporción C:N es el resultado de medir las respectivas cantidades de carbono orgánico y nitrógeno presentes en la materia prima (Bitton, 2005); la relación C:N adecuado que necesitan las bacterias que participan en la biodigestión va de 20 a 30:1 (Santosh et al., 2004; Ostrem, 2004), sin embargo la mayor parte de la literatura cita como ideal la proporción 25:1 de C:N (Ostrem, 2004).

Cuando la relación C:N es baja se presenta una alta acumulación de amoníaco y el pH sobrepasa el valor de 8.5, lo cual es tóxico para las bacterias metanogénicas (Ostrem 2004; Balat y Balat, 2009), por el contrario con una alta proporción de C:N el consumo de nitrógeno será más rápido por parte de las bacterias metanogénicas, y esto se traduce en escasos rendimientos de gas.

Verma (2002) sugirió que la combinación de materiales de alto y bajo proporción de C:N, tal es caso de la mezcla desechos sólidos con aguas residuales o estiércol de cerdo, podría alcanzar niveles óptimos o deseables de C:N en el proceso digestivo.

2.4.4 Tiempo de retención

El tiempo de retención se refiere a la cantidad de tiempo que se requiere para digerir cierto material orgánico (Ostrem, 2004; Bitton, 2005); sin embargo Ortega (2006) menciona que es indispensable conceder un tiempo de retención suficiente para asegurar el crecimiento de la población bacteriana, pues si bien es cierto los microorganismos que consumen el material orgánico controlan la tasa de digestión que a la vez condiciona el tiempo que el sustrato debe permanecer en la cámara de digestión (Ostrem et al., 2004).

El tiempo de retención está íntimamente ligado al tipo de sustrato y a la temperatura del mismo; en lo que respecta al tipo de sustrato, generalmente los materiales con mayor proporción de carbono retenido en moléculas resistentes como la celulosa, demandará mayores tiempos de retención para ser totalmente digeridos (Chae et al., 2008); por otro lado al seleccionar altas temperaturas se observará una disminución en los tiempos de retención requeridos y consecuentemente serán menores los volúmenes de reactor necesarios para digerir un determinado volumen de material.

De manera general se contempla un rango de 30 a 60 días como tiempo de retención en un proceso digestivo, lo cual dependerá del tipo de sustrato y a el rango de temperatura empleado (Ostrem et al., 2004).

Vlyssides y Karlis (2004) observaron que los sólidos volátiles suspendidos en un digestor podrían ser reducidos a un 64 – 85 % en 10 horas, sin embargo

fueron indispensables 10 días como tiempo de retención para completar el proceso de digestión.

2.4.5 Velocidad de carga o tasa de carga orgánica

La tasa de carga es considerado un importante parámetro que requiere ser controlado, pues de ello también depende un adecuado funcionamiento de los reactores. Cuando se habla de tasa de carga orgánica se refiere a la cantidad de materia orgánica que ingresan a un biodigestor por unidad de volumen (Ortega, 2006); cargas con altos contenidos de sólidos volátiles proporciona altas producciones de biogás, aunque exigirá mayor cantidad de bacterias, sin embargo es importante mencionar que un peligro con altas tasas de carga, son las bacterias acidogénicas, las cuales actúan tempranamente en el proceso digestivo y que se reproducen velozmente y teniendo en cuenta la gran cantidad de material depositado en el reactor, la producción de ácidos se estará dando rápidamente, lo cual muchas veces conlleva a la acidificación del reactor, pues si bien es cierto, las bacterias metanogénicas que requieren más tiempo para aumentar sus poblaciones no podrán consumir los ácidos producidos al mismo paso y se debe restituir el equilibrio antes de que mueran demasiadas bacterias metanogénicas por el descenso del pH (VanRollegham, 2003).

2.4.6 Agitación – mezclado

Estudios previos sugieren una adecuada mezcla del contenido del biodigestor, pues con esto se persigue una serie de objetivos tales como, remoción de los metabolitos producidos por las bacterias metanógenas, que el sustrato fresco se mezcle con la población bacteriana, evitar la formación de

costra que se forma en la superficie, uniformar la densidad bacteriana y además evitar que se formen espacios muertos sin actividad biológica. El método de mezclado puede variar grandemente (Karim et al., 2005), actualmente existen varios mecanismos de mezcla que van desde una agitación manual, el provocado por la entrada y salida de los líquidos e incluso equipos sofisticados que involucran agitadores con hélice, recirculadores de sustrato e inyectores de gas. Karim et al., (2005) mencionan que los dos factores más importantes a considerar en este apartado son la intensidad y duración de mezclado.

2.5 Productos finales

Los principales productos del proceso de digestión anaerobia son el biogás y el efluente estabilizado.

2.5.1 Biogás

El biogás es un gas natural generado durante la degradación orgánica bajo condiciones anaerobias de una diversidad de fuentes de biomasa, es una renovable forma de energía (Balat y Balat, 2009) y está compuesto principalmente de metano CH_4 , dióxido de carbono CO_2 y componentes sulfúricos H_2S (Hashimoto et al., 1981; Coelho et al., 2006). En el biogás generalmente se encuentra en mayor concentración al metano (55-65%) seguido del dióxido de carbono (35-45%)(Anunputtikul y Rodtong, 2004). Las características físicas, químicas y biológicas del material que se someta a digestión anaerobia puede influir en la composición del biogás, ejemplo de ello son las excretas de origen animal mismas que a su vez difieren en sus características por la composición de la dieta (Mogami et al., 2006). La composición del biogás y las proporciones de cada componente se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Composición química del biogás (Balat y Balat, 2009)

Componente	%
Metano (CH ₄)	55–65
Dióxido de Carbono (CO ₂)	35–45
Sulfuro de Hidrogeno (H ₂ S)	0–1
Nitrógeno (N ₂)	0–3
Hidrogeno (H ₂)	0–1
Oxigeno (O ₂)	0–2
Amoniaco (NH ₃)	0–1

El gas natural contiene 90-95% de metano, por lo que es considerado un gas de alto valor y el biogás un gas natural de bajo grado por el menor contenido de metano (55-65%) (Balat y Balat, 2009).

Cuadro 4. Propiedades típicas de combustión del biogás (Balat y Balat, 2009).

Punto de ignición	700°C
Densidad (base seca)	1.2 kg/m ³
Contenido de gas de concentración de encendido	6–12%
Valor energético	5.0–7.5 kWh/m ³

2.5.2 Metano

El metano es el hidrocarburo alcano más sencillo, cuya fórmula química es CH₄; es una sustancia no polar que se presenta en forma de gas a temperaturas y presiones ordinarias. Es incoloro e inodoro y apenas soluble en agua en su fase líquida. En la naturaleza se produce como producto final de la digestión anaerobia (Mogami et al., 2006), una diversidad de microorganismos anaerobios son pieza importante en este proceso natural.

El metano es constituye hasta el 97% del gas natural y hasta en un 65 % en el biogás (Balat y Balat, 2009). De esta manera es como el metano proporciona una fuente de energía valiosa y limpia.

En el proceso de digestión anaerobia la temperatura, pH y la composición del sustrato orgánico además de otros factores tienen una marcada influencia en la formación de metano (Bitton, 2005; Amon et al., 2007).

2.5.3 Efluente

Es otro producto resultante de la digestión anaerobia y se puede decir que es la mezcla del influente estabilizado y la biomasa microbiana producida. Para un mismo residuo, el tipo de reactor y los parámetros de operación empleados determinan la calidad del efluente en cuanto al nivel de contaminación y de organismos patógenos. Es importante resaltar que el valor como fertilizante de la digesta depende de los nutrientes presentes en el material sometido a biodigestión (Ortega, 2006).

2.6 Co-digestión

La digestión anaeróbica de mezclas de estiércol y residuos de cosecha ha sido investigada debido a algunas ventajas reportadas que indican que una mayor producción de metano puede ser obtenido (Llabrés y Mata, 1987), pues de acuerdo con algunos autores por medio de la co-digestión se busca mejorar la relación Carbono:Nitrogeno (C:N), y además suplementar nutrientes esenciales que puedan estar limitados en alguno de los materiales de la mezcla (Alastair et al., 2008).

2. HIPÓTESIS

La adición de diferentes proporciones de paja de trigo a excreta de cerdo de engorda modifica la producción de biogás, la composición química y la calidad microbiológica de los derivados residuales en el proceso de digestión anaerobia.

3. OBJETIVOS

4.1 General

Evaluar el efecto de la paja de trigo a diferentes niveles de mezcla con excreta de cerdo en la producción de biogás y composición de sus derivados residuales mediante el proceso de biodigestión anaeróbica.

4.2 Específicos

1. Evaluar la eficacia de la paja de trigo en la producción de biogás.
2. Determinar el porcentaje de paja de trigo en co-digestión con excreta de cerdo que maximice la producción de biogás.
3. Evaluar la composición microbiológica y química de residuos resultantes de las diferentes mezclas paja de trigo-excreta de cerdo en biodigestión.
4. Estimar la tasa de degradación de la materia orgánica en el proceso de biodigestión de diferentes mezclas de paja de trigo–excreta de cerdo.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 Localización

El presente trabajo de investigación, se realizó en la Unidad de Fisiología y Metabolismo del Instituto de Ciencias Agrícolas (ICA) de la Universidad Autónoma de Baja California, ubicado en el Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California.

5.2 Generalidades

Se establecieron dos experimentos en los cuales, mezclas de dos fuentes de biomasa, paja de trigo y excreta de cerdo de engorda, se sometieron al proceso de degradación anaerobia. Las mezclas se realizaron en diferentes proporciones, considerando rangos amplios de proporción en una primera prueba y posteriormente, habiendo ubicado los rangos que presentaron los mayores rendimientos de biogás, se estableció una segunda prueba con rangos de mezcla más cerrados.

La excreta de cerdos de engorda, cuya dieta consiste principalmente de trigo y pasta de soya, se obtuvieron de la Unidad Experimental Porcina del ICA; la materia orgánica fermentable en las excretas consiste principalmente de fracciones de fibra no digeridas de los ingredientes mencionados y solo trazas de almidón (Dreher et al., 1984).. La colecta de este material se realizó en fresco y directamente de 4 corrales con similar número de animales. La paja de trigo provino de un mismo lote cosechado del campo experimental del ICA; se molió a un tamaño de partícula de 4 a 5 cm con la finalidad de que se facilitara la degradación por microorganismos. Cada fuente de biomasa se colectó en recipientes plásticos con capacidad de 200 litros. Tanto la paja de trigo como las

excretas de cerdo fueron mezcladas en su respectivo recipiente con el propósito de lograr una homogeneidad en el material de prueba y en las muestras para su posterior análisis bromatológico.

Se utilizaron biodigestores (Imagen 1) diseñados y elaborados con bolsas plásticas negras, con capacidad para 7.57 litros. El diseño facilitó el proceso de degradación de los materiales y permitió coleccionar muestras, medir fácilmente la producción de gas y el pH del contenido; estos biodigestores fueron de ciclo cerrado, es decir, una vez cargados de paja y excreta, se sellaron y el proceso de degradación anaerobia fue únicamente para el material depositado en cada digestor hasta cumplir su tiempo de retención, mismo que estuvo en razón del comportamiento productivo. Asimismo, los reactores estuvieron adaptados con vía de salida controlada, consistente en una manguera de hule inerte localizada en la parte más elevada de la bolsa, la vía de salida facilitó la colecta y medición de gas, y evitó pérdidas de este y de material fermentante. El control de la salida de gas se hizo con el auxilio de unas pinzas sujetas documentos de 19 mm colocadas en la manguera previamente doblada. Del 100% de la capacidad de los biodigestores, un 75% fue ocupado por agua y mezcla de paja de trigo-excretas de cerdo, mientras que el restante 25% se destinó como depósito de gas. Para la carga de los digestores se tomó como base un contenido inicial de un 5% de materia seca en cada uno de ellos, este último patrón fue el mismo independientemente de las proporciones de paja y excretas en las mezclas. Una vez llenados los biodigestores se ubicaron en una sala sin ambiente controlado, se realizó un registro diario de temperatura del inicio a la conclusión de los experimentos con la finalidad de analizar su efecto en la producción de biogás.

Experimento 1

El objetivo de este experimento consistió en ubicar el rango de porcentaje de incorporación de paja de trigo mezclado con excretas de cerdo que maximice la producción de biogás. Los tratamientos (T) fueron los siguientes: T1, excretas de cerdo, testigo; T2, 30% de paja de trigo y 70% excretas de cerdo de engorda; T3, 50% paja de trigo y 50% excretas; T4, 70% paja de trigo y 30% excretas de cerdo; y T5, 90% de paja de trigo y 10% de excretas de cerdo. La unidad experimental fue un biodigestor, Cada tratamiento tuvo 5 repeticiones. Una vez establecida la prueba, se registraron las temperaturas, máximas y mínimas. También se observó diariamente el comportamiento productivo de los biodigestores. Lo anterior fue con la finalidad de programar mediciones de rendimientos de gas, así como las mediciones de pH. El gas producido en cada biodigestor fue extraído y medido con bombas de succión modelo L1700 con capacidad de 473 ml y jeringas de 60 ml. Se midió el pH con un potenciómetro portátil previamente calibrado en la fracción líquida (incluye el buffer usado en su calibración) contenida en el biodigestor, a la par de las mediciones del rendimiento del gas.

Al término del experimento, se colectaron los residuos de cada bolsa separando la fracción de sólidos de la líquida para su posterior análisis en laboratorio. La fracción de sólidos se secó a peso constante (55° C) en estufa de aire forzado. Las muestras de excreta y las fracciones de residuos sólidos fueron sometidas a análisis microbiológicos para detectar la presencia de coliformes. En los residuos también se analizaron el contenido de minerales (micro y macro nutrientes para plantas).

Para llevar a cabo el análisis de presencia - ausencia de coliformes en los residuos resultantes de la digestión anaerobia de las mezclas de paja de trigo y excretas de cerdo en sus diferentes niveles de proporción, se usaron dos medios de cultivo específicos. El primero de ellos Agar XLD, el cual se utilizó para aislar y diferenciar enterobacterias patógenas principalmente del género *Shigella* y *Salmonella*. Otro de los medios de cultivo utilizado fue el Agar Mc Conkey, el cual se usó como base para el aislamiento y diferenciación de serotipos de *Escherichia coli* enteropatógena.

Los residuos de las diferentes proporciones de paja y excretas de cerdo que resultaron de la digestión anaerobia se secaron en una estufa de secado con aire forzado a 55° C, posteriormente se procedió a la molienda de las muestras en un molino Thomas Wiley modelo 4 con criba de 1mm; enseguida cada uno de los materiales se tamizó en cribas de diferentes dimensiones, se tomó 1 gramo de muestra de cada residuo y se sometieron a un proceso de dilución decimal en serie empleando tubos de 10 ml. De la dilución 10^{-3} de los residuos de cada tratamiento y por triplicado se depositó 1 ml en los dos medios de cultivo específicos antes mencionados y previamente preparados. Finalmente las cajas de cultivo pasaron por un periodo de incubación de 73 hrs a 28° C. La determinación de coliformes fue por cuenta en placa (conteo de UFC).

Para la estimación de la calidad nutritiva de los residuos resultantes del proceso de digestión anaerobia de las mezclas de paja de trigo y excretas de cerdo en sus diferentes niveles de proporción se llevó a cabo una prueba de determinación de NPK. Para esto se obtuvieron 200 grs de los residuos de cada tratamiento previamente secado, molido y tamizado en el procedimiento antes

descrito en la prueba para la determinación de ausencia presencia de enterobacterias patógenas. Los 200 grs de muestra de cada residuo de los 5 tratamientos se filtraron con apoyo de papel filtro de 42 dimensión, embudo, matraz colector y bomba de vacío; El líquido que se obtuvo del filtrado fue colectado e identificado para su posterior análisis de contenido de minerales. En la prueba del Potasio (K) y Nitratos (NO_3) se emplearon un medidor ionómetro (Ion meter) C-131 y C-141 respectivamente y previamente calibrados. El fosforo se midió con un Ion Specific meter Phosphate low range.

Las variables de respuesta fueron las siguientes: producción de gas; pH; presencia ausencia de coliformes en residuos; eficiencia fermentativa y contenido de minerales en los residuos. Los resultados se sometieron a análisis de varianza de acuerdo con un diseño completamente al azar (Hicks, 1973). Se construyeron gráficas que muestran el comportamiento productivo de gas y pH para cada mezcla (tratamiento) en función del tiempo de biodigestión. Además se realizaron análisis de regresión para explicar su relación

Experimento 2.

El objetivo de este segundo trabajo consistió en encontrar el porcentaje de paja de trigo en las mezclas con excretas de cerdo que provocara la mayor producción de gas. La ejecución de este experimento fue semejante al anterior en toda la metodología, análisis en laboratorio y estadístico y material empleado, con la excepción de que los porcentajes de paja adicionados en las mezclas con excretas de cerdo resultaron ser a intervalos más estrechos; quedando así los siguientes tratamientos: T1, testigo, solo excretas; T2, 10% de paja de trigo y 90%

excretas; T3, 20% paja y 80% excretas; T4, 30% paja y 70% excretas: y T5, 40% paja y 60% excretas. En este experimento se trabajó con 10 repeticiones por tratamiento.

Experimento 3

Se estableció un tercer experimento con la finalidad de estimar el comportamiento de desaparición y/o consumo de materia orgánica (MO) de las dos fuentes de biomasa, la paja de trigo y las excretas de cerdo en dos proporciones diferentes (curva productiva inicio-estabilización-caída). Los niveles de paja de trigo y excretas de cerdo incluidos en este estudio representaron a los tratamientos con mejor producción en los Experimentos 1 y 2, los cuales fueron; T1, 10% paja de trigo y 90% excretas de cerdo, y T2, 20% paja y 80% de excretas. El procedimiento de colecta y procesado de las excretas de cerdo y paja de trigo previo a la carga de los biodigestores, así como el diseño de los reactores y el proceso de carga para ambos tratamientos fueron igual que los utilizados en los dos experimentos anteriores. Al momento de realizar la carga de los reactores y antes de hacer la mezcla de los materiales en estudio se tomaron muestras de la paja de trigo y de las excretas de cerdo, a los cuales se les determinó contenido de materia seca (estufa 105°C 2 h), cenizas (mufla 450°C 12 h) y materia orgánica. Una vez obtenidos los valores de los análisis antes mencionados y en base al contenido de carga de los reactores de acuerdo a las proporciones paja - excretas en cada tratamiento, se pudo realizar un estimado de contenido de materia orgánica inicial para ambos tratamientos; 15 biodigestores por tratamiento fueron establecidos desde el inicio del experimento, a cada uno de los reactores

se les monitoreó su comportamiento productivo en respuesta al paso del tiempo de estudio, lo anterior con la intención de programar tres muestreos (cada muestreo consistió en la ruptura de 4 repeticiones o biodigestores por tratamiento) buscando siempre que fuese representado el arranque, estabilización y caída de la producción de gas en todo el proceso de biodigestión y de esta manera ir estimando el consumo o desaparición de la materia orgánica en ambos tratamientos.

En cada uno de los tres muestreos realizados para cada tratamiento se siguió un procedimiento que consistió en abrir los reactores, pesar remanentes o residuos, separar material sólido del líquido; la fracción sólida fue pesada y secada en una estufa de secado con aire forzado a 55° C, enseguida se pesó y se determinó materia seca parcial, a continuación se procedió al molido del material sólido haciendo uso de un molino Thomas Wiley modelo 4 y con criba de 1mm; dos gramos de muestra y por duplicado se determinó materia seca total en estufa a 105°C por 2 horas, para cenizas se utilizó una mufla programada por 12 horas y a 450°C y finalmente por diferencia el contenido de materia orgánica. Este último valor que resultaba de cada muestreo de ambos tratamientos jugó un papel indicativo del remanente de materia orgánica y por diferencia con el valor inicial se registró el estimado de desaparición de materia orgánica durante el proceso de digestión.

Del material líquido se tomaron dos muestras (50 ml) por cada reactor que se iba muestreando, dichas muestras fueron pesadas y analizadas en contenido de materia seca, los valores obtenidos indicaban la cantidad de material sólido que

se pudiese ir en la fracción líquida aún después del proceso de filtrado y/o separación de las dos fracciones.

6. RESULTADOS

Experimento 1

En la Figura 2 se presenta la respuesta productiva de biogás en volumen para 5 tratamientos evaluados con diferentes proporciones de PC:EC. Después de 60 días de digestión se observó que el rendimiento de gas obtenido de las mezclas 30:70 y 50:50 fueron significativamente ($p < 0.01$) mayor que el tratamiento que incluía solamente excretas de cerdo (T1 testigo). La proporción 70:30 no mostró diferencia significativa con respecto al testigo, mientras que el tratamiento al que se adicionó mayor cantidad de paja 90:10 entregó rendimientos bajos de gas con respecto a todos los demás tratamientos (T5). Los datos obtenidos en esta prueba muestran que los tratamientos con las proporciones 30:70 y 50:50 arrojaron rendimientos en un 73 y 61 % respectivamente por arriba del tratamiento base 0:100, mientras que el tratamiento cuya proporción de PC:EC fue 90:10 quedó en un 61% por debajo del rendimiento del tratamiento testigo. Estos resultados sugieren que adicionar paja de trigo a excretas de cerdo en un nivel de mezcla no mayor al 50% mejora la producción de biogás.

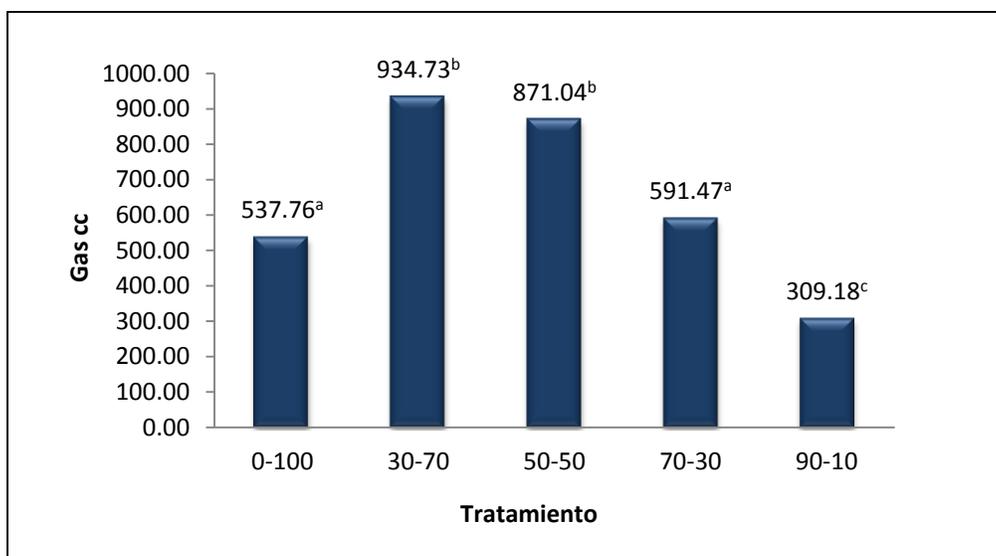


Figura 2. Producción promedio de biogás (cc) de 5 niveles de mezcla paja de trigo con excreta de cerdo sometidos a biodigestión por un periodo de 60 días. Experimento 1.

Los valores promedio de pH de la fracción líquida de los tratamientos se muestran en la Figura 3. El pH muestra diferencia significativa ($P < .01$) entre tratamientos. El nivel de adición de paja de trigo tiene influencia sobre el pH, puesto que este valor es más ácido a medida que se aumenta la proporción de paja de trigo en relación a las excretas de cerdo, es claro el sucesivo descenso del valor de pH del tratamiento 30:70 al 90:10 de 7.3 a 5.2. El tratamiento testigo, así como los tratamientos 30:70 y 50:50 obtuvieron valores de pH dentro del rango óptimo recomendado entre 6.7 a 7.4 (Buekens, 2005) para mejor respuesta en la fase metanogénica durante el proceso de digestión anaerobia, por el contrario los tratamientos con las mayores adiciones de paja de trigo 70:30 y 90:10 no alcanzaron el valor mínimo óptimo de pH recomendado para la metanogénesis.

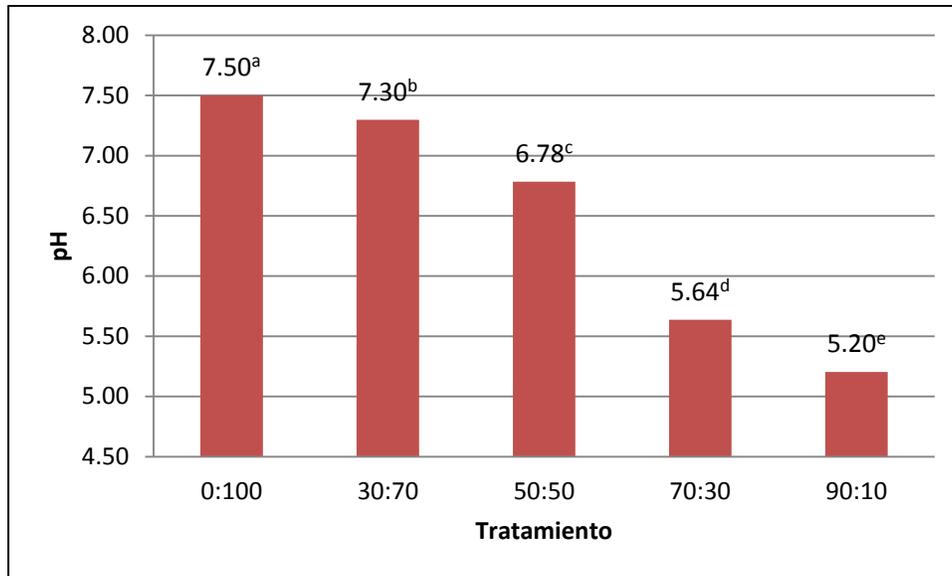


Figura 3. Valores promedio de pH registrados en un periodo de 60 días de biodigestión de 5 diferentes niveles de mezcla de PC:EC. Experimento 1.

Los registros de temperatura en cada medición de la producción de gas se presentan en la Figura 4. Los 5 tratamientos estuvieron sujetos a las mismas condiciones climáticas. Al inicio del experimento se registró la temperatura más baja de 25°C y la mayor de 36°C un día previo a la finalización del mismo; el comportamiento general de la temperatura muestra un aumento gradual y tanto el valor mínimo como máximo estuvieron dentro de la zona mesófila entre 25 – 40°C (Balat et al., 2009).

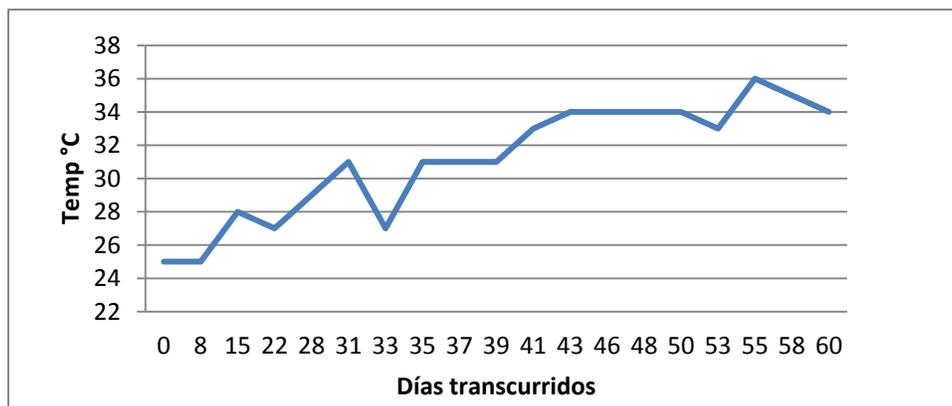


Figura 4. Temperaturas registradas en los biodigestores en las fechas de medición de la producción de gas: Experimento 1.

En la Figura 5 se muestra la respuesta de la producción de biogás con respecto al pH de los tratamientos 1 al 3. El tratamiento 30:70 mostró la mejor respuesta productiva respecto al pH en todo el periodo de prueba con un rango de pH entre 6.2 y 7.7, en el caso del tratamiento 50:50 se observa un incremento productivo a partir de un pH de 6.4 y se mantiene estable a partir de un valor de pH superior a 7.2; una situación similar se observa con el tratamiento base solo con un rango de pH más amplio de 6.2 a 7.5 respecto al anterior. La producción de biogás aumenta linealmente ($P < 0.01$) al ir incrementando el valor de pH de la fracción líquida ($R^2 = 0.96, 0.94$ y 0.93) para los tratamientos 0:100, 30:70 y 50:50, respectivamente. Si bien el rango teórico aceptado de pH en el proceso de digestión anaerobia va de 5.5 a 8.5, la mejor respuesta metanogénica se observa a valores de pH de 6.7 a 7.4 (Buekens, 2005).

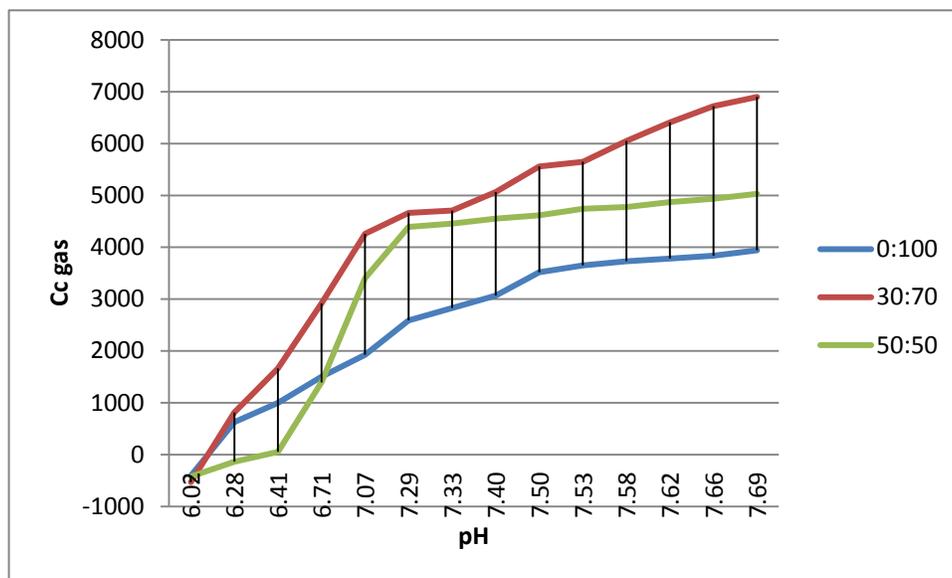


Figura 5. Producción de biogás (cc) de la biodigestión de 3 niveles de mezcla paja de trigo con excreta de cerdo respecto al pH.

La relación producción de biogás y pH para los tratamientos 70:30 y 90:10 se presenta en la Figura 6. El valor de pH a partir de cual se observa mayor actividad productiva fue de 5.5, similar al considerado en el límite inferior del rango teórico en la digestión anaerobia. La producción de biogás de los tratamientos cuyo porcentaje de paja es superior de 70% es explicado por el pH en menos del 60%.

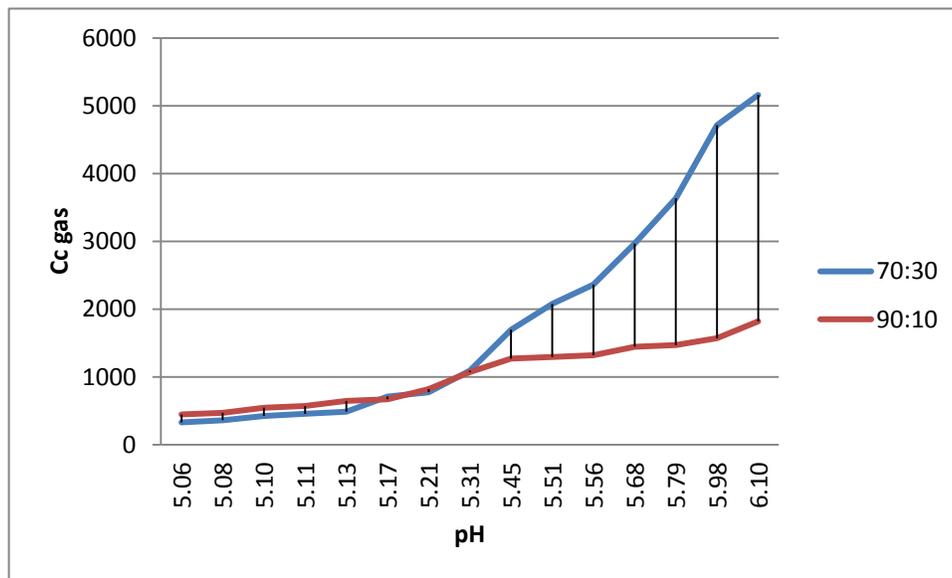


Figura 6. Producción de biogás (cc) de la biodigestión de 2 niveles de mezcla paja de trigo con excreta de cerdo respecto al pH.

La Figura 7 muestra la producción de biogás para cada uno de los tratamientos respecto al tiempo de retención (TR), la producción de biogás responde positivamente al TR ($P < .001$), la mejor respuesta se obtuvo de los tratamientos cuyo contenido de paja fueron 30 y 50%; el tratamiento base a pesar de haber mostrado un periodo de arranque productivo igual al del tratamiento 30:70 registró acumulaciones menores, incluso por debajo del rendimiento

registrado por el tratamiento 50:50 a pesar de que este último tuvo un arranque 3 días posteriores.

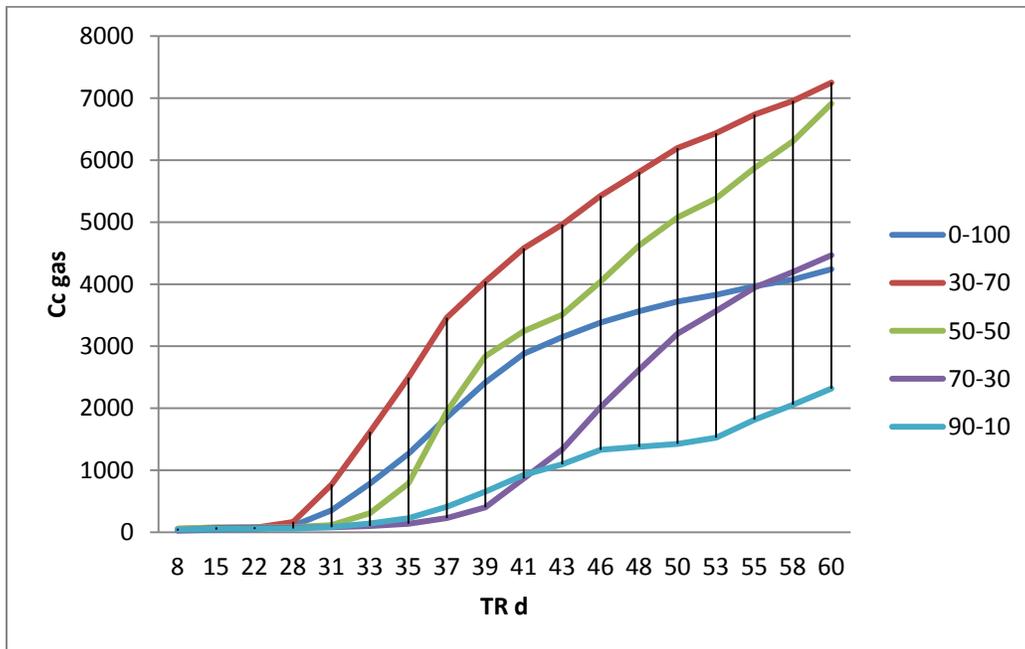


Figura 7. Producción de biogás (cc) generado a partir de un tiempo de retención de 8 días y hasta el cumplimiento de los 60 días de la biodigestión de 5 niveles de mezcla PC:EC. Experimento 1.

En la Figura 8 se presentan las regresiones lineales de la producción de biogás respecto al periodo de TR donde hubo mayor actividad productiva por parte de los tratamientos evaluados, el cual abarca del día 28 al 60, observándose en esta relación de producción de biogás y TR una tendencia lineal positiva ($P < .01$). En base a las tendencias de respuesta que mostraron los 5 tratamientos a su modelo lineal, podemos observar que el tratamiento 30:70 obtuvo la mayor acumulación de biogás seguido del tratamiento con 50% de paja de trigo, mientras que el tratamiento que contenía 90% de paja acumuló la menor cantidad de biogás respecto al resto de los tratamientos.

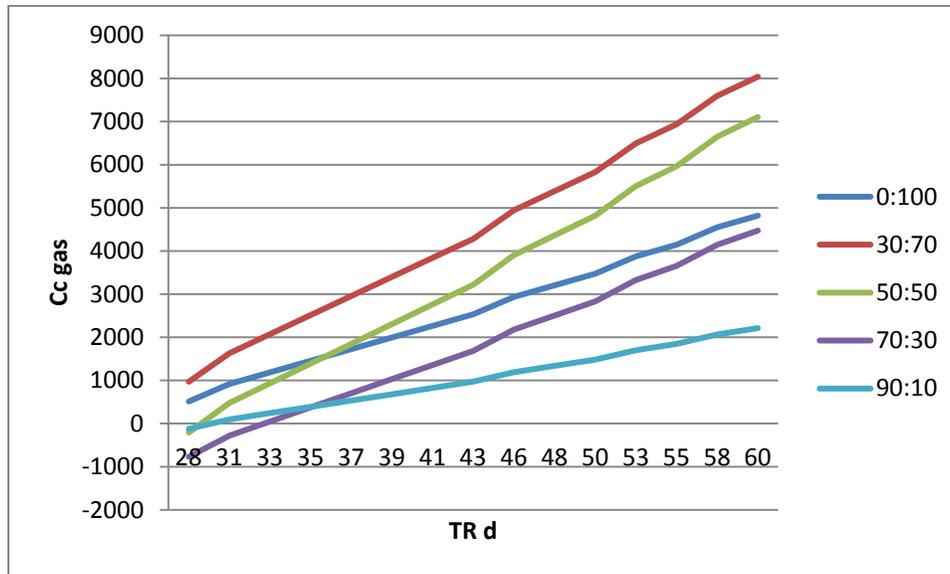


Figura 8. Predicción bajo un modelo lineal de la producción de biogás respecto al periodo de tiempo de retención de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de PC:EC.

Cuadro 5. Modelos de predicción para la producción de biogás en el periodo de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de PC:EC.

Tratamiento	Ecuación predicción modelo lineal
0:100	rend= -3253.92 + 134.5462 día
30:70	rend= -5220.4 + 221.0104 día
50:50	rend= -6609.19 + 228.5997 día
70:30	rend= -5361.05 + 163.8875 día
90:10	rend= -2165.88 + 72.97073 día

En la Figura 9 aparecen los valores de pH en relación al TR, el tratamiento base y los que contenían 30 y 50% de paja de trigo se ajustaron mejor a un modelo cuadrático, el tratamiento 70:30 a un modelo lineal, mientras que el de mayor contenido de paja 90:10 no ajustó en ningún modelo de regresión, dado a que la relación de sus valores de pH respecto al TR no fue significativo ($P > 0.05$)

(Cuadro 6). El TR para este ejercicio contempló de igual forma solo el periodo de mayor actividad productiva, el cual abarcó del día 28 al 60. El tratamiento base y el 30:70 iniciaron su actividad productiva a un valor de pH similar (6.33 y 6.24 respectivamente), esa similitud de comportamiento continuó inclusive hasta el día 53 que es cuando ambos tratamientos mostraron una tendencia a estabilizar y/o disminuir sus valores de pH, por su parte el tratamiento 50:50 muestra un efecto cuadrático, ya que inicia su actividad de producción a un pH ácido (5.23) mismo que va cambiando ligeramente a neutro a través del tiempo hasta alcanzar su valor máximo de pH de 7.34 en el día 53 y posteriormente al día 55 se observa una tendencia negativa. En el Cuadro 6 aparecen los modelos de regresión aplicado a cada tratamiento.

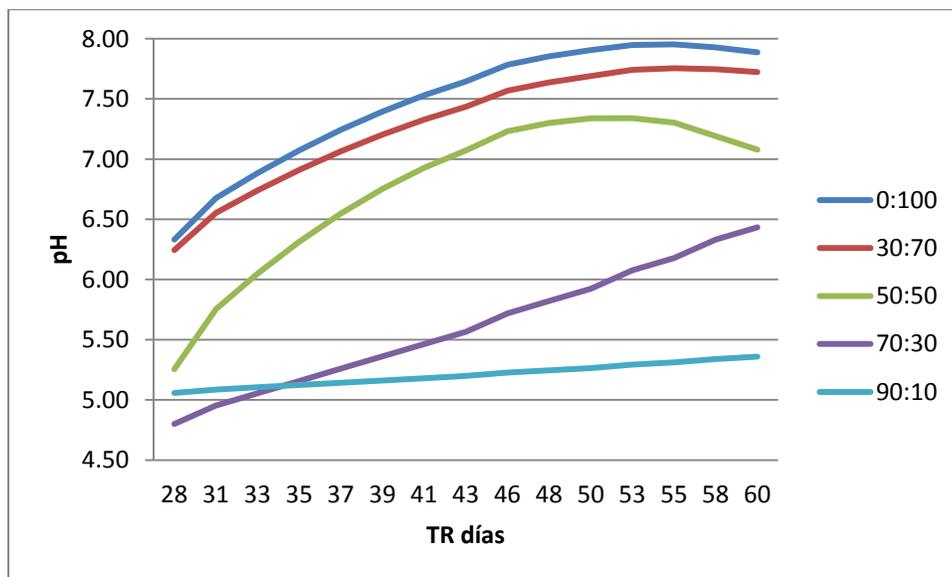


Figura 9. Predicción de la respuesta de pH respecto al periodo de TR de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de PC:EC.

Cuadro 6. Modelos de predicción para pH en el periodo de TR de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de PC:EC.

Tratamiento	Ecuación predicción modelo cuadrático y lineal
0:100	$\text{pH} = 1.123791 + 0.250131 \text{ día} + -0.00229 \text{ día}^2$
30:70	$\text{pH} = 1.668786 + 0.218136 \text{ día} + -0.00195 \text{ día}^2$
50:50	$\text{pH} = -2.68521 + 0.389284 \text{ día} + -0.00378 \text{ día}^2$
70:30	$\text{pH} = 3.37058 + 0.05105 \text{ día}$
90:10	$\text{pH} = 4.79452 + 0.0094 \text{ día}$ (No significativo)

Experimento 2

La producción promedio de biogás de las distintas proporciones de PT:EC se muestran en la Figura 10, Los tratamientos cuyo porcentaje de inclusión de paja fue de 10, 20 y 30% generaron una cantidad similar de biogás con respecto al testigo, se observó un efecto negativo sobre el rendimiento de gas cuando la adición de paja fue de 40% con respecto al tratamiento base, ya que este último lo superó en un 49% la producción de biogás ($P < .01$).

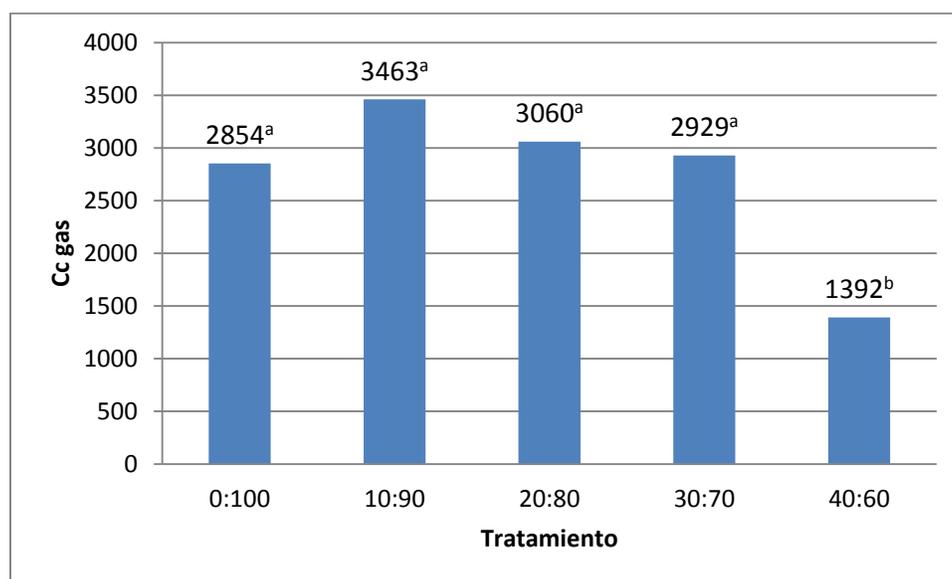


Figura 10. Producción promedio de biogás (cc) de 5 niveles de mezcla de PC:EC sometidos a biodigestión por un periodo de 52 días. Experimento 2.

Los valores promedio de pH se muestran en la Figura 11. Al ir incorporando gradualmente paja de trigo el valor de pH desciende. El pH de los tratamientos con las proporciones 0:100 y 10:90 fue similar, y están dentro del rango óptimo recomendado para alcanzar mejor respuesta en la fase metanogénica, el resto de los tratamientos quedaron por debajo del valor mínimo de pH óptimo (6.7) para la metanogénesis. El tratamiento 40:60 mostró el valor de pH más ácido a diferencia de los valores del resto de los tratamientos ($P < .01$).

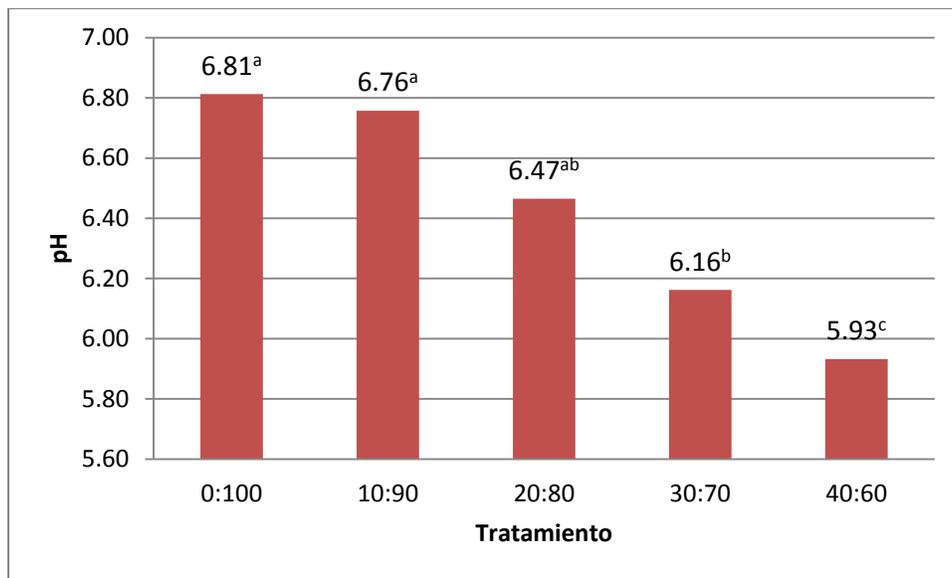


Figura 11. Valores promedio de pH registrados en un periodo de 52 días de biodigestión de 5 diferentes niveles de mezcla de PC:EC. Experimento 2.

Las temperaturas máximas y mínimas en el periodo de digestión de la segunda prueba fueron registradas y aparecen en la Figura 12. Estas condiciones climáticas fueron las mismas para los 5 tratamientos evaluados. El rango de temperaturas máximas en todo el periodo de prueba fue de 34 a 39°C y de 28 a

33°C en el caso de las mínimas; sin duda, dentro del tiempo de experimentación la temperatura mostró cierta variabilidad, sin embargo ninguno de los valores mínimo o máximo de temperatura salió de la zona mesófila (25 – 40°C) (Balat y Balat, 2009).

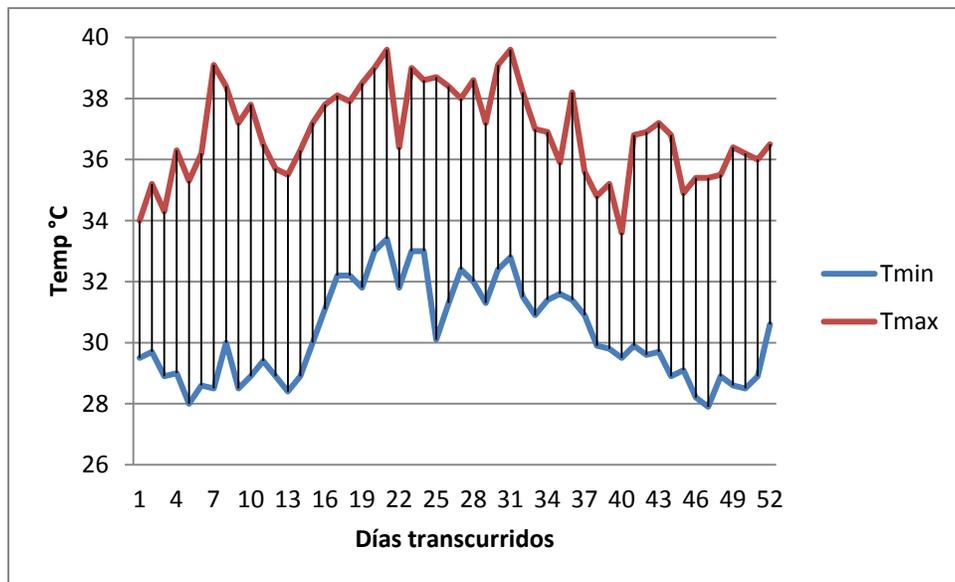


Figura 12. Temperaturas mínimas y máximas registradas en los biodigestores en las fechas de medición de la producción de gas: Experimento 2.

En la Figura 13 se muestra la producción de biogás en relación al pH de los tratamientos evaluados. La cantidad de biogás producido no fue diferente entre los tratamientos 0:100, 10:90, 20:80 y 30:70, además se observa que la producción de biogás para estos tratamientos aumenta al ir incrementando el pH de forma lineal ($P < 0.01$) con una R^2 mayor de 0.76; el rango de pH en que esos cuatro tratamientos muestran su mejor respuesta productiva es similar y abarca valores de 6.5 a 7.4, posteriormente cada aumento en el pH solo genera incrementos productivos mínimos a excepción del tratamiento 30:70, el cual muestra marcados incrementos productivos aún después de un valor de pH de 7.6. La producción de

biogás del tratamiento 40:60 es significativamente ($P < 0.01$) diferente a la producción del resto de los tratamientos. Los resultados indican que con porcentajes de inclusión de paja de trigo superior al 30% en mezcla con excreta de cerdo genera valores de pH bajos y disminuye la producción de biogás.

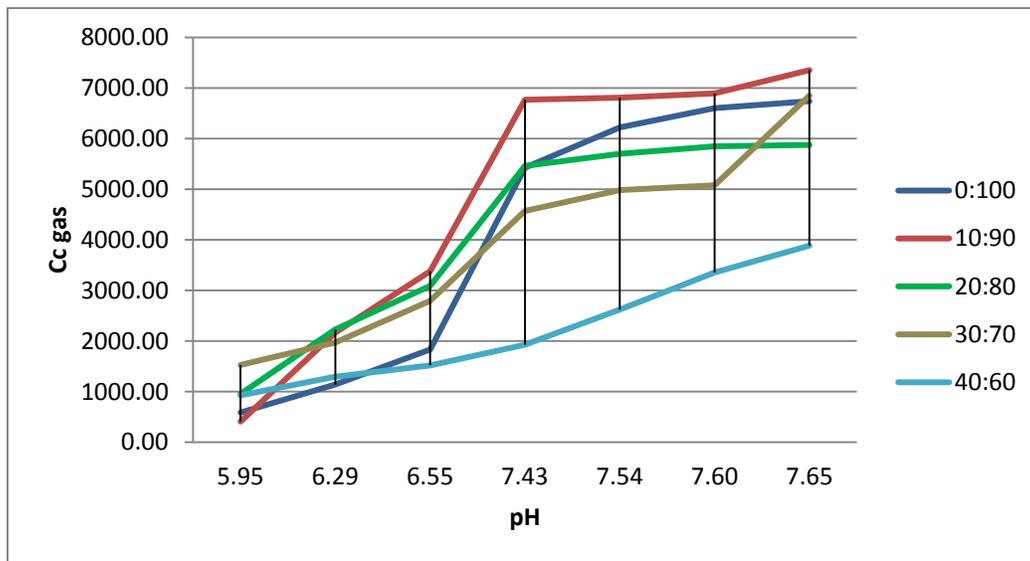


Figura 13. Producción de biogás (cc) de la biodigestión de 5 niveles de mezcla de PC:EC respecto al pH. Experimento 2.

En la Figura 14 se muestra la producción de biogás para cada uno de los tratamientos respecto al TR. Desde el arranque del experimento al día 29 de TR todos los tratamientos mostraron actividad productiva mínima, se observó que los tratamientos 10:90, 20:80 y 30:70 iniciaron la producción y acumulación de biogás a partir del día 29. El arranque del tratamiento 0:100 se dio de igual manera el día 29, mas no con la misma intensidad que en los tratamientos antes mencionados. El tratamiento con mayor proporción de paja mostró una pobre actividad productiva en todo el periodo de prueba, presentando incrementos productivos hasta el día 36 de TR.

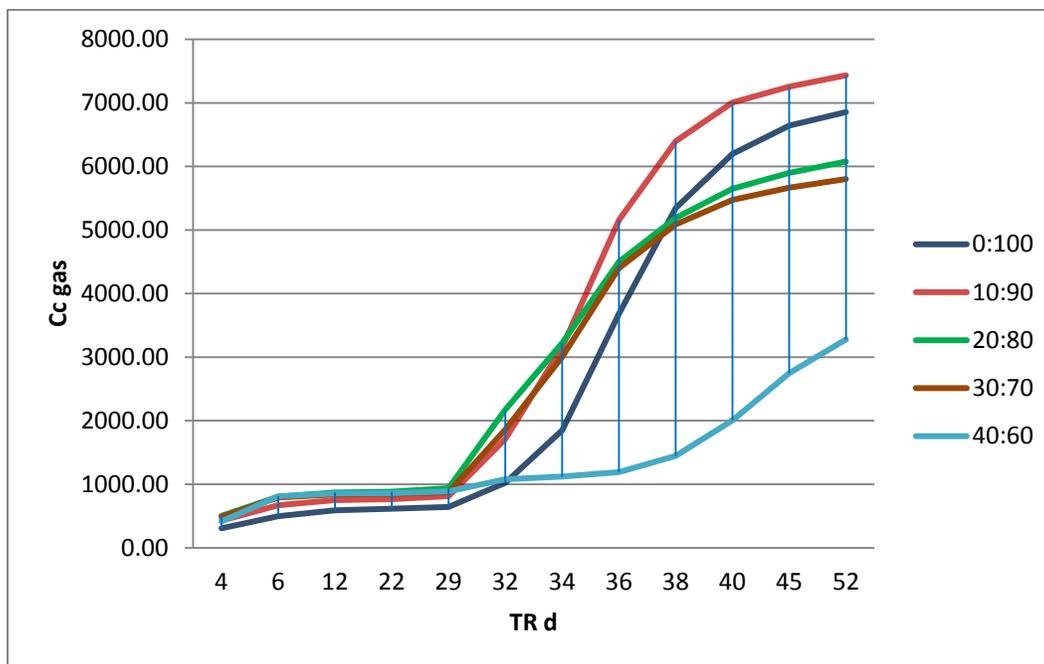


Figura 14. Producción de biogás (cc) generado a partir de un tiempo de retención de 4 días y hasta el cumplimiento de los 52 días de la biodigestión de 5 niveles de mezcla PC:EC. Experimento 2.

En la Figura 15 se observa la tendencia de la producción de biogás con respecto al TR de los 5 tratamientos evaluados. El tratamiento base, así como los que contienen 10, 20 y 30% de paja de trigo se ajustan a un modelo cuadrático con una R^2 de 0.84, 0.87, 0.74 y 0.78, respectivamente. El rendimiento de estos 4 tratamientos responde positivamente al TR, sin embargo todos muestran una tendencia negativa después del día 45, caso contrario a lo que sucede con el último de los tratamientos, ya que es a partir del día 40 cuando se observa la mayor actividad productiva y un tendencia positiva, indudablemente los valores de producción registrados para este tratamiento respecto al resto de ellos está muy por debajo, de ahí la única diferencia significativa ($P < .0001$) entre tratamientos. En el Cuadro 7 aparecen los modelos de predicción para la producción de biogás respecto al TR aplicados a cada uno de los tratamientos.

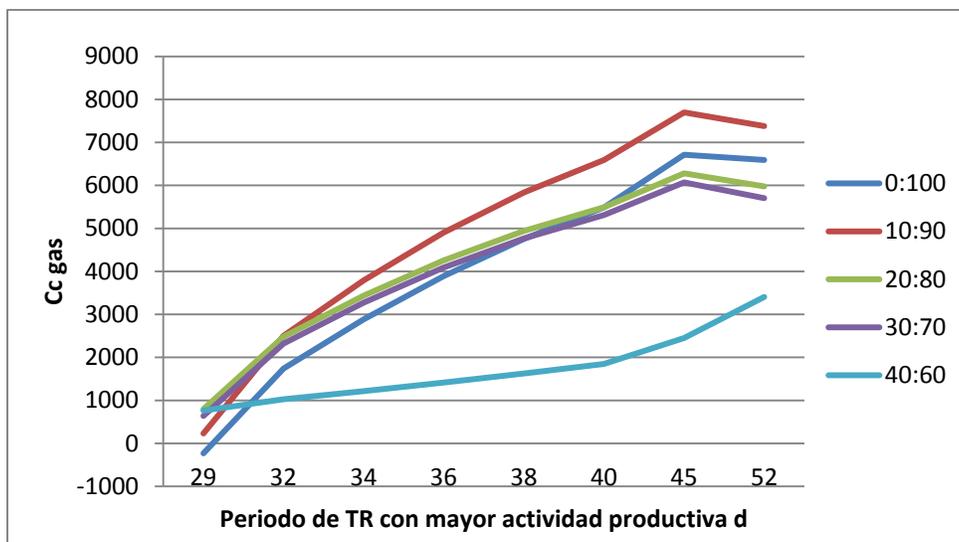


Figura 15. Predicción de la producción de biogás respecto al periodo de TR de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de PC:EC. Experimento 2.

Cuadro 7. Modelos de predicción para la producción de biogás en el periodo de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de paja de trigo y excreta de cerdo. Experimento 2.

Tratamiento	Ecuación predicción modelo cuadrático y lineal
0:100	$\text{rend} = -35204 + 1703.457 \text{ día} + -17.1537 \text{ día}^2$
10:90	$\text{rend} = -42361 + 2114.563 \text{ día} + -22.2691 \text{ día}^2$
20:80	$\text{rend} = -31056 + 1585.481 \text{ día} + -16.7948 \text{ día}^2$
30:70	$\text{rend} = -31445 + 1600.611 \text{ día} + -17.0432 \text{ día}^2$
40:60	$\text{rend} = -2681.17 + 115.0486 \text{ día}$

En la Figura 16 se aprecia la respuesta que mostró el pH dentro del periodo de TR de mayor actividad productiva en el proceso de biodigestión de los 5 tratamientos evaluados. El pH de los tratamientos cuya proporción paja de trigo excretas de cerdo fueron 10:90 y 20:80, además del testigo responden significativamente ($P < .01$) al TR con un R^2 de 0.97, 0.99 y 0.97 respectivamente hasta el día 45, ya

que al someter los datos a un análisis de regresión resultó ser el modelo cuadrático el de mejor ajuste con R^2 0.92, 0.96 y 0.88 para estos tres tratamientos bajo el orden antes planteado, de tal manera que del día 45 en adelante se observa un descenso del pH. Los tratamientos con proporciones 30:70 y 40:60 también responden significativamente al TR pero con valores de R^2 de 0.56 y 0.47; el modelo de regresión para estos dos últimos tratamientos es lineal tal como indica la tendencia en la Figura 16. Los modelos de predicción aparecen en el Cuadro 8.

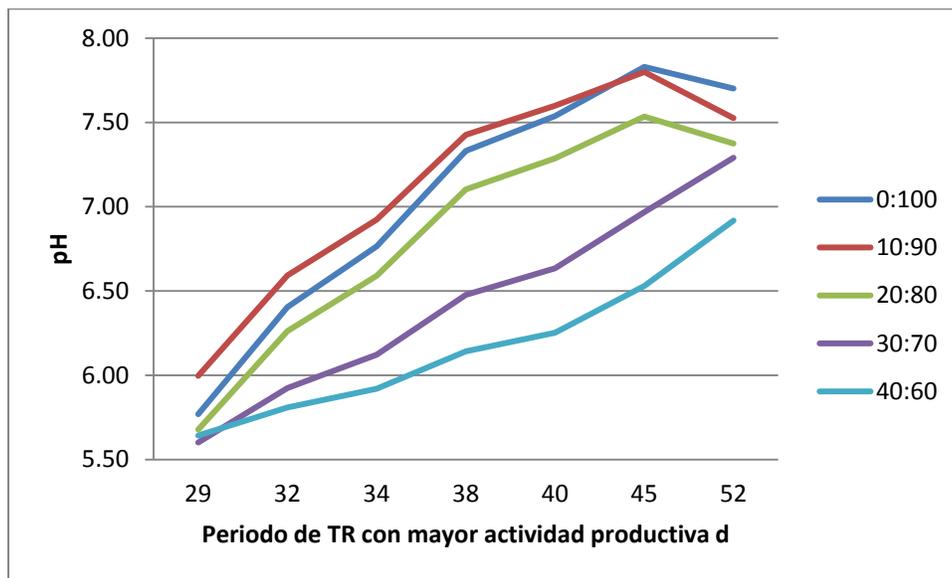
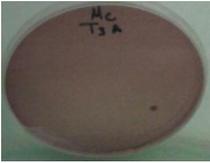
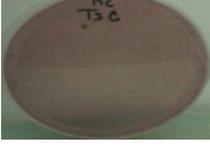


Figura 16. Predicción de la respuesta de pH respecto al periodo de tiempo de retención de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de paja de trigo con excreta de cerdo. Experimento 2.

Cuadro 8. Modelos de predicción para pH en el periodo de mayor actividad productiva de los biodigestores con las diferentes combinaciones de paja de trigo y excreta de cerdo. Experimento 2.

Tratamiento	Ecuación predicción modelo cuadrático y lineal
0:100	$\text{pH} = -6.31745 + 0.602337 \text{ día} + -0.0064 \text{ día}^2$
10:90	$\text{pH} = -5.8858 + 0.601209 \text{ día} + -0.0066 \text{ día}^2$
20:80	$\text{pH} = -5.57621 + 0.563335 \text{ día} + -0.00604 \text{ día}^2$
30:70	$\text{pH} = 3.59251 + 0.0736 \text{ día}$
40:60	$\text{pH} = 4.03423 + 0.05546 \text{ día}$

En el Cuadro 9 aparecen los resultados de la prueba para la determinación de la presencia o ausencia de enterobacterias patógenas realizada a los residuos de los tratamientos que se sometieron a biodigestión en los primeros dos experimentos antes descritos en el apartado de materiales y métodos. La primera de las columnas indica el material analizado por tratamiento y experimento; a continuación en la siguiente columna observamos la respuesta que mostró cada una de las tres repeticiones de los dos medios de cultivo específico, enseguida en la tercera de las columnas se hace una pequeña descripción de las UFC de los residuos que dieron positivo; la cuarta y quinta columna nos dice el número de UFC que surgieron en los medios XLD y Mc Conkey bajo ese orden, y finalmente en la última de las columnas se ilustra por medio de una fotografía las UFC en los medios de cultivo que dieron positivo a la presencia de enterobacterias patógenas, igualmente en este apartado aparece el nombre de cada una de ellas. Sin embargo la información del cuadro antes descrito se resume en las Figuras 17 y 18.

Residuos por tratamiento	Medio de cultivo						Descripción de las colonias	UFC/gr residuo XLD	UFC/gr residuo Mc Conkey	Foto
	XLD			Mc Conkey						
	A	B	C	A	B	C				
Exc 1ª prueba	-	-	-	-	-	-				
T1 1ª prueba	-	-	-	-	-	-				
T2 1ª prueba	-	-	-	+	-	-	Mc Conkey A: 1 colonia con forma ovalada y de color rosa sin halo, centro cremoso, no se observan elevaciones	0.33 UFC/1 gr residuo	 <i>E. coli</i>	
T3 1ª prueba	+	-	+				XLD A: 1 colonia grande con apariencia derrame, sin embargo se aprecia ligeramente cremoso y poca elevación y el medio virado de rojo – amarillo ambar. XLD C: 4 colonias color rosa, medio virado rojo a amarillo ambar, elevación no muy pronunciada. Mc Conkey A: 1 colonia pequeña forma circular poca elevación color rosa oscuro tendencia a rojo. No halo. Mc Conkey C: 1 colonia pequeña forma circular poca elevación color rosa oscuro tendencia a rojo. No halo.	1.66 UFC/1 gr residuo	 <i>Shigella</i>  <i>Shigella</i>  <i>E. coli</i>  <i>E. coli</i>	

T4 1ª prueba	-	+	-				<p>XLD B: 1 colonia grande central con apariencia de derrame, el color de la colonia es rosa sin halo, mientras que el medio viró amarillo ambar.</p> <p>Mc Conkey B: 3 colonias pequeñas de color rosa oscuro tendencia a rojo con elevación. Y 1 colonia rosa claro con halo amarillo.</p>	0.33 col/0.630 grs residuo		 <p><i>Shigella</i></p>  <p><i>E. coli</i></p>
T5 1ª prueba	-	-	-	-	-	-				
Exc 2ª prueba	-	-	-	-	-	-				
T1 2ª prueba	-	-	-	-	-	-				
T2 2ª prueba	+	-	-				<p>XLD A: 1 colonia color rosa y medio virado de rojo a color anaranjado, no elevaciones y se aprecia centro cremoso.</p> <p>Mc Conkey C: 1 colonia color rosa y presenta halo amarillo, se aprecia elevación y centro cremoso.</p>	0.33 col/1 gr residuo		 <p><i>Shigella</i></p>  <p><i>E. coli</i></p>
T3 2ª prueba	-	-	-	-	-	+	<p>Mc Conkey C: 2 colonias rosas con halo amarillo claro, elevación poco pronunciada</p>		0.66 UFC/1 gr residuo	 <p><i>E. coli</i></p>
T4 2ª prueba	-	-	-	-	-	-				
T5 2ª prueba	-	-	-	-	-	-				

La Figura 17 indica el número de UFC que aparecieron en las excretas y los residuos de los 5 tratamientos evaluados en el primer experimento después de la prueba microbiológica. De esta manera observamos que en las excretas utilizadas en este primer experimento, el tratamiento testigo, y el tratamiento con el 90% de paja, este último representando al de mayor contenido de paja en este estudio, dieron negativo a la presencia de enterobacterias patógenas tanto para el medio de cultivo XLD como para el Mc Conkey; el tratamiento con el 30% de paja adicionada a las excretas de cerdo dio solo negativo al medio de cultivo XLD, pero positivo con 0.33 UFC de *Escherichia coli* en el medio Mc Conkey, finalmente en los tratamientos 3 y 4 se hicieron presentes respectivamente 1.66 y 0.33 UFC del género *Shigella* en el medio XLD, y 0.66 y 1.33 UFC de *Escherichia coli* en el medio de cultivo Mc Conkey.

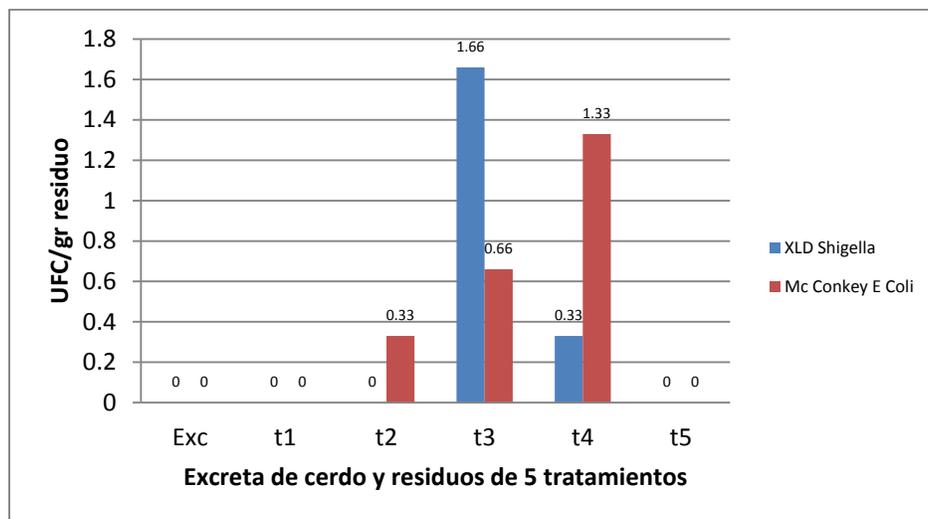


Figura 17. Unidades formadoras de colonias de *Shigella* y *E. coli* en excreta de cerdo previo al proceso de digestión anaerobia y en residuos de la biodigestión de diferentes niveles de mezcla paja de trigo y excreta de cerdo. Experimento 1.

En la Figura 18 se hace referencia a los resultados de la prueba microbiológica de las excretas y residuos del experimento dos; De los materiales sometidos al análisis microbiológico solo los residuos de los tratamientos 2 y 3 dieron positivo a la presencia de enterobacterias patógenas; el tratamiento 2 en ambos medios de cultivo (XLD y Mc Conkey) con 0.33 UFC, es decir, apareció la misma cantidad de UFC del género *Shigella* y de *Escherichia coli*; el tratamiento 3 dio resultado negativo en el medio de cultivo XLD, sin embargo para Mc conkey se registraron 0.66 UFC de *Escherichia coli*. Para los residuos del resto de los tratamientos además de las excretas no se observó la presencia de UFC en ninguno de los dos medios de cultivo.

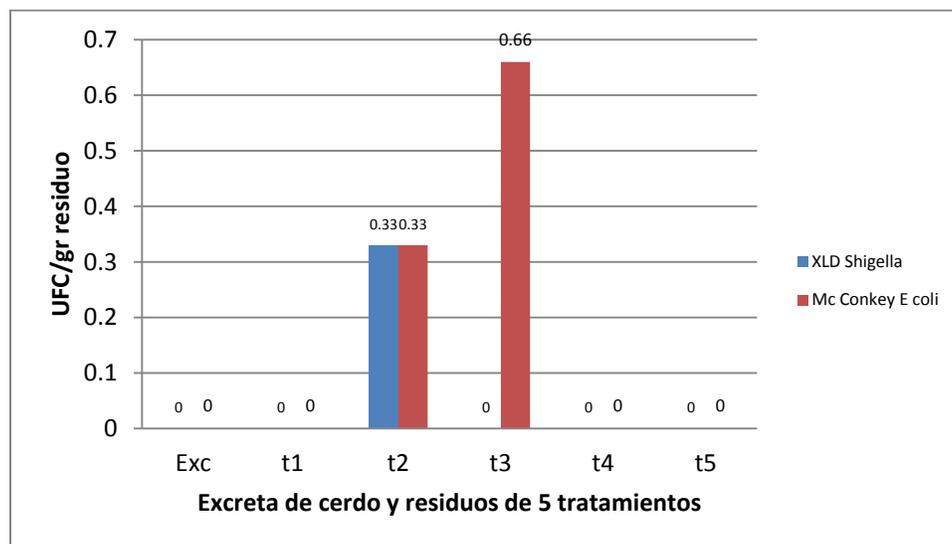


Figura 18. Unidades formadoras de colonias de *Shigella* y *E. coli* en excreta de cerdo previo al proceso de digestión anaerobia y en residuos de la biodigestión de diferentes niveles de mezcla paja de trigo y excreta de cerdo. Experimento 2.

El Cuadro 10 muestra los valores de nitrógeno (N) y de potasio (K) registrados en partes por millón en ambas pruebas e indican una respuesta positiva a la adición de paja de trigo, puesto que a medida que se incrementa el nivel de paja las ppm de K y NO₃ aumentaron, mientras que los registros de fosforo (P) en mg/lt (Cuadro 10) son muy similares entre tratamientos en cada prueba, esto evidencia que la presencia de fosforo en los residuos de biodigestión no responde al incremento de la paja de trigo.

Cuadro 10. Valores en partes por millón de Nitrógeno (N), Fosforo (P) y Potasio (K) en residuos de la biodigestión de diferentes niveles de mezcla paja de trigo y excreta de cerdo de dos experimentos.

Tratamientos		N (ppm)	P (mg/lt)	K (ppm)
Experimento 1	T1 100% E	110	60	54
	T2 70% E 30% P	110	63.2	80
	T3 50% E 50% P	130	66.8	120
	T4 30% E 70% P	160	65.2	160
	T5 10% E 90% P	180	63.6	150
Experimento 2	T1 100% E	220	84.4	240
	T2 90% E 10% P	220	87.2	280
	T3 80% E 20% P	230	84	300
	T4 70% E 30% P	240	85.2	330
	T5 60% E 40% P	260	87.8	330

En la Figura 19 se muestra la producción de biogás respecto a los períodos de muestreo para ambos tratamientos. En el primer muestreo, el día 34 de experimentación, se observó diferencia ($P < 0.01$) entre los tratamientos respecto a la producción de biogás, el T1 con 63% más producción que el T2, la diferencia productiva entre tratamientos dejó de presentarse en los siguientes dos muestreos (días 44 y 52). La producción final para ambos tratamientos fue muy similar 22,408 y 22,634 cc para T1 y T2, respectivamente (Figura 19).

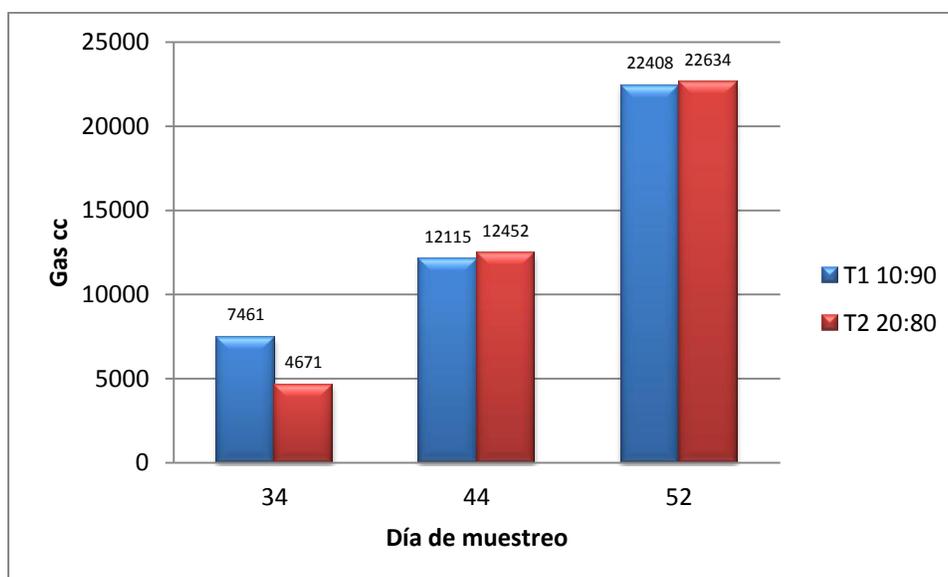


Figura 19. Producción de biogás (cc) de la biodigestión de dos niveles de mezcla de paja de trigo y excreta de cerdo con respecto al día de muestreo. Experimento 3.

La tasa de degradación de MO en cada período de muestreo para los dos tratamientos se presenta en la Figura 20. No se observó diferencia entre tratamientos. Sin embargo, como se esperaba, se apreció un incremento lineal en la tasa de desaparición de MO a medida que se incrementó el tiempo bajo digestión; en promedio, la tasa de degradación de MO para los días 34, 44 y 52 fue de 38, 48 y 61%, respectivamente.

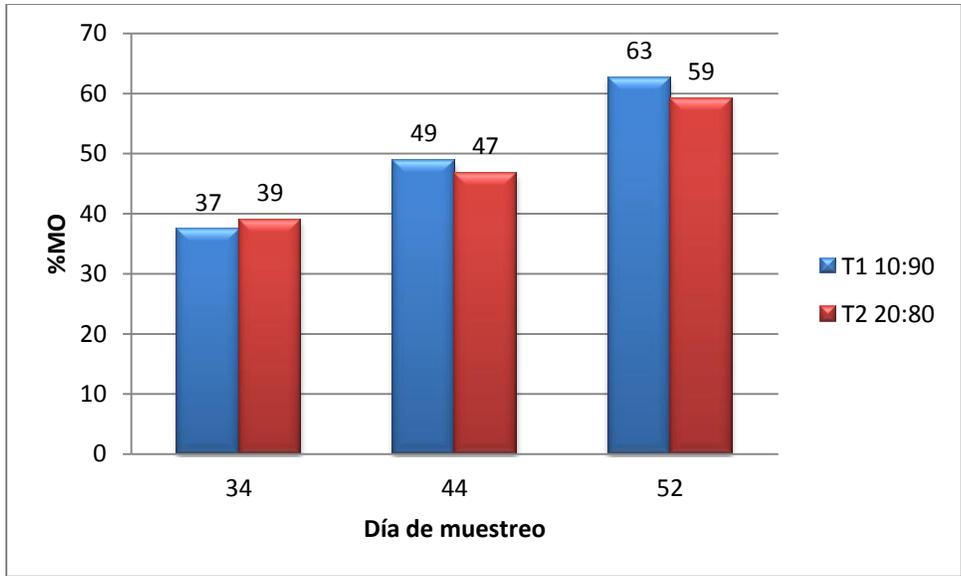


Figura 20. Tasa de degradación de la materia orgánica de paja de trigo y excreta de cerdo mezclada en dos niveles de proporción con respecto al día de muestreo. Experimento 3.

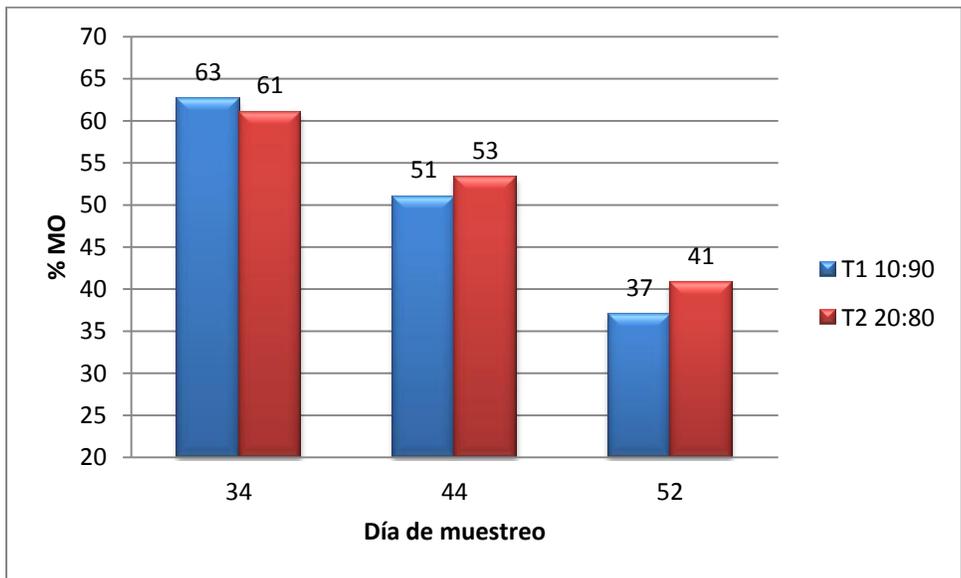


Figura 21. Materia orgánica residual (%) de paja de trigo y excreta de cerdo mezclada en dos niveles de proporción con respecto al día de muestreo durante el proceso de digestión anaerobia. Experimento 3.

7. DISCUSION

Producción biogás

En base a una comparación de la composición química de la paja de trigo y del estiércol de cerdo Moller et al., (2004) consideran que el rendimiento teórico y final de metano es significativamente inferior en la paja que en el estiércol, el sustento para este argumento es que las cantidades de proteína y lípidos, principalmente, son mayores en el estiércol respecto al residuo agrícola en discusión. Sin embargo el rendimiento volumétrico de metano de la paja de trigo es superior al generado por el estiércol de cerdo, esto debido básicamente al alto contenido de sólidos volátiles en la paja. En consideración de lo anterior Moller et al., (2004) teóricamente sugieren que en el proceso de biodigestión el rendimiento de metano se podría ver favorecido con un incremento hasta del 10 % aproximadamente al adicionar 1 kilo de paja de trigo a 100 kilos de estiércol de cerdo, sin embargo Wang et al., (2009) por su parte proponen que la adición de 4.6 kilos de paja de trigo a 1 tonelada de excreta de cerdo mejora la producción en un 10%.

En este estudio diferentes niveles de adición de paja de trigo a excreta de cerdo fueron sometidos al proceso de digestión anaerobia, los porcentajes de adición de paja de trigo a excretas de cerdo estuvieron inicialmente en el rango de 30 hasta el 90 %, las condiciones naturales de temperatura registraron un incremento paulatino de 25 a 38 °C en los 60 días de digestión, en un segundo periodo de experimentación que abarcó 52 días de digestión, con registros de temperatura ambiental de 33 a 39 °C, se usaron porcentajes de adición de paja de trigo a excretas de cerdo en un rango de 10 a 40 %. Una temprana respuesta productiva

se hizo manifiesta en todos los tratamientos a los primeros días de experimentación, lo anterior puede ser explicado en terminos del contenido de material fácilmente degradable en la excreta de cerdo. Una situación similar resultó en el trabajo de Llabrés y Mata (1987) donde después de someter diferentes mezclas de estiércol de cerdo de engorda y paja de trigo a biodigestión por 90 días observaron que en los primeros 4 a 5 días de digestión todo el material fácilmente digerible fue consumido rápidamente logrando obtener en este caso cerca del 20 % del total de los biogás obtenido en todo el proceso digestivo, sin duda el nivel de inoculación (15 y 30% sobre las mezclas) se suma a la explicación de esa temprana respuesta productiva. A diferencia de ellos en este trabajo la producción inicial fue insignificante respecto a lo obtenido posteriormente hasta el final del proceso, lo cual en parte podría deberse a que no se hizo uso de materiales activos de otros biodigestores con fines de inoculación.

La adición del 30 y 50 % de paja sobre la excreta de cerdo generó 73 y 61 % más producción de biogás que el obtenido por la excreta sola, estos resultados sugieren que adicionar paja de trigo a excretas de cerdo en un nivel de mezcla no mayor al 50% mejora la producción de biogás. Llabrés y Mata (1987) después de someter al proceso de digestión anaerobia porcentajes de paja de trigo en un rango de 40 a 70 % sobre la mezcla con excreta de cerdo encontraron que del 40 al 50 % de la paja adicionada a la excreta arroja los mejores resultados productivos, el rango porcentual de adición de paja de trigo del cual obtuvieron los mejores rendimientos de biogás se asemeja a los porcentajes que lograron la mayor producción en este estudio.

En el segundo estudio la mezcla con el 10 % de paja adicionada a la excreta de cerdo fue la que alcanzó mayor producción de biogás respecto a la excreta sola con 21 %. Evidentemente los resultados de este estudio, al igual que muchos otros claramente indican una considerable variación en lo que respecta a la producción de biogás y metano, lo cual se debe básicamente a la composición y pre-tratamientos de los materiales en prueba, además de las condiciones de biodigestión.

Ejemplo de ello está en la respuesta a la temperatura como factor de biodigestión, Taiganides (1980) hizo referencia de que a pesar de que un gran número de reactores trabajan dentro del rango de temperatura mesófila (25 a 40 °C), la digestión óptima se logra a unos 35°C, cierto es que a temperaturas por arriba de los 45°C (termófilo) la velocidad de digestión aumenta, más la sensibilidad de las bacterias a cambios climáticos, sobre todo un descenso repentino de temperatura es mayor. Algo similar reporta Alastair et al., (2008) y mencionan que un cambio de temperatura mesófila a termófila y viceversa puede acarrear drásticos descensos en la producción de biogás.

A pesar de que este trabajo en particular se desarrollo bajo condiciones naturales de temperatura, nunca se registró dato fuera del rango mesófilo, el primer estudio reportó incrementos paulatinos de temperatura en el periodo de digestión de 25 a 36 °C, situación diferente a la del segundo estudio, la cual mantuvo un rango de 33 a 39 °C en todo el proceso digestivo, sin embargo Chae et al., (2008) encontraron que pequeños cambios en la temperatura en rangos de 35 a 30 °C y de 30 a 32 °C reducen las tasas de producción de biogás, lo cual indica que los

cambios de temperatura alrededor del óptimo estabilizado (35°C) representa sensibilidad para los microorganismos y el proceso en general.

Adicionalmente el pH como factor de biodigestión es un indicativo que permite diagnosticar el desempeño de un biodigestor, por lo tanto esta variable fue monitoreada en todo el periodo de digestión para ambos estudios y se observó que el nivel de adición de paja de trigo tiene influencia sobre el pH, Llabrés y Mata, (1987) y Moller et al., (2004) coinciden que en ausencia de inhibidores, altas cargas orgánicas proporcionan altos rendimientos volumétricos de biogás, desafortunadamente el riesgo de sobrecargas o desbalance en la relación C:N aumenta, lo cual resulta en la acidificación del reactor; Llabrés y Mata (1987) observaron que adiciones de paja de trigo a excreta de cerdo por arriba del 70 % generó una lenta y escasa producción de biogás, esta respuesta se le atribuye a la rápida y alta concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), hasta alcanzar niveles de toxicidad que muchas ocasiones puede llevar a la interrupción total de la fermentación.

Buekens, (2005) y Bittón, (2005) coinciden que el rango aceptable para que se lleve a cabo la digestión anaerobia va de 5.5 a 8.5, sin embargo el rango ideal de pH para este proceso en la fase metanogénica es algo estrecho, pues va de 6.7 a 7.5 (Bueken, 2005). Mosey y Fernandes (1989) observaron que la tasa de crecimiento de las bacterias metanogénicas desciende a valores de pH inferiores a 6.6.

Los valores de pH en los tratamientos que superaron en producción al testigo (excretas solas) se mantuvieron dentro del rango óptimo recomendado para mejor respuesta en la fase metanogénica y sugieren que la proporción de metano en el biogás generado es mayor respecto al resto de los tratamientos.

Wang et al., (2009) sometieron a digestión paja de trigo y excreta de cerdo en proporción 1:1 (ST), y observaron que la producción de metano se estabilizó a un pH de 7.4, esta respuesta es similar a la del tratamiento con la misma proporción (50:50) del trabajo es discusión pues la estabilización se obtuvo a un pH de 7.3.

Por otro lado el tiempo de retención es otro factor importante y está íntimamente ligado al tipo de sustrato; generalmente los materiales con mayor proporción de carbono retenido en moléculas resistentes como la celulosa demandan mayores tiempos de retención para ser totalmente digeridos (Chae et al., 2008), con la finalidad de reducir los tiempos de digestión este tipo de residuos o materiales se someten a pretratamientos físicos incluyendo la reducción de tamaño de partícula, pues con esta última acción se han reportado efectos en el tiempo de digestión y la producción de biogás. Moller et al., (2004) redujeron la paja de trigo a diferentes tamaños de partícula y luego de 60 días de digestión observaron que la producción de metano generado por la paja picada a 1 mm fue significativamente mayor que la paja llevada a 30 mm de tamaño, sin embargo cuando el periodo de digestión se prolongó a 110 días ya no se observó efecto por la paja cortada a 1 mm. Sharma et al., (1988) ya había establecido previamente un estudio similar y obtuvo resultados similares, solo que en su caso además de los tamaños de

partícula ya antes mencionados, llevó a la paja de trigo a 0.1 mm de dimensión, mas el efecto de este último fue muy pequeño.

El tiempo de retención para los estudios de este trabajo estuvieron alrededor de los 60 días, y coincide con el tiempo de biodigestión en la prueba de Llabrés y Mata (1987), Sharma et al., (1988) y Moller et al., (2004). Esto indica que en rangos de temperatura de 25 a 39 °C, de 50 a 60 días es el periodo de tiempo requerido para que se alcancen altas tasas de degradación de la paja de trigo en codigestión con excreta de cerdo y en proporciones de mezcla que no superen 1:1.

Patógenos en residuos

De la digestión anaerobia se puede generar energía en forma de metano, mientras que los residuos de la digesta pueden ser empleados como fertilizante en cultivos agrícolas, sin embargo este tipo de residuos podrían contener bacterias patogénicas de diferentes especies tales como, *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria*, *Escherichia coli*, *Campilobacter*, *Mycobacteria*, *Clostridia* y *Yersinia* (Larsen, 1995), situación que puede poner en riesgo la salud de la gente y animales; indiscutiblemente esto nos indica que se debe invertir mayor atención en la seguridad higiénica del proceso digestivo.

La tasa de eliminación de bacterias patógenas es dependiente de varios factores, tales como, pH, temperatura, tiempo de retención, concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), sistema de digestión, especies bacterianas y disponibilidad de nutrientes (Leena, 2003).

Kunte et al., (2000a, b) mostraron que en la digestión anaerobia, altos niveles de AGV y pH ácido puede traer una completa inactivación de patógenos presentes en estiércol de bovino y excreta de humano, desafortunadamente la producción de metano disminuye notablemente por el efecto inhibitorio de las altas concentraciones de AGV y pH ácido en la metanogénesis. En razón de lo anterior Kunte et al., (2000a, b) sugieren la separación de las etapas acidogénica y metanogénica en el proceso de digestión para alcanzar una efectiva y completa inactivación de patógenos sin afectar la producción de biogás.

Kunte et al., (2004) separó la fase acidogénica de la metanogénica para observar el grado de eliminación de patógenos (*Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *Vibrio cholerae*) y comparar los resultados con los obtenidos bajo un sistema de digestión normal (sin separar las fases); este último alcanzó una inactivación completa de patógenos solo cuando se observaron altos niveles de AGV (18,000 mg/l) y pH ácido (6.0), sin embargo estos digestores mostraron drásticas reducciones productivas de metano. En los digestores de doble fase los patógenos fueron completamente inactivados desde la fase acidogénica, por lo tanto la fase metanogénica estuvo libre de patógenos y alcanzó altas concentraciones de metano en el biogás producido.

La temperatura es también un factor importante concerniente a la sobrevivencia de patógenos durante la digestión anaerobia, sin embargo la inactivación bacterial respecto a la temperatura, está muy relacionada con el tiempo de digestión. Grade et al., (1986) observó el grado de sobrevivencia de *Salmonella typhimurium* en digestores mesofílicos, y después de 10 días de digestión a una temperatura de

37 °C todas las Salmonellas fueron inactivadas. Forshell, (1995) por su parte observó que esta misma especie en sistemas de ciclo continuo a 55 °C dejó de ser detectada a las 24 horas.

En los residuos digestivos de diferentes mezclas de PT:EC obtenidos en este estudio en particular se encontraron pequeñas concentraciones de unidades formadoras de colonias de *Shigella* y *Eshcerichia coli*, sin embargo en base a la información antes expuesta referente a los factores de incidencia sobre la sobrevivencia de estos patógenos, indican que los rangos de pH, temperatura y los periodos de tiempo de retención empleados exigen respuesta nula a la presencia de este tipo de patógenos. Por lo tanto la presencia final de estas bacterias podría ser resultado del manejo posterior de la colecta residual, lo cual sugiere mayor atención en el manejo de este tipo de residuos desde la colecta y hasta su aplicación para evitar su contaminación.

Tasa de degradación de MO

La tasa de degradación depende directamente de la concentración de microorganismos viables en el proceso digestivo y a la disponibilidad de materia orgánica contenida en un sustrato, Llabrés y Mata (1987) suponen que cuando estas dos variables están a niveles bajos, la biodegradación se lleva acabo muy lentamente y con resultados pobres respecto a la reducción de materia orgánica.

En este trabajo mezclas de PT y EC de engorda con proporciones de 10:90 (T1) y 20:80 (T2), se sometieron al proceso de degradación anaerobia y después de 52 días, se obtuvieron los siguientes resultados de producción de biogás: 22,408 y

22,634 cc para T1 y T2, respectivamente, mientras que la tasa de degradación de MO fue de 37-63% y 39-59% para T1 y T2, respectivamente; con esas tasas de degradación y la producción generada por ambos tratamientos se estima una producción de 0.151 y 0.161 L g⁻¹ MO. Estos datos en comparación con algunos otros estudios pueden mostrar variaciones que se atribuyen a diferencias en las condiciones experimentales, tamaño de partícula, composición química de los sustratos, entre otros factores de influencia.

Vlyssides y Karlis (2004) observaron que los sólidos volátiles suspendidos en un digester podrían ser reducidos a un 64 – 85 % en 10 horas, sin embargo fueron indispensables 10 días como tiempo de retención para completar el proceso de digestión. Por su parte Andersson y Björnsson, (2002) mencionan que en un período de 78 días se puede alcanzar alrededor del 60% de degradación de la PT. Andersson y Björnsson (2002) obtuvieron una producción de biogás semejante a la de este estudio (0.150 L g⁻¹ MO), durante un período de biodigestión de 50 días; resultados similares son presentados por Gunaseelan (1997), con una reducción del 25–79% de MO y un rendimiento metano de 0.160-0.260 L g⁻¹ MO; las variaciones en este último estudio se atribuyen a diferencias en las condiciones experimentales y tamaño de partícula básicamente.

8. CONCLUSIÓN

La fermentación de mezclas de 30 a 50 % de paja de trigo con excreta de cerdo en engorda a rangos de temperatura de 25 a 39 °C, valores de pH de 6.71 a 7.33 y periodos de tiempo de retención de 50 a 60 días en sistemas de ciclo cerrado generan la mayor producción de biogás con 73% y 61%, respectivamente, con respecto a las excretas solas.

Con base a la tasa de degradación de la materia orgánica y a la producción de biogás, en sistema de ciclo cerrado, de dos niveles de paja de trigo y excretas de cerdo, en un período de 52 días a temperatura ambiental de 25 a 35 °C, se sugiere que la materia orgánica se degrada entre 63 y 59% y por cada kilogramo se producen 151 y 161 L de biogás.

9. LITERATURA CITADA

- Alastair, J. W., Phil, J. H., Peter, J. H., David, L. J. 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources- A review. *Bioresource Technology*, 99: 7928-7940.
- Amon, T., Amon B., Kryvoruchko, V., Zollitsch, W., Mayer, K. y Gruber L. 2007. Biogas production from maize and dairy cattle manure—Influence of biomass composition on the methane yield. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 118:173–182.
- Anunputtikul, W., and Rodtong, S. 2004. Laboratory scale experiments for biogas production from cassava tubers. The Joint International Conference on “Sustainable Energy and Environment (SEE),” Hua Hin, Thailand, December 1–3.
- Archana, S., Unni, B. G., Devendra S. H. 1999. A novel fed-batch digestion system for biomethanation of plant biomasses. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 87:678–682.
- Balat, M., and Balat, H., 2009. Biogas as a renewable energy source. *Energy Sources, Review Part a*. 31:1280-1291.
- Bitton, G. 2005. *Wastewater microbiology*. Wiley series in ecological and applied microbiology, third edition pp. 45-371.
- Bouallagui, H., Ben Cheikh, R., Marouani, L., Hamdi, M. 2003. Mesophilic biogas production from fruit and vegetable waste in a tubular digester. *Bioresource Technology* 86:85–89.
- Bouallagui, H., Touhami, Y., Cheikh, R.B., Hamdi, M. 2005. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *Process Biochemistry*, 40: 989–995.
- Buekens, A. 2005. Energy Recovery from ResidualWaste by Means of Anaerobic Digestion Technologies. Conference “The Future of Residual Waste Management in Europe,” Luxemburg, November 17–18.
- Burton, C. H. and Turner, C. 2003. *Manure management. Treatment strategies for sustainable agriculture*. 2nd ed. Silsoe Research Institute. Silsoe Bedford. 451 pp.
- Carrillo, L. 2003, *Microbiología Agrícola*, Capítulo 5. Pp 1-11. Universidad Nacional de Salta ISBN 987-9381-16-5. (<http://www.unsa.edu.ar/matbib>).
- Chae, K. J., Jang, A., Yim, S. K., and Kim, In. S. 2008. The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology* 99:1-6.

- Chae, K.J., Jang, A., Yim, S.K., Kim, I.S. 2008. The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology* 99:1–6.
- Coelho, S. T., Velazquez, S., Pecora, V. and Abreu, F. C. 2006. Energy generation with landfill biogas. *Proceedings of RIO6, World Climate & Energy Event, Rio de Janeiro, Brazil, November 17–18.*
- Elango, D., Pulikesi, M., Baskaralingam, P., Ramamurthi, V., and Sivanesan, S. 2006. Production of biogas from municipal solid waste with domestic sewage. *Energy Sources, Part a* 28:1127– 1134.
- EPA. 1983. *Compilation of Air Pollutant Emission Factors.* EPA publication AP-42.
- Forshell, L., 1995. Survival of *Salmonellas* and *Ascaris suum* eggs in a thermophilic BGP. *Acta. Vet. Scand.* 36 (1):79–85.
- Gadre, R.V., Ranade, D.R., Godbole, S.H. 1986. A note on survival of *Salmonellas* during anaerobic digestion of cattle dung. *J. Appl. Bacteriol*, 60:93–96.
- Garcia, J.L., Patel B. and Ollivier B. 2000. Taxonomic, phylogenetic and ecological diversity of methanogenic archaea. *Anaerobe* 6:205–26.
- Ghosh, S. 1997. Anaerobic digestion for renewable energy and environmental restoration. In: *8th International Conference on Anaerobic Digestion.*, Sendai International Center, Sendai, Japan, pp. 9-16.
- Hashimoto, A., Chen, Y., Varel, V. 1981. Theoretical aspects of anaerobic fermentation: state of the art. In: *Livestock waste: a renewable resource. Proceedings of the Fourth International Symposium on Livestock Wastes.* ASAE, St Joseph, Michigan, p. 86–91.
- Herrero, M. A. y Gil, S. B. 2008. Consideraciones ambientales de la intensificación en producción animal. *Ecología Austral.* 18:273-289.
- Hills, D.J. and Nakano, K. 1984. Effects of particle size on anaerobic digestion of tomato solid wastes. *Agricultural Wastes.* Vol. 10. (4):285-295.
- Inche, J. L. 2004. *Gestión de la calidad del aire: causas, efectos y soluciones.* Publicación Lima: Instituto de Investigación de Ingeniería Industrial-UNMSM. 13-14 pp.
- Karim, K., Hoffmann, R., Klasson, K.T., Al-Dahhan, M.H. 2005. Anaerobic digestion of animal waste: effect of mode of mixing. *Water Research* 39:359–606.
- Kim, J., Park, C., Kim, T.H., Lee, M., Kim, S., Kim, S.W., Lee, J. 2003a. Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 95:271–275.

- Kim, M., Gomec, C.Y., Ahn, Y., Speece, R.E. 2003b. Hydrolysis and acidogenesis of particulate organic material in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion. *Environmental Technology* 24:1183–1190.
- Kunte, D.P., Yeole, T.Y., Ranade, D.R. 2004. Two-stage anaerobic digestion process for complete inactivation of enteric bacterial pathogens in human night soil. *Water Science and Technology*, 50:103–108.
- Leena, S. 2003. A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. *Bioresource Technology*, 87:161-166.
- Llabrés, P. and Mata, J. 1987. Kinetic study of the anaerobic digestion of straw-pig manure mixtures. *Biomass* 14: 129-142.
- Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. 1998. *Brock Biología de los microorganismos*. Editorial Prentice Hall. Madrid, España. 986p.
- Mogami, C. A., Souza, C. F., Paim, V. T., Tinoco, I. F., Baeta, F. C., and Gates, R. S. 2006. Methane concentration in biogas produced from dejections of milk goats fed with different diets. Paper no. 064068. ASABE Annual Meeting, Portland, Oregon, July 9–12.
- Monteny, G., Bannink, A., Chadwick, D. 2006. Greenhouse gas abatement strategies for animal husbandry. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 112:163–170.
- Mosey, F. E. 1983. Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. *Water Science Technology*, 15:209-232.
- Mosey, F.E., Fernandes, X.A. 1989. Patterns of hydrogen in biogas from the anaerobic-digestion of milk-sugars. *Water Science and Technology* 21:187– 196.
- Ostrem, K. 2004. Greening waste: Anaerobic digestion for treating the organic fraction of municipal solid waste. M.S. Thesis, Department of Earth and Environmental Engineering, Columbia University, New York, NY.
- Pavlostathis, S.G. and Giraldo, E. 1991. Kinetics of anaerobic treatment. *Water Science and Technology*, 24 (8):35-59.
- Quintero, N. M., y Moncada, A. A. 2008. Contaminación y control de las quemas agrícolas en Imperial, California, y Mexicali, Baja California. *Región y sociedad*. Vol. 20 (43):3-24.
- Romano, R. T. and Zhang R. 2008. Co-digestion of onion juice and wastewater sludge using an anaerobic mixed biofilm reactor *Bioresource Technology*, 99: 631–637.

- Santosh, Y., Sreekrishnan, T. R., Kohli, S., and Rana, V. 2004. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques—A review. *Biores. Technol.* 95:1–10.
- Sharma, K. S., Mishra, M. I., Sharma, P.M., and Saini, S. J. 1988. Effect of particle size on biogas generation from biomass residues. *Biomass*, 17:251-262.
- Siegert, I., Banks, C. 2005. The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochemistry* 40:3412–3418.
- Stams, J.M. 1994. Metabolic Interactions between Anaerobic Bacteria in Methanogenic Environments. *Antonie van Leeuwenhoek.* 66:271-294.
- Tafdrup, S. 1995. Viable energy production and waste recycling from anaerobic digestion of manure and other biomass materials. *Biomass & Bioenergy*, 9:303–314.
- Valdez, V. I. and Poggi, V. H. 2009. Hydrogen production by fermentative consortia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 13:1000–1013.
- Van Horn, H. H., Wilkie, A. C., Powers, W. J. and Nordstedt, R.A. 1994. Components of Dairy Manure Management Systems. *Journal Dairy Science*, 77 (7): 2008-2030.
- Viglizzo, E.F. y Roberto, Z. E. 1997. El componente ambiental en la intensificación ganadera. *Revisión. Arg. Prod. Anim.* 17(3):271-295.
- Vlyssides, A.G., Karlis, P.K. 2004. Thermal-alkaline solubilisation of waste activated sludge as a pretreatment stage for anaerobic digestion. *Bioresource Technology* 91 (2):201–206.
- Wang, G., Gavala, H., Skiadas, I. and Ahring, B. 2009. Wet explosion of wheat straw and codigestion with swine manure: Effect on the methane productivity. *Waste management*, 29:2830-2835.
- Wang, Q.H., Kuninobu, M., Ogawa, H.I., Kato, Y. 1999. Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion. *Biomass & Bioenergy* 16:407–416.
- Zoetemeyer, R.J., Vandenheuvel, J.C., Cohen, A. 1982. pH influence on acidogenic dissimilation of glucose in an anaerobic digester. *Water Research*, 16:303–311.