

**COMPARACION DEL ESTIÉRCOL BUFALINO Y BOVINO COMO POTENCIALES
INÓCULOS EN EL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA**

JESSICA PAOLA BERNAL CALDERÓN

JUAN PABLO OROZCO AGUIRRE

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
ESCUELA DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2019**

**COMPARACION DEL ESTIÉRCOL BUFALINO Y BOVINO COMO POTENCIALES
INÓCULOS EN EL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA**

JESSICA PAOLA BERNAL CALDERÓN

JUAN PABLO OROZCO AGUIRRE

**Trabajo de grado presentado para optar por el título de
INGENIERO AMBIENTAL**

DIRECTORA

ALEXANDRA CERON VIVAS, PhD

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA

ESCUELA DE INGENIERÍAS

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

BUCARAMANGA

2019

NOTA DE ACEPTACION

Presidente del jurado

Jurado Calificador

Jurado Calificador

Floridablanca, Julio 15 del 2019

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos, en primer lugar, a Dios, por las cosas maravillosas que aprendí en este camino que emprendí, por la vida, la naturaleza, la sabiduría, sus bendiciones y por ser el Guía en nuestro camino.

A nuestros padres por sus enseñanzas, confianza, amor, dedicación y apoyo incondicional para alcanzar nuestros sueños y metas.

A nuestros amigos y compañeros de formación, por su ánimo y experiencias vividas en esta bella etapa académica.

A nuestra directora de trabajo de grado, Alexandra Cerón Vivas, por su acompañamiento, recomendaciones y colaboración durante la elaboración del presente proyecto

A Yoguín Villareal, Jonathan Duitama, Naidu Villamizar, Doña Felisa y, por último, pero no menos importante Don Alcides, quienes estuvieron dispuestos a contribuir y participar en todo lo que necesitáramos para la realización del presente proyecto.

A todas las personas que de alguna u otra manera participaron en este proyecto, nuestros más sinceros agradecimientos.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION	10
1. OBJETIVOS.....	12
1.1 OBJETIVO GENERAL	12
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
2. MARCO DE REFERENCIA.....	13
2.1 ANTEDECENTES.....	13
2.2 MARCO TEORICO	15
2.2.1 <i>Estiércol Animal</i>	15
2.2.2 <i>Digestión anaerobia</i>	17
2.2.3 <i>Parámetros ambientales y de control en la digestión anaerobia</i>	22
2.2.4 <i>Modelo de Gompertz</i>	25
3. METODOLOGIA	27
3.1 CARACTERIZACION FISICOQUÍMICA DE LOS INÓCULOS	27
3.2 EVALUACION DE LAS ACTIVIDADES	28
3.2.1 <i>Actividad hidrolítica (AH) y acidogénica (AA)</i>	28
3.2.2 <i>Actividad Metanogénica Específica (AME)</i>	30
3.3. EVALUACION DE LA INFLUENCIA DE LA HUMEDAD.....	31
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4.1 CARACTERIZACION FISICOQUIMICA DE LOS INÓCULOS	33
4.2 EVALUACION DE LAS ACTIVIDADES	35
4.2.1 <i>Actividad hidrolítica (AH)</i>	35
4.2.2 <i>Actividad Acidogénica (AA)</i>	37
4.3 EVALUACION DE LA INFLUENCIA DE LA HUMEDAD SOBRE LA ACTIVIDAD METANOGENICA	38
5. CONCLUSIONES	45
RECOMENDACIONES	46
BIBLIOGRAFIA.....	47
ANEXOS.....	55

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN DE LOS INÓCULOS.	27
TABLA 2. SOLUCIONES ADICIONADAS	28
TABLA 3. DISEÑO EXPERIMENTAL	32
TABLA 4. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LOS INÓCULOS.....	33
TABLA 5. PARÁMETROS MODELO DE GOMPERTZ PARA ESTIÉRCOL DE VACA	40
TABLA 6. PARÁMETROS MODELO DE GOMPERTZ PARA ESTIÉRCOL DE BÚFALO.....	40
TABLA 7. PARÁMETROS MODELO DE GOMPERTZ PARA ESTIÉRCOL DE VACA.....	42
TABLA 8. PARÁMETROS MODELO DE GOMPERTZ PARA ESTIÉRCOL DE BÚFALO	43
TABLA 9. CONSUMO DE SUSTRATO EN AH Y AA	55
TABLA 10. DATOS DE PRESIÓN DE LA PRUEBA AME CON HUMEDAD INICIAL (80% ± 0.5%)	56
TABLA 11. DATOS DE PRESIÓN DE LA PRUEBA AME CON HUMEDAD INICIAL (55% ± 0.5%).....	58
TABLA 12. ABSORBANCIA DE CONCENTRACIONES PARA LA DETERMINACIÓN DE AT	60
TABLA 13. ABSORBANCIA DE CONCENTRACIONES PARA LA DETERMINACIÓN DE AR	61

LISTA DE ILUSTRACIONES

ILUSTRACIÓN 1. ORDEN METABÓLICO Y MICROORGANISMOS PRESENTES EN LA DIGESTIÓN ANAEROBIA.....	17
ILUSTRACIÓN 2. SISTEMA OXI TOP ®	30
ILUSTRACIÓN 3. CONSUMO DE ALMIDÓN EN EL TIEMPO DEL ESTIÉRCOL DE VACA	35
ILUSTRACIÓN 4. CONSUMO DE ALMIDÓN EN EL TIEMPO DEL ESTIÉRCOL DE BÚFALO	35
ILUSTRACIÓN 5. CONSUMO DE GLUCOSA EN EL TIEMPO DEL ESTIÉRCOL DE VACA	37
ILUSTRACIÓN 6. CONSUMO DE GLUCOSA EN EL TIEMPO DEL ESTIÉRCOL DE BÚFALO.....	37
ILUSTRACIÓN 7. VOLUMEN ACUMULADO DE METANO EN ESTIÉRCOL DE VACA SIN SECAR.....	39
ILUSTRACIÓN 8. VOLUMEN ACUMULADO DE METANO EN ESTIÉRCOL DE BÚFALO SIN SECAR	39
ILUSTRACIÓN 9. PORCENTAJE DE HUMEDAD CONTENIDO EN EL ESTIÉRCOL EXPUESTO A DIFERENTES TIEMPOS DE LUZ SOLAR.	41
ILUSTRACIÓN 10. VOLUMEN ACUMULADO DE METANO EN ESTIÉRCOL DE VACA CON SECADO ..	41
ILUSTRACIÓN 11. VOLUMEN ACUMULADO DE METANO EN ESTIÉRCOL DE BÚFALO CON SECADO	42
ILUSTRACIÓN 12. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE AT.....	60
ILUSTRACIÓN 13. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE AR	61

RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

TITULO: COMPARACIÓN DEL ESTIÉRCOL BUFALINO Y BOVINO COMO POTENCIALES INÓCULOS EN EL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA

AUTOR(ES): JESSICA PAOLA BERNAL CALDERÓN
JUAN PABLO OROZCO AGUIRRE

PROGRAMA: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR(A): ALEXANDRA CERÓN VIVAS

RESUMEN

La Digestión anaerobia (DA) se utiliza para la degradación de la materia orgánica por parte de varios grupos de microorganismos metanogénicos. La finalidad de este estudio fue comparar el estiércol bufalino y bovino como inóculo, recolectando las muestras de fincas ganaderas en el municipio de puerto Wilches Santander, en la cual se evaluaron las características fisicoquímicas y las actividades hidrolítica, acidogénicas y metanogénicas a través del tiempo. La caracterización de las propiedades fisicoquímicas demostró que el estiércol de vaca tiene unas mejores condiciones respecto al estiércol de búfalo para un tratamiento de digestión anaerobia debido a que en la relación SV/ST tiene mayor presencia de biomasa microbiana y la relación C/N es más alta, así como también un rendimiento mayor en las actividades hidrolíticas y acidogénicas. La actividad metanogénica se evaluó a través de un diseño experimental factorial 2², evaluando el tipo de estiércol y el porcentaje de humedad, donde se obtuvieron como primeros resultados valores de 80,1% para búfalo y 83,7% para vaca. Posteriormente se sometieron a una disminución del porcentaje de humedad a través del secado solar con valores entre 50-60% de humedad, en la que se aumentó significativamente la producción de metano acumulado.

PALABRAS CLAVE:

Inóculo, Estiércol, Vaca, Búfalo, Digestión Anaerobia, Actividad Metanogénica, SV/ST, C/N

V° B° DIRECTOR DE TRABAJO DE GRADO

GENERAL SUMMARY OF WORK OF GRADE

TITLE: COMPARISON OF THE BUFALINE AND BOVINE STIERCOL AS INOCULAR POTENTIALS IN THE ANAEROBIA DIGESTION PROCESS

AUTHOR(S): JESSICA PAOLA BERNAL CALDERÓN
JUAN PABLO OROZCO AGUIRRE

FACULTY: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR: ALEXANDRA CERÓN VIVAS

ABSTRACT

Anaerobic Digestion (DA) is used for the degradation of organic matter by several groups of methanogenic microorganisms. The purpose of this study was to compare buffalo and bovine manure as an inoculum, collecting samples from livestock farms in the municipality of Puerto Wilches Santander, in which the physicochemical characteristics and hydrolytic, acidogenic and methanogenic activities were evaluated over time. The characterization of the physicochemical properties showed that cow manure has better conditions compared to buffalo manure for anaerobic digestion treatment because in the SV / ST ratio it has a greater presence of microbial biomass and the C / N ratio is more high, as well as greater performance in hydrolytic and acidogenic activities. Methanogenic activity was evaluated through a 22 factorial experimental design, evaluating the type of manure and the percentage of humidity, where values of 80.1% for buffalo and 83.7% for cow were obtained as first results. Subsequently they underwent a decrease in the percentage of humidity through solar drying with values between 50-60% humidity, in which the accumulated methane production was significantly increased.

KEYWORDS:

Inoculum, Manure, Cow, Buffalo, Anaerobic Digestion, Methanogenic activity, SV/ST, C/N

V° B° DIRECTOR OF GRADUATE WORK

INTRODUCCION

En las últimas décadas, el mundo se ha encontrado en un constante y acelerado crecimiento en aspectos como tecnología, industria, economía y población, esta última, como consecuencia ha ocasionado el aumento de la demanda alimentaria y energética, por este motivo, el sector ganadero ha recurrido al crecimiento proporcional de su infraestructura y producción, para cubrir las necesidades en cárnicos y lácteos a nivel mundial, especialmente a los países que se encuentran en vía de desarrollo. El impacto de este incremento en la población ganadera se refleja en la calidad ambiental, debido al deterioro que estas llegan a ocasionar por acciones como el pastoreo extensivo y la liberación de emisiones de gas metano a la atmosfera (Mattews, 2010)

Con referencia a lo anterior, según FAO (2019) se estima que, en el mundo, el comercio internacional de carne es de 9 millones de toneladas creciendo anualmente un 3%, esta población se encuentra distribuida en granjas alrededor del mundo, países como Brasil, EE UU, Australia poseen el mayor porcentaje de granjas pecuarias en su territorio (Agronoma, 2018). Por lo anterior, es correcto afirmar que, el sector ganadero a nivel mundial tiene una alta generación de biomasa, ya sea como producto de la descomposición de residuos vegetales o de estiércol de ganado; las granjas de estos países hacen uso de las heces animales para fines aprovechables como la elaboración de productos como el abono (Rivera, 2017). Es bien sabido que los desechos animales pueden ser utilizados como inóculo en la tecnología de digestión anaerobia, sin embargo, la adaptación de estiércol como inóculo en los procesos anaerobios depuradores de aguas o la producción de biogás aún se encuentra en fases de desarrollo para su adaptación y beneficio en la gran industria. Actualmente, el tratamiento biológico con lodos activados es comúnmente el más utilizado para la depuración aerobia de aguas residuales, debido a las características fisicoquímicas y bacterianas favorables de este fango (Camacho, Villada & Hoyos, 2017).

En Colombia, el uso de estiércol animal en el proceso anaerobio se encuentra aún en pequeña escala. A pesar de que este país cuenta con un potencial agropecuario, gracias a las características únicas de terreno y diversidad de pisos térmicos, que proporciona grandes terrenos ideales para el desarrollo pecuario, esta tecnología aun no es llevada a su máximo beneficio. Se estima según el censo realizado por el Instituto Colombiano Agropecuario en el año 2018, que la población bovina en el país está distribuida en 599.953 predios y constituida aproximadamente por 26'367.814 animales, ubicados principalmente en los departamentos de Antioquia (11,52%), Córdoba (8,12%), Casanare (7,56%), Meta (7,39%), Caquetá (6,86%), Santander (6,05%), Cundinamarca (5,39%), Cesar (5,37%), Magdalena (5,16%) y Boyacá (4,45%) que agrupan el 67,87% de la población total nacional y con una población bufalina de 336.417 animales distribuidos en 2.319 predios. Esta población de búfalos se concentra principalmente en los departamentos de Córdoba (26,55%), Antioquia (16,61%), Santander (13,84%), Magdalena (7,51%) y Bolívar (7,34%) que agrupan el 71,84% de la población nacional

(Instituto Colombiano Agropecuario, 2018). A pesar de la gran población ganadera que se tiene en Colombia, solo el 1% hace uso aprovechable del estiércol en procesos anaerobios (Venegas, 2017).

Es así por lo que, investigadores han asumido este problema con estudios para determinar el uso productivo de diferentes tipos de estiércol en los procesos anaerobios, esto con el fin de, iniciar un cambio progresivo en alternativas como la producción de energía a partir de biogás o la depuración de aguas y así avanzar en la disminución del gran número de impactos ambientales globales que genera el sector ganadero.

Teniendo en cuenta lo anterior, en este estudio se pretende evaluar el estiércol bovino y bufalino como potenciales inóculos en el proceso de digestión anaerobia.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar el estiércol bufalino y bovino como potenciales inóculos en el proceso de digestión anaerobia.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar las características fisicoquímicas del estiércol del ganado bufalino y ganado bovino utilizados en las pruebas de la digestión anaerobia.

Evaluar las actividades hidrolíticas y acidogénica del estiércol del ganado bufalino y bovino.

Analizar la influencia de la humedad sobre la actividad metanogénica del estiércol del ganado bufalino y bovino.

2. MARCO DE REFERENCIA

2.1 ANTEDECENTES

Diferentes estudios e investigaciones han surgido a lo largo de los últimos años sobre digestión anaerobia con biomasa como potencial bioenergético, debido a el evidente aumento poblacional, el crecimiento de la demanda de energías por parte de la humanidad, el déficit energético y el inminente cambio climático. Países como India buscan soluciones alternativas de bioenergías, ya que las opciones energéticas como la solar e hidroeléctrica requieren más capital de inversión y producción por unidad, en comparación a la digestión anaerobia. Este país al ser principalmente rural contiene una elevada producción de biomasa de residuos dentro del cual está el estiércol. (Rao, Baral, Dey, & Mutnuri, 2010)

Cuaila et al., (2012) aplicaron nuevas tecnologías como tratamiento ecológico en el aprovechamiento de residuos sólidos agroindustriales, utilizando como inóculo estiércol porcino en condiciones mesofílicas. Durante el mismo año, se realizaron otros estudios en donde se evaluó la producción de biogás a partir de la digestión anaerobia de café utilizando lodo y estiércol de cerdo como inóculo. En ambos estudios se demostró la viabilidad del inóculo porcino utilizado en digestores que traten anaeróbicamente estos residuos agroindustriales y garanticen la producción de biogás. (Cuaila, Coaquira, Perez, & Cabanillas, 2012)

A medida que se fueron presentando los avances, para el 2015 se realizó una investigación en Irán sobre el potencial de producción de biogás a partir de estiércol de ganados en diferentes granjas de vacas del país. Este estudio se fundamentó en que cada tipo de estiércol animal tiene un potencial específico en la producción de metano, donde la cantidad de un kilogramo de estiércol vacuno produce entre 0.26–0.28 m³ de biogás que tiene 50–60% (0,14 m³/kg) de metano y el resto en CO². Además, también contemplaron variables como el peso del animal en kilogramos y parámetros que afectan el proceso de digestión anaerobia. (Noorollahi, Kheirrouz, Farabi-Asl, Yousefi, & Hajinezhad, 2015)

Entre los parámetros que afectan directamente el rendimiento de la reacción en la digestión anaerobia está el pH y diferentes variables. Zhai et al., (2015) evaluaron los efectos del pH en la codigestión anaerobia de residuos de cocina con estiércol de vaca; se analizaron las variaciones de pH alcalinidad, ácidos grasos volátiles y nitrógeno amoniacal total (NH₄⁺-N), encontrando que para un pH inicial de 7,7 se alcanzaba el máximo potencial de producción de metano. (Zhai et al., 2015)

En Colombia un estudio sobre evaluación de la mezcla de inóculos como estrategia de mejoramiento de la digestión anaerobia mostró que la adición de nutrientes a los inóculos mejoró la actividad enzimática de los microorganismos y proporcionó una estabilidad del

sistema, evidenciado una recuperación más rápida del pH con un aumento en la producción de metano. (Angulo & Loaiza, 2016)

A nivel global el incremento de granjas lecheras de última generación ha causado un incremento en la acumulación masiva de estiércol, generando impactos de gran medida a medios ambientales como el agua, aire y el suelo. El estiércol de vaca digerido anaeróbicamente es rico en amonio, ortofosfatos y magnesio. La gran producción de este ha generado gran interés a nivel mundial, el cual ha iniciado muchas investigaciones y estudios, buscando tecnologías para actualizar sus planes de manejo de estiércol y convertir en un producto valioso como el biogás. (Tao, Fattah, & Huchzermeier, 2016)

Tasnim et al., (2017) evaluaron el estiércol de vaca como inóculo en la digestión anaerobia termófila de residuos sólidos urbanos. Los parámetros medidos sugieren que la mezcla de sustratos sufrió una acumulación excesiva de ácidos grasos volátiles, lo que indica que el residuo requiere niveles mayores de inoculación. Finalmente concluyen que el sustrato que no presenta variaciones de comportamiento al incorporarse con el inóculo es el CaCO_3 , lo que lo hace más práctico para el desarrollo de dicha práctica experimental.

Por otro lado, una investigación realizada por Luo et al., (2018) sobre la codigestión del sustrato de hongos gastados y el estiércol dio como resultado un rendimiento de metano más alto que en digestión por separado, utilizando diferentes proporciones de mezcla de sustratos se muestra un rendimiento de metano del 6 al 61% en rangos de pH de 6.8 a 8.0, el estudio demostró que adicionando un sustrato aumenta la capacidad de amortiguamiento.(Luo et al., 2018)

Por último, para el 2018 se investigó sobre la alimentación del ganado vacuno en la producción de metano, la cual demostró que no influye en la excreción de N y producción de metano (CH_4) de las vacas lecheras. De acuerdo con este estudio, se realizaba una inclusión de habas en las dietas alimenticias de las vacas lecheras para estudiar su efecto en la digestión, rendimiento de la leche, producción de metano, entre otras variables. (Cherif et al., 2018)

2.2 MARCO TEORICO

2.2.1 Estiércol Animal

El estiércol o boñiga es el nombre común de las excreciones animales, está compuesto principalmente por ureas y heces de animales domesticados como perros, gatos, vacas, cerdos etc. El estiércol contiene una significativa abundancia en elementos de forma orgánica como lo son el nitrógeno, potasio y fósforo además de poseer un alto contenido de materia orgánica. Sus usos son principalmente dirigidos en la fertilización de suelos, aportando un incremento en la fertilidad y el mejoramiento de la capacidad de absorción y retención de agua. Los estiércoles son la alternativa que se usa para evitar gastos en fertilizantes sintéticos (Román, Martínez, & Patoja, 2013).

La biomasa residual proveniente de los estiércoles animales posee características particulares, en primer lugar, contienen una alta humedad que disminuye su potencial energético, por otro lado, se fermenta con mucha facilidad, siendo liberados gases y compuestos orgánicos volátiles. Otro rasgo es que el contenido de nitrógeno y el fósforo se encuentra en concentraciones elevadas y finalmente, la obtención de esta biomasa varía dependiendo el sector productivo. (Hernández, Prada, Zapata, Cardona, & Duarte, 2011)

El estudio del potencial energético de estiércoles está siendo estudiado ampliamente, con el fin de explorar alternativas energéticas a largo plazo en países asiáticos con alta demanda energética (Bhattacharya et al., 2005; Ravindranath et al., 2005)

Finalmente, el estiércol de vaca y búfalo generan 53.29 y 80.45 mm³ año⁻¹ en biogás y un potencial energético en julios de 3.07 y 1.61, respectivamente (Junfeng et al., 2005), el valor calorífica del estiércol de vaca y búfalo valor de ±20 MJ/kg lo hace un posible fuente de producción de energía (Tsai & Liu, 2016).

2.2.1.1 Estiércol de Vaca

El *Bos Taurus* o vaca doméstica es un mamífero de pastoreo que se encuentra establecido en gran parte de países del mundo (Nowak, 1999). La dieta de las vacas rumiantes está conformada por varias especies herbáceas, son capaces de ingerir diariamente 70 kg de estas en un día y gracias a las bacterias presentes en su aparato digestivo aprovechan al máximo los nutrientes que el pasto les ofrece (Walker, F., Hamlet, Lange, & Uible, 1975)

La biomasa residual bovina presenta valores de humedad entre 71,08 y 88,96% p/p materia orgánica entre 60,81 y 76,75% y una relación C/N entre 16,69 a 32,44 la cual es influenciada por factores en el animal como la fisiología digestiva, etapas de crecimiento, dieta, entre otras. Así mismo estas excretas contienen grasas, carbohidratos y proteínas que favorecen a las bacterias anaerobias (Hernández et al., 2011). La composición elemental de este estiércol se presenta con un porcentaje de C 43%, H 5.45%, N 0.84%,

S 0 % y O 54 % así como elementos inorgánicos de Si, Ca, P, K, Mg, Fe con 2.17%, 1%, 0.7%, 0.5%, 0.4%, 0.1% respectivamente (Tsai & Liu, 2016).

Estudios realizados por Marsh et al., (2005), reportan que la media de excreta animal por año es 2,120 kg y estima un valor de 38,7 kg de estiércol por animal y día. El poder calórico inferior PCI es una medida que indica el poder energético de un combustible, conocer este valor establece si una biomasa puede usarse como combustible (Hernández et al., 2011). De acuerdo con la biomasa residual, bovinos con mayor PCI pertenece a vacas de carne con 3.783 Kcal/kg y los menores corresponden a reses productoras de leche con 2.801 Kcal/kg (Centroamérica-BUN-CA, 2002).

2.2.1.2 Estiércol de búfalo

El *bubalus bubalis* o búfalo de agua es un mamífero también rumiante de diferentes especies vegetales como pastos y plantas acuáticas, siendo su dieta primaria primordialmente herbívora (Lekagul & McNeely, 1988; Macdonald, 2007). Es originario de Asia específicamente India, Nepal, Tailandia, Vietnam y Malasia, pero fue introducido a partes de América del Sur y Mediterráneo por su forzada domesticación (Gurung, 1996).

Para el estiércol de búfalo algunas características evaluadas por Ghimire et al., (2017) evaluaron algunas características obteniendo valores de pH de 8,05, porcentaje de sólidos de 5,67 y sólidos volátiles de 42,17 (g/L) además de contener 1,99 de nitrógeno total kjendahl (gNTK/L) y alcalinidad de 4,37 g/L.

Por otra parte, el estiércol de búfalo evaluado por otros autores contiene los siguientes porcentajes de elementos: N 0.6%, C 30.14%, O 29.34%, H 4.55% relación C/N de 15 e inorgánicos Si 1.1%, Ca 0.4%, P 0.3%, K 0,7% y Mg 0.2%. (Ngo et al., 2013; Tsai & Liu, 2016)

2.2.1.3 Estiércol animal como inóculo en la digestión anaerobia

Hoy en día los reactores anaerobios de segunda y tercera generación requieren biomasa residual con una muy buena actividad metanogénica. Según Field (1987) y Osorio y Segura (2013) la actividad metanogénica específica varía de acuerdo al inóculo, encontrándose valores para lodo granular entre 0,5-1,5 gCH₄-DQO/g SSV.d y para el estiércol digerido y el fresco entre de 0,02-0.08 y 0,001-0,002 gCH₄-DQO/g SSV.d respectivamente.

El potencial de rendimiento de metano del estiércol de vaca es notablemente afectado por las fracciones líquido/sólido del estiércol siendo fracciones óptimas para el rendimiento de producción de metano de 90/10 p/p con 349 ml CH₄ gVS⁻¹ (Figueroa-gonzalez & Quijano, 2016). Por otra parte, el potencial de rendimiento de metano para el

estiércol de búfalo alcanza en estudios de 340.4 mL CH₄ g VS⁻¹ y requiere de mucho más días para alcanzar la máxima producción metanogénica (Sun, Cao, & Liu, 2015)

2.2.2 Digestión anaerobia

La Digestión anaerobia (DA) es un proceso bioquímico complejo, este consiste en la degradación de la materia orgánica por parte de varios grupos de microorganismos metanogénicos, estos utilizan residuos como sustrato para producir biogás y así convertir gran diversidad de residuos vegetales, papeleros, químicos estiércoles entre otros (PNUD, FAO, GEF, 2011).

Este proceso cuenta con cuatro etapas (Ilustración 1), las cuales son la hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Al comenzar la DA las proteínas, carbohidratos y lípidos se hidrolizan gracias a microorganismos fermentativos con el fin de obtener compuestos más sencillos, que son solubles de metabolizar como son los azúcares, ácidos grasos de cadena larga y aminoácidos, estos componentes son metabolizados por bacterias acidogénicas dando como productos ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, H y CO₂. Las bacterias acetogénicas convierten los ácidos grasos volátiles (AGV) en productos como el ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono que es utilizado por los microorganismos metanogénicos para producir metano CH₄ y otros gases como el CO₂ (Angulo & Loaiza, 2017).

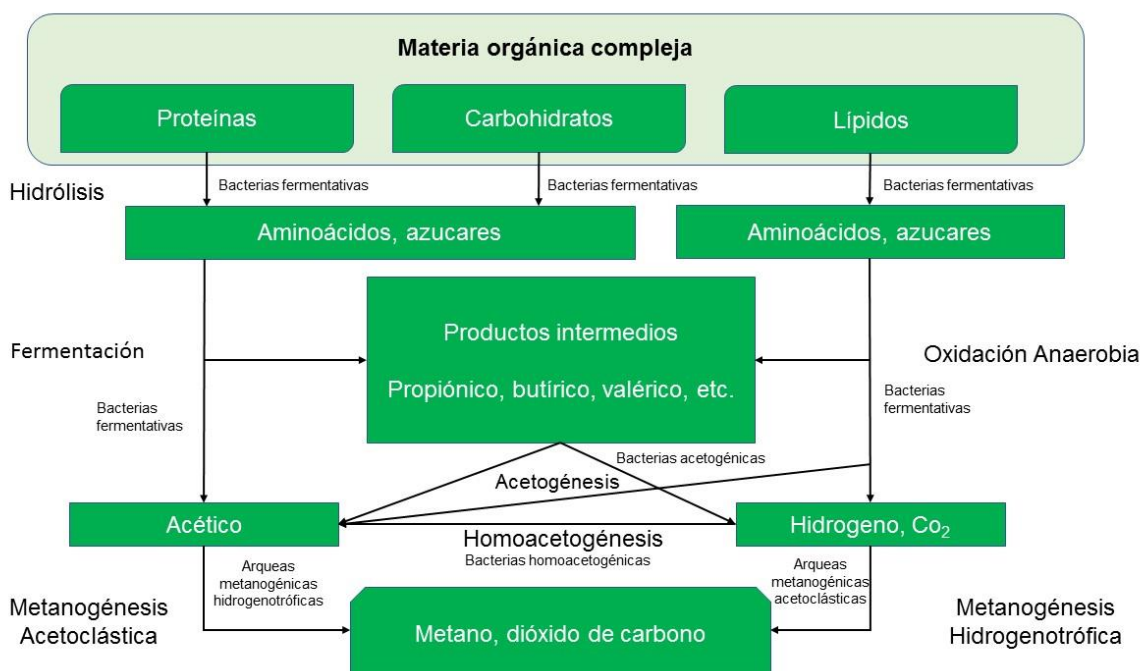


Ilustración 1. Orden metabólico y microorganismos presentes en la digestión anaerobia

Adaptado de: Campos, 2001.

2.2.2.1 Biogás

El biogás producto de la DA es una mezcla de gases e impurezas, principalmente se encuentra constituido de metano CH₄ en un 55-70%, dióxido de carbono entre 30-45% y elementos trazas de diferentes gases. Entre las propiedades del biogás a concentraciones de metano superiores al 45%, se tiene contenido energético de 6,5 kWh m⁻³, densidad normal y molar de 1,2 kg m⁻³ y 16.043 kg kmol⁻¹ respectivamente. Adicionalmente, puede alcanzar un equivalente de combustible de hasta 0.65 L petróleo/m³ biogás (Deublein & Steinhauser, 2008). Por otro lado, el biogás generado durante la DA generalmente contiene diferentes compuestos contaminantes que dificulta el manejo y su óptimo aprovechamiento (PNUD, FAO, GEF, 2011).

2.2.2.2 Hidrólisis

Como primer paso en la digestión anaerobia, la hidrólisis es el proceso en el cual se descomponen en monómeros sencillos los polímeros complejos de la materia orgánica. Durante esta etapa microorganismos por medio de enzimas como la lipasa, proteasa y amilasa convierten los carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos y proteínas en compuestos simples como la glucosa, glicerol, purinas y piridinas (Seadi et al., 2008).

Existen gran variedad de cepas bacterianas involucradas en esta fase, como se mencionaba anteriormente estas deben ser capaces de romper moléculas complejas a compuestos más sencillos. Entre los microorganismos capacitados para esta labor se encuentran las bacterias anaerobias facultativas dentro de las cuales están las familias de Enterobacteriácea, y géneros como *Bacillus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Micrococcus* y *Clostridium*. (Osorio Arce & Segura Correa, 2013).

2.2.2.2.1 Actividad hidrolítica (AH)

La AH, analiza y hace un seguimiento a través del tiempo del comportamiento microbiano en los procesos de degradación de macromoléculas complejas, el almidón como sustrato se utiliza para medir la velocidad de consumo durante esta prueba. El ensayo para medir la AH deberá tener las condiciones óptimas de una concentración de sustrato de 1.5g DQO/L, concentración de inóculo mayor a 1SSV/L, pH entre 7-7,5 buena homogenización, temperatura y sellado hermético (Porrier, 2005).

Por otra parte, la influencia de parámetros como pH y temperatura en las enzimas bacterianas de la actividad hidrolítica pueden afectar o beneficiar. Según Shakir et al., (2013) la mayor actividad se presenta a valores de pH 7,5 y temperaturas entre rangos de 25 a 80°C.

La concentración de sustrato y microorganismos presente en el ensayo durante el tiempo de la actividad, se encuentra relacionada mediante la ecuación 1 (Soto, Méndez, & Lema, 1993).

$$AC = \frac{1}{X_0} * \frac{-d_s}{dt} \quad (Ec 1)$$

Donde:

Ac = actividad hidrolítica (expresada en consumo específico del sustrato) (gDQO/gSSV.d).

X₀ =Concentración microbiana inicial (gSSV/L).

S =Concentración limitante de sustrato (gDQO/L).

t =Tiempo (d).

2.2.2.3 Acidogénesis

La etapa fermentativa o acidogénesis utiliza moléculas orgánicas que fueron hidrolizadas y transformadas en solubles para producir ácidos orgánicos, alcoholes, acetatos, CO₂ y H₂. La finalidad de la etapa además de proveer el suministro alimenticio a bacterias de posteriores etapas es también, eliminar trazas de oxígeno disuelto en el sistema (PNUD, FAO, GEF, 2011).

La variedad microbiana en esta etapa se encuentra conformada por *Clostridium*, *Lactobacillus* y *Bacillus*, que son designadas como bacterias productoras de ácidos (Osorio Arce & Segura Correa, 2013).

2.2.2.3.1 Actividad Acidogénica (AA)

Se utiliza primordialmente la glucosa para evaluar y determinar el comportamiento de la AA durante un tiempo determinado, evaluar el consumo de glucosa por parte de los microorganismos presentes en el proceso anaerobio permite el estudio específico de esta fase (Palomino et al., 2016)

El monitoreo de la estabilidad del sistema en esta fase es recomendable, debido a que se tiende a la acidificación del medio, afectando directamente la metanogénesis, el uso de soluciones tampón evita este cambio de pH (P Torres; A, 2010)

Según Soto et al., (1993) el montaje para determinar la actividad debe tener una concentración de sustrato de 1.5g/L, una cantidad de inóculo recomendada de 0.225gSSV/L para cultivos de bacterias y para lodos anaerobios una concentración mínima de 0.5gSSV/L

El cálculo de la actividad acidogénica se realiza mediante la ecuación 2 0

$$Ac = \frac{\left(-ds/dt\right)}{X_0} \quad (Ec\ 2)$$

Donde:

Ac = La actividad acidogénica (gDQO/gSSV.d)

X₀= Concentración microbiana inicial (gSSV/L)

S = Concentración limitante del sustrato (gDQO/L)

t = Tiempo (d)

2.2.2.4 Acetogénesis

Las bacterias acetogénicas, realizan una transformación metabólica de los productos resultantes de la acidogénesis, convirtiéndolos en compuestos sencillos como el acetato e hidrógeno. Con el objetivo de facilitar el metabolismo de las bacterias metanogénicas, microorganismos consumidores de hidrógeno, intervienen en esta etapa, para facilitar una favorable conversión del acetato a metano por parte de las bacterias metanogénicas, el hidrogeno deberá reducirse y encontrarse a presiones bajas para que se cumplan las condiciones óptimas pero a cambio de un consumo energético mayor y problemas en el proceso acetogénico (Blanco, 2011; B. Parra, 2013)

Los microorganismos presentes en esta fase deberán oxidar productos como el propionato y el butirato a acetatos, estos se denominan acetógenos productores obligados de hidrógeno, utilizando la acetogénesis como principal proceso metabólico. Entre las bacteria conocidas capaces de degradar ácidos grasos volátiles se encuentran *Syntrophomonas sapovorans* , *Syntrophobacter wolinii*, *Syntromonas wolfei*, *Syntrophospira bryantii*, *Clostridium aceticum*, *Clostridium formicoaceticum* y *Acetobacterium woodii* y *Syntrophus buswellii* (Osorio Arce & Segura Correa, 2013).

2.2.2.5 Metanogénesis

El paso final de la digestión anaerobia es la metanogénesis, este proceso está encargado por las bacterias metanogénicas que utilizan sustratos monocarbonados como el acetato, H₂, CO₂, metanol y formiato para la formación de metano (Antonio & Aguilera, 2017).

Existen dos tipos de metanogénesis: la hidrogenotrofica y la acetoclástica que se encargan del 30 y 70%, respectivamente, de la producción principal de biogás en la DA,

la diferencia notable de estas dos reacciones es la velocidad con la que producen dicho gas, siendo la primera más rápida y la segunda más lenta (Campos, 2001; Orozco, 2014)

2.2.2.5.1 Actividad metanogénica específica (AME)

La AME es el procedimiento por el cual se cuantifica la producción de metano producida por bacterias anaerobias en la DA, esta prueba a escala de laboratorio permite establecer la máxima capacidad de conversión del sustrato a gas metano, la aplicación de la AME es muy ventajosa cuando se requiere comparar entre dos tipos diferentes de procesos anaerobios (Chernicharo, 2007).

Existe gran variedad de métodos para medir la producción de metano en el DA, se tienen métodos convencionales y no convencionales, como por ejemplo cromatógrafo de gases o mediciones volumétricas. Se debe tener en cuenta que todos los métodos contienen protocolos diferentes para su correspondiente estudio y seguimiento (Lopez, 1999).

Para medir eficazmente la AME se deben tener en cuenta parámetros como la concentración del inóculo, el sustrato, la cantidad de nutrientes, la temperatura de incubación y el tipo de sustrato.(Soto et al., 1993).

De acuerdo a Porrier (2005) , para el procedimiento y operación del montaje se debe tener en cuenta diferentes condiciones como: concentración de ácidos grasos volátiles (ácido acético, propiónico y butírico) de 1,0 g/L; 0,5 g/L y 0,5 g/L respectivamente, concentración mínima de inóculo de 0.8 gSSV/L, periodo de 30 días de medición, temperatura de 37°C de incubación, soluciones de nutrientes, pH de 7, burbujeo con gas N₂, sellado hermético y solución tampón de bicarbonato NaHCO₃/L y reductora de Na₂S·9H₂O/L.

Para determinar el valor de la AME se utiliza la ecuación 4, de acuerdo con el consumo de sustrato y la ecuación 3, para la producción de metano.

$$AC = \frac{-d_v \text{CH}_4 / d_t}{X_0 V_r f_1} \quad (Ec 3)$$

Donde:

Ac = Actividad metanogénica (gDQOch₄/gSSV.d)

V_{CH₄} = Producción de metano que se acumula (ml)

X₀ = Concentración limitante de sustrato (gDQO/L)

t = Tiempo (d)

V_r =Volumen útil del reactor (L)

f₁ = Factor de conversión (DQO/mlCH₄)

2.2.3 Parámetros ambientales y de control en la digestión anaerobia

2.2.3.1 Temperatura

Un factor para tener en cuenta en la DA es la temperatura, los procesos bioquímicos de microorganismos son afectados debido a sensibilidad enzimática por ciertos valores de temperatura, muchos grupos microbianos son inhibidos de su crecimiento celular máximo a causa de la gran variedad de temperaturas óptimas que todos estos poseen. Por esta razón, la temperatura es fundamental ya que controla la rapidez y progreso de la DA (Antonio & Aguilera, 2017).

Existen dos rangos de temperatura que ocurren en la DS, la mesófila y la termófila; estos rangos se encuentran entre 25-45°C y 45°C y 65°C, respectivamente, siendo la mesófila la más común en uso industrial por sus ventajas de operación (Campos, 2001; Helguero, Lautaro, Peña, & Hernani, 2018). Sin embargo se considera entre 35 y 55°C las temperaturas óptimas para una buena producción de metano (Angelidaki, Ellegaard, & Ahring, 2003)

2.2.3.2 pH

El proceso anaerobio depende principalmente de encontrar el equilibrio del pH, la actividad microbiana se desarrolla prósperamente en entornos neutros ya que, a valores menores de 4 y mayores de 9,5, generan un desequilibrio a el sistema y cambios en la población microbiana por su sensibilidad enzimática a los cambios de pH (Porrier, 2005)(Madigan, Martinko, & Parker, 2006).

Este parámetro indica principalmente si el sistema se encuentra funcionando correctamente, los pH inferiores a 6,2 exterminan a los microorganismos metanogénicos y hacen imposible la generación del biogás. (Rodríguez, 2010)

2.2.3.3 Alcalinidad

La capacidad buffer es como también se conoce el parámetro de la alcalinidad, brinda al sistema la capacidad de resistir cambios bruscos de iones de hidrógeno producto de la producción de ácidos grasos volátiles. El ion bicarbonato genera una capacidad tampón para facilitar los pH neutros en la DA y beneficiar la elaboración de metano por parte de lo microorganismos. (B. Parra, 2013; Pérez & Torres, 2011).

α y AI/AP son índices de control de la alcalinidad que se deben tener presentes en la digestión anaerobia. α es la relación que existe entre la alcalinidad bicarbonática y la alcalinidad total, valores de 0,5 en etapas iniciales y 0,7 en condiciones normales, son recomendados para este índice. El índice AI/AP es la relación entre la alcalinidad debida a los ácidos grasos volátiles y la alcalinidad bicarbonática; si el valor supera a 0,3, durante el proceso se presentarán dificultades del sistema. (Cárdenas & Vásquez, 2014)

La alcalinidad debe mantenerse por encima de 2500mg/L, con esto se asegura estabilidad del sistema (Fannin, 1897). Seguimiento y evaluación de pH, alcalinidad y ácidos grasos volátiles durante la digestión anaerobia proporcionará un control y evitará la acidificación para el buen funcionamiento de la digestión anaerobia (A. Parra, Torres, & Vásquez, 2016)

2.2.3.4 Humedad

La humedad tiene una alta relación con la digestión anaerobia, contenidos altos de humedad, superiores a 60%, favorecen la etapa de hidrólisis por parte de los microorganismos, el problema radica que porcentajes altos de humedad inhibe la producción de ácidos grasos volátiles, interrumpiendo las siguientes etapas del proceso anaerobio (G. I. González, Rustrián, & Houbron, 2008)

De acuerdo con Buenrostro, Cram, Bernache, & Bocco (2000), para que el proceso de digestión anaerobia sea eficiente en la degradación biológica es recomendable que los valores de humedad estén entre 50 y 70%.

2.2.3.5 Agitación

Una buena homogenización permite un rendimiento mayor en la digestión anaerobia, al tener contacto la biomasa microbiana con los sustratos garantiza una buena degradación biológica, la agitación permite una temperatura uniforme dentro de los sistemas anaerobios así como también, este parámetro evita la acumulación de ácidos grasos volátiles y sustratos dentro del sistema (Aquino, Chernicharo, Foresti, Santos, & Monteggia, 2007; B. Parra, 2013)

Es recomendable que la agitación sea intermitente, esto evitará que se rompa el floc microbiológico e interrumpa la actividad enzimática (Souto, Aquino, Silva, & Chernicharo, 2010)

2.2.3.6 Nutrientes

Los nutrientes son básicos para el adecuado crecimiento de las bacterias, sin embargo, dentro de la digestión anaerobia no se requieren altas demandas nutricionales por parte de estas (Osorio Arce & Segura Correa, 2013). Entre los macronutrientes más representativos para las bacterias se encuentran: carbono, nitrógeno, fósforo, potasio y azufre; los micronutrientes necesarios son: cobalto, cobre, hierro, molibdeno, níquel, selenio, tungsteno y zinc. (Speece & Takashima, 1987).

Por otra parte, la presencia de macronutrientes como el nitrógeno y fósforo mejora la eficacia de la actividad bacteriana en cambio, el exceso de amonio crea toxicidad en el medio, provocando una inhibición de crecimiento a las bacterias productoras de metano (Field, 1987; Zehnder, 1988).

2.2.3.7 Inhibidores del proceso

Existen gran cantidad de compuestos que influyen directamente en la DA, imposibilitando el correcto crecimiento microbiano y por ende el proceso de generación de metano, siendo la concentración de los compuestos el factor que determina si la sustancia es toxica (Campos, 2001).

A continuación, se presentan los inhibidores más frecuentes que afectan la DA.

➤ Nitrógeno amoniacal

Durante las etapas de la digestión anaerobia el nitrógeno se reduce en las formas de ion amonio y amoniaco libre NH_3 , la concentración está determinada por el pH, una reducción de los valores genera un aumento de generación de iones. El nitrógeno afecta bien sea positiva o negativamente a los sistemas anaerobios, ya que, los microorganismos usan el nitrógeno como fuente de nutrientes (Gerardi, 2003)

Valores de amoníaco-N entre 50 a 100 mg/L resultan beneficiosos y toleradas por las bacterias formadoras del metano, una aclimatación de las bacterias no genera problemas adversos a concentraciones máximas de 1000 mg/L de amoniaco-N, si las concentraciones son mayores tendrá efectos inhibidores, si llegara a superar los 3000 mg/L el sistema anaerobio tiende al inminente fallo (Gerardi, 2003; McCarty, 1964).

➤ Ácidos grasos volátiles y Ácidos grasos de cadena larga

Los ácidos grasos y el proceso anaerobio están altamente relacionados, estos realizan un seguimiento por las etapas de las DA controlando eventualidades de cambios en el sistema. (Ahring, 1995).

Concentraciones de ácidos grasos de cadena corta como los son el acético, butírico y propionato, disminuye la alcalinidad y provoca una caída de pH, en el caso del propionato a valores menores de 5mg/L produce una toxicidad en el medio. Por otra parte, los ácidos de cadena larga como el cáprico, caprílico, láurico, mirístico y oleico a concentraciones mayores de 500 g/L producen daños en la pared celular, causando una inhibición por la toxicidad (Gerardi, 2003)

Si hay un aumento de las concentraciones de estos compuestos es posible que se relacione como un factor desencadenante de la disminución de la metanogénesis (Campos, 2001).

➤ Sulfatos y sulfuros

La metanogénesis puede inhibirse por el conflicto entre las bacterias metanogénicas y sulfato-reductoras por los sustratos que presentan concentraciones altas de sulfatos, estos grupos de bacteria utilizan el acetato y el hidrógeno como componente principal en sus metabolismos (Ortega, 2006).

Por otra parte, los sulfatos presentan inhibición de la metanogénesis a pH altos entre 7,5 a 9 y concentraciones de H_2S entre 50 a 250 mg/L, pero también a concentraciones bajas de 23 mg/L es posible una inhibición del proceso (Hulshoff Pol, Lens, Stams, & Lettinga, 1998).

➤ **Cationes y metales pesados**

Las concentraciones de cationes inhibidores según Sosa (2015) son: en primer lugar Ca^{2+} 4600 mg·L⁻¹, seguido el K^+ 4800 mg·L⁻¹ y el Na^+ 7400 mg·L⁻¹. La toxicidad aumenta dependiendo del peso molecular de los compuestos, esto quiere decir que metales pesados como el níquel y el cobre pueden generar inhibición a bajas concentraciones (Hayes & Theis, 1978).

➤ **Relación carbono-nitrógeno (C/N)**

Este factor es uno de los más importantes para una eficaz DA, la relación C/N determina la proporción de nitrógeno y carbono disponible para los procesos biológicos de las bacterias. (Magaña et al., 2006).

Una relación C/N de 30:1 se considera óptima, si la relación es baja o alta (10:1,40:1) presentará problemas de pérdida de nitrógeno e inhibición del proceso anaerobio (A. González, Santos, Borges, & Pereyda, 2001) así como también la pérdida de velocidad de reacción (Castells, 2005).

Si la relación C/N es alta los microorganismos tendrán deficiencias en su correcto desarrollo crecimiento y reproducción de tal modo a bajos valores de relación se tendrá una concentración de nitrógeno amoniacal que evitará que las bacterias metanogénicas realicen su proceso. (Ileana, Molina, & Peláez, 2016)

2.2.4 Modelo de Gompertz

El estudio del comportamiento cinético de los microorganismos en las fases de la digestión anaerobia, son posibles gracias a la utilización de modelos primarios, como lo son el ajuste Gompertz. Este radica en el uso de una regresión no lineal (ecuación 4) que permite percibir con gran exactitud la dinámica y comportamiento de las etapas principales de la digestión anaerobia como lo es la acidogénesis y la acetanogénesis. Este modelo permite identificar valores sustanciales como la producción máxima de metano y la fase de letargo de los microorganismos.

Se hace necesario que durante las pruebas de digestión anaerobia se recolecten datos de variación de volumen y el tiempo que transcurre en esta fase, con el fin de permitir la correcta utilización del modelo (B. Parra, 2013).

$$V_t = P_{\max} * \exp \left(- \exp \left(\frac{R_{\max} * e}{P_{\max}} \right) * \lambda - t + 1 \right) \quad (\text{Ec 4})$$

Donde:

V_t : Producción de metano obtenido en tiempo (t)

P_{\max} : Producción de metano acumulado al final de la prueba (mL)

R_{\max} : Tasa máxima de producción de metano ($\frac{\text{mL}}{\text{d}}$)

λ : duración de la fase de letargo (d)

e : Constante Euler (2.7182818)

3. METODOLOGIA

En la elaboración de este proyecto se tomó estiércol de ganado bufalino y bovino de una finca en Santander. Las muestras fueron recolectadas, transportadas y almacenadas en el laboratorio de la Universidad Pontificia Bolivariana – Seccional Bucaramanga. El proyecto se llevó a cabo en tres etapas, las cuales se describen a continuación.

3.1 CARACTERIZACION FISICOQUÍMICA DE LOS INÓCULOS

El estudio fisicoquímico de los inóculos se realizó en el Laboratorio de Aguas Residuales de la Universidad Pontificia Bolivariana, Seccional Bucaramanga. Los parámetros evaluados se presentan en la Tabla 1. Los métodos de análisis se ejecutaron de acuerdo con los Métodos Estándar para aguas residuales. (APHA, AWWA, & WEF, 2012)

Tabla 1. Métodos de caracterización de los inóculos.

INÓCULO	
Parámetro	Método
Físicas	
Sólidos Totales (ST)	Método 2540B (APHA, AWWA, & WEF, 2012)
Sólidos Volátiles (SV)	Método 2540 E (APHA, AWWA, & WEF, 2012)
Temperatura	Método 2550B (APHA, AWWA, & WEF, 2012)
Humedad	ASTM C566-97(American Society for Testing and Materials, 2012)
Químicas	
Nitrógeno total	Nitrógeno total Kjeldahl (APHA, AWWA, & WEF, 2012)
Nitrógeno amoniacal	
Ortofosfatos	Método 4500P (APHA, AWWA, & WEF, 2012)
Materia orgánica y cenizas	Método pérdidas por ignición (LOI) a 550 °C Dean, W.E Jr. 1974
DQO total	Método 5220C (APHA, AWWA, & WEF, 2012)
Alcalinidad total	Método 2320B (APHA, AWWA, & WEF, 2012)
Ácidos grasos volátiles (AGV's)	Método Titrimétrico, (Field, 1987)
Conductividad	Método 4500 H+(APHA, AWWA, & WEF, 2012)
pH	

Fuente: Autores

3.2 EVALUACION DE LAS ACTIVIDADES

3.2.1 Actividad hidrolítica (AH) y acidogénica (AA)

Para la experimentación de actividad hidrolítica (AH) y actividad acidogénica (AA) se utilizaron botellas ámbar de 150mL con un volumen útil de 100 mL, en la que se adicionó: sustrato (almidón o glucosa según la prueba), macronutrientes, inóculo, extracto de levadura, elementos trazas y solución de bicarbonato.

Estas soluciones se elaboraron según las concentraciones propuestas por Field (1987), detalladas en la tabla 2 y se ajustó el pH entre 7-7.5. En las botellas ámbar se adicionaron 0,1mL de elementos traza, 0.1 mL de macronutrientes, 1.5mL de solución tampón de bicarbonato NaHCO_3 y 0.02gr de extracto de levadura.

Tabla 2. Soluciones Adicionadas

Solución	Reactivo	Concentración (g/L)
Macronutrientes	NH_4Cl	170
	KH_2PO_4	37
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8
	$\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	9
Micronutrientes	$\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,5
	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,03
	ZnCl_2	0,05
	H_3BO_3	0,05
	$(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,09
	$\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,1
	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,05
	EDTA	1
	HCl 36%	1 ml
Resazurin	0,5	
Bicarbonato	NaHCO_3	10
Extracto de levadura		0,2

Fuente: Field (1987), modificado por autores.

Posteriormente se inocularon con el estiércol bufalino y bovino a una concentración de 1.5 gSSV/L y la cantidad adicionada se determinó con la Ecuación 5.

$$P = C * V \quad (\text{Ec } 5)$$

Donde:

P: Peso del estiércol bufalino y bovino

C: Concentración de SSV del estiércol (mg/L)

V: Volumen útil de la botella (ml)

Para la AH se agregó a la botella 3 ml de almidón, garantizando una concentración de 1.5g/L partiendo de una solución de 10g/L. Se recomienda el uso de almidón soluble, ya que es un polisacárido que emula los compuestos orgánicos complejos que se pueden encontrar en el agua residual (Poirrier, 2005; Soto et al., 1993).

En la prueba de AA se utilizó como sustrato la glucosa, debido a que es el principal compuesto intermedio de la DA de los carbohidratos complejos. Se agregó 15mL de glucosa en cada botella, partiendo de una solución de 10g/L y asegurando dentro de la botella una concentración de 1.5g/L (Soto et al., 1993).

Las botellas se llevaron a la incubadora (OxiTop® systems TS 606/2-i) y se programó a una temperatura de 37°C, manteniendo las condiciones necesarias de la DA (Boullagui et al., 2004). Se tomaron muestras cada hora durante el primer día, luego cada 2 horas el siguiente día y cada 6 horas hasta finalizar la prueba. Una vez obtenidas las muestras durante la prueba, se procedió a medir las concentraciones de azúcares totales y azúcares reductores.

La concentración de glucosa fue obtenida a partir del consumo de azúcares reductores (Ar) y la de almidón calculada a partir de la diferencia entre azúcares totales (At) y Ar, las concentraciones de Ar fueron obtenidas con el método colorimétrico del ácido dinitrosalicílico (Miller, 1953) y las de At con el método colorimétrico de Dubois et al. (1956) (Ver Anexo B y C). Para el cálculo de AH y AA, se halló el valor de la pendiente máxima de consumo/producción de sustrato y aplicando la Ecuación 6.

$$A = P * FC * \frac{\text{Vinóculo}}{\text{gSSVinóculo}} * 24 \quad (\text{Ec } 6)$$

Donde:

A: Actividad (gDQO/gSSV.d)

P: Pendiente (g/L.h.)

FC: Factor de conversión (gDQO/g Glucosa) [1.067]

Vinóculo: Volumen agregado de inóculo

gSSV: Masa agregada de inóculo

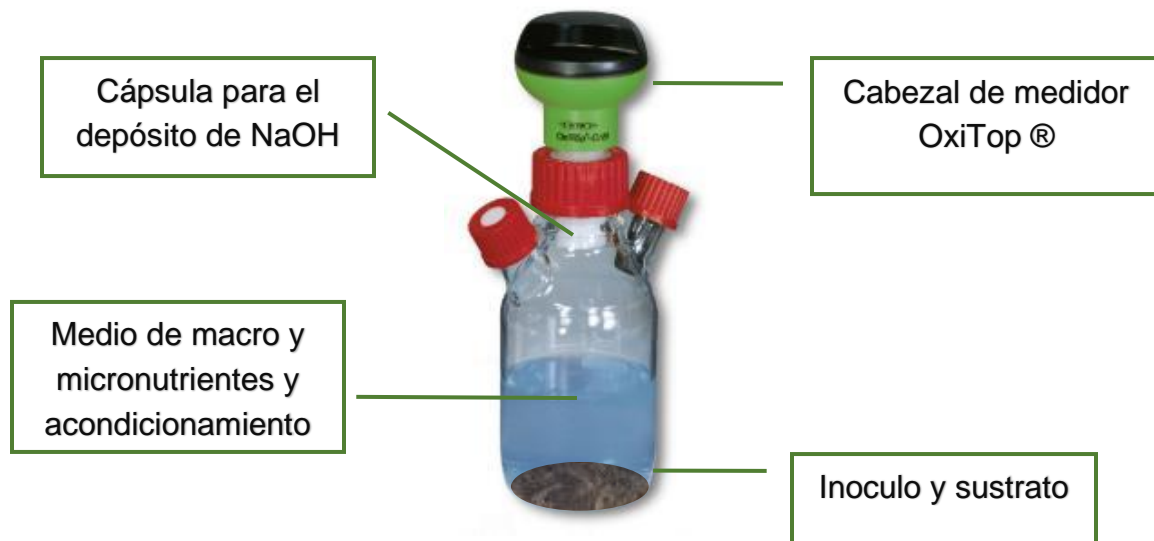
3.2.2 Actividad Metanogénica Especifica (AME)

La actividad metanogénica específica se evaluó empleando una solución de ácidos grasos volátiles (AGV's) constituida por ácido acético (2,14g/L), ácido propiónico (0.78 g/L) y ácido butírico (0.91 g/L) como sustrato; se agregó 6 mL de esta solución. En esta prueba, la concentración del inóculo fue de 1.5 gSSV/L, utilizando botellas de volumen útil de 200 mL, con cabezales OxiTop®.

Para la prueba de AME, se comenzó adicionando agua destilada hasta la mitad del volumen útil de las botellas, después se agregaron los 6 mL de la solución de AGV's, seguido de 0,4mL de las soluciones de micronutrientes macronutrientes y bicarbonato de sodio, luego a eso se añadió 0.2g de extracto de levadura, teniendo en cuenta las concentraciones especificadas en la tabla 2. Por último, se adicionaron 0,3g de estiércol bufalino y bovino calculado a partir de la ecuación 5.

Con el propósito de garantizar condiciones óptimas de la DA se ajustó el pH entre 7-7.5, se aforó y burbujó con nitrógeno gaseoso durante 3 minutos cada botella (Koch et al., 2015). Se adicionaron 5 perlas de NaOH, que captan el CO₂ que se produce durante la DA, en los cartuchos de goma estas botellas, garantizando que la medición tomada corresponda únicamente a la cantidad de metano obtenido. Finalmente se incubó a 37°C según recomendaciones de Boullagui et al. (2004) por 30 días (Koch et al., 2015a).

Ilustración 2. Sistema OxiTop®



Fuente: Autores

El volumen de metano neto producido se calculó a partir del cambio de presión tomado cada 6 horas durante toda la prueba, restando lo generado por el blanco, aplicando la Ecuación 7 recomendada por Strömberg (2014)

$$V_{CH_4CE} = \frac{Vl * P * T_{CE}}{P_{CE} * T_e} \quad (Ec 7)$$

Donde:

V_{CH_4CE} : Volumen de CH₄ a condiciones estándar (L)

VI: Volumen libre del reactor

P: Presión registrada en el equipo OxiTop (atm)

T_{CE} : Temperatura a condiciones estándar (K)

P_{CE} : Presión a condiciones estándar (atm)

T_e : Temperatura del experimento (K)

A partir de los resultados obtenidos durante el monitoreo, se determina la AME utilizando la ecuación 8, obteniendo la pendiente máxima de producción aplicando el modelo de Gompert.

$$AME = \frac{P}{FC * V * SSV} \quad (Ec 8)$$

Donde:

AME: Actividad metanogénica específica (gDQO/gSSV*d)

P: Pendiente máxima de producción de metano (mL/d)

FC: Factor de conversión a DQO (mL CH₄/gDQO)

V: Volumen de inóculo agregado (L)

SSV: Concentración de sólidos suspendidos volátiles del inóculo (g/L)

3.3. EVALUACION DE LA INFLUENCIA DE LA HUMEDAD

Para determinar la influencia de la humedad del estiércol bufalino y bovino sobre la producción de metano, se realizó un diseño experimental factorial 2² en el cual los factores estudiados fueron la humedad y el tipo de estiércol (bufalino y bovino) con 2 niveles cada uno, teniendo un total de 4 tratamientos como se muestra en la tabla 3. Los valores de humedad evaluados corresponden a la humedad inicial del estiércol (80±0.5%) y al 60% aproximadamente, ya que este valor se encuentra en el rango

recomendado para digestión anaerobia (50% - 70%). (Buenrostro, Cram, Bernache, & Bocco, 2000).

Para variar la humedad se dejó secar el estiércol bufalino y bovino bajo el sol hasta alcanzar el valor deseado.

Tabla 3. Diseño Experimental

Humedad	H1 (80% ± 0.5%)	H2 (55% ± 0.5%)
Tipo Estiércol		
VACA (V)	V.H1	V.H2
BUFALO (B)	B.H1	B.H2

Fuente: Autores

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACION FISICOQUIMICA DE LOS INÓCULOS

Las características fisicoquímicas del estiércol bufalino y bovino se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Características fisicoquímicas de los inóculos.

Parámetro	Unidad	Valor Búfalo	Valor Vaca
Sólidos totales	%	32.64	19.99
Sólidos Volátiles	%	15.8	14.4
SV/ST	-	0.48	0.72
Temperatura	°C	27	27
Humedad	%	80.1	83.7
Nitrógeno total kjendahl	mg/Kg	210	169.4
Nitrógeno amoniacal	mg/Kg	93.8	88.2
Ortofosfatos	mg/Kg	0.74	1.34
DQO total	mg/Kg	460.8	716.8
C/N	-	2.19	4.23
Ácidos Grasos Volátiles	mg/Kg	258.82	382.35
Conductividad	µs/cm	2155	2006
pH	Unidad de pH	7.32	7.45
Materia Orgánica	%	89.4	85.2
Cenizas	%	10.6	14.8
Alcalinidad	gCaCO ₃ /L	4.3	4.1

Fuente: Autores

Los resultados obtenidos muestran que el estiércol de vaca tiene una relación SV/ST de 0.72, indicando una mayor presencia de biomasa microbiana activa que permitiría el desarrollo del proceso de DA. A pesar de que el estiércol de búfalo presentó un valor menor (0.48), también podría utilizarse como inóculo, ya que valores superiores a 0.45 garantizan un gran contenido de grupos sintróficos involucrados en el proceso de DA (Cardoso (2002).

En los resultados del parámetro de pH para cada estiércol, los valores se encuentran cercanos a la neutralidad, coincidiendo con los rangos recomendados por la literatura para lodos anaerobios, (Facchin et al., 2013). Además, de acuerdo a Herrera et al. (2002), el pH para garantizar una buena digestión anaerobia debe estar entre 6.8-7.5, el estiércol analizado se encuentra dentro de estos valores, pH 7.32 para búfalo y pH 7.45 para vaca, demostrando que el inóculo está dentro del rango de pH óptimo para la DA.

El porcentaje de humedad del estiércol recolectado se encuentra entre 80 y 85%, sin embargo, para garantizar una buena digestión anaerobia el rango recomendable es 50 - 70%. (Buenrostro, Cram, Bernache, & Bocco, 2000), mostrando la necesidad de aplicar una etapa preliminar de reducción de humedad hasta el rango recomendado, para obtener mejores resultados en el proceso.

La alcalinidad de los inóculos fue de 4.3 g CaCO₃/L para el estiércol bufalino y 4.1 g CaCO₃/L para el estiércol bovino, dando como resultado un buen comportamiento dentro del biodigestor, ya que según Pascual et al., (2011), la alcalinidad igual o superior a 1.5 g CaCO₃/L garantiza una adecuada capacidad buffer, evitando la acidificación para un buen comportamiento dentro del biodigestor.

Los valores obtenidos para Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK), 210 mg/Kg para búfalo y 169,4 mg/Kg para vaca, dan como resultado un proceso óptimo para la DA (Rajagopal et al., 2013). Por otra parte, los resultados de nitrógeno amoniacal logran un efecto favorable en la DA, ya que las concentraciones obtenidas se encuentran entre 50 y 200 mg/L N-NH₃, contribuyendo con los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos estimulando su reproducción (Rajagopal et al., 2013).

En los resultados obtenidos de materia orgánica, el valor para el estiércol de búfalo fue de 89.4%, superior al valor obtenido en el estiércol de vaca siendo de 85.2%, por lo tanto, el estiércol de búfalo en este parámetro es óptimo para la producción de metano debido a su alto porcentaje de materia orgánica.

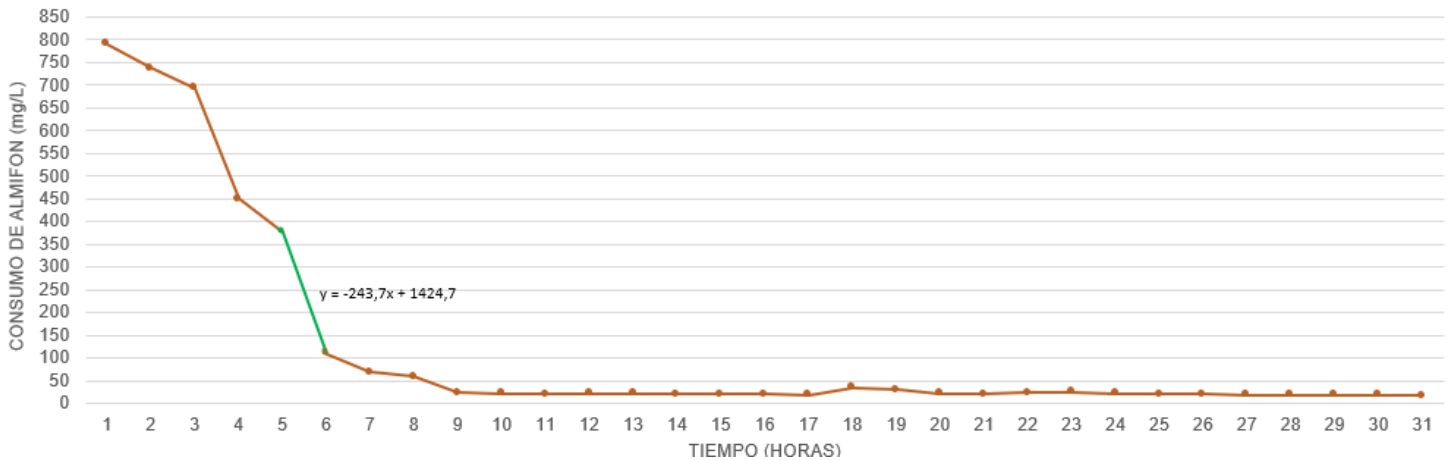
4.2 EVALUACION DE LAS ACTIVIDADES

4.2.1 Actividad hidrolítica (AH)

En las ilustraciones 3 y 4 se muestra el consumo de almidón como sustrato en el proceso cinético de la AH, evaluado en los estiércoles de vaca y búfalo durante 1 día y medio.

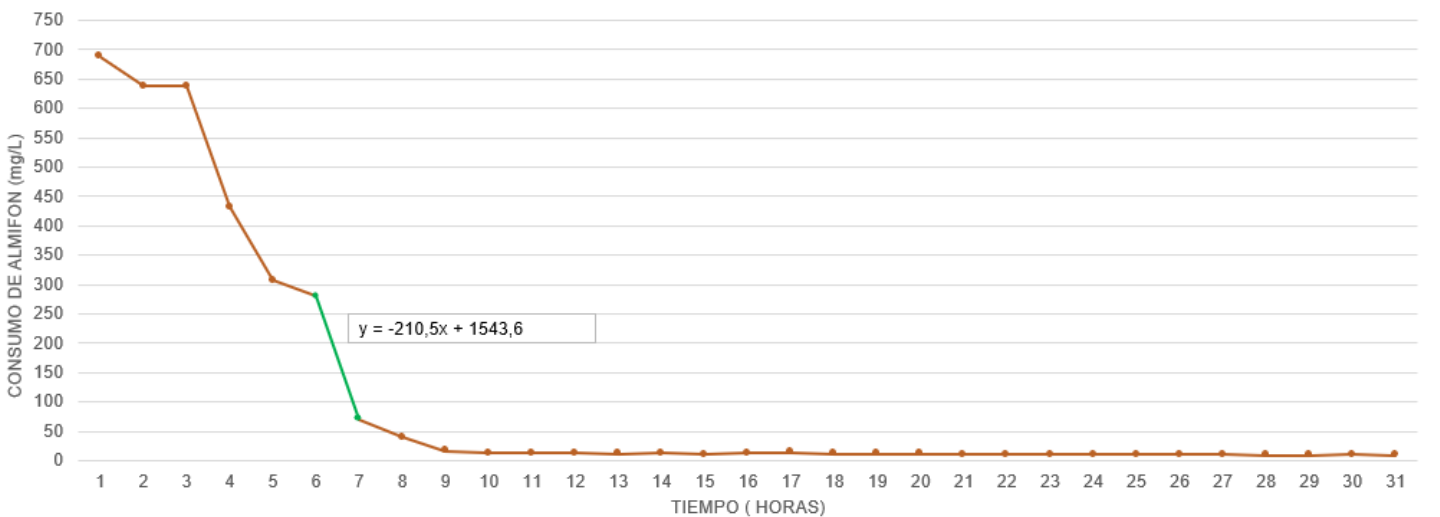
El consumo máximo de almidón se realiza en las primeras 9 horas para los dos estiércoles, seguido de datos continuos con pequeños picos entre las 17 y 19 horas siguientes en el estiércol de vaca y ninguno en el estiércol de búfalo, reflejando una estabilidad de la actividad hidrolítica hasta el final de la prueba. Ver anexo 1

Ilustración 3. Consumo de almidón en el tiempo del estiércol de vaca



Fuente: Autores

Ilustración 4. Consumo de almidón en el tiempo del estiércol de Búfalo



Fuente: Autores

La representación verde en las ilustraciones 3 y 4 indica la pendiente o tasa máxima de consumo de sustrato, correspondientes a una AH de 2,43g DQO/gSSV.d y 2,11g DQO/gSSV.d para el estiércol de vaca y búfalo, respectivamente.

En las ilustraciones 3 y 4 se puede observar que en las primeras 3 horas no hay un cambio significativo en la producción de azúcares reductores totales, reflejando poco consumo de sustrato por parte de los microorganismos, debido a la adaptación a este. Posteriormente, a las pocas horas se ve reflejados aumentos en las pendientes en la gráfica, lo que refleja la hidrólisis de los compuestos presentes en el almidón. El alto valor de la actividad hidrolítica refleja que el estiércol de vaca y búfalo presentan buena actividad enzimática, siendo el estiércol de vaca de la vaca más eficiente en las primeras etapas de la digestión anaerobia y demostrando ser más competente en la degradación de carbohidratos complejos como el almidón a azúcares solubles en este estudio.

La actividad hidrolítica está influenciada por la capacidad de secretar enzimas por parte de los microorganismos del inóculo, la cantidad de metano producido y la velocidad con la que se genera (Sambusiti et al., 2013). Los microorganismos presentes en los estiércoles de búfalo y vaca evidencian, por medio de la actividad hidrolítica que la flora microbiana posee la capacidad suficiente para tener una cinética de degradación de compuestos complejos.

El éxito de la digestión anaerobia depende de que la fase hidrolítica sea eficiente ya que, la producción de metano por parte de los organismos metanogénicos depende de una buena degradación de la materia orgánica compleja presente en esta etapa temprana (Alexis et al., 2015). En este estudio, la actividad hidrolítica presenta una actividad alta para un buen rendimiento en la producción de metano, pero en las etapas posteriores como la Acidogénica, presentarían condiciones que afectarían los resultados finales de la acumulación de metano como la acidificación del medio.

Las altas humedades generan un limitante en el rendimiento de la hidrólisis, que al ser el primer paso de la DA determina la actividad de las siguientes fases, Sin embargo, la hidrólisis bacteriana puede ser afectada e inhibida por acumulación de azúcares y aminoácidos que limitan la producción enzimática (Sanders, Geerink, Zeeman, & Lettinga, 2000), así como también la acumulación de AGV que son nocivos para el desarrollo bacteriano (Brummeler, Horbach, & Koster, 1991). Es por eso por lo que, al no tener una buena actividad hidrolítica, la producción de metano será limitada significativamente durante el proceso anaerobio.

Por otra parte, estudios como el de Ruan et al., (2019) donde el efecto del pretratamiento de lodos a través de una estimulación por microaeración, mejoró la producción de metano y la actividad de enzimas hidrolíticas, que en inóculos como el estiércol aplicarían para aumentar la pobre actividad enzimática.

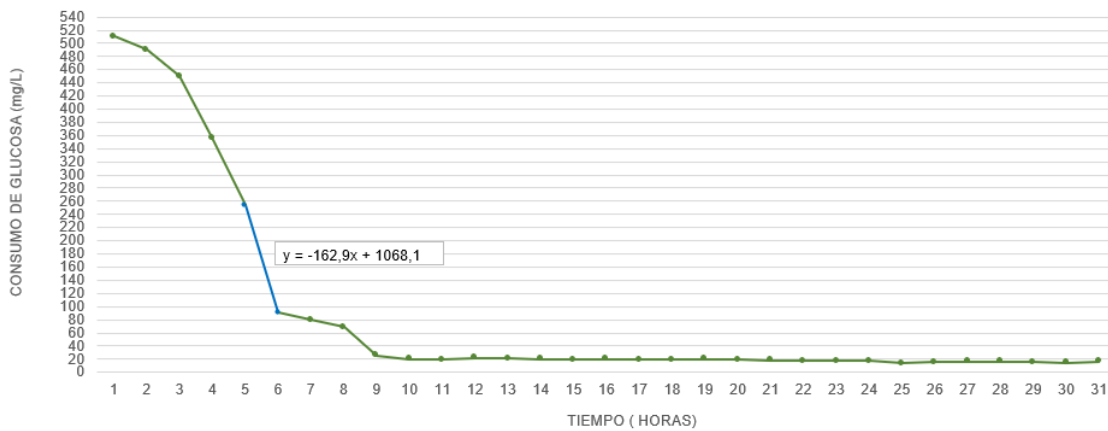
Finalmente, un alto contenido de humedad con valores superiores a 60% puede favorecer la etapa de hidrólisis que ocurre como etapa inicial del proceso de digestión anaerobia pero afecta potencialmente a las etapas siguientes generando inhibiciones

bacterianas por cambios del pH con tendencias a la acidificación (G. I. González et al., 2008)

4.2.2 Actividad Acidogénica (AA)

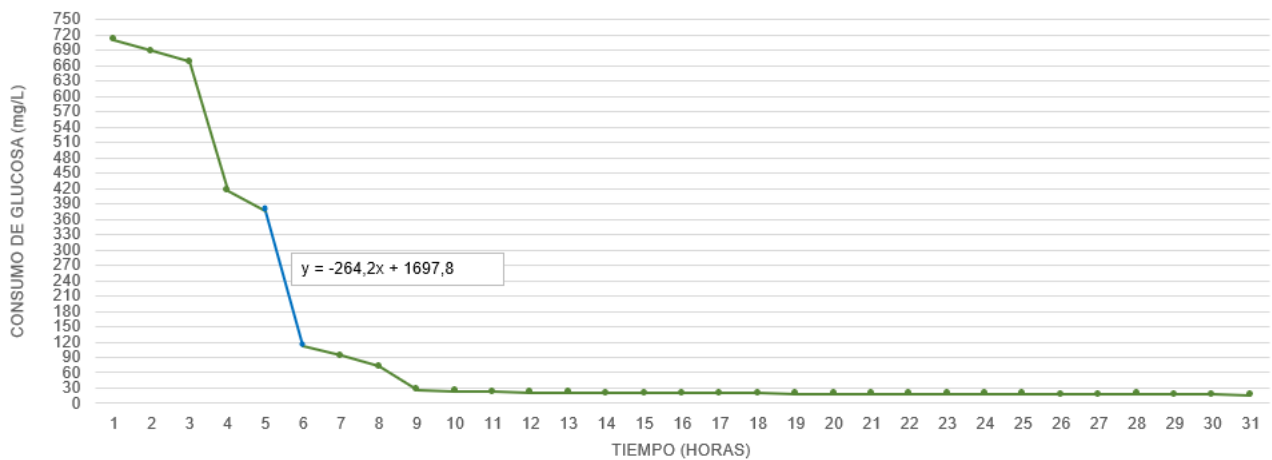
El uso de glucosa se empleó para determinar la actividad acidogénica. Los valores obtenidos de AA para los estiércoles de vaca y búfalo fueron de 2.00 gDQO/gSSV.d y 1,30 gDQO/gSSV.d, respectivamente. El color azul en las figuras 5 y 6 representan estas pendientes máximas de consumo de glucosa, donde el máximo gasto se encuentra entre 5 a 6 horas después de iniciar la prueba. Anexo 1

Ilustración 5. Consumo de glucosa en el tiempo del estiércol de vaca



Fuente: Autores

Ilustración 6. Consumo de Glucosa en el tiempo del estiércol de Búfalo



Fuente: Autores

No es claro en la literatura un valor referencia comparativo de la AH y la AA de inóculos de estiércol de vaca y búfalo con un método similar al de este estudio, sin embargo al comparar las actividades microbianas de los estiércoles con otro inóculo como los lodos provenientes de reactores UASB, se observa que registran rangos de valores de 2 a 4 gDQO/gSSV.d de actividad hidrolítica y 1,2 a 2 gDQO/gSSV.d en la actividad acidogénica a 37°C (González Contreras et al., 2009), teniendo más actividad el estiércol de vaca respecto al búfalo gracias a su amplia y rica diversidad microbiana presente que mejoraría las actividades enzimáticas (Gupta, Aneja, & Rana, 2016).

Estudios realizados por Alzate, (2015) mostraron que la actividad Acidogénica en los estiércoles de ganado presentaron valores de 1,94 g DQO glucosa/ g SSV·d, siendo muy cercano al resultado de la actividad Acidogénica de 2.00 gDQO/gSSV.d para el estiércol de vaca en este presente trabajo; sin embargo, el estiércol de búfalo presentó valores de 1,30 g DQO glucosa / g SSV·d, los cuales son valores bajos para el desempeño de las arqueas metanogénicas, que se encuentran relacionadas y dependientes de esta fase Acidogénica, al afectar el rendimiento de la Acidogénesis directamente se estará afectando la fase metanogénica. (Castillo, 2005)

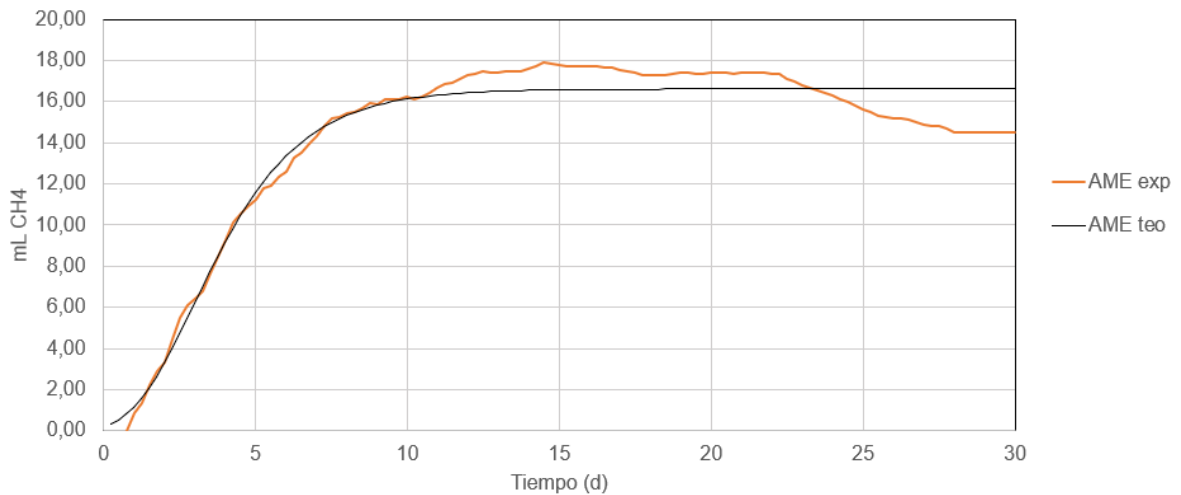
Es importante que, en las primeras etapas de la digestión anaerobia, es decir la fase hidrolítica, se tengan valores altos. En este estudio se evidencia una alta actividad hidrolítica que corresponde con una alta actividad Acidogénica donde tiene como consecuencia una producción significativa de metano. Los resultados coinciden con los obtenidos en otros estudios de actividades de los consorcios anaerobios de un reactor de solubilización, donde la actividad hidrolítica es superior a la Acidogénica, superando a medida que transcurren los días de operación (González Contreras, Chamy Maggi, & Poirrier González, 2009)

Finalmente, Se puede observar que el estiércol vacuno presenta un mayor aprovechamiento de el sustrato comparado con el estiércol de búfalo, por lo que la producción de metano acumulado puede tender a que sea mayor.

4.3 EVALUACION DE LA INFLUENCIA DE LA HUMEDAD SOBRE LA ACTIVIDAD METANOGÉNICA

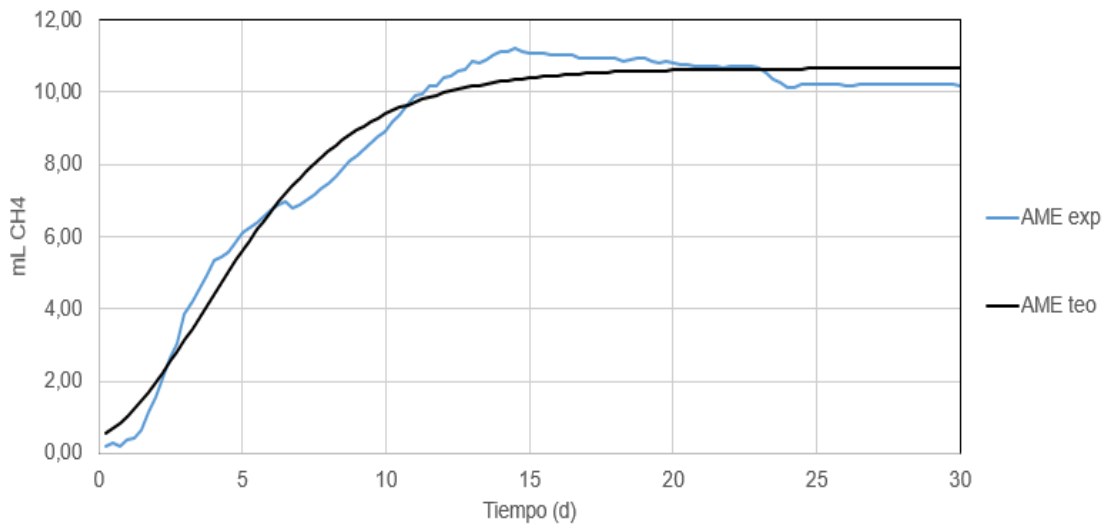
En la ilustración 7 y 8 se presenta la producción de metano obtenida del estiércol de búfalo y vaca, utilizado como inóculo para la prueba de AME, a condiciones estándar (1 atm; 273 K) y utilizando AGV's como sustrato. Ver Anexo 2

Ilustración 7. Volumen acumulado de metano en estiércol de vaca sin secar



Fuente: Autores

Ilustración 8. Volumen acumulado de metano en estiércol de búfalo sin secar



Fuente: Autores

Los valores experimentales mostraron diferencias significativas en este ensayo, con una producción máxima de metano de 18 mL/d para el estiércol de vaca y 11 mL/d en el estiércol de búfalo. De acuerdo al modelo de Gompertz, el estiércol de vaca obtuvo una tasa máxima de producción de metano de 3,059 mL /d con un periodo de latencia entre 4 y 5 horas y una producción máxima de metano entre 16,6 mL, como se observa en la tabla 5. Para el estiércol de búfalo se obtuvo una tasa máxima de producción de metano de 1,264 mL/d, un periodo de latencia entre 8 y 9 horas y una producción máxima de metano de 10,7 mL (tabla 6).

Tabla 5. Parámetros modelo de Gompertz para estiércol de vaca

Parámetro	Unidades	Valor	Desviación estándar
Producción máxima	mL	16,61	±0,64
Pendiente máxima	mL/d	3,059	±0,07
Fase de letargo	d	0,2037	±0,20

Fuente: Autores

Tabla 6. Parámetros modelo de Gompertz para estiércol de búfalo

Parámetro	Unidades	Valor	Desviación estándar
Producción máxima	mL	10,67	±0,88
Pendiente máxima	mLd⁻¹	1,264	±0,014
Fase de letargo	d	0,3711	±0,371

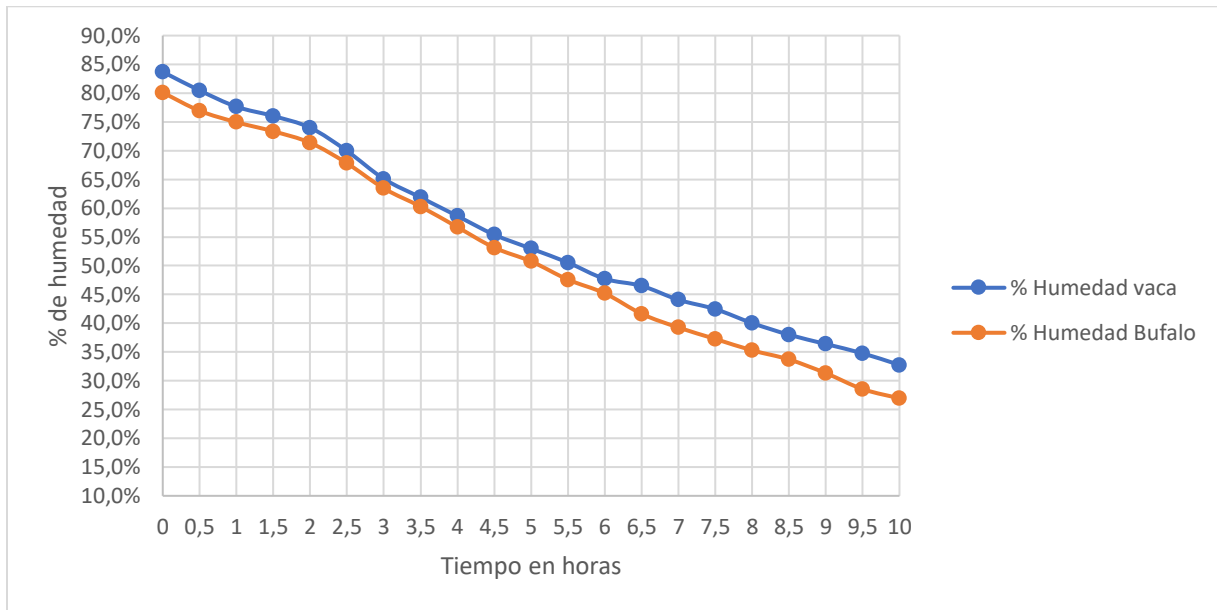
Fuente: Autores

De acuerdo con lo anterior y teniendo en cuenta la ecuación 8, la actividad metanogénica hallada para el estiércol de vaca fue de 0,02 gDQOCH₄/gSSV.d y para el de búfalo fue 0,01 gDQOCH₄/gSSV.d.

Los resultados anteriores corresponden a lo obtenidos con la humedad natural del estiércol, la cual fue de 83,7% para el estiércol de vaca y 80,1% para el de búfalo. La dinámica de los microorganismos para estos valores de humedad fue muy pobre, tal como se evidencia con las bajas producciones de metano obtenidas, especialmente con el estiércol de búfalo en los primeros días 5 días, el cual tuvo poca adaptación del sustrato al inoculo.

Para confirmar el impacto de la humedad sobre la producción de metano, se realizaron pruebas en las cuales se tuvo reducción de la humedad en los dos estiércoles. Para disminuir la humedad en los estiércoles, se sometieron a secado con luz solar durante varias horas. La ilustración 9 presenta los resultados obtenidos del contenido de humedad presente en el estiércol con relación al tiempo de exposición solar.

Ilustración 9. Porcentaje de humedad contenido en el estiércol expuesto a diferentes tiempos de luz solar.

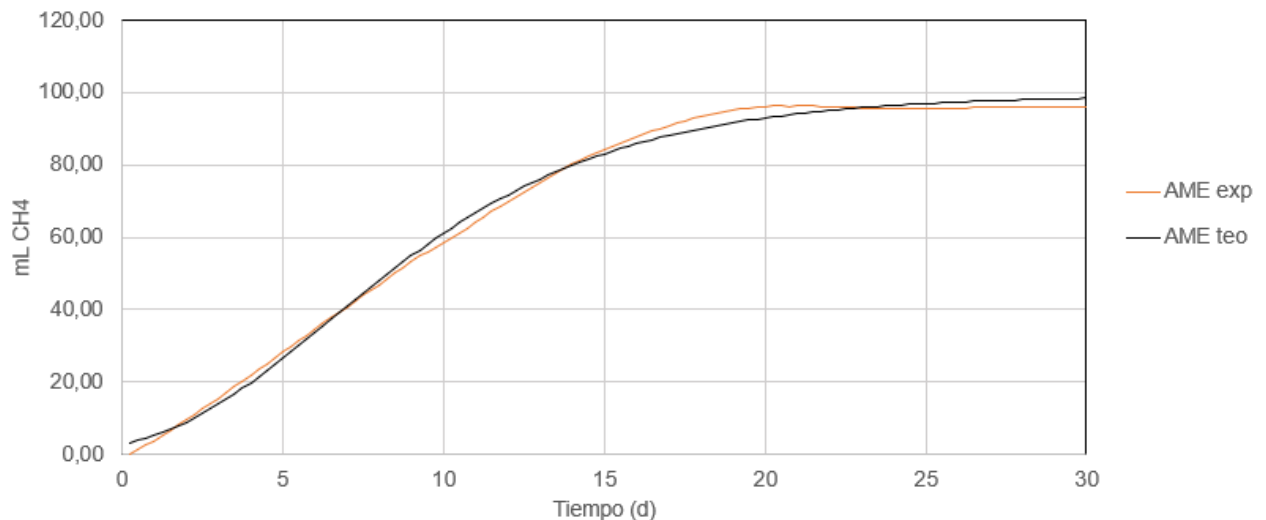


Fuente: Autores

Según Martínez et al. (2005) el porcentaje ideal para un apropiado rendimiento de la DA debe ser entre 50%-70%. Por lo anterior, se realizaron nuevamente las pruebas de AME con estiércol después de pasadas 4 h y 30 minutos, hasta llegar a un porcentaje de humedad entre el rango recomendable, siendo para la vaca de 55% y búfalo de 53%.

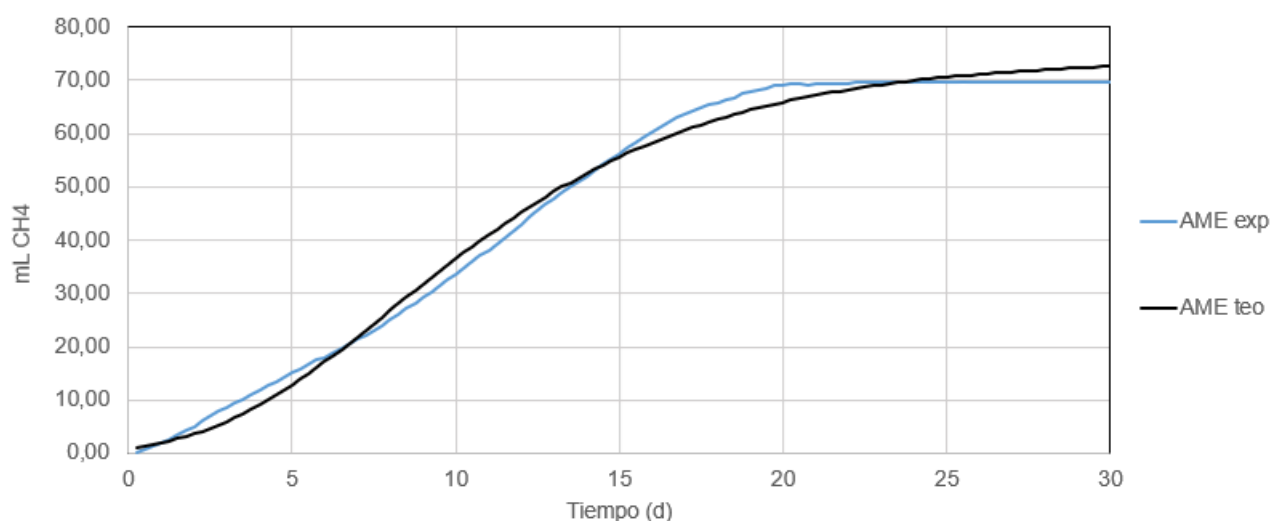
En las ilustraciones 10 y 11 se presenta la producción de metano obtenida del estiércol de búfalo y vaca, con previo secado, utilizado como inóculo para la prueba de AME, a condiciones estándar (1 atm; 273 K) y utilizando AGV's como sustrato. Ver Anexo 3

Ilustración 10. Volumen acumulado de metano en estiércol de Vaca con secado



Fuente: Autores

Ilustración 11. Volumen acumulado de metano en estiércol de búfalo con secado



Fuente: Autores

Para el ensayo con variaciones de la humedad del inóculo, los valores experimentales mostraron que la producción máxima de metano para el estiércol de vaca fue de 92 mL/d de CH₄ y para el estiércol de búfalo con 70 mL/d de CH₄. Del mismo modo, se utilizó el modelo de Gompertz para hallar los parámetros óptimos del proceso de cada uno de los estiércoles. El estiércol de vaca presentó una tasa máxima de producción de metano de 7,327 mL /d, con un periodo de latencia entre 37 y 38 horas y una producción máxima de metano entre 90 a 100 mL/gSSV (tabla 7). El estiércol de búfalo obtuvo una tasa máxima de producción de metano de 4.992 mL /d, con periodo de latencia de rangos entre 61 a 62 horas y una producción máxima de metano entre 70 a 80 mL/gSSV (tabla 8). Teniendo en cuenta estos resultados y la ecuación 8, las actividades metanogénica de vaca y búfalo fueron 0,04 gDQOCH₄/gSSV.d y 0,03 gDQOCH₄/gSSV.d.

Tabla 7. Parámetros modelo de Gompertz para estiércol de vaca

Parámetro	Unidades	Valor	Desviación estándar
Producción máxima	mL	99,356	1,40 ±
Pendiente máxima	mLd ⁻¹	7,327	0,64 ±
Fase de letargo	d	1,3919	0,05 ±

Tabla 8. Parámetros modelo de Gompertz para estiércol de búfalo

Parámetro	Unidades	Valor	Desviación estándar
Producción máxima	mL	73,991	1,79 ±
Pendiente máxima	mLd⁻¹	4,992	0,10±
Fase de letargo	d	2,5780	0,46 ±

Los resultados con variación del contenido de humedad en la prueba de AME mostraron cambios significativos, donde los dos estiércoles aumentaron su producción de biogás 6 veces más respecto a la prueba con humedad alta, siendo el estiércol de vaca el más productivo al acumular mayor cantidad de biogás y tener mayor actividad metanogénica respecto al estiércol de búfalo.

Las curvas de ambos estiércoles mostraron un comportamiento donde se destacan claramente la fase de latencia y la fase estacionarias de ambos estiércoles, con valores cercanos de los resultados teóricos y experimentales. Por otro lado, se observa que la producción del 50% del biogás para los dos estiércoles esta entre los primeros 15 a 20 días de prueba. Los resultados de AME al reducir la humedad se encuentran dentro de los rangos establecido por Field (1987) de AME de estiércoles digeridos.

Al cabo de 30 días, el estiércol de vaca encuentra la estabilidad al no producir más biogás y mantener constante el volumen acumulado. Por otra parte, el estiércol de búfalo continuó produciendo metano de forma en bajas cantidades por más de 30 días, caso similar al estudio de Sun et al., (2015) que logró la máxima actividad metanogénica del estiércol de búfalo a los 60 días de prueba.

El aumento en la producción de biogás a humedades entre 50% a 60% puede ser consecuencia de que las bacterias metanogénicas se adaptan mucho mejor a una relación sólida/húmeda 1:1 del estiércol (David & Coronel, 2018), al reducir la parte húmeda que se encuentra en exceso del estiércol cuando es expulsado del animal, puede mejorar la adaptación y rendimiento de los microorganismos en la producción de biogás.

El volumen acumulado y la AME del estiércol, en comparación con lodos anaerobios climatizados de reactores UASB, es mucho menor de 180 ml de CH₄ acumulado como se muestran en los resultados de Manotoa (2012) y Seghezzi (1992), a comparación de los estiércoles de vaca y búfalo con acumulados de CH₄ de 100 y 74 mL respectivamente, esta diferencia podría deberse a que estos lodos son sometidos a una adaptación previa para optimizar la degradación de materia orgánica, producción de metano y concentración dentro de los arranques de digestores (Nakasima-López,

Taboada-González, Aguilar-Virgen, & Velázquez-Limón, 2017), una adaptación previa a el estiércol digerido podría mejorar su rendimiento en la DA.

La acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) en la actividad Acidogénica puede ocasionar una acidificación del medio, afectando el rendimiento de las bacterias metanogénicas produciendo una inhibición en su actividad (Francisca, Fernández, Rolando, & Maggi, 2013). Los valores de metano acumulado en este estudio fueron bajos, tanto en la humedad alta y humedad variada, siendo esta última la prueba donde se alcanzó la mayor cantidad de CH₄ acumulado, al no llevar un control diario de los AGV no es posible afirmar que sea el causante de esta pobre producción de metano acumulado, aun así, es una variable por considerar en estudios posteriores por su posible influencia en la AME.

Al tener una actividad metanogénica baja, los estiércoles animales pueden mejorar su rendimiento y la eficiencia de la producción de biogás al tener una participación en co-digestión con otros inóculos (Sanaei-Moghadam, Abbaspour-Fard, Aghel, Aghkhani, & Abedini-Torghabeh, 2014), obteniendo una sinergia positiva dentro de digestores anaerobios mejorando la estabilidad del proceso.

El biogás obtenido de esa digestión contendrá alta humedad, es decir será biometano húmedo con contenidos de impurezas y elementos traza que, para su uso industrial, se tendrá que someter a una purificación posterior con diferentes tecnologías como biofiltros, biolavados o filtración y adsorción para evitar condensados corrosivos y afectaciones en la salud (Varnero, Carú, & Galleguillos, 2012), que por ejemplo generarían gastos por mantenimiento de tuberías de gas.

Por último, es claro que se tiene una producción de metano mayor por parte del estiércol de vaca, de tal manera al no tener excesos en elementos nocivos para la digestión anaerobia producirá biogás con mayor facilidad y sin limitación. Aunque el estiércol tenga un rendimiento bajo en la actividad metanogénica, con diseños óptimos se podrá prevenir la acumulación de AGV y aumentar su potencial en la digestión anaerobia (Ahn, Smith, Kondrad, & White, 2010) .

5. CONCLUSIONES

- La caracterización de las propiedades fisicoquímicas de los inóculos demuestra unas mejores condiciones en el estiércol de vaca para un tratamiento de digestión anaerobia debido a que en la relación SV/ST tiene mayor presencia de biomasa microbiana y la relación C/N es más alta.
- El estiércol de vaca presenta mejor adecuación y producción de metano respecto al estiércol de búfalo, al tener mayor actividad hidrolítica y metanogénica y también sus propiedades fisicoquímicas como nitrógeno total, ortofosfatos, DQO, AGV, relaciones SV/ST y C/N, que son óptimas para la producción de metano.
- La variación de humedad del estiércol entre un 50-60% a través del secado solar causó el aumento de la actividad metanogénica específica en los dos estiércoles estudiados, aumentando en más de 3 veces el volumen acumulado respecto a la prueba con humedades de 80% mejorando el rendimiento y acumulación metanogénica del inóculo.
- Las actividades Hidrolítica y Acidogénica en los inóculos de estiércol de vaca y búfalo, presentan valores semejantes a los presentes en reactores UASB, el estiércol de vaca presentó mejores actividades microbianas respecto al estiércol de búfalo, presentando así una mejor rendimiento y acumulación de metano por una posible mejor diversificación y adaptación de la flora bacteriana presente en este inóculo aun así, el valor acumulado y la AME de estos inóculos pueden tener la posibilidad que fueran afectados por una acumulación de AGV y una acidificación de los reactores inhibiendo la generación de CH₄.
- Al no poseer fichas estándares que se puedan utilizar como comparación con el método de AME a nivel nacional y mundial, en el presente documento se evidencia a través de la experimentación, que la humedad influye en las diferentes fases de la digestión anaerobia y que controlando el porcentaje presente en los estiércoles como inóculo presentarán condiciones favorables para una producción de metano significativa.
- Los inóculos de estiércol de vaca y búfalo presentan una AME de 0,04 gDQOCH₄/gSSV.d y 0,03 gDQOCH₄/gSSV.d, respectivamente que según Torres, Villa, & Escobedo, (2004) se considera como baja AME valores menores a 0,1 gDQOCH₄/gSSV.d

RECOMENDACIONES

Estudiar los parámetros fisicoquímicos y pruebas hidrolítica, Acidogénica y metanogénica para una mezcla de diferentes tipos de estiércoles animales para evaluar las variaciones de rendimiento metalogénico específico.

Extender el rango de estudio para la actividad metanogénica específica de 30 días a 60 días con el fin de evaluar periodos de producción latentes biogás para estiércoles específicos como el de búfalo

Evaluar diferentes tipos de estiércoles animal adicionando los estudios del potencial bioquímico de metano y la influencia de varios tipos de humedad, pH y relación C/N de los estiércoles.

Identificar y/o clasificar la diversidad microbiana presente en los diferentes tipos de estiércol animal y la influencia de familias específicas en la producción de metano, así como también el tiempo de adaptación o incubación para crear una colonia bacteriana sana y eficiente para proceso de digestión anaerobia.

BIBLIOGRAFIA

- Agronoma. (2018). Perspectivas de la ganadería mundial para 2018. *Contexto Ganadero*.
- Ahn, H. K., Smith, M. C., Kondrad, S. L., & White, J. W. (2010). Evaluation of biogas production potential by dry anaerobic digestion of switchgrass-animal manure mixtures. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160(4), 965–975. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8624-x>
- Ahring, B. K. (1995). *Methanogenesis in thermophilic biogas reactors*. (Vol. 67). Antonie van Leeuwenhoek. Vol.
- Alexis, P. B., Valle, U., Carlos, V., Valle, U., Patricia, T., Valle, U., ... Valle, U. (2015). *Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal* *Effect of Substrate-Inoculum Ratio on the Biochemical Methane Potential of Municipal Biowastes*. (número 4), 515–526.
- Alzate, M. S. (2015). *IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS TRÓFICOS PRESENTES EN EL ESTIÉRCOL BOVINO USADO PARA LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE SOBRESALIENTES ALIMENTICIOS DE RESTAURANTE* (UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER). Retrieved from <http://tangara.uis.edu.co/biblioweb/tesis/2015/159267.pdf>
- American Society for Testing and Materials. (2012). *Designación: ASTM C 566 - 97. 04, 2–4*.
- Angelidaki, I., Ellegaard, L., & Ahring, B. (2003). Applications of the Anaerobic Digestion Process. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 82, 1–33. https://doi.org/10.1007/3-540-45838-7_1
- Angulo, L., & Loaiza, J. (2016). EVALUACION DE LA MEZCLA DE INÓCULOS COMO ESTRATEGIA DE MEJORAMIENTO DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS DE ALIMENTOS (Universidad del Valle; Vol. 1). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Angulo, L., & Loaiza, J. (2017). *Evaluación de la mezcla de inóculos como estrategia de mejoramiento de la digestión anaerobia de residuos de alimentos*.
- Antonio, E., & Aguilera, R. (2017). *Generación de biogás mediante el proceso de digestión anaerobia , a partir del aprovechamiento de sustratos orgánicos* *Generation of biogas through the process of anaerobic digestion , from the use of organic substrates*.
- APHA, AWWA, & WEF. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (22th ed.). Washington DC.
- Aquino, S. F., Chernicharo, C. A. L., Foresti, E., Santos, M. de L. F. dos, & Monteggia, L. O. (2007). Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 12(2),

192–201. <https://doi.org/10.1590/s1413-41522007000200010>

- Bhattacharya, S. C., Abdul Salam, P., Runqing, H., Somashekar, H. I., Racelis, D. A., Rathnasiri, P. G., & Yingyuad, R. (2005). An assessment of the potential for non-plantation biomass resources in selected Asian countries for 2010. *Biomass and Bioenergy*, 29(3), 153–166. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2005.03.004>
- Blanco, D. (2011). *Ratamiento biológico aerobio - anaerobio - aerobio de residuos ganaderos para la obtención de biogás y compost* (Universidad de leon). Retrieved from <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/1066/Tesis.pdf?sequence=1>
- Brummeler, E. Ten, Horbach, H. C. J. M., & Koster, I. W. (1991). Dry anaerobic batch digestion of the organic fraction of municipal solid waste. In *J. Chem. Technol. Biotechnol* (50 no 2, pp. 191–209).
- Buenrostro, O., Cram, S., Bernache, G., & Bocco, G. (2000). La digestión anaerobia como alternativa de tratamiento a los residuos sólidos orgánicos generados en los mercados municipales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 16(0188–4999), 19–26.
- Campos, A. (2001). Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria. *Monografías de Actualidad*, (October 2015), 372. <https://doi.org/http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8229/Tecp1de1.pdf?sequence=1>
- Cárdenas, L., & Vásquez, C. (2014). *Digestión Anaerobia como Alternativa de Aprovechamiento de Biorresiduos de Origen Municipal para Generación de Metano*. Cali. Universidad del Valle.
- Castells, X. E. (2005). *Tratamiento y valorización energética de residuos* (Ediciones; F. U. Iberoamericana, Ed.). <https://doi.org/8479786949>
- Castillo, F. (2005). *Biología ambiental*.
- Centroamérica-BUN-CA, B. U. N. (2002). *Biomasa, Manuales Sobre Energía Renovables para América Central* (1 ed). San José C.R.
- Cherif, C., Hassanat, F., Claveau, S., Girard, J., Gervais, R., & Benchaar, C. (2018). Faba bean (*Vicia faba*) inclusion in dairy cow diets: Effect on nutrient digestion, rumen fermentation, nitrogen utilization, methane production, and milk performance. *Journal of Dairy Science*, 101(10), 8916–8928. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14890>
- Chernicharo, C. A. L. (2007). *Principios do tratamento biológico de águas residuárias* (Vol, V). Brasil.: Universidad Federal de Minas Gerais.
- Cuaila, J., Coaquira, C., Perez, J., & Cabanillas, C. (2012). Producción De Biogás Y Biol a Partir De Excretas De Ganado: Experiencias En La Ciudad De Tacna. *Infolactea.Com*, XIX, 14–17.
- David, A., & Coronel, D. (2018). *Valoración de estiércol bovino y porcino en la*

producción de biogás en un biodigestor de producción por etapas.

- Deublein, D., & Steinhauser, A. (2008). Biogas from Waste and Renewable Resources. In D. Deublein & A. Steinhauser (Eds.), *Wiley-VCH*. Retrieved from http://www.zorg-biogas.com/upload/book_biogas_plant.pdf
- Fannin, K. F. (1897). Start-up, operation, stability, and control. *Anaerobic Digestion of Biomass 1987 Pp.171-196 Ref.53*.
- FAO. (2019). Producción animal.
- Field, J. (1987). *Medición de parámetros". En: Curso de arranque y operación de reactores anaerobios con flujo ascendente y manto de lodos (UASB)*. Universidad del Valle, Cali.(Colombia).
- Figueroa-gonza, I., & Quijano, L. B. G. (2016). *Enhancing the biomethane potential of liquid dairy cow manure by addition of solid manure fractions*. 2097–2102. <https://doi.org/10.1007/s10529-016-2198-9>
- Francisca, N., Fernández, R., Rolando, P., & Maggi, C. (2013). *Estudio del comportamiento de reactores anaerobios de tipo ASBR frente a compuestos de difícil degradación y / o efectores negativos*.
- Gerardi, M. H. (2003). *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. <https://doi.org/10.1002/0471468967>
- Ghimire, A., Luongo, V., Frunzo, L., Pirozzi, F., Lens, P. N. L., & Esposito, G. (2017). Continuous biohydrogen production by thermophilic dark fermentation of cheese whey: Use of buffalo manure as buffering agent. *International Journal of Hydrogen Energy*, 42(8), 4861–4869. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.11.185>
- González, A., Santos, J. T., Borges, L., & Pereyda, G. (2001). Biodigestion of Hog Slurry to Produce Biomanure. *Terra Latinoamericana*, 19 nú, 353–362. <https://doi.org/2395-8030>
- González Contreras, P., Chamy Maggi, R., & Poirrier González, P. (2009). Tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas en reactores de una y dos fases a baja temperatura. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: Investigación, Desarrollo y Práctica*, 1(2). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22201/iingen.0718378xe.2007.1.2.14384>
- González, G. I., Rustrián, E., & Houbron, E. (2008). Impacto de la tasa de humedad en la biodegradación de los residuos sólidos urbanos de la ciudad de Veracruz, México. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 4(3), 336–341.
- Gupta, K. K., Aneja, K. R., & Rana, D. (2016). Current status of cow dung as a bioresource for sustainable development. *Bioresources and Bioprocessing*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s40643-016-0105-9>
- Gurung, K. R. S. (1996). *Field Guide to the Mammals of the Indian Subcontinent*. London: Academic Press Limited.

- Hayes, T. D., & Theis, T. L. (1978). *The distribution of heavy metals in anaerobic digestion*. *Journal water pollution control federation*. Vol. 50, 31–72.
- Helguero, A., Lautaro, G., Peña, B., & Hernani, G. (2018). *Obtención de biogás mediante la fermentación anaerobia de estiércol*. 2(2), 185–191.
- Hernández, H. E., Prada, J. O., Zapata, H. J., Cardona, M. C., & Duarte, M. (2011). *Atlas del Potencial Energético de la Biomasa Residual en Colombia*. Retrieved from <http://bdigital.upme.gov.co/handle/001/1058>
- Hulshoff Pol, L. W., Lens, P. N., Stams, A. J., & Lettinga, G. (1998). Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. *Biodegradation*, 9(3–4), 213–224.
- Ileana, J. G., Molina, F. J., & Peláez, C. A. (2016). Evaluación de la co-digestión anaerobia de lodos de aguas residuales municipales con residuos de alimentos Anaerobic co-digestion of municipal sewage sludge with food waste Avaliação do co-digestão anaeróbia de lodo de esgotos locais com resíduos dos alim. *Revista ION*, vol.29 (1), 63–70.
- Instituto Colombiano Agropecuario. (2018). Censo Pecuário Nacional - 2018.
- Junfeng, L., Runqing, H., Yanqin, S., Jingli, S., Bhattacharya, S. C., & Abdul Salam, P. (2005). Assessment of sustainable energy potential of non-plantation biomass resources in China. *Biomass and Bioenergy*, 29(3), 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2005.03.006>
- Lekagul, B., & McNeely, J. (1988). *Mammals of Thailand*. Bangkok, Thailand: Darnsutha Press.
- Lopez, G. (1999). *Metodo no convencional de medición de gases en la digestión anaerobia*. 16.
- Luo, X., Yuan, X., Wang, S., Sun, F., Hou, Z., Hu, Q., ... Zou, Y. (2018). Methane production and characteristics of the microbial community in the co-digestion of spent mushroom substrate with dairy manure. *Bioresource Technology*, 250(October 2017), 611–620. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.088>
- Macdonald, D. W. (2007). *The Encyclopedia of Mammals*. Oxford University Press.
- Madigan, M., Martinko, J., & Parker, J. (2006). *BROCK BIOLOGIA DE LOS MICROORGANISMOS* (10th ed.; P. EDUCACION, Ed.).
- Magaña, R., Luis, J., Torres, R., Martínez, G., Martín, T., Juárez, S., ... Sandoval, C. (2006). *Producción de Biogás a Nivel Laboratorio Utilizando Estiércol de Cabras*.
- Manotoa, S. D. M. (2012). Cuantificación del metano utilizado la técnica de actividad metanogénica específica en lodos provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales de Ucubamba. *El Escorial*.
- Marsh, M., Officer, C. E., Krich, K., Krich, K., Augenstein, D., Benemann, J., ... Salour, D. (2005). *Biomethane from Dairy Waste A Sourcebook for the Production and Use of*. (July).

- Martínez, R. F. (2005). *Formación de biogás y lixiviados. En Generación de biogás y lixiviados en los rellenos sanitarios.*
- Mattews, C. (2010). La ganadería amenaza el medio ambiente.
- McCarty, P. L. (1964). *Anaerobic waste treatment fundamentals. Part III: Toxic materials and their control.* Public Works.
- Nakasima-López, M., Taboada-González, P., Aguilar-Virgen, Q., & Velázquez-Limón, N. (2017). Adaptación de Inóculos Durante el Arranque de la Digestión Anaerobia con Residuos Sólidos Orgánicos. *Informacion Tecnologica*, 28(1), 199–208. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100020>
- Ngo, P., Rumpel, C., Ngo, Q., Alexis, M., Velásquez, G., De, M., ... Jouquet, P. (2013). Bioresource Technology Biological and chemical reactivity and phosphorus forms of buffalo manure compost , vermicompost and their mixture with biochar. *Bioresource Technology*, 148, 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.098>
- Noorollahi, Y., Kheirrouz, M., Farabi-Asl, H., Yousefi, H., & Hajinezhad, A. (2015). Biogas production potential from livestock manure in Iran. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 748–754. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.190>
- Nowak, R. (1999). *Walker's Mammals of the World* (2nd-vol. set ed.). Baltimore, Maryland: Johns Hopkins University Press.
- Orozco, A. (2014). *Bioingeniería de aguas residuales. Teoría y diseño* (2nd, 2014th ed.). Asociación Colombiana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Acodal.
- Ortega, N. M. (2006). Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process. *Digestion*.
- Osorio Arce, M., & Segura Correa, J. (2013). Digestión Anaerobia. *Livestock Research for Rural Development*, 1–10. Retrieved from <http://www.agrowaste.eu/wp-content/uploads/2013/02/DIGESTION-ANAEROBIA.pdf>
- P Torres; A, P. (2010). Actividad Metanogénica específica: una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales. *Ingeniería de Recursos Naturales y Del Ambiente*, 9(1), 5–14. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=231116434001>
- Palma, J., Espinace, R., Valenzuela, P., & Szanto, M. (1999). Reducción de los tiempos de estabilización en rellenos sanitarios operados con recirculación de lixiviados. *XIII Congreso de Ingeniería Sanitaria y Ambiental AIDIS*, 1–6. Chile.
- Palomino, M. A., Ortegón, M. F., Rojas Betancourt, T., Martínez, J., Valderrama, J., Barragán, R., ... Wandurraga, H. L. (2016). Evaluación del potencial acidogénico para producción de AGV de melaza de la industria azucarera como valorización de este subproducto. *Revista Investigación, Optimización y Nuevos Procesos En Ingeniería*, 29(1), 71–80. <https://doi.org/10.18273/revion.v29n1-2016006>

- Parra, A., Torres, P., & Vásquez, C. (2016). Perspectivas del ensayo de Potencial Bioquímico de Metano - PBM para el control del proceso de digestión anaerobia de residuos. *Revista Investigación, Optimización y Nuevos Procesos En Ingeniería*, 29(1), 95–108. <https://doi.org/10.18273/revion.v29n1-2016008>
- Parra, B. (2013). *PRODUCCIÓN DE METANO A PARTIR DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE BIORRESIDUOS DE ORIGEN MUNICIPAL UNIVERSIDAD (UNIVERSIDAD DEL VALLE)*. Retrieved from <http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/10893/7645/1/7720-0446398.pdf>
- Pérez, A., & Torres, P. (2011). Indices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. *Ingeniería Y Competitividad*, 10(2), 41–52. <https://doi.org/10.25100/IYC.V10I2.2473>
- PNUD, FAO, GEF, y M. (2011). Manual de Biogás. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. *Global Environment Facility*, 91–94. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>
- Porrier, P. (2005). Hidrólisis y acidificación psicrófila de moléculas complejas en sistemas anaeróbios (Universidad de Santiago de Compostela). Retrieved from <http://www.usc.es/biogroup/sites/default/files/PaolaPoirrier.pdf>
- Rao, P. V., Baral, S. S., Dey, R., & Mutnuri, S. (2010). Biogas generation potential by anaerobic digestion for sustainable energy development in India. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(7), 2086–2094. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.03.031>
- Ravindranath, N. H., Somashekar, H. I., Nagaraja, M. S., Sudha, P., Sangeetha, G., Bhattacharya, S. C., & Abdul Salam, P. (2005). Assessment of sustainable non-plantation biomass resources potential for energy in India. *Biomass and Bioenergy*, 29(3), 178–190. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2005.03.005>
- Rivera, R. C. (2017). *Abonos obtenidos del compostado de heces de ganado bovino de leche vs . fertilizante en la producción de triticale (X Triticum secale Wittmack) Compost obtained from feces of dairy cattle vs . fertilizer on triticale*. 49(1), 95–104.
- Rodríguez, J. (2010). *ESTUDIO COMPARATIVO DE DIFERENTES TECNOLOGÍAS DE HIGIENIZACIÓN DE LODOS DE DEPURADORA CON FINES PARA SU REUTILIZACIÓN*. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID.
- Román, P., Martínez, M. M., & Patoja, A. (2013). *MANUAL DE COMPOSTAJE DEL AGRICULTOR Experiencias en América Latina*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i3388s.pdf>
- Ruan, D., Zhou, Z., Pang, H., Yao, J., Chen, G., & Qiu, Z. (2019). Enhancing methane production of anaerobic sludge digestion by microaeration: Enzyme activity stimulation, semi-continuous reactor validation and microbial community analysis. *Bioresource Technology*, 289(May), 121643. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121643>

- Sambusiti, C., Rollini, M., Ficara, E., Musatti, A., Manzoni, M., & Malpei, F. (2013). Enzymatic and metabolic activities of four anaerobic sludges and their impact on methane production from ensiled sorghum forage. *Bioresource Technology*, *155C*, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.055>
- Sanaei-Moghadam, A., Abbaspour-Fard, M. H., Aghel, H., Aghkhani, M. H., & Abedini-Torghabeh, J. (2014). Enhancement of biogas production by co-digestion of potato pulp with cow manure in a CSTR system. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *173*(7), 1858–1869. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0972-5>
- Sanders, W. T. M., Geerink, M., Zeeman, G., & Lettinga, G. (2000). Anaerobic hydrolysis kinetics of particulate substrates. In *Water Sci. Technol* (Vol. 41, pp. 17–24).
- Seadi, T. Al, Rutz, D., Prassl, H., Kottner, M., Finsterwalder, T., Volk, S., & Janssen, R. (2008). *Biogas Handbook* (T. Al Seadi, Ed.). Retrieved from <http://lemvigbiogas.com/>
- Seghezzo, L. (1992). *Medio de cultivo Recorrido del biogas Trampa de NaOH Probeta graduada*.
- Shakir, K., Walsh, M. K., & Mohammed, S. A. (2013). Characterization of Iraqi sheep milk lysozyme with respect to molecular weight and hydrolytic activity. *Dairy Science & Technology*, *93*(6), 699–705. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0136-3>
- Sosa, C. (2015). *Parámetros de control y monitoreo del proceso en digestores anaerobios de pequeña escala y diferentes tecnologías*. Retrieved from <http://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/2011/biodigestores.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Soto, M., Méndez, R., & Lema, J. M. (1993). Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. *Water Research*, *27*(8), 1361–1376. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(93\)90224-6](https://doi.org/10.1016/0043-1354(93)90224-6)
- Souto, T. F., Aquino, S. f., Silva, S. Q., & Chernicharo, C. A. L. (2010). Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test. *Biodegradation* (2010), *21*, 411–424. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9311-x>
- Speece, R. E., & Takashima, M. (1987). Nutrient requirements for anaerobic digestion. *Elsevier Applied Science LTD*.
- Sun, C., Cao, W., & Liu, R. (2015). *Kinetics of Methane Production from Swine Manure and Buffalo Manure*. 985–995. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1792-y>
- Tao, W., Fattah, K. P., & Huchzermeier, M. P. (2016). Struvite recovery from anaerobically digested dairy manure: A review of application potential and hindrances. *Journal of Environmental Management*, *169*, 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.12.006>
- Tasnim, F., Iqbal, S. A., & Chowdhury, A. R. (2017). Biogas production from anaerobic co-digestion of cow manure with kitchen waste and Water Hyacinth. *Renewable Energy*, *109*, 434–439. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.03.044>

- Torres, M. L., Villa, P. M., & Escobedo, R. (2004). *El comportamiento de reactores anaerobios de residuos sólidos a través de ensayos microbiológicos*. 35(3), 179–183.
- Tsai, W., & Liu, S. (2016). *Thermochemical characterization of cattle manure relevant to its energy conversion and environmental implications*. 71–77. <https://doi.org/10.1007/s13399-015-0165-7>
- Varnero, M. T., Carú, M., & Galleguillos, K. (2012). *Tecnologías disponibles para la Purificación de Biogás usado en la Generación Eléctrica Available Technologies for Purification of Biogas used in Power Generation*. 23(2), 31–40. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642012000200005>
- Venegas, A. (2017). Solamente 48,2% de los municipios cuentan con plantas de tratamiento de aguas residuales. *Revista La Republica*.
- Walker, E., F., W., Hamlet, S., Lange, K., & Uible, H. (1975). *Mammals Of The World*. London: the Johns Hopkins University.
- Zehnder, A. J. B. (1988). *Biology of anaerobic microorganisms*. new york: John Wiley and Sons Inc.
- Zhai, N., Zhang, T., Yin, D., Yang, G., Wang, X., Ren, G., & Feng, Y. (2015). Effect of initial pH on anaerobic co-digestion of kitchen waste and cow manure. *Waste Management*, 38(1), 126131. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.12.027>

ANEXOS

Anexo 1. Consumo de sustrato en AH y AA.

Tabla 9. Consumo de sustrato en AH y AA

HIDROLITICA VACA				HIDROLITICA BUFALO				ACIDOGENICA VACA		ACIDOGENICA BUFALO	
HORAS	AR	AT	ALMIDON	HORAS	AR	AT	ALMIDON	HORAS	AR	HORAS	AR
0	890	99,7	790,3	0	792	103,5	688,5	0	710,6	0	510,8
1	832,5	95,4	737,1	1	730,6	92,8	637,8	1	688,7	1	490,7
2	782,5	88,9	693,6	2	724,6	86,3	638,3	2	667,3	2	450,1
3	508,5	58,6	449,9	3	487,4	55,5	431,9	3	415,8	3	356,9
4	398,4	21,6	376,8	4	326,1	18,9	307,2	4	376,8	4	253,6
5	123,4	13,5	110	5	290,7	10,1	280,6	5	112,6	5	90,7
6	78,9	9,6	69,3	6	76,5	6,4	70,1	6	93,5	6	79,7
7	65,9	6,3	59,6	7	44,9	5,2	39,7	7	72,3	7	68,4
8	27,2	3,4	23,8	8	18,9	2,5	16,4	8	27,2	8	25,3
9	25,9	3,1	22,8	9	15,6	2,4	13,2	9	23,5	9	20,1
10	24,3	2,9	21,4	10	15,2	2,3	12,9	10	22,3	10	19,5
11	24,9	2,5	22,4	11	14,3	1,7	12,6	11	21,8	11	22,3
12	24,2	2,3	21,9	12	13,4	1,5	11,9	12	21,1	12	21,2
13	23,5	2,6	20,9	13	15,6	2,9	12,7	13	20,7	13	20,6
14	24	3	21	14	12,4	1,9	10,5	14	20,4	14	19,6
15	23,5	2,3	21,2	15	14,3	1,4	12,9	15	20,1	15	20,2
16	20,4	1,6	18,8	16	15,3	1,3	14	16	20,3	16	19,5
17	45	10,4	34,6	17	14,3	2,5	11,8	17	19,9	17	19,1
18	37	6,5	30,5	18	14,5	2,9	11,6	18	19,1	18	19,9
19	29,2	6,3	22,9	19	13,7	1,9	11,8	19	19,4	19	18,9
20	25,5	5,4	20,1	20	13,1	2,3	10,8	20	19,2	20	18,1
21	28,5	5,2	23,3	21	12,6	2,8	9,8	21	19,1	21	17,3
22	30,2	4,3	25,9	22	13,5	2,5	11	22	18,5	22	17,1
23	28,4	5,4	23	23	13,2	3,1	10,1	23	18,9	23	17,8
24	27,1	6,4	20,7	24	13,1	2,4	10,7	24	18,8	24	14
25	25,4	4,3	21,1	25	12,9	2,5	10,4	25	18,1	25	15,9
26	22,4	3,2	19,2	26	12,1	2,2	9,9	26	17,8	26	16,4
27	24,1	4,6	19,5	27	12	2,9	9,1	27	18,3	27	16,6
28	23,5	4,9	18,6	28	12,9	3,4	9,5	28	17,5	28	15,9
29	22,7	3,9	18,8	29	13	2,2	10,8	29	17,1	29	15,1
30	22,1	4,1	18	30	12,6	2,9	9,7	30	16,8	30	16,3

Fuente: Autores

Anexo 2. Datos de presión de la prueba AME con humedad inicial (80% ± 0.5%)

Tabla 10. Datos de presión de la prueba AME con humedad inicial (80% ± 0.5%)

vaca					BUFALO				
Tiempo h	Blanco	1	2	3	Tiempo h	Blanco	1	2	3
6	52	43	35	55	6	48	53	43	53
12	71	70	55	70	12	57	68	73	59
18	85	95	74	99	18	74	79	77	78
24	91	119	103	118	24	81	85	85	94
30	99	133	126	138	30	90	88	101	112
36	104	152	159	157	36	94	101	116	118
42	109	178	172	182	42	102	121	133	135
48	117	203	185	218	48	108	135	155	153
54	123	231	218	243	54	113	151	171	172
60	128	261	247	257	60	117	171	183	184
66	137	287	267	284	66	122	180	195	205
72	145	308	277	295	72	124	197	214	228
78	158	329	299	311	78	134	213	233	249
84	164	358	323	327	84	140	231	252	259
90	173	386	348	355	90	147	252	259	270
96	180	414	373	374	96	155	276	265	281
102	187	440	399	386	102	165	287	267	293
108	202	463	427	399	108	173	298	276	305
114	219	485	456	415	114	180	310	283	318
120	231	505	475	422	120	186	322	288	331
126	247	534	504	431	126	195	334	294	344
132	265	555	524	447	132	206	347	302	359
138	277	577	544	451	138	215	360	303	372
144	291	597	565	465	144	224	373	308	386
150	298	616	590	475	150	230	381	312	395
156	308	633	604	486	156	238	391	315	405
162	315	651	621	502	162	254	404	324	416
168	323	668	637	517	168	266	420	325	429
174	329	687	654	530	174	276	434	335	440
180	336	698	672	540	180	284	445	347	452
186	347	709	687	555	186	289	455	352	460
192	355	723	696	567	192	297	467	355	470
198	365	733	709	581	198	302	477	362	479
204	373	746	721	591	204	309	489	368	491
210	380	757	735	598	210	314	499	373	502
216	391	766	745	601	216	321	511	382	509
222	398	778	760	610	222	326	521	384	518
228	410	789	772	616	228	333	533	391	528
234	419	798	782	623	234	338	543	400	538
240	425	807	791	630	240	346	555	406	547
246	438	819	800	639	246	351	565	414	560
252	448	829	813	653	252	356	575	421	569
258	456	842	825	663	258	361	587	427	581
264	463	853	839	670	264	367	597	432	592
270	471	864	854	685	270	374	607	437	600
276	481	878	863	697	276	380	619	440	610
282	489	888	876	711	282	389	629	447	618
288	496	901	886	721	288	395	641	453	628
294	507	912	900	726	294	404	651	458	638
300	514	921	910	729	300	410	663	467	645
306	526	933	920	733	306	419	673	469	654
312	537	944	930	739	312	425	685	476	664
318	543	953	938	742	318	434	692	485	673
324	553	962	947	742	324	440	701	491	681
330	563	974	957	745	330	446	709	499	691
336	571	984	967	746	336	451	715	506	699
342	579	998	976	758	342	460	725	509	707
348	587	1012	985	760	348	469	737	512	717
354	596	1021	991	763	354	478	744	515	725
360	604	1028	998	766	360	488	753	523	732
366	611	1034	1004	767	366	493	759	526	737
372	617	1042	1009	770	372	499	764	528	743
378	624	1049	1014	771	378	504	769	528	747

384	629	1054	1020	771	384	509	773	533	752
390	635	1059	1026	773	390	515	779	537	758
396	641	1064	1031	778	396	520	784	541	763
402	646	1070	1035	780	402	527	789	543	769
408	653	1074	1040	781	408	533	795	547	774
414	659	1078	1044	782	414	538	801	547	779
420	666	1083	1049	782	420	543	806	550	783
426	672	1087	1054	783	426	547	811	556	787
432	677	1091	1058	785	432	552	815	557	792
438	681	1096	1061	785	438	554	818	558	790
444	684	1100	1065	787	444	557	822	558	794
450	688	1105	1070	789	450	559	825	559	796
456	691	1109	1073	791	456	563	829	561	800
462	695	1114	1077	792	462	567	831	562	803
468	700	1118	1080	793	468	571	834	564	806
474	704	1123	1084	793	474	574	838	565	810
480	707	1127	1087	795	480	578	841	566	813
486	711	1132	1091	795	486	582	845	568	815
492	715	1136	1096	796	492	586	848	569	819
498	721	1140	1100	797	498	590	852	570	822
504	724	1144	1105	798	504	593	854	570	825
510	727	1149	1107	799	510	596	857	571	828
516	731	1153	1110	799	516	598	859	571	830
522	734	1156	1112	800	522	601	862	572	832
528	737	1158	1115	802	528	603	865	574	835
534	740	1161	1117	803	534	605	867	575	837
540	746	1162	1118	803	540	608	869	575	840
546	751	1164	1120	804	546	609	870	576	842
552	757	1165	1122	804	552	611	871	576	843
558	761	1166	1123	804	558	615	872	576	844
564	765	1167	1124	804	564	620	872	577	845
570	769	1168	1125	805	570	623	873	578	846
576	773	1169	1126	805	576	627	874	578	847
582	777	1170	1126	805	582	628	875	578	848
588	781	1171	1127	805	588	628	877	578	849
594	785	1171	1127	805	594	628	878	578	849
600	790	1172	1127	806	600	629	879	578	849
606	794	1172	1128	806	606	629	879	579	849
612	797	1172	1128	806	612	629	879	579	849
618	799	1173	1128	806	618	629	879	579	849
624	801	1173	1128	806	624	630	879	580	850
630	802	1173	1129	806	630	630	879	580	850
636	804	1174	1129	806	636	630	880	580	850
642	806	1174	1129	806	642	630	880	580	850
648	809	1174	1129	806	648	630	880	580	850
654	811	1174	1130	807	654	630	880	580	850
660	812	1175	1130	807	660	630	880	580	850
666	815	1175	1130	807	666	630	880	580	850
672	818	1175	1130	808	672	630	880	580	850
678	818	1175	1130	808	678	630	880	580	850
684	818	1175	1130	808	684	630	880	580	850
690	819	1175	1130	808	690	630	880	580	850
696	819	1175	1130	809	696	630	880	580	850
702	819	1175	1130	809	702	630	880	580	850
708	819	1175	1130	809	708	630	880	580	850
714	819	1175	1130	809	714	630	880	580	850
720	819	1175	1130	809	720	631	880	580	850

Fuente: Autores

Anexo 3. Datos de presión de la prueba AME con humedad inicial (55% ± 0.5%)

Tabla 11. Datos de presión de la prueba AME con humedad inicial (55% ± 0.5%)

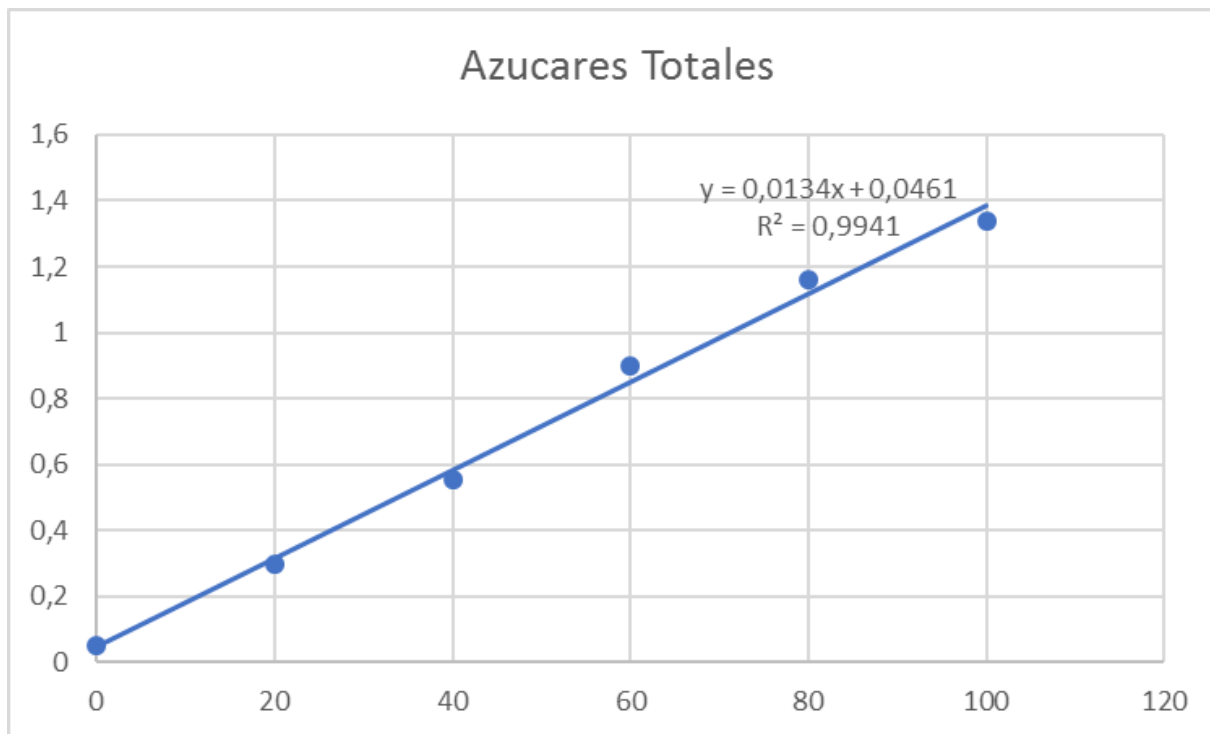
vaca					BUFALO				
Tiempo h	Blanco 7	1	2	3	Tiempo h	Blanco	1	2	3
6	5	10	13	1	6	4	8	6	10
12	15	47	44	16	12	8	37	15	19
18	24	82	80	17	18	15	57	18	29
24	29	114	116	19	24	20	82	30	46
30	31	150	155	31	30	26	111	32	65
36	34	186	195	32	36	31	137	42	85
42	36	224	227	54	42	37	164	44	105
48	44	264	274	57	48	44	192	61	131
54	53	303	317	60	54	49	219	62	158
60	65	346	363	75	60	55	248	72	182
66	73	388	405	78	66	62	276	84	211
72	82	431	446	90	72	66	298	88	233
78	88	471	490	90	78	72	324	90	254
84	95	512	536	92	84	80	348	94	278
90	103	552	585	98	90	83	373	97	302
96	110	594	630	99	96	88	397	98	325
102	116	637	676	104	102	94	421	99	350
108	122	678	723	105	108	98	447	101	372
114	129	720	770	106	114	102	469	102	396
120	137	762	816	108	120	108	495	105	418
126	144	803	860	112	126	115	522	106	440
132	152	845	903	112	132	121	547	107	465
138	160	889	947	113	138	129	573	109	489
144	166	926	991	116	144	138	595	112	511
150	171	970	1033	118	150	142	620	115	533
156	174	1012	1081	119	156	147	647	116	556
162	181	1047	1122	120	162	154	676	118	578
168	189	1082	1163	124	168	159	702	119	602
174	193	1122	1211	125	174	166	726	120	627
180	199	1164	1260	127	180	171	753	122	653
186	208	1195	1306	129	186	178	778	124	681
192	215	1229	1354	131	192	183	804	125	713
198	222	1270	1402	116	198	191	835	128	748
204	228	1310	1451	103	204	200	867	140	785
210	236	1351	1498	104	210	208	898	163	819
216	245	1392	1546	104	216	217	929	136	854
222	251	1430	1595	120	222	224	960	164	886
228	272	1471	1640	132	228	231	994	164	920
234	279	1511	1683	144	234	239	1025	114	952
240	288	1542	1724	155	240	247	1056	111	986
246	295	1581	1766	153	246	256	1092	134	1017
252	303	1619	1806	157	252	265	1133	136	1047
258	312	1659	1847	180	258	271	1170	157	1079
264	317	1694	1889	182	264	278	1201	158	1113
270	323	1731	1929	185	270	284	1234	158	1146
276	326	1773	1969	187	276	292	1271	159	1178
282	332	1814	2009	192	282	298	1306	164	1213
288	339	1855	2043	198	288	303	1337	170	1245
294	344	1894	2075	204	294	308	1374	177	1279
300	348	1933	2106	211	300	314	1412	185	1311
306	355	1971	2136	215	306	321	1451	194	1343
312	359	2009	2168	228	312	330	1485	193	1374
318	365	2048	2199	232	318	338	1521	217	1408
324	369	2087	2229	209	324	345	1554	192	1439
330	376	2125	2261	211	330	354	1590	215	1470
336	382	2164	2292	235	336	364	1622	239	1501
342	389	2197	2321	236	342	370	1657	262	1531
348	393	2227	2349	248	348	375	1693	212	1562
354	397	2254	2377	251	354	384	1723	212	1592
360	402	2275	2404	252	360	394	1754	197	1622
366	406	2300	2429	254	366	401	1785	185	1653
372	411	2324	2453	259	372	409	1817	204	1684
378	417	2347	2479	277	378	415	1851	216	1709
384	421	2371	2506	300	384	422	1884	202	1738
390	426	2393	2533	319	390	431	1918	216	1766

396	429	2414	2557	342	396	439	1949	235	1793
402	433	2435	2578	371	402	448	1982	249	1816
408	438	2455	2600	395	408	456	2005	268	1839
414	444	2476	2622	424	414	464	2027	290	1862
420	448	2497	2642	445	420	474	2048	311	1882
426	454	2518	2662	474	426	483	2067	335	1907
432	461	2539	2679	475	432	490	2083	364	1929
438	465	2557	2697	375	438	499	2099	387	1950
444	471	2573	2712	325	444	507	2113	387	1972
450	475	2588	2724	280	450	507	2125	411	1993
456	480	2600	2735	281	456	514	2138	358	2013
462	484	2613	2746	281	462	522	2149	334	2035
468	487	2625	2755	281	468	531	2160	289	2058
474	490	2635	2763	304	474	537	2172	310	2079
480	495	2646	2770	306	480	544	2182	311	2091
486	502	2658	2776	307	486	552	2190	311	2102
492	507	2668	2780	319	492	561	2199	312	2111
498	516	2676	2785	340	498	570	2206	312	2117
504	520	2681	2790	341	504	576	2214	313	2126
510	523	2685	2794	343	510	583	2219	327	2136
516	525	2687	2797	375	516	588	2227	328	2147
522	530	2688	2799	376	522	595	2232	298	2156
528	534	2690	2802	376	528	600	2238	278	2161
534	537	2691	2804	377	534	602	2243	284	2164
540	539	2693	2806	400	540	605	2247	307	2166
546	542	2694	2807	421	546	607	2250	282	2168
552	548	2695	2808	422	552	610	2252	327	2169
558	550	2695	2809	434	558	612	2255	327	2172
564	551	2695	2810	435	564	613	2259	350	2175
570	553	2697	2811	436	570	614	2261	373	2176
576	554	2699	2813	386	576	615	2262	323	2177
582	554	2700	2814	336	582	615	2262	278	2178
588	554	2700	2815	348	588	616	2262	211	2178
594	554	2700	2815	359	594	616	2263	223	2179
600	554	2701	2815	373	600	617	2263	234	2180
606	554	2701	2815	385	606	617	2263	245	2180
612	554	2701	2816	400	612	617	2264	235	2180
618	555	2701	2816	411	618	618	2265	246	2180
624	555	2702	2816	422	624	618	2265	257	2180
630	555	2703	2816	432	630	618	2265	267	2180
636	555	2703	2817	443	636	618	2265	278	2180
642	555	2703	2817	454	642	618	2265	289	2180
648	555	2703	2817	464	648	618	2265	300	2180
654	555	2704	2817	424	654	618	2265	280	2180
660	555	2704	2817	425	660	618	2265	200	2180
666	555	2704	2817	426	666	618	2265	177	2180
672	555	2704	2818	426	672	618	2265	198	2180
678	555	2704	2818	438	678	618	2265	210	2180
684	555	2704	2818	452	684	618	2265	210	2180
690	555	2704	2818	464	690	618	2265	222	2180
696	555	2704	2818	475	696	618	2265	233	2180
702	555	2704	2818	486	702	618	2265	210	2180
708	555	2704	2818	457	708	618	2265	187	2180
714	555	2704	2818	478	714	618	2265	210	2180
720	555	2704	2818	479	720	618	2265	221	2180

Fuente: Autores

Anexo 4. Curva de calibración para prueba de AT

Ilustración 12. Curva de calibración para la determinación de AT.



Fuente: Autores

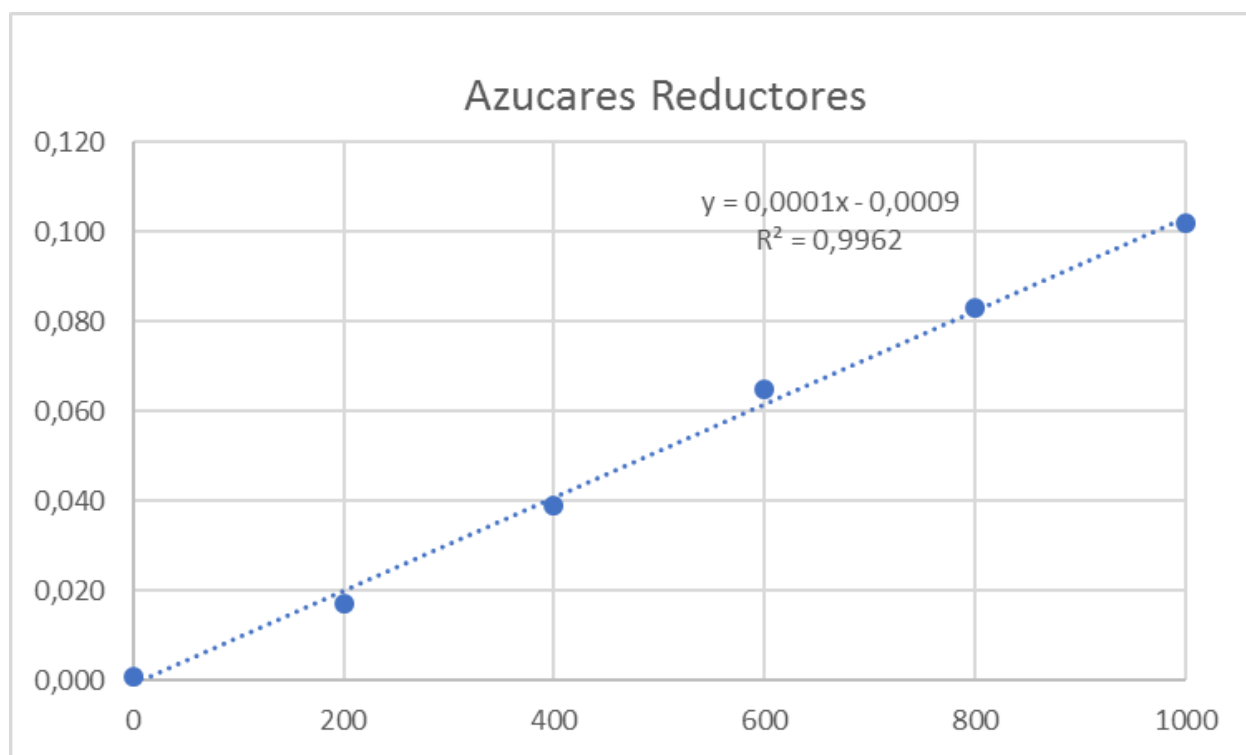
Tabla 12. Absorbancia de concentraciones para la determinación de AT

Azúcares totales	
concentracion	absorbancia
0	0,05
20	0,297
40	0,552
60	0,897
80	1,16
100	1,338

Fuente: Autores

Anexo 5. Curva de Calibración para la determinación de AR

Ilustración 13. Curva de calibración para la determinación de AR



Fuente: Autores

Tabla 13. Absorbancia de concentraciones para la determinación de AR

Azúcares reductores	
Concentración	Absorbancia
0	0,001
200	0,017
400	0,039
600	0,065
800	0,083
1000	0,102

Materiales y Reactivos

- ❖ 75 g de tartrato de sodio potasio
- ❖ 2,5 g de ácido Di-nitro-salicílico
- ❖ 4 g de NaOH
- ❖ Balón aforado de 250ml

Procedimiento

1. Pesar los reactivos.
2. Disolver lentamente el tartrato de sodio potasio y el NaOH en un vaso precipitado.
3. Disolver el ácido Di-nitro-salicílico de forma gradual con un agitador magnético.
4. Agregarlo lentamente a la solución de tartrato con el NaOH y aforar a 250ml.
5. Conservarlo en una botella ámbar envuelta en aluminio en nevera