

Efecto de la Adición de Microorganismos Sobre la Producción de Gas Metano en
Biodigestores

José Leonardo Hernández Mújica, Javier Yesid Vera Morales

Trabajo de Grado para Optar el Título de Zootecnista

Director

Julián Mauricio Botero Londoño

PhD en Ciencias Agrarias

Universidad Industrial de Santander

Instituto de Proyección Regional y Educación a Distancia IPRED

Programa de Zootecnia

Málaga

2019

Tabla de Contenido

Introducción	16
1. Objetivos	19
1.1 Objetivo General	19
1.2 Objetivo Específicos	19
2. Marco Referencial.....	20
2.1 Marco teórico	20
2.1.1 Digestión anaeróbica.....	20
2.2 Bioquímica de la Digestión Anaeróbica	21
2.2.1 Hidrólisis.....	22
2.2.3 Acidogénesis.	22
2.2.4 Acetogénesis.	22
2.2.4 Metanogénesis.....	23
2.3 Microorganismos involucrados en la digestión anaeróbica	23
2.4 Factores que Influyen en la Digestión anaeróbica	25
2.4.1 pH.....	25
2.4.2 Temperatura.	26
2.4.3 Substrato y su composición química.....	26
2.4.4 Tiempo de retención hidráulica.	26

2.5 Biodigestores.....	27
2.5.1 Partes de Biodigestor	28
2.5.2 Operación de un biodigestor.	29
2.6 El biogás.....	29
2.6.1 Componentes de Biogás.....	30
2.6.2 Aplicación del Biogás	30
2.7 Microorganismos presentes en el contenido ruminal.....	31
2.8 Marco Conceptual	32
2.8.1 Digestión anaeróbica:.....	32
2.8.2 Biodigestor:.....	32
2.8.3 Microorganismos	32
2.8.4 Materia orgánica	32
2.8.5 Hidrólisis.....	33
2.8.6 Acidogénesis	33
2.8.7Acetogénesis	33
2.8.8 Metanogénesis.....	33
2.8.9 Metano	33
2.8.10 Gas	34
2.8.11 Biogás	34
2.9 Marco Legal	34

3. Metodología.....	36
3.2 Ubicación	36
3.3 Materiales y métodos	37
3.3.1 Adquisición y multiplicación de microorganismo metanogénicos.....	37
3.4 Fabricación de un Biodigestor Estático de Tipo Experimental	39
3.4.1 Llenado del Biodigestor.....	39
3.5 Diseño experimental	39
3.6 Cálculo de variables	40
3.6.1 Velocidad y producción de gases.....	40
3.6.2 Composición de los gases producidos en decímetros cúbicos y porcentualmente.	40
3.6.3 Características fisicoquímicas de los efluentes.....	40
3.7 Análisis estadístico.....	41
4. Resultados.....	41
5. Discusión.....	48
6. Conclusiones	52
7. Recomendaciones	53
Referencias bibliográficas.....	54
Apéndices.....	62

Lista de Tablas

Tabla 1 Microorganismos que intervienen en la digestión anaeróbica.....	25
Tabla 2 Composición bioquímica del gas.....	30
Tabla 3 Determinación de los tratamientos experimentales	39
Tabla 4 Cálculo de la cantidad de nutrientes	43
Tabla 5 Composición química del biogás (%).....	44
Tabla 6 Composición bioquímica del biogás en (dm ³).....	46
Tabla 7 Medición del pH durante la fase experimental	47

Lista de Figuras

Figura 1. Fases del proceso de digestión anaeróbica	23
Figura 2. Ubicación de la UIS (Sede Málaga)	37
Figura 3. Contenido de nutrientes presentes en el efluente medido en porcentaje (%) durante la fase experimental	44
Figura 4. Contenido de nutrientes presentes en el efluente medido en porcentaje (%) durante la fase experimental	45
Figura 5. Composición química del biogás en (dm ³).....	46
Figura 6. Determinación del pH.....	48

Lista de Apéndices

Apéndice A. Llenado de biodigestores	62
Apéndice B. Mezcla control	63
Apéndice C. Adquisición y multiplicación de microorganismos del bosque	64
Apéndice D. Muestras del contenido ruminal y lodo de residuos porcícolas	65

Dedicatoria

En primer lugar, agradezco a **Dios** por acompañarme y darme fortaleza durante toda mi formación profesional.

A mi madre **Edelmira Hernández Mujica** quien estuvo en los momentos buenos y malos, motivándome cada día para alcanzar este logro.

Al director del proyecto **Julián Mauricio Botero Londoño** (Médico Veterinario Zootecnista), el cual nos aportó su conocimiento para la implementación y ejecución del proyecto.

Y todas las personas que estuvieron al pendiente y aportaron un granito de arena para el cumplimiento de esta meta.

A la Universidad Industrial de Santander por formarme como una persona íntegra y con altos estándares de calidad.

“Con inmensa gratitud Leonardo”

En primer lugar, quiero agradecer a **Dios** por brindarme la sabiduría para poder realizar este proyecto.

A mis padres **Hernán** y **Paulina** por la confianza, esfuerzo y perseverancia incondicional, que me dieron para afrontar esta etapa y así poder lograr mis objetivos.

A mis hermanas **Milena Ángela** y **Gladys** por brindarme todo su cariño y afecto.

A mis amigos y compañeros de la carrera de Zootecnia por los momentos inolvidables que vivimos, en especial a mi compañero de tesis **José Leonardo**, también a *Ricardo, Diego, Sebastián, Yennifer, Juan José, Lina, Nohemi*, entre muchos otros...

A **Julián Mauricio Botero Londoño** por ser nuestro director de tesis y tener tanta paciencia, por su colaboración y compromiso con el trabajo.

A las empresas de lácteos Sol Ángel y la Bodega de Yuli por enseñarme el valor del trabajo.

A todos los profesores que hicieron parte de la trayectoria, brindándome conocimiento y enseñanzas durante todos los años de formación y a cada uno de ustedes de los que hicieron parte de mi proceso, gracias infinitas.

“Con Cariño Yesid”

Agradecimientos

En primer lugar, a **Dios** que nos permitió ejecutar y llevar a término este proyecto, el cual nos dejó muchas enseñanzas para nuestra vida profesional.

A **nuestros padres, hermanos, abuelos** y a **toda nuestra familia** que nos apoyaron en este proceso.

A nuestro director **Julián Mauricio** que confió en nuestras capacidades y nos brindó su confianza, apoyo y conocimiento, así mismo a la profesora **Erika Celis** docente de química de la Universidad la cual estuvo atenta y nos apoyó en los análisis experimentales, a la **Universidad Industrial de Santander-Sede Málaga**, a su equipo de trabajo por concederme los espacios y algunos materiales y equipos para la realización de mi proyecto de grado.

Finalmente agradecerle todos los **docentes, amigos** y **compañeros** que estuvieron con nosotros a lo largo de nuestra formación por todos y cada uno de los momentos compartidos.

Resumen

Título: Efecto de la adición de microorganismos sobre la producción de gas metano en biodigestores*

Autor: Javier Yesid Vera Morales, José Leonardo Hernández Mújica**

Palabras Clave: Microorganismos metanogénicos, biodigestor, metano, digestión anaerobia.

Descripción:

La contaminación medioambiental constituye una de las principales problemáticas a nivel mundial, se estima que la producción de Gases Efecto Invernadero (GEI) sintetizados en la ganadería corresponden al 3,9% y para la agricultura al 7,7%. Anualmente se desechan mil millones de toneladas de estiércol, en donde las heces excretadas por los bovinos son capaces de originar de 84-123 kg de CH₄ al año y los porcinos 4,8 kg al año. La digestión anaeróbica empleada como una tecnología multipropósito ha demostrado convergir el aprovechamiento de los residuos agropecuarios, generando un mayor rendimiento en la síntesis bioenergética y logrando la eficiencia de los microorganismos metanogénicos en condiciones de estricta anaerobiosis. Este estudio determinó el efecto de la adición de microorganismos sobre la producción de gas metano en biodigestores. Se emplearon 12 biodigestores correspondientes cada uno a una réplica experimental, para un total de cuatro tratamientos (3 réplicas y 3 biodigestores por tratamiento) los cuales fueron distribuidos completamente al azar, en donde (T₀: tratamiento control, T₁: adición de 4 litros de microorganismos del bosque, T₂: 4 litros de microorganismos del lodo de residuos porcícolas y T₃: 4kg de microorganismos del contenido ruminal). Se evaluaron la producción de gas en dm³ empleando 24 mediciones a un intervalo de 5 días durante los 4 meses, la composición química tanto porcentual como la cantidad en decímetros cúbicos del biogás, y se determinó el contenido de nutrientes del efluente. Se concluyó que los tratamientos con adición de microorganismo del bosque y del contenido ruminal mejoraron la producción de gas durante las 24 mediciones, se observó un comportamiento similar en la composición química del biogás tanto en porcentaje como en dm³, y la relación C/N no fue la mejor con respecto a la información reportada en la literatura.

*Trabajo de grado** Instituto de Proyección Regional y a Distancia IPRED. Programa de Zootecnia. Director Julián Mauricio Botero Londoño, PhD en Ciencias Agrarias.

Abstract

Title: Effect of the addition of microorganisms on the production of methane gas in biodigestors*

Author: Javier Yesid Vera Morales, José Leonardo Hernández Mújica**

Key words: Methanogenic microorganisms, biodigestors, methane, digestion anaerobic digestion.

Description:

The environmental pollution is one of the main problems worldwide, it estimated that the production of Greenhouse Gases (GHG) synthesized in livestock correspond to 3.9% and for agriculture to 7.7%. One billion tons of manure are discarded annually, where feces excreted by cattle can originate 84-123 kg of CH₄ per year and pigs 4.8 kg per year. The anaerobic digestion used as a multipurpose technology has been shown to converge the use of agricultural waste, generating a higher yield in bioenergetic synthesis and achieving the efficiency of methanogenic microorganisms under conditions of strict anaerobiosis. This study determined the effect of the addition of microorganisms on the production of methane gas in biodigesters. We used 12 biodigesters corresponding to an experimental replica were used, for a total of four treatments (3 replicates and 3 biodigesters per treatment) which were distributed completely randomly, where (T₀: control treatment, T₁: addition of 4 liters of forest microorganisms, T₂: 4 liters of microorganisms from the sludge of porcine residues and T₃: 4kg of microorganisms of the ruminal content). The production of gas in dm³ we evaluated using 24 measurements at an interval of 5 days during the 4 months, the chemical composition both as a percentage and the amount in cubic decimeters of biogas, and the nutrient content of the effluent was determined. It concluded that treatments with the addition of forest microorganism and ruminal content improved gas production during the 24 measurements, a behavior was observed similar in the chemical composition of biogas both in percentage and in dm³, and the C / N ratio was not the best with respect to the information reported in the literature.

*Bachelor Thesis

** Instituto de Proyección Regional y a Distancia IPRED. Programa de Zootecnia. Director Julián Mauricio Botero Londoño, PhD en Ciencias Agrarias.

Introducción

A nivel mundial el manejo de residuos agropecuarios ha causado grandes problemas ambientales aumentando las emisiones de Gases Efecto Invernadero (GEI) como dióxido de carbono (CO_2), Óxido nitroso (NO_2) y principalmente (CH_4) (Porrás, 2016). Así lo afirma la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos quien ha reportado que la ganadería produce alrededor del 3,9% de los gases de efecto invernadero, seguido por los residuos agrícolas con 7,7%, las fábricas industriales con un 22%, la producción eléctrica y los sistemas de transporte con un 28%, aunque el valor de la ganadería está muy por debajo es preocupante y se deben tomar acciones para mitigar esta producción; por ejemplo se debe tener en cuenta cuanto dióxido de carbono emite un rumiante y cuanto de este es secuestrado por las plantas para llevar a cabo sus procesos fisiológicos (Constantini *et al.*, 2018).

La producción de biogás surge como una alternativa tecnológica no convencional que permite el manejo de los residuos agropecuarios de desecho, mitigando la contaminación ambiental por los Gases de Efecto Invernadero (GEI), a la vez que crea un impacto positivo en la disminución de olores y el uso indiscriminado de fertilizantes minerales y pesticidas al suelo contribuyendo como no solo como una huella ecológica, sino también haciendo eficiente la intensificación de energías limpias (Pham *et al.*, 2013). Si bien es cierto en el rumen de los bovinos la fermentación ruminal conlleva a sintetizar un 80% de CH_4 , por su parte los porcinos realizan el proceso fermentativo a nivel del intestino grueso y lo expulsan mediante la flatulencia, las aves junto a los porcinos son responsable de generar el 70% de CH_4 en su fermentación, es así que los bovinos al año son capaces de producir de 84 a 123 kg de CH_4 , los cerdos 4,8 kg y la avicultura 0,26 kg (Monteny *et al.*, 2006). Si se pudiera concentrar los mil millones de toneladas de estiércol que se generan anualmente con la ganadería se lograría reducir los niveles de amonio, óxido nitroso, sulfuro de

hidrógeno, dióxido de carbono y metano, ya este último tiene 21 veces el potencial del calentamiento global correspondiente al CO₂, y el NO₂ tiene 310 veces la fuerza de calentamiento del CO₂ en un período de 100 años (Cuéllar y Webber, 2008). A pesar de que en Colombia se ha venido trabajando con programas de ganadería sostenible como, por ejemplo: los sistemas silvopastoriles que contribuyen a la sostenibilidad económica por el aumento marcado de los ingresos y la reducción del área de producción, y los árboles han logrado captar las emisiones de algunos GEI brindando confort al ganado, aún no se ha logrado eliminar la brecha de contaminación (Fedegan, 2018), en el caso de los abonos orgánicos generados por el estiércol del ganado y aunque se les hace un respectivo manejo para el riego de cultivos se genera una infestación de manera indirecta y mayor expulsión de GEI a la atmósfera (Battini *et al.*, 2014).

Por lo anteriormente escrito es urgente implementar nuevas alternativas para el tratamiento de los diversos desechos con el fin de minimizar la contaminación ambiental, optimizar los diferentes sistemas de producción y brindarles a los productores nuevas bases para aprovechamiento de estos recursos convirtiéndolos en energías alternativas y amigables con el medio ambiente. Es así que en aras de resolver esta problemática mundial el presente trabajo tuvo como propósito principal “Determinar el efecto de la adición de microorganismos sobre la producción de gas metano en biodigestores”. La digestión anaeróbica surge como una estrategia viable de fermentación en condiciones de anaerobiosis estricta para la síntesis de biogás, allí se encuentran microorganismos metanogénicos tales como los arqueas que son las encargadas de degradar la materia orgánica para el aprovechamiento máximo de los residuos agropecuarios y la conversión a una energía limpia, sí mismo las bacterias actúan como biocatalizadores del proceso y son capaces de transferir electrones para la obtención de metano, la digestión anaerobia también es una tecnología

multipropósito para generar bioenergía, transformar residuos agropecuarios y reducir los GEI y servir de biofertilizante (Perazzolo *et al.*, 2015).

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Determinar producción de gas metano bajo la adición de microorganismos en biodigestores alimentados con excretas bovinas y porcinas.

1.2 Objetivo Específicos

Determinar la producción de metano durante toda la fase experimental.

Estimar el contenido porcentual de nutrientes presentes en el efluente.

Determinar la composición química del biogás.

Evaluar el pH durante toda la fase experimental

2. Marco Referencial

2.1 Marco teórico

2.1.1 Digestión anaeróbica. Es el proceso bioquímico mediante el cual, la materia orgánica es degradada por la influencia de la actividad de microorganismos, y contribuyendo así a la síntesis de un biogás o biomas microbiana, la cual está constituido por metano, dióxido de carbono, anhídrido carbónico y otros gases (Jha y Schmidt, 2017).

Según Parra (2015) ha sido ampliamente utilizada para la degradación y estabilización de residuos domésticos e industriales convirtiendo los sustratos complejos en biogás por acción microbiana en ausencia de oxígeno, constando de cuatro pasos principales hidrólisis, acidogénesis, metanogénesis y acetogénesis (Mohd *et al.*, 2015). En los que se presenta un proceso de bioconservación obteniendo beneficios para el tratamiento de residuos orgánicos como recuperación de energía en forma de biogás, producción de fertilizantes orgánicos y control de gases efecto invernadero convirtiendo esta tecnología en energía renovable.

Entre las principales ventajas de la digestión anaeróbica se tienen una alta eficiencia en la eliminación de carga orgánica, simplicidad en la construcción, bajo requerimiento de espacio, flexibilidad en el tratamiento ya que puede ser aplicado a menor o mayor escala, bajo a nulo consumo y requerimiento de energía al igual que los requerimientos químicos y de macro y micronutrientes (Seghezzo *et al.*, 1998).

Es importante considerar la composición del material a utilizar como insumo, ya que aporta nutrientes para el metabolismo de los microorganismos implicados y tiene una influencia directa en la producción de biogás, es así que los sustratos actualmente usados en este proceso se clasifican en: 1). Cultivos energéticos: en países como Europa compite por el terreno agrícola que es

necesario para la producción alimenticia, esto ocasiona que el costo del sustrato sea considerablemente mayor que otras opciones., 2). Residuos agrícolas: Favorecen en muchas ocasiones su procesamiento en digestores a pequeña escala y dependiendo la entidad de producción, no generan costo de logística., 3).Residuos Orgánicos Secundarios: al igual que los anteriores se generan en el campo, como el estiércol, se usan convenientemente en codigestión para obtener una relación adecuada entre carbono y nitrógeno en el digestor. 4). *Residuos de la industria alimentaria*: Se generan efluentes orgánicos secundarios de gran variedad con elevados flujos máxicos y diferente contenido de agua (Weber *et al.*, 2012).

La cantidad de materia prima debe ser lo suficiente para la producción de gas metano, condición fundamental para el buen funcionamiento del biodigestor. Con respecto a Tobón (2018) para poder garantizar un crecimiento de microorganismos, es indispensable la presencia de nutrientes los cuales son aportados por el sustrato sin embargo es más importante la relación entre las masas de carbono y nitrógeno la cual debe encontrarse entre 16:1 y 25:1; En caso de usarse estiércol de ganado como sustrato la relación es 8:1 incluso esta relación es menor cuando se usa estiércol porcino y aviar por lo que se encuentra fuera del intervalo óptimo de producción (Weber, 2012).

2.2 Bioquímica de la digestión anaeróbica

La digestión anaerobia para la producción de biogás y la eficiencia de los microorganismos sintetizadores de metano depende de factores tales como: la temperatura, el tiempo de retención hidráulica, la composición bioquímica del sustrato, el tamaño de la partícula y el nivel de pH. Con respecto a Tobón (2018) la degradación anaerobia involucra cuatro etapas en cada una de ellas la materia orgánica es transformada por una serie de bacterias. A continuación, describiremos que pasa en cada una de las etapas.

2.2.1 Hidrólisis. En esta etapa se encuentran involucradas las enzimas mediadoras de la transformación de materiales orgánicos solubles y componentes más grandes de masa molecular como lípidos, polisacáridos, proteínas, grasa y ácidos nucleicos (Adekunle y Okolie, 2015), el proceso consiste en transformar en los desechos animales o biorresiduos del gas en biomasa, aunque para acelerar este paso se puede emplear una sustancia química con la finalidad de reducir el tiempo de digestión de las bacterias fermentativas para aumentar la síntesis de CH_4 , aquí los compuestos orgánicos son anabolizados pasando de lípidos a ácidos grasos, de polisacáridos a monosacáridos, proteínas a aminoácidos y de ácidos nucleicos a purines y pirimidinas (Bansal *et al.*, 2013).

2.2.3 Acidogénesis. En esta etapa los compuestos orgánicos solubles que comprenden los productos de la hidrólisis son convertidos en ácidos orgánicos tales como el acético, propiónico y butírico (Lorenzo y Obaya, 2005), la actividad microbiana se acelera, junto con una alta producción de ácidos grasos volátiles generando una gran cantidad de CO_2 y disminución del pH así mismo se generan gases de hidrógeno y las demandas bioquímicas y químicas de oxígeno se incrementan. (López, 2003).

2.2.4 Acetogénesis. Las bacterias acetogénicas oxidan al ácido propiónico y el butírico para la obtención de ácido acético e hidrógeno que son los verdaderos sustratos metanogénicos, es decir, es un proceso donde se producen ácidos orgánicos y compuestos nitrosos en pequeñas cantidades hay producción de dióxido de carbono, nitrógeno e hidrogeno bicarbonatos y compuestos amoniacales, así mismo se caracteriza por presentar mal olor debido a la presencia de ácido sulfhídrico y un pH de 6.6 a 6.8 (Guevara, 1996). Las bacterias acetogénicas utilizan la vía de

Wood Ljungdahl que actúa como un potencializador del proceso para la producción de acetato (Bertsch y Müller, 2015).

2.2.4 Metanogénesis. Esta etapa consiste en la transformación bacteriana del ácido acético y el ácido fórmico en dióxido de carbono y la formación de metano a partir de dióxido de hidrógeno y de carbono (Residuos Agropecuarios, 2013). Las bacterias responsables de este proceso son anaeróbicas estrictas de las cuales existen dos tipos las bacterias metanogénicas acetoclasticas que degradan el ácido acético a metano y dióxido de carbono y las bacterias metanogénicas hidrogenofilas que reducen el dióxido de carbono (Ofoefule *et al.*, 2010).

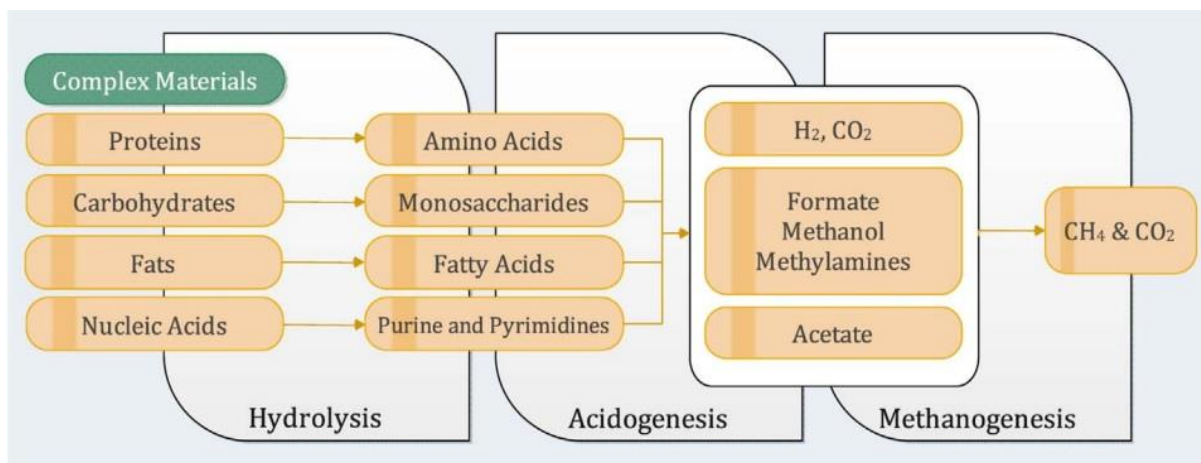


Figura 1. Fases del proceso de digestión anaeróbica. Adaptado de: Neshat *et al.*, (2017). Anaerobic codigestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 308-322. doi: 10.1016/j.rser.2017.05.137. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032117307694>

2.3 Microorganismos involucrados en la digestión anaeróbica

La digestión anaerobia para la consecuente producción de biogás, comprende un conjunto de reacciones mediadas por complejas enzimas especiales que poseen microorganismos capaces de

degradar estos sustratos, entre ellos existe una estrecha interdependencia fisiológica que implica la necesidad nutricional de un grupo respecto al grupo metabólico de manera que se establece un equilibrio ecológico que permite una considerable disminución de la demanda bioquímica de oxígeno y de la carga contaminante del sustrato (Ferrer y Pérez, 2010).

El anterior autor afirma que durante la digestión las moléculas como los polisacáridos, proteínas, lípidos y lignina se descomponen para dar productos finales tales como metano y dióxido de carbono, este proceso consta de tres etapas en donde cada una es llevada a cabo por una compleja proporción de microorganismos presentes en biodigestor. Para el anterior autor la mayoría de estos oxidan determinados compuestos orgánicos a fin de obtener energía para su crecimiento y utilizan compuestos carbonados específicos para sintetizar sus componentes celulares.

Las especies de microorganismos involucrados en el proceso varían de acuerdo con los materiales que van a hacer degradados. Con base a la FAO (2011) en la primera y segunda fase participan bacterias de al menos 128 órdenes, 58 especies y 18 géneros., en el tercer y cuarto paso del procedimiento se encuentran principalmente bacterias metanogénicas, en la actualidad se han identificado 81 especies, 23 géneros, 10 familias y 4 órdenes.

A continuación, en la Tabla 1 se describen los principales microorganismos que intervienen en los procesos anaeróbicos.

Tabla 1.*Microorganismos que intervienen en la digestión anaeróbica*

Proceso	Microorganismos
Hidrolíticas	<i>Clostridium spp.</i> , <i>Acetovibrio spp.</i> , <i>Micrococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> , y <i>Bacillus spp.</i>
Acidógenos	<i>Acinetobacter spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i> , <i>Alcaligenes spp.</i> , <i>Pasteurella spp.</i> , <i>Staphylococcus hominis.</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Klebsiella oxytoca.</i> <i>Clostridium spp.</i> , <i>Peptococcus spp.</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , y <i>Escherichia coli</i>
Metanogénicos	<i>Methanosarcina spp.</i> , <i>Methanosaeta spp.</i> , <i>Methanobacterium spp.</i> , <i>Methanobacillus spp.</i> , y <i>Methanococcus spp.</i>

*Nota: Especies de metanógenos que participan en la digestión anaerobia. Adaptado de: Parra, R. (2015). Digestión anaeróbica mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. Revista Producción Más Limpia, 10 (2), 142-159. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v10n2/v10n2a14.pdf>

2.4 Factores que influyen en la digestión anaeróbica

El desempeño de la digestión anaeróbica depende de un control riguroso de algunos factores ambientales tales como:

2.4.1 pH. es un factor que juega un papel importante en el proceso de digestión anaeróbica, ya que se encuentra asociado a la ocurrencia de fenómenos de acidificación que pueden afectar negativamente el proceso (Pérez y Torres, 2008). La digestión anaerobia es más eficiente a valores de pH cercanos a la neutralidad, pero este valor varía de acuerdo con las características fisicoquímicas del sustrato que pueden aportar a la capacidad buffer (Buenrostro *et al*, 1999). Para Angelidaki *et al.*, (2003) la digestión anaerobia se puede dar en un pH de 5,5 a 6,5 unidades, mientras que Lorenzo y Obaya (2005) el proceso se da satisfactoriamente a entre 8,2 a 8,4 unidades; sin embargo, Hagos *et al.*, (2017) sugieren que el pH óptimo es de 6,8 a 7,2 y que dependiendo de las especies de microorganismos existen variaciones de pH puesto que las

bacterias metanogénicas prefieren valores cercanos a 7 y las acidogénicas de 4 a 8,5, aunque los procesos de hidrólisis y acidogénesis se dan entre un rango de 5,5-6,5 con la finalidad de no alterar las formas ionizadas y no ionizadas de gases como el sulfuro de hidrógeno y el amoníaco por su toxicidad (Ward *et al.*, 2008).

2.4.2 Temperatura. las reacciones químicas y bioquímicas se incrementan normalmente cuando se eleva la temperatura, los microorganismos tienen un crecimiento y ritmo metabólico óptimo dentro de un rango de temperatura muy bien definido y que es específico para la especie bacteriana (Domínguez y Ly, s.f), los psicrófilos que actúan a 25°C, los mesófilos a 35°C y los termófilos a 55°C teniendo altas tasa de multiplicación bacteriana a temperaturas 35-55°C y acelerando el proceso de digestión anaeróbica, por consiguiente a una temperatura mesófila hay grandes variedades de microorganismos y a temperaturas termófilas estos microorganismos son altamente activos (Kwietniewska y Tys, 2014).

2.4.3 Substrato y su composición química. los materiales con alto contenido de nitrógeno, tales como excretas de animales se descomponen fácilmente y produce biogás de una forma rápida, por lo tanto, el periodo fermentativo es corto, a diferencia de los materiales que tienen alto contenido de carbono el proceso de fermentación es más lento y más largo. (Domínguez y Ly, 2000).

2.4.4 Tiempo de retención hidráulica. es el tiempo que permanece una materia orgánica bajo digestión anaerobia dentro de un digester y se determina al dividir el monto de materia orgánica cargados en el biodigestor y la cantidad de materia orgánica que sale diariamente (Domínguez y

Ly, 2000) este parámetro es vital, ya que los microorganismos tardan un tiempo en consumir su sustrato favorito, las tasas cortas de retención pueden generar intoxicación celular y bajo rendimiento de metano y las altas tasas de retención pueden ocasionar la mortalidad de los microorganismos por la biodisponibilidad de nutrientes (Neshat *et al.*, 2017).

2.5 Biodigestores

Es un dispositivo en el que se lleva a cabo el proceso de digestión anaerobia, mediante el cual se genera biogás; su diseño y funcionamiento depende del tipo de sustrato que se utilice para mantener la actividad bacteriana estable lo que permite el desarrollo de diferentes comunidades microbianas (González y Jurado, 2017).

De acuerdo con Padilla y Rivero, (2016) Describe que es un contenedor cerrado, herméticamente e impermeable, dentro del cual se deposita el material orgánico a fermentar en una determinada dilución de agua para que a través de la fermentación a anaeróbica se produzca gas metano y fertilizantes orgánicos ricos en nitrógeno, fosforo y potasio y además disminuye el potencial contaminante de los residuos o excrementos.

Su utilización presenta importantes ventajas en primer lugar es una inversión económicamente atractiva, de fácil operación, su instalación es compleja y segura, produce energía renovable, mejora las cualidades de los fertilizantes provenientes del estiércol y disminuye las emisiones de metano e hidróxido de carbono (Mereced, 2012).

A nivel mundial, su implementación es una alternativa ecológica que permite el aprovechamiento de los excrementos bovinos para generar energía, que el productor obtiene de manera autónoma y sin mayores gastos. (Contexto Ganadero, 2017).

Según Gómez, (2012) Los clasifica de según su régimen de carga en biodigestores de batch, régimen semicontinuo, régimen continuo, biodigestores horizontales, combinados, biodigestores de dos etapas. De acuerdo con (Rodríguez, 2017) los clasifica de acuerdo con las dimensiones del dispositivo y el tipo de residuo que procesan y la cantidad de biogás que producen en biodigestores domésticos, de tipo comunitario e industriales.

2.5.1 Partes de biodigestor. La implementación de un biodigestor es relativamente simple, su complejidad varía de acuerdo con el modelo y a los materiales a usar, para González (2017) las partes de un biodigestor son:

2.5.1.1 Tanque o reactor. Es donde se produce la descomposición de la materia prima, este puede ser construido con diferentes materiales como lo son tanques de cemento, bolsas o canecas plásticas, su volumen dependerá de la cantidad de materia prima que queramos procesar y el volumen de gas que deseemos obtener.

2.5.1.2 Sistema de alimentación. Es un dispositivo por el cual ingresa el material que se va a emplear durante el proceso, la materia prima debe ser triturada antes de ser procesada.

2.5.1.3 Control de presión. Permite conocer la acumulación de gas en el interior del tanque y liberarla en caso de que sea necesario. Este se seleccionará dependiendo de la cantidad de biogás producido, su ubicación y la concentración de metano en el biogás. puede usarse desde un manómetro o medidores digitales.

2.5.1.4 Tubería, válvula y llave de paso. La tubería se conecta en la parte superior de la cubierta plástica que conduce el gas hasta donde será almacenado, la válvula de seguridad se conecta para evitar la sobre presión interna en la cubierta plástica y elimina el agua condensada en la tubería. Así mismo es importante conectar una llave para permitir el paso de gas cuando se necesite (Elizondo, 2005).

2.5.2 Operación de un biodigestor. Es recomendable moler el estiércol fresco que se va a utilizar para la digestión, ya que al disminuir el tamaño de los sólidos se está aumentando el área de contacto como los diferentes microorganismos, posteriormente se realiza la etapa de acondicionamiento la cual consiste en adicionar agua a las excretas hasta obtener una mezcla que garantice la producción de biogás. Finalmente, la descarga del efluente se debe hacer teniendo la precaución de que entre aire al biodigestor (Zúñiga, 2007).

2.6 El biogás

Se conoce también como gas natural, presenta como principal componente el metano, que proviene de una mezcla de gases resultantes de la descomposición de la materia orgánica, realizada por la descomposición de microorganismo en un medio anaeróbico, el gas posee un poder calorífico, de 4500 a 6500 Kcal/m³, y un metro cúbico de biogás equivale a 0,6 litros de gasolina. (Padilla y Rivero, 2016). Este biogás es una fuente de energía que surge del tratamiento de desechos orgánicos, ya sean desechos sólidos de las industrias, de los alimentos, lodos, estiércol de animales u otros residuos agrícolas, en cuanto a su composición se encuentra el CH₄ (60%), CO₂ (35.40%), en menor proporción están los gases como: el amoníaco (NH₃), Sulfuro de Hidrógeno (H₂S), H₂, O₂ y CO (Abdeshahian *et al.*, 2016). la ventaja principal de la generación y utilización del biogás

es la reincorporación al proceso de los residuos los cuales son transformados en energía para el sustento de la misma operación, otra ventaja y la más importante es la disminución de cargas contaminantes tanto por la materia orgánica utilizada como la baja concentración de emisiones de combustibles fósiles, generación de gas para las labores de cocina e independencia energética (Bolívar y Ramírez, 2012).

2.6.1 Componentes del biogás. La composición varía de acuerdo con la biomasa, pero el metano y el dióxido de carbono son sus principales componentes (Paredes y Boca, 2005), En la tabla 2 (Cepero, 2012) describe la composición química del gas.

Tabla 2.
Composición bioquímica del gas

Componente	Fórmula química	Porcentaje
Metano	CH ₄	40-70
Dióxido de Carbono	CO ₂	30-60
Hidrogeno	H ₂	0.1
Nitrógeno	N ₂	0.5
Monóxido de Carbono	CO	0.1
Oxigeno	O ₂	0.1
Sulfuro de Hidrógeno	H ₂ S	0.1

**Nota:* Componentes químicos presentes en el biogás. Adaptado de: Cepero, L., Savran, V., Blanco, D., Díaz, M., Suárez, J., y Palacios, A. (2012). Producción de biogás a partir de efluentes de biodigestores. Revista Pastos y Forrajes, 35 (2), 219-226. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v35n2/pyf09212.pdf>

2.6.2 Aplicación del biogás. Existen diversas opciones para la utilización del biogás, dentro de estas se destacan las siguientes:

2.6.2.1 Producción de calor o vapor. El uso más simple es para la obtención de energía eléctrica, en aquellos lugares donde los combustibles son escasos, los sistemas de biogás pequeños

pueden proporcionar energía calórica para actividades básicas como cocinar y calentar agua. (Moraga, s,f).

2.6.2.2 Generación de electricidad. La combinación de calor y electricidad usan la electricidad como combustible o para calentar agua.

2.6.2.3 Combustible vehicular. El uso de biogás en los vehículos es posible y se emplea exitosamente ya que tiene una calidad similar al gas natural, el biogás puede usarse en motores de combustión interna tanto a gasolina como diésel.

2.7 Microorganismos presentes en el contenido ruminal

El rumen es un ecosistema complejo capaz de albergar microorganismos como bacterias, protozoos, hongos y arqueas metanogénicas, cuyas funciones radican en descomponer el material vegetal, reforzando la actividad energética de las arqueas que sintetizan CH₄, lo cual favorece a su multiplicación y crecimiento, actualmente se estima que el 14% de metano enviado al medio ambiente procede del rumen, lo que genera contaminación al medioambiente por la producción de Gases de Efecto Invernadero (GEI) (Cobellis *et al.*, 2016). En el rumen existen microorganismos pertenecientes al orden Metanobacterial y existen tres grupos de vital importancia que son los siguientes: *Metanobrevibacter spp.*, *Metanomicrobium spp.*, y *Archae*, la mayor parte de las reacciones son exergónicas en donde los reactivos son el CO₂ que reacciona con 4 moléculas de H₂ para producir CH₄ y 2 moléculas de H₂O (Ramírez *et al.*, 2014).

De acuerdo con Sosa *et al.*, (2007) en el rumen solo se han podido aislar siete especies de bacterias metanogénicas que son: *Methanobacterium formicum*, *Methanobacterium bryantii*,

Methanobrevibacter ruminantium, *Methanobrevibacter smithii*, *Methanomicrobacterium mobile*, *Methanosarcina barkeri* y *Methanoculleus olentangyi*.

2.8 Marco Conceptual

2.8.1 Digestión anaeróbica. Es un proceso bioquímico que convierte los sustratos complejos en biogás, por acción microbiana en ausencia de oxígeno, logrando la estabilización de los desechos orgánicos o de degradación simple, permitiendo la síntesis de energía renovable y disminuyendo el impacto de los gases efecto invernadero (Labatut y Pronto, 2018).

2.8.2 Biodigestor. Es un contenedor cerrado, hermético e impermeable, dentro del cual se deposita material orgánico que se va a fermentar por medio de la digestión anaerobia, el mecanismo de acción consiste la reducción de compuestos orgánicos a metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2).

2.8.3 Microorganismos. Son seres vivos muy diminutos que únicamente pueden ser apreciados por el microscopio, dentro de estos se encuentran bacterias, hongos, protozoos y virus, son los responsables de degradar la materia orgánica presente en el suelo para la liberación y aprovechamiento de nutrientes (García *et al.*, 2012).

2.8.4 Materia orgánica. Es aquella que se encuentra conformada por la mezcla de moléculas orgánicas resultantes de los seres vivos o desechos orgánicos la cual está conformada por elementos de carbono e hidrogeno, por su parte la degradación de materia orgánica es la que

permite que un material orgánico pierda sus características iniciales para volverlas más simples y permitir finalmente su aprovechamiento (Lehman y Kleber, 2015).

2.8.5 Hidrólisis. Primera etapa de la digestión anaeróbica, la cual transforma los componentes orgánicos solubles en pedazos más pequeños.

2.8.6 Acidogénesis. Los compuestos provenientes de la fase hidrolítica se transforman por acción de microorganismo y dan como resultado ácido acético, hidrogeno y dióxido de carbono.

2.8.7Acetogénesis. Los compuestos intermedios resultantes de la etapa acidogénica van a ser transformados por las bacterias acetogénicas, obteniéndose como principales productos hidrógeno, dióxido de carbono y ácido acético.

2.8.8 Metanogénesis. Con la presencia del ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono aparecen en el medio los microorganismos responsables de la metanogénesis o formación del metano, los metanógenos son organismos de arqueobacterias unicelulares anaeróbicos que pueden vivir en lugares como las aguas dulces, sedimentos de los lagos y el tracto gastrointestinal de los animales (Weiss, 1993).

2.8.9 Metano. es un hidrocarburo simple formado por una molécula de carbono y cuatro átomos de hidrógeno, a temperatura ambiente se encuentra en forma gaseosa (Caballero y Pérez, 2014). Este gas que se produce de forma natural por la descomposición de la materia orgánica, este es incoloro, inflamable y no es toxico, esté potente gas de efecto invernadero es producido por

arqueas anaerobias conocidas también como metanógenos, los cuales producen alrededor del 69% de CH₄ en el mundo (Lawton y Rosenzweig, 2016).

2.8.10 Gas. Estado de agregación de la materia que no tiene forma ni volumen propio, está compuesto por moléculas no unidas expandidas y con poca fuerza de atracción.

2.8.11 Biogás. Es la combinación de gases generados por medios naturales o en dispositivos específicos, dada las reacciones de biodegradación de materia orgánica, mediante la acción de microorganismos por acción anaeróbica de los recursos renovables, lográndose una producción de energía propia del sistema del 20 al 40% (Herrero *et al.*, 2013). Un biogás es una mezcla de gases principalmente se atribuyen al CH₄ (40-60%) y CO₂ (30-50%) puede contener pequeñas cantidades de bióxido de azufre, amoníaco y sulfuro de hidrogeno, el proceso se da cuando las bacterias son capaces de degradar la biomasa de las sustancias orgánicas (Teng *et al.*, 2014).

2.9 Marco Legal

Uso de la energía renovable, ley 142 de los servicios públicos y la ley 143 de 1991 eléctrica, definieron los lineamientos para la prestación de servicios públicos domiciliarios, posteriormente Colombia se adhirió al protocolo de Kyoto de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el cambio climático con el objetivo de reducir las emisiones de gases de efecto invernadero (ley 629 de 2000).

La ley 788 de 2002, estableció una exención al impuesto de renta sobre los ingresos derivados de la venta de energía eléctrica generada a partir de residuos agrícolas, fuentes eólicas y biomasa (Cendales, 2011).

Ley 1715 de mayo 13 de 2014, regula la integración de las energías renovables no convencionales al sistema energético nacional, es decir proviene el desarrollo y la utilización de las fuentes no convencionales de energía, buscando promover la gestión eficiente de la energía que comprende tanto la eficiencia energética como la respuesta de la demanda.

En el artículo III, de la ley 1665 del 16 de julio de 2013, Entiéndase por energía renovables todas aquellas formas producidas a partir de fuentes renovables y de manera sostenible, entre ellas se incluye; la bioenergía, la energía geotécnica, hidráulica, marina, solar y la energía eólica. (Zea *et al.*, 2015)

La ley de servicio de gas o biogás (323 de 1931), Es la que obliga al estado a al transporte, distribución, al régimen de concesión y las tarifas de gas de red de igual manera debe velar que la disposición de gas sea de buena calidad y las instalaciones deben ser seguras (Residuos Agropecuarios, 2013).

Sobre el manejo de los residuos sólidos en Colombia, el Decreto 1505 de 2003, el cual trata sobre el aprovechamiento en el marco de la Gestión Integral de Residuos Sólidos, este se define el proceso mediante el cual los materiales recuperados de los residuos sólidos se reincorporan al ciclo económico y productivo de forma eficiente.

En cuanto el uso de energías limpias y renovables, en el 2014 se aprobó la ley 1715 que promueve las energías no convencionales del país, así mismo en el artículo 17 menciona las necesidades de establecer planes que fomenten el aprovechamiento energético de biomasa agrícola y evitar el abandono, la quema incontrolada en la explotación o el vertimiento de residuos agrícolas. (Calderón y Piratova, 2017).

3. Metodología

3.1 Tipo de estudio

El estudio fue de tipo investigativo su objetivo principal fue la “Determinación de los Efectos de la Adición de Microorganismos Sobre la Producción de Gas en Biodigestores”.

3.2 Ubicación

Los análisis de laboratorio del presente estudio se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Industrial de Santander (Sede Málaga) situada a 6°42'24.50" Latitud N y 72°43'39,99" Longitud W que cuenta con una altitud de 2215 m.s.n.m y una temperatura media de 19°C, humedad relativa del 70% al 80%.



Figura 2. Ubicación de la UIS (Sede Málaga)

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Adquisición y multiplicación de microorganismo metanogénicos. Se clasifican en los siguientes grupos:

3.3.1.1 Microorganismo del bosque. Fueron recolectados de la parte baja de la Vereda el Lavadero junto a la Quebrada la Magnolia ubicada a una altitud de 2.250 m.s.n.m. En cuanto al procedimiento se emplearon siete recipientes plásticos de 750 ml, en los cuales se adicionaron 250 gramos de salvado de trigo para cada uno, sellándolos con tela de toldillo y posteriormente amarrándolos con unas ligas., se colocaron los recipientes boca abajo en lugares con tierra en

descomposición donde había una mayor concentración de materia orgánica. Luego los recipientes permanecieron durante 15 días hasta que se observó una colonización microbiana determinada por la coloración, la apariencia física del salvado y dado su olor agradable a dulce de caña, pasados los 15 días los recipientes fueron retirados del bosque, para su multiplicación. Las 7 submuestras se depositaron en un recipiente de 120 litros de capacidad, llenándolo con 50 litros de agua, para la homogeneización en una sola muestra, adicionando 2,5 kg de melaza y 100 g de urea, esta mezcla se dejó en reposo 15 días (García *et al.*, 2018).

3.3.1.2 Microorganismos presentes en el lodo de residuos porcícolas. Los microorganismos presentes en el lodo de residuos porcícolas fueron recolectados de la Finca Hogar de Paz ubicada en Málaga (Santander) a una altitud de 2197 m.s.n.m con una temperatura promedio de 18°C, humedad relativa del 60-70% y coordenadas geográficas de 6°42'57,39" latitud norte y 72°43'42,97" longitud oeste. Para ello, en un recipiente plástico de 20 litros, se tomaron 12 litros de material líquido en descomposición producto de los residuos porcícolas, posteriormente el material recolectado fue llevado a la Universidad Industrial de Santander, donde se dividió en 3 muestras de cuatro litros por cada réplica (tratamiento 2).

3.3.1.3 Microorganismos del contenido ruminal. Las muestras fueron tomadas de la Planta de Beneficio Animal del municipio de Málaga (Santander), una vez sacrificado el animal con la respectiva autorización, se recolectaron 12 kg de contenido ruminal por parte de un operario en un recipiente de 15 litros, el material recolectado se llevó a la Universidad Industrial de Santander, dividiéndolo en 3 muestras para su posterior adición al biodigestor.

3.4 Fabricación de un biodigestor estático de tipo experimental

Para la construcción de los biodigestores estáticos se utilizó un recipiente plástico con capacidad de 120 litros fue sellado herméticamente con se respectiva tapa (Anexo A), posteriormente a la tapa se le realizo una perforación de ½ pulgada donde se colocó una adaptación de macho y hembra en PVC, realizando una instalación de tubo de PVC de ½ pulgada con una terminación en T donde iba el reservorio y una salida con una llave de paso para la medición del gas almacenado en una bolsa industrial calibre 16.

3.4.1 Llenado del biodigestor. Para cada unidad experimental se pesaron 53 kg de bovinaza, 7 kg de porquinaza en una balanza digital con capacidad de 500 kg y un margen de error de 50 gramos, consecutivamente se midieron 60 litros de agua en un balde plástico, los cuales fueron adicionados para su respectiva mezcla homogénea, donde T₀: Tratamiento control o testigo, T₁: control+adición de 4 lts microorganismos del bosque, T₂: control+ adición de 4 litros microorganismos presentes en el lodo de residuos porcícolas y T₃: control+ adición de 4 kg de microorganismos del contenido ruminal (Ver Tabla 3).

3.5 Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones cada uno, para un total de doce unidades experimentales (Tabla 3).

Tabla 3.
Determinación de los tratamientos experimentales

Tratamientos	Porquinaza (Kg)	Bovinaza (Kg)	Contenido Agua (l)	Contenido adicional
--------------	--------------------	------------------	-----------------------	---------------------

T ₀	7	53	60	
T ₁	7	53	60	4 lts de microorganismos del bosque
T ₂	7	53	60	4 lts de microorganismos presentes en el lodo de residuos porcícolas
T ₃	7	53	60	4 kg de microorganismos del contenido ruminal

3.6 Cálculo de variables

3.6.1 Velocidad y producción de gases. Se cuantifico el volumen cada cinco días de la producción de gas, en cada uno de los biodigestores usando un manómetro de acetileno Este parámetro fue medido de 2:00 p.m. a 3:00 p.m. ya que a mayor temperatura mayor producción de gas. Para ello se realizaron un total de 24 mediciones durante los 4 meses de duración del experimento.

3.6.2 Composición de los gases producidos en decímetros cúbicos y porcentualmente. Fue determinada mediante la utilización de un cromatógrafo de absorción atómica de gases, en donde, la muestra se tomó directamente del reservorio con jeringas plásticas esterilizadas a 5 cm³, colocándola en el cromatógrafo de gases por 15 minutos y por medio de una gráfica se conocía la composición química del biogás en cuanto respecta al (CH₄, CO₂, O₂ y N₂).

3.6.3 Características fisicoquímicas de los efluentes. Al efluente se les determinó el porcentaje de materia seca (Horno), nitrógeno, carbono, hidrógeno y azufre (Analizador elemental) pH, el pH fue medido durante cuatro fases comprendidas de la siguiente manera (Del día 1-30), (Del día 31-60), (Del día 61-90) y finalmente (Del día 91-120).

3.7 Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a un Análisis de Varianza (ANDEVA) utilizando el software SAS versión 9.4 (2015) . Cuando se registraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) se recurrió a utilizar la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan para la separación de medias.

4. Resultados

Con respecto a la producción de gas (decímetros cúbicos) medida cada 5 días durante 4 meses se obtuvieron 24 mediciones para cada uno de los tratamientos experimentales

La primera medición arrojó diferencias estadísticamente significativas para todos los tratamientos experimentales obteniéndose una mayor producción de gas para el tratamiento con adición de microorganismos del bosque (47,000), seguido por el testigo (12, 667), por su parte los tratamientos con inclusión de microorganismos presentes en el lodo de los residuos porcícolas y en el contenido ruminal tuvieron los valores más bajos para esta variable y se comportaron de manera estadísticamente similar (3,667 y 3,000) respectivamente.

Con respecto a la segunda medición los tratamientos con adición de microorganismos del bosque, el control y los microorganismos del contenido ruminal obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con valores respectivos de (45,667, 15,667 y 4,333), el tratamiento con inclusión de microorganismos del lodo de los residuos porcícolas presentó un comportamiento intermedio (9,000) en referencia al T_0 y T_3 .

Para la tercera medición los tratamientos testigo, adición de microorganismos lodo de residuo porcícola y microorganismos del contenido ruminal se comportaron estadísticamente iguales, en

comparación con el de adición de microorganismos del bosque (51,333) que alcanzó la mayor producción de gas.

En la cuarta medición todos los tratamientos experimentales se comportaron estadísticamente diferentes, siendo el mejor valor fue encontrado por el que se contenía la adición de microorganismos de bosque, seguido por el de la inclusión de microorganismos del rumen.

Con base en la quinta, sexta, séptima y octava toma de mediciones los tratamientos con adición de microorganismos de bosque y del contenido ruminal se comportaron de manera similar obteniendo los mayores valores para esta variable, seguidos por el control, los menores valores se obtuvieron en el de la adición de microorganismos de los residuos porcícolas.

La novena medición arrojó diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos con adición de microorganismos del bosque, el testigo y el de la inclusión de microorganismos de lodo de residuos porcícolas con valores consecutivos de (49,000, 37,333 y 4,667), el T_3 (46,667) obtuvo un valor intermedio entre T_1 y T_0 .

De la décima a la doceava medición los tratamientos con adición de microorganismos de bosque y del rumen se comportaron de manera estadísticamente igual lográndose los mayores valores para la producción de gas, seguidos por el tratamiento testigo, los menores valores se reportaron en el de adición de microorganismos del lodo de los residuos porcícolas.

Desde la decimotercera a la decimosexta medición los tratamientos T_0 , T_1 y T_3 obtuvieron los mejores resultados y se comportaron de manera estadísticamente iguales, el T_2 por su parte alcanzó los menores valores para dicha variable.

La decimoséptima medición los tratamientos T_1 , T_0 y T_2 se comportaron de manera estadísticamente diferente con valores de (21,667, 14,667 y 0,000) respectivamente, el T_3 (16,667) logró un valor intermedio con referencia al T_1 y T_0 .

En la décimo octava medición los tratamientos T₁, T₀ y T₃ se comportaron de manera estadísticamente similar con valores de (16,667, 10,333 y 11,667), el T₂ no presentó producción de gas.

Con respecto a la décimo novena y a la vigésimo primera medición se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos T₁ con respecto al control teniendo mayor producción en el tratamiento con inclusión de microorganismos del bosque, el tratamiento que contenida inclusión de microorganismos del rumen presento un valor intermedio entre T₀ y T₁, para el tratamiento con inclusión de microorganismos lodo de residuos porcícolas (T₂) no se reportó un valor en la producción de CH₄.

En la vigésima medición los tratamientos T₀ y T₃ se comportaron estadísticamente igual, el valor más alto se encontró en el T₁, en el T₂ no hubo producción de gas metano.

Con base a la vigésimo segunda medición el T₁ logró la mayor producción de gas (3,333) con respecto a los demás tratamientos, en el T₂ no se reportó producción de gas (0,000), los tratamientos T₃ y T₀ obtuvieron valores intermedios entre T₁ y T₂.

Para la vigésimo tercera y vigésimo cuarta medición todos los tratamientos se comportaron de manera estadísticamente igual.

Tabla 4.
Cálculo de la cantidad de nutrientes

Tratamientos	Nitrógeno (%)	Carbono (%)	Hidrógeno (%)	Azufre (%)
Control	2,695 ^a	37,484 ^a	4,997 ^a	0,673 ^a
Microorganismos del bosque	2,988 ^a	40,990 ^a	5,530 ^a	0,693 ^a
Microorganismos lodo de los residuos porcícolas	2,6583 ^a	36,148 ^a	4,799 ^a	0,649 ^a
Microorganismos del contenido ruminal	2,2237 ^a	29,532 ^a	3,996 ^a	0,483 ^a

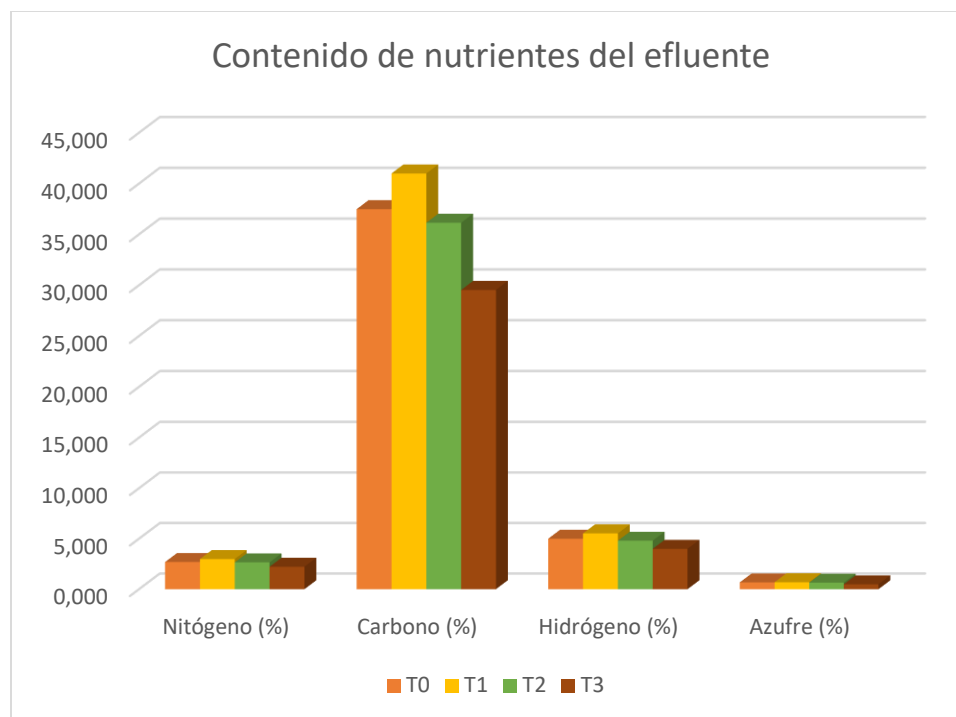


Figura 3. Contenido de nutrientes presentes en el efluente medido en porcentaje (%) durante la fase experimental

En la (Figura 3 y la Tabla 4) se muestra la composición porcentual de nutrientes del efluente, en donde no se determinaron diferencias estadísticamente significativas para los tratamientos experimentales.

Tabla 5.
Composición química del biogás (%)

Tratamientos	CO ₂ (%)	O ₂ (%)	N ₂ (%)	CH ₄ (%)
Control	35,200 ^d	0,624 ^a	16,328 ^a	47,521 ^a
Microorganismos del bosque	46,834 ^a	0,000 ^c	6,295 ^d	46,871 ^a
Microorganismos lodo de residuos porcícolas	45,239 ^b	0,592 ^a	7,668 ^c	46,501 ^a
Microorganismos contenido ruminal	42,091 ^c	0,119 ^b	10,800 ^b	46,990 ^a

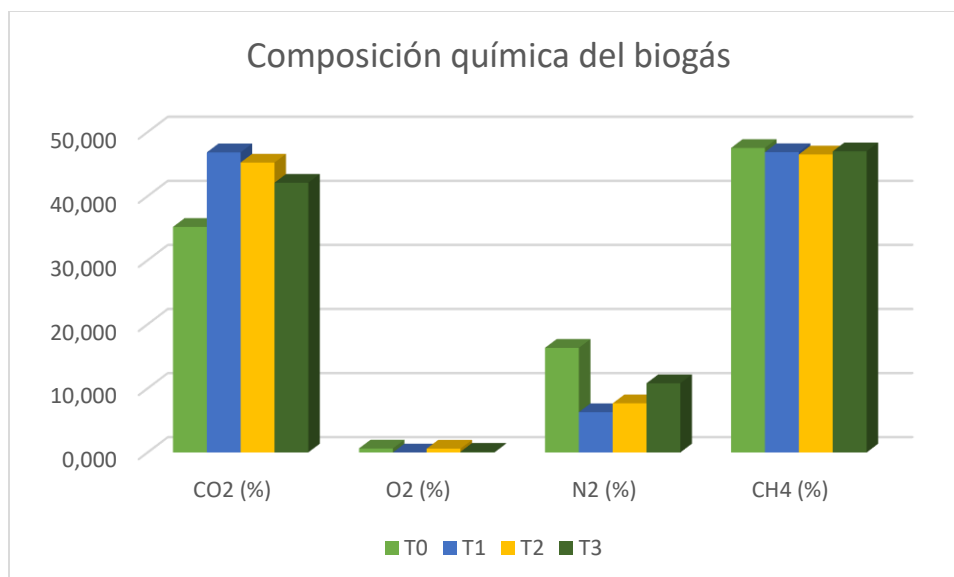


Figura 4. Contenido de nutrientes presentes en el efluente medido en porcentaje (%) durante la fase experimental

En la (Figura 4 y la Tabla 5) composición química porcentual del biogás. Para el CO₂ se encontraron diferencias estadísticamente significativas para todos los tratamientos experimentales encontrándose una menor proporción porcentual en el testigo (35,20%), seguido por los tratamientos con adición de microorganismos del contenido ruminal (42,09%), microorganismos del lodo de los residuos porcícolas (45,24%) y finalmente por la adición de microorganismos del bosque (46,83%).

En base a la producción de O₂ los tratamientos control y con adición de microorganismos presentes en el lodo de los residuos porcícolas se comportaron de manera estadísticamente igual con valores respectivos de (0,624% y 0,592%) con los mayores valores, seguido del tratamiento con inclusión de microorganismos ruminales (0,119%) y finalmente por el tratamiento que contenía microorganismos del bosque.

En cuanto a la producción de N₂ todos los tratamientos experimentales se comportaron de manera estadísticamente diferentes observándose el menor valor en el tratamiento con adición de microorganismos del bosque (6,295%), seguido por los tratamientos con inclusión de

microorganismo presentes en el lodo de los residuos porcícolas (7,668%) y los microorganismos provenientes del rumen (10,800%) finalmente el tratamiento testigo exhibió un mayor valor para dicha variable (16,328%)

Finalmente, para la variable metano (CH_4) todos los tratamientos se comportaron de manera estadísticamente iguales.

Tabla 6.

Composición bioquímica del biogás en (dm^3)

Tratamientos	CO_2 (dm^3)	O_2 (dm^3)	N_2 (dm^3)	CH_4 (dm^3)
Control	154,177 ^d	2,7346 ^a	71,515 ^a	208,141 ^a
Microorganismos del bosque	205,133 ^a	0, 000 ^c	27,572 ^d	205,295 ^a
Microorganismos lodo de residuos porcícolas	198,147 ^b	2,5929 ^a	33,587 ^c	203,624 ^a
Microorganismos contenido ruminal	184,358 ^c	0,5219 ^b	47,304 ^b	205,816 ^a

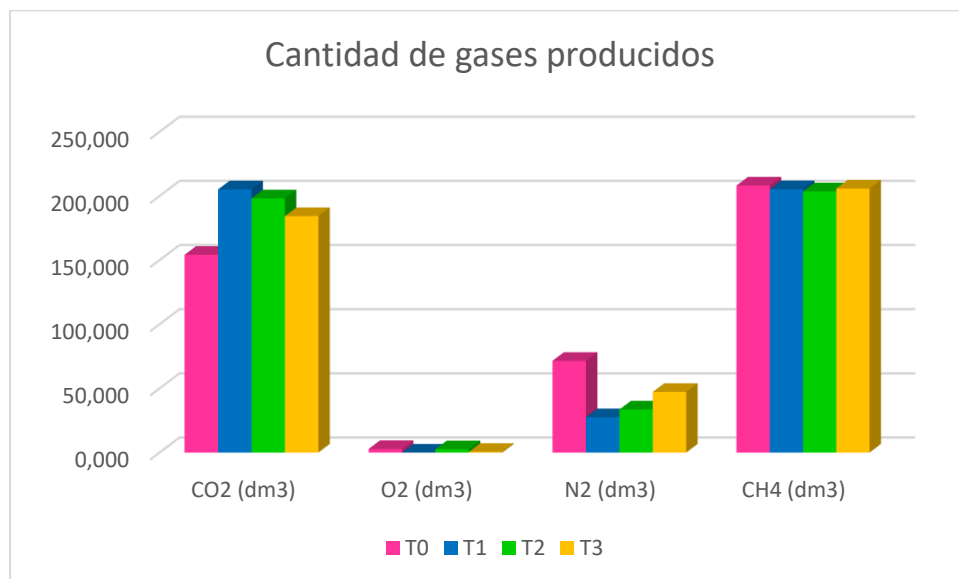


Figura 5. Composición química del biogás en (dm^3)

En base a la cantidad de gases producidos medidos en (dm^3), para el CO_2 se encontraron diferencias estadísticamente significativas para todos los tratamientos experimentales encontrándose una menor cantidad de gas producido en el testigo ($154,177 \text{ dm}^3$), seguido por los tratamientos con adición de microorganismos del contenido ruminal ($184,358 \text{ dm}^3$), microorganismos del lodo de los residuos porcícolas ($198,147 \text{ dm}^3$) y finalmente por la adición de microorganismos del bosque ($205,133 \text{ dm}^3$).

Con respecto a la síntesis de O_2 los tratamientos control y con inclusión de microorganismos presentes en el lodo de los residuos porcícolas se comportaron de manera estadísticamente igual con valores respectivos de ($2,7346 \text{ dm}^3$ y $2,5929 \text{ dm}^3$) con los mayores valores, seguido del tratamiento con inclusión de microorganismos ruminales ($0,5219 \text{ dm}^3$) y finalmente por el tratamiento que contenía microorganismos del bosque que no presentó producción ($0,000 \text{ dm}^3$).

Referente a la producción de N_2 todos los tratamientos experimentales se comportaron de manera estadísticamente diferentes observándose el menor valor en el tratamiento con adición de microorganismos del bosque ($27,572 \text{ dm}^3$), seguido por los tratamientos con inclusión de microorganismo presentes en el lodo de los residuos porcícolas ($33,587 \text{ dm}^3$) y los microorganismos provenientes del rumen ($47,304 \text{ dm}^3$) y finalmente el tratamiento testigo exhibió un mayor valor para dicha variable ($71,515 \text{ dm}^3$).

En la producción de metano todos los tratamientos se comportaron de manera estadísticamente similar (Ver Tabla 6 y Figura 5).

Tabla 7.
Medición del pH durante la fase experimental

Tratamientos	pH al día 30	pH al día 60	pH al día 90	pH al día 120
Control	7,8 ^a	7,7 ^a	7,6 ^a	7,4 ^a

Microorganismos del bosque	8,0 ^a	7,3 ^a	8,3 ^a	7,6 ^a
Microorganismos lodo de residuos porcícolas	7,9 ^a	8,4 ^a	7,7 ^a	7,6 ^a
Microorganismos contenido ruminal	8,0 ^a	7,6 ^a	7,9 ^a	7,9 ^a

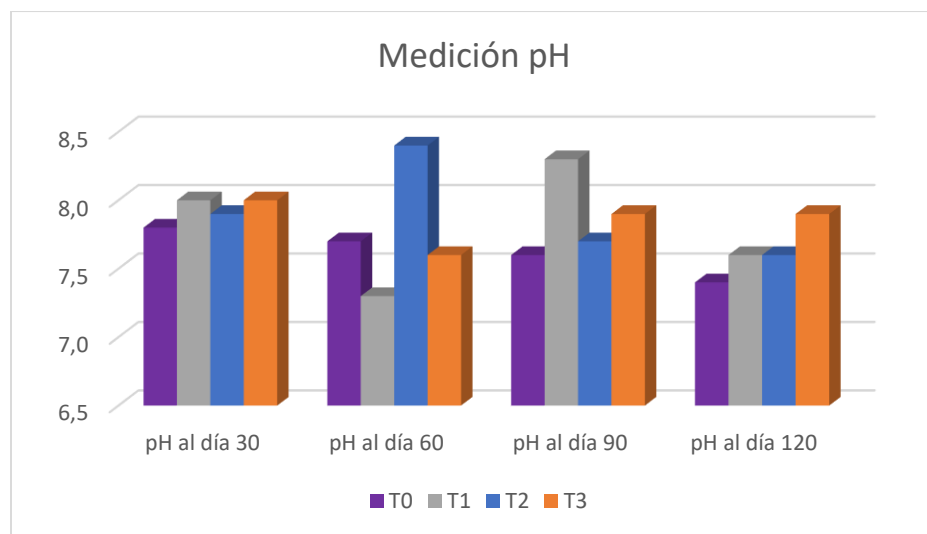


Figura 6. Determinación del pH

En referencia a la medición del pH está se dio durante toda la fase experimental dividida en cuatro etapas de la siguiente manera: la primera medición se dio del día 1 hasta el día 30, la segunda del día 31 al 60, la tercera del día 61 al 90 y finalmente la cuarta correspondió del día 91 hasta el 120 que fue la culminación del experimento, aquí no se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

5. Discusión

Con base a la composición química del biogás en una investigación realizada por Cepero *et al.*, (2012) los valores óptimos establecidos son: a). CO₂ (30-40%), O₂ (0,1%), N₂ (0,5-3%) y CH₄ (60-70%) en este estudio se encontró una composición de CO₂ óptima en el tratamiento testigo, con respecto al O₂ el tratamiento T₃ obtuvo un valor ideal con respecto a la literatura, con base al nitrógeno aunque todos los tratamientos se comportaron de manera estadísticamente diferente los valores estuvieron por encima del 3% y el metano se encontró en una composición porcentual inferior a lo reportado en la literatura. En otro estudio realizado por Díaz *et al.*, (2010) en donde se estimó la composición media de un biogás durante condiciones anaerobias y microaerobias determinando el % (v/v) en anaerobiosis el CO₂ obtuvo valores de (34,4-35,6), el O₂ (0,2-1,5), N₂ (0,4-0,8) y el CH₄ (62,8-63,7), concordando sólo en este estudio la producción de CO₂ para uno de los tratamientos y O₂ con valores intermedios, por su parte Khalid *et al.*, (2011) afirman que la composición de un biogás comprende valores para el Dióxido de Carbono del 36-41%, Nitrógeno hasta un 17%, Oxígeno <1% y metano del 48-65% lo cual serían condiciones que sí concuerdan con este estudio. De acuerdo con Trzcinski y Stuckey (2010) el rendimiento del biogás puede verse influenciado por otros factores tales como: la composición y tipo de sustrato utilizado, especies microbianas, temperatura, pH, diseño de la humedad y si se emplea algún tipo de biorreactor en el proceso. En contexto, los resultados sintetizados en el estudio para la producción metanogénica no fueron los mejores dado que no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos experimentales con respecto al control, las razones pudieron haber sido las siguientes: 1). La temperatura interna que para este estudio la mínima fue de 19°C y la máxima fue de 25°C, con respecto a Wang *et al.*, (2019) las bacterias metanogénicas que se encuentran en rangos de temperatura de 25-35° C son las pertenecientes a los géneros *Acinetobacter spp.*, *Acetitomaculum spp.*, *Bacillus spp.*, *Methanobacterium spp.*, *Methanobrevibacter spp.*, *Methanoculleus spp.*, y

Methanospirillum spp, actuando bajo condiciones estrictas de anaerobiosis, cuando la temperatura está dentro de estos márgenes la tasa de crecimiento bacteriano aumenta así como la producción de metano; en cambio al presentarse temperaturas inferiores a los 20°C el sistema de digestión y las vías metabólicas de las bacterias se vuelve susceptible ocasionando no solo una reducción en la producción de metano, sino también una ineficiencia en las fases de acidogénica y metanogénica., 2). Existió presencia de O₂ en casi todos los tratamientos experimentales siendo mayor al 0,1% excepto en el tratamiento con adición de microorganismos del bosque, por ende, las bacterias al presentarse oxígeno reducen la eficiencia en la producción de metano y el crecimiento se ve retardado por la generación de estrés oxidativo (Ding *et al.*, 2008 y Hungate, 1950).

Con referencia a la producción de metano (dm³) en lo que respecta a las 24 mediciones realizadas durante los 4 meses de la fase experimental, los tratamientos con la adición de microorganismos del bosque (T₁) y microorganismos del contenido ruminal (T₃) presentaron una respuesta positiva en la síntesis de CH₄ datos que concuerdan a los reportados por Guerrero *et al.*, (2019) en donde afirma que al incluir cultivos microbianos que sean capaces de adaptarse a las condiciones internas de un biodigestor durante el proceso de digestión anaeróbica, lograrán no solo bio-convertir el material orgánico, sino también degradar el propionato, acetato y butirato haciendo más eficiente la síntesis de metano., por su parte Pessuto *et al.*, (2016) interfiere que los inóculos de microorganismos elevan la fracción molar de metano en el biogás durante su producción, logrando la activación enzimática para facilitar los procesos de hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, así mismo Schlager *et al.*, (2016) determinaron que la adición de microorganismos ofrece ventajas positivas al ser adicionados como biocatalizadores, pudiendo transferir de manera directa electrones por medio de la vía de las reducción electroquímica para la

conversión de CO₂ a metano. En un estudio realizado por Giménez *et al.*, (2017) en las que el fluido ruminal actuó como un inóculo se logró una mayor síntesis de metano a partir de la biomasa *Scenedesmus* alcanzando rendimientos de 214 ml de CH₄ en tiempos de retención hidráulica de 31 a 100 días, en este sentido Aydin *et al.*, (2017) al emplear un hongo hidrolítico del fluido ruminal llegó a alcanzar una producción de biogás cercana al 41% (citado por Barragán *et al.*, 2017).

En referencia a la relación Carbono/Nitrógeno obtenida en este estudio, aunque no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos experimentales se lograron valores para el tratamiento control de (37,48% C/2,69% N), adición de microorganismos del bosque (40,99% C/2,99% N), adición de microorganismos del lodo de estiércol porcino (36,15%C/2,66% N) y con la adición de microorganismos del contenido ruminal (29,53% C/2,22% N), en este caso autores como Wu *et al.*, (2010) plantearon que la relación óptima de C/N para los desechos provenientes del estiércol porcino varían de 15,5% C/1% N a 19% C/1% N (mayor producción de metano), hasta 25% C/1% N dependiendo del sustrato utilizado para la producción de biogás relación que en comparación con este estudio estaría dentro de los márgenes permitidos, puesto que por cada 1,33 partes de N habrían 18,07 partes de C con la inclusión de microorganismos procedentes del lodo de residuos porcinos, por su parte Rivas *et al.*, (2010) plantea una relación de 20 o 30 partes de Carbono: 1 Nitrógeno relación casi aproximada a la encontrada en este estudio por la adición de microorganismos del contenido ruminal que fue de 29,532 C/2,224N, este parámetro es importante, ya que si el nitrógeno se encuentra por encima de los niveles permitidos podría disminuir la producción de biogás ya que conllevaría a la formación de amonio y inhibición de las bacterias metanogénicas al proceso de digestión anaeróbica por toxicidad.

En cuanto a la variable pH para la producción de biogás se deben tener en cuenta cuatro pasos contundentes: a). una hidrólisis, b). una fase acidogénica o fermentativa, c). etapa acetogénica, d). una fase metanogénica con variaciones de pH que no sean inferiores 6 dado que la síntesis energética sería baja, limitando la producción de CH₄ y ejerciendo la obtención de ácido acético no ionizado concurriendo en la inhibición de la degradación del propionato, ni superiores a 8 porque se favorecería la producción de amoníaco inhibiendo la tasa de crecimiento microbiano (Villanueva et al., 2011). En este estudio se pudo evidenciar que todos los tratamientos experimentales se comportaron de manera estadísticamente igual observando pH que oscilaban de 7,3 a 8,3 lo cual contribuye de manera positiva para que se dé la producción de metano, ya que las comunidades microbianas metanogénicas trabajan bajo un pH óptimo de 7,8 a 8,2 (FAO, 2011).

6. Conclusiones

La producción de metano medida en decímetros cúbicos (dm³) durante las 24 mediciones cada cinco días, tuvo un efecto positivo en el valor de dicha variable, en los tratamientos con adición de microorganismos del bosque y microorganismos del contenido ruminal.

La composición química medida tanto porcentualmente junto a la cantidad estimada en decímetros cúbicos (m³) arrojó datos equivalentes, concordantes con la literatura para compuestos como el dióxido de carbono y el oxígeno., sin embargo se hubiese esperado una producción de metano más eficiente por parte de la adición de microorganismos, razón que pudo haber sido debida a los altos valores del nitrógeno que si bien respecto a la literatura conllevarían a la síntesis de amonio e inhibición de microorganismos metanogénicos.

Con relación al pH medido durante toda la fase experimental no se observaron variaciones estadísticas, encontrándose valores óptimos (7,3-8,3) para la eficiencia de las bacterias metanogénicas y su conversión a metano.

7. Recomendaciones

Se sugiere que en próximos estudios se evalúen otros factores tales como: composición y cantidad del sustrato a emplear, el tiempo de retención hidráulica, la temperatura y las especies de microorganismos pertenecientes a los tratamientos experimentales, ya que intervienen en la producción de metano.

De la misma manera se aconseja realizar un estudio en condiciones de digestión anaerobia y microaerobiosis para determinar cuál de los dos métodos anteriores es más eficiente en la producción de biogás.

Sería indispensable en próximos estudios determinar la cantidad de amonio, dado que influye en la inhibición de microorganismos metanogénicos y en la síntesis de metano.

Sería interesante evaluar si la adición de microorganismos del bosque, los presentes en el lodo de residuos porcícolas y los del contenido ruminal pudiesen actuar como biocatalizadores por transferencia de electrones para la conversión metanogénica.

Referencias bibliográficas

- Abdeshahian, P., Lim, J, Ho, W, Hashim, H., y Lee, C. (2016). Potencial de producción de biogás a partir de desechos de animales de granja en Malasia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, V. 60, 714–723. doi: [10.1016 / j. rser.2016.01.117](https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.01.117)
- Adekunle, K. y Okolie, J. (2015). A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 6 (3), 205-208. doi: [10.4236/abb.2015.63020](https://doi.org/10.4236/abb.2015.63020)
- Angelidaki I., Ellegaard L., Ahring B.K. (2003). Applications of the Anaerobic Digestion Process. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, V.82. doi: [10.1007/3-540-45838-7_1](https://doi.org/10.1007/3-540-45838-7_1)
- Aydin, S., Yıldırım, E., Ince, O., y Ince, B. (2017). Rumen anaerobic fungi create new opportunities for enhanced methane production from microalgae biomass. *Algal Research*, V. 23, 150–160. doi: [10.1016/j.algal.2016.12.016](https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.016)
- Bansal, A., Kapoor, S., y Kaushlendra, M. The road to zero waste anaerobic digester. *International Journal of Environmental Sciences*, 3 (5), 1390-1397. doi: [10.6088/ijes.2013030500009](https://doi.org/10.6088/ijes.2013030500009)
- Barragán, M., Carrillo, J., y Buitrón, G. (2017). Hydrolysis of microalgal biomass using ruminal microorganisms as a pretreatment to increase methane recovery. *Bioresource Technology*, V. 244, 100–107. doi: [10.1016/j.biortech.2017.07.117](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.117)
- Battini, F., Agostini, A., Boulamanti, A., Giuntoli, J., Y Amaducci, S. (2014). Mitigating the environmental impacts of milk production via anaerobic digestion of manure: Case study of a dairy farm in the Po Valley. *Science of The Total Environment*, V. 481, 196–208. doi: [10.1016/j.scitotenv.2014.02.038](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.038)
- Bertsch, J., y Müller, V. (2015). Bioenergetic constraints for conversion of syngas to biofuels in acetogenic bacteria. *Biotechnology for Biofuels*, 8 (1), 1-12. doi:[10.1186/s13068-015-0393-x](https://doi.org/10.1186/s13068-015-0393-x)
- Bolívar, H., y Ramírez, E. (2012). Propuesta para el diseño de un biodigestor para el aprovechamiento de la materia orgánica generada en los frigoríficos de Bogotá. (tesis de pregrado). Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia. Recuperado de <http://udistrital.edu.co:8080/documents/138588/3154083/documento+final.pdf>
- Buenrostro, O., Bernache, G., Cram, S., y Bocco, G. (1999). Análisis de la generación de residuos sólidos en los mercados municipales de Morelia México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 15 (1), 27-32. Recuperado de <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/32763/30058>

- Caballero, A., y Pérez, P. El metano como materia prima un reto vigente. Revista Anales de Química, 110 (2), 131-139. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6064271.pdf>
- Calderón, A., y Piratova, D. (2017). Propuesta para reactivar y mejorar el sistema de biodigestor del parque mundo aventura. (tesis de pregrado). Universidad Católica de Colombia, Bogotá, Colombia. Recuperado de <https://repository.ucatolica.edu.co/bitstream/10983/15474/1/PROPUESTA%20PARA%20REACTIVAR%20Y%20MEJORAR%20EL%20SISTEMA%20BIODIGESTOR%20DEL%20PARQUE%20E2%80%9CMUNDO%20AVENTURA%201.pdf>
- Cepero, L., Savran, V., Blanco, D., Díaz, M., Suárez, J., y Palacios, A. (2012). Producción de biogás a partir de efluentes de biodigestores. Revista Pastos y Forrajes, 35 (2), 219-226. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v35n2/pyf09212.pdf>
- Cendales, E. (2011). Producción de biogás mediante la codigestión anaeróbica de la mezcla de residuos cítricos y estiércol bovino para su utilización de energía renovable. Obtenido de Producción de biogás mediante la codigestión anaeróbica de la mezcla de residuos cítricos y estiércol bovino para su utilización de energía renovable. (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. Recuperado de <http://bdigital.unal.edu.co/4100/1/edwindariocendalesladino.2011.parte1.pdf>
- Cobellis, G., Trbalza, M., Marcotullio, M., y Yu, Z. (2016). Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria in vitro. Animal Feed Science and Technology, V. 215, 25–36. doi: [10.1016/j.anifeedsci.2016.02.008](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.02.008)
- Contexto Ganadero. (2017). Biodigestores comienzan a tomar fuerza en Colombia. Bogotá, Colombia: Ganadería Sostenible. Recuperado de <https://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/biodigestores-comienzan-tomar-fuerza-en-colombia>
- Cuéllar, A., y Webber, M. (2008). Cow power the energy and emissions benefits of converting manure to biogas. Environmental Research Letters, 3 (3), 1-9. doi:[10.1088/1748-9326/3/3/034002](https://doi.org/10.1088/1748-9326/3/3/034002)
- Díaz, I., Lopes, A., Pérez, S., y Polanco, M. (2010). Performance evaluation of oxygen, air and nitrate for the microaerobic removal of hydrogen sulphide in biogas from sludge digestion. Bioresource Technology, 101(20), 7724–7730. doi: [10.1016/j.biortech.2010.04.062](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.062)
- Ding, A., Lu, S., Feng, Z., Hui, R., Fang, W., y Wnag, Y. (2008). Activity of bacteria and archaea in immature or lower-mature organic matter and new appraisal methods for biogas source rocks. Petroleum Exploration and Development, 35 (1), 59–66. doi:[10.1016/s1876-3804\(08\)60009-9](https://doi.org/10.1016/s1876-3804(08)60009-9)

- Domínguez, P., y Ly, J. (2000). Biodigestores como componentes de sistemas agropecuarios integrados. La Habana, Cuba: Instituto de Investigaciones Porcinas. Recuperado de http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.avpa.ula.ve/eventos/viii_encuentro_monogastricos/sistemas_integrados/conferencia-6.pdf
- Elizondo, D. (2005). El biodigestor. Recuperado de http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_animal/brochure-biodigestor.pdf
- Federación Colombiana de Ganaderos. (2018). Ganadería Colombiana hoja de ruta 2018-2022. Bogotá, Colombia: FEDEGAN. Recuperado de http://static.fedegan.org.co.s3.amazonaws.com/publicaciones/Hoja_de_ruta_Fedegan.pdf
- Flesch, T., Desjardins, R., y Worth, D. (2011). Fugitive methane emissions from an agricultural biodigester. *Biomass and Bioenergy*, 35 (9), 3927–3935. doi: [10.1016/j.biombioe.2011.06.009](https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.06.009)
- Flotats, X., Campos, E., Palatsi, J., Bonmatí, X. (2001). Digestión anaerobia de purines de cerdo y codigestión con residuos de la industria alimentaria. *Revista Porci*, V.65, 51-65. Recuperado de <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/6699/porci%202001%20final.pdf>
- García, Y., Calle, L., y Ramón, J. (2018). Eliminación de bacterias perjudiciales de un fertilizante orgánico Biol mediante un tratamiento de foto degradación. Guayaquil, Ecuador: UAGRARIA. Recuperado de http://www.uagraria.edu.ec/publicaciones/revistas_cientificas/17/062-2018.pdf
- García, Y., Ramírez, W., y Sánchez, S. (2012). Indicadores de la calidad de los suelos una nueva manera de evaluar este recurso. *Revista Pastos y Forrajes*, 35 (2), 125-138. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v35n2/pyf01212.pdf>
- Giménez, J., Aguado, D., Bouzas, A., Ferrer, J., y Seco, A. (2017). Use of rumen microorganisms to boost the anaerobic biodegradability of microalgae. *Algal Research*, 24, 309–316. doi:[10.1016/j.algal.2017.04.003](https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.003)
- Gómez, S. (2012). Diseño construcción y puesta en punto de un biodigestor tubular en Carazo Nicaragua. Carazo, Nicaragua: Universidad Carlos III de Madrid. Recuperado de <https://core.ac.uk/download/pdf/30046846.pdf>
- González, E., y Jurado, P. (2017). Sustratos y producción de biogás en biodigestores una revisión sistemática. *Revista Inteligencia*, 2 (1), 44-64. Recuperado de http://editorial.ucentral.edu.co/ojs_uc/index.php/Ingeciencia/article/view/2352
- Guerrero, F., Espinosa, T., Balagurusamy, N., Guerra, D., Huber, D., y Hernández, G. (2019). Potencial bioquímico de metano de pollinaza adicionada con propionato en condiciones mesofílicas. *Scientia Agropecuaria Journal*, 10 (2), 307-311. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v10n2/a18v10n2.pdf>

- Guevara, A. (1996). Producción de gas y saneamiento de efluentes. Lima, Perú: CEPIS. Recuperado de <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/scan2/031042/031042.pdf>
- Hagos, K., Zong, J., Li, D., Liu, C., y Lu, X. (2017). Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, V. 76, 1485–1496. doi: [10.1016/j.rser.2016.11.184](https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.184)
- Herrero, M., Laca, A., y Díaz, M. (2013). Life Cycle Assessment Focusing on Food Industry Wastes. *Food Industry Wastes*. doi:[10.1016/b978-0-12-391921-2.00015-9](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-391921-2.00015-9)
- Hungate, R. (1950). The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacteriological Reviews Journal*, 14 (1), 1-49. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC440953/>
- Jha, P., y Schmidt, S. (2017). Reappraisal of chemical interference in anaerobic digestion processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, V. 75, 954–971. doi: [10.1016/j.rser.2016.11.076](https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.076)
- Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., y Dawson, L. (2011). The anaerobic digestion of solid organic waste. *Waste Management*, 31 (8), 1737–1744. doi: [10.1016/j.wasman.2011.03.021](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.03.021)
- Kwietniewska, E., y Tys, J. (2014). Process characteristics, inhibition factors and methane yields of anaerobic digestion process, with particular focus on microalgal biomass fermentation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, V. 34, 491–500. doi: [10.1016/j.rser.2014.03.041](https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.041)
- Labatut, R., y Pronto, J. L. (2018). Sustainable Waste to Energy Technologies Anaerobic Digestion. *Sustainable Food Waste to Energy Systems*. doi:[10.1016/b978-0-12-811157-4.00004-8](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811157-4.00004-8)
- Lawton, T., y Rosenzweig, A. (2016). Methane make or break it. *Science*, 352 (6288), 892-893. doi: [10.1126/science.aaf7700](https://doi.org/10.1126/science.aaf7700)
- Lehmann, J., y Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature Journal*, 528 (7580), 60–68. doi:[10.1038/nature16069](https://doi.org/10.1038/nature16069)
- López, G. (2003). Biodigestión anaerobia de residuos sólidos urbanos alternativa energética y fuente de trabajo. *Revista Tecnura*, 7 (13), 31-43. Recuperado de <https://revistas.udistrital.edu.co/index.php/Tecnura/article/download/6187/7711/>
- López, C., Martínez, F., y Paredes, O. (2016). Automatización de un proceso de biodigestión anaeróbica. *Revista Cubana de Ciencias Informáticas*, V.10, 1-16. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/rcci/v10s1/rcci01517.pdf>

- Lorenzo, Y., y Obaya, M. (2005). La digestión anaerobia aspectos teóricos parte I. Revistas del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Cuba, 29 (1), 35-48. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120659006.pdf>
- Mereced, D. (2012). Evaluación de los parámetros de un biodigestor anaerobio tipo continuo. (tesis de maestría). Universidad Veracruzana, Veracruz, México. Recuperado de <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/31560/delamercedjimenezdiego.pdf;jsessionid=D51D4DDD7F6ED7BEB35AF081F6A412BC?s>
- Ministerio de energía. (2011). Revisión normativa actual y norma técnica y de seguridad para instalaciones de biogás en la producción y en el uso. Santiago de Chile, Chile: GAMMA INGENIEROS S.A.S. Recuperado de [http://dataset.cne.cl/Energia_Abierta/Estudios/Minerg/59.Informe%20Final%20\(1224\).pdf](http://dataset.cne.cl/Energia_Abierta/Estudios/Minerg/59.Informe%20Final%20(1224).pdf)
- Mohd, N., Husnain, T., Li, B., Li, B., Rahman, A., y Riffat, R. (2015). Investigation of the Performance and Kinetics of Anaerobic Digestion at 45°C. Journal of Water Resource and Protection, 7 (14), 1099–1100. doi:[10.4236/jwarp.2015.714090](https://doi.org/10.4236/jwarp.2015.714090)
- Monteny, G., Bannink, A., y Chadwick, D. (2006). Greenhouse gas abatement strategies for animal husbandry. Agriculture, Ecosystems & Environment, 112 (2-3), 163–170. doi: [10.1016/j.agee.2005.08.015](https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.08.015)
- Moraga, A. (2017). Biogás curso de formación especializada en biogás para profesionales. Santiago de Chile, Chile: REDBIOLAC. Recuperado de <http://4echile.cl/4echile/wp-content/uploads/2017/11/Biogas-modulo1-Introduccion-11-2017.pdf>
- Neshat, S., Mohammadi, M., Najafpour, G., y Lahijani, P. (2017). Anaerobic codigestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production. Renewable and Sustainable Energy Reviews, V. 79, 308-322. doi: [10.1016/j.rser.2017.05.137](https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.137)
- Ofoefule, A., Nwanko, J., y Ibeto, C. (2010). Biogas production from paper waste and its blend cow dung. Advances in Applied Science Research, 1 (2), 1-8. Recuperado de <http://www.imedpub.com/articles/biogas-production-from-paper-waste-and-its-blend-with-cow-dung.pdf>
- Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2011). Manual de biogás. Santiago de Chile, Chile: FAO. Recuperado de <http://www.fao.org/3/as400s/as400s.pdf>
- Padilla, A., y Rivero, J. (2016). . Producción de biogás y compost a partir de residuos orgánicos recolectados del complejo arqueológico Huaca de la Luna. Revista Ciencia y Tecnología, 12 (1), 29-43. Recuperado de <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/1358/1390>

- Paredes, R., y Baca, M. (2005). Generación de energía con biogás de residuos en plantas agroindustriales la Libertad. Lima, Perú: LACCEI. Recuperado de http://www.laccei.org/LACCEI2005-Cartagena/Papers/EN015_BacaLopez.pdf
- Parra, R. (2015). Digestión anaeróbica mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. Revista Producción Más Limpia, 10 (2), 142-159. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v10n2/v10n2a14.pdf>
- Perazzolo, F., Mattachini, G., Tambone, F., Misselbrook, T., y Provololo, G. (2015). Effect of mechanical separation on emissions during storage of two anaerobically codigested animal slurries. Agriculture, Ecosystems & Environment, V. 207, 1–9. doi: 10.1016/j.agee.2015.03.023
- Pérez, A., y Torres, P. (2008). Índices de alcalinidad para el control del tratamiento anaeróbico de aguas residuales fácilmente acidificables. Revista Ingeniería y Competitividad, 10 (2), 41-52. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/2913/291323482002.pdf>
- Ferrer, Y., y Pérez, H. (2010). Los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás consideraciones en la elección del inóculo para el mejoramiento de la calidad y el rendimiento. Revista Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Cuba, 43 (1), 9-20. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120681002.pdf>
- Pessuto, J., Scopel, B., Perondi, D., Godinho, M., y Dettmer, A. (2016). Enhancement of biogas and methane production by anaerobic digestion of swine manure with addition of microorganisms isolated from sewage sludge. Process Safety and Environmental Protection, V. 104, 233–239. doi: 10.1016/j.psep.2016.08.020
- Pham, C., Triolo, J., Cu, T., Pedersen, L., y Sommer, S. (2013). Validation and Recommendation of Methods to Measure Biogas Production Potential of Animal Manure. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 26 (6), 864–873. doi:10.5713/ajas.2012.12623
- Ramírez, J., Posada, S., y Noguera, R. (2014). Metanogénesis ruminal y estrategias para su mitigación. Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, 9 (2), 307-323. Recuperado de <http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/3151/2251>
- Residuos Agropecuarios. (2013). Digestión Anaerobia. Murcia, España: AGROWASTE. Recuperado de <http://www.agrowaste.eu/wp-content/uploads/2013/02/DIGESTION-ANAEROBIA.pdf>
- Rivas, O., Faith, M., y Guillén, R. (2010). Biodigestores factores químicos físicos y biológicos relacionados con su productividad. Revista Tecnología en Marcha, 23 (1), 39-46. Recuperado de https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/132
- Rodríguez, C. (2017). Los biodigestores fuente de desarrollo sostenible y calidad de vida en comunidades rurales en Colombia. (especialización en gestión social y ambiental).

- Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Bogotá, Colombia. Recuperado de <https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/787/1/PROYECTO%20DE%20GRADO%20FINAL.pdf>
- Seghezzo, L., Zeeman, G., Van Lier, J., Hamelers, H., y Lettinga, G. (1998). Una revisión el tratamiento anaeróbico de las aguas residuales en los reactores UASB y EGSB. *Bioresource Technology Journal*, 65 (3), 175-190. Recuperado de <https://eurekamag.com/research/008/072/008072796.php>
- Schlager, S., Haberbauer, M., Fuchsbauer, A., Hemmelmaier, C., Dumitru, L., Hinterberger, G., Neugebauer, H., y Sariciftci, N. (2016). Bio-Electrocatalytic Application of Microorganisms for Carbon Dioxide Reduction to Methane. *ChemSusChem*, 10 (1), 226–233. doi:[10.1002/cssc.201600963](https://doi.org/10.1002/cssc.201600963)
- Sosa, A., Galindo, J., Bocourt, R. (2007). Metanogénesis ruminal aspectos generales y manipulación para su control. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 41 (2), 105-114. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/1930/193017658001.pdf>
- Teng, Z., Hua, J., Wang, C., y Lu, X. (2014). Design and optimization principles of biogas reactors in large scale applications. *Reactor and Process Design in Sustainable Energy Technology*. doi:[10.1016/b978-0-444-59566-9.00004-1](https://doi.org/10.1016/b978-0-444-59566-9.00004-1)
- Tobón, A. (2018). Análisis de los posibles factores que dificultan la implementación de biodigestores tipo tubular y cúpula flotante en las zonas rurales y urbanas en la región norte de Colombia. (tesis de maestría). Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia. Recuperado de <http://manglar.uninorte.edu.co/bitstream/handle/10584/8529/135399.pdf?sequence=1>
- Trzcinski, A., y Stuckey, D. (2010). Treatment of municipal solid waste leachate using a submerged anaerobic membrane bioreactor at mesophilic and psychrophilic temperatures: Analysis of recalcitrants in the permeate using GC-MS. *Water Research*, 44 (3), 671–680. doi:[10.1016/j.watres.2009.09.043](https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.09.043)
- Villanueva, J., Nájera, H., Gómez, J., Hernández, T., y Velasco, A. (2011). Generación caracterización y uso del biogás producto de la digestión anaerobia de las excretas de ganado bovino. *Revista Lacandonia*, 5 (2), 149-158. Recuperado de <https://cuid.unicach.mx/revistas/index.php/lacandonia/article/view/258/238>
- Wang, S., Ma, F., Ma, W., Wang, P., Zhao, G., y Lu, X. (2019). Influence of Temperature on Biogas Production Efficiency and Microbial Community in a Two-Phase Anaerobic Digestion System. *Water*, 11 (1), 133. doi:[10.3390/w11010133](https://doi.org/10.3390/w11010133)
- Ward, A., Hobbs, P., Holliman, P., y Jones, D. (2008). Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*, 99 (17), 7928–7940. doi:[10.1016/j.biortech.2008.02.044](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.02.044)

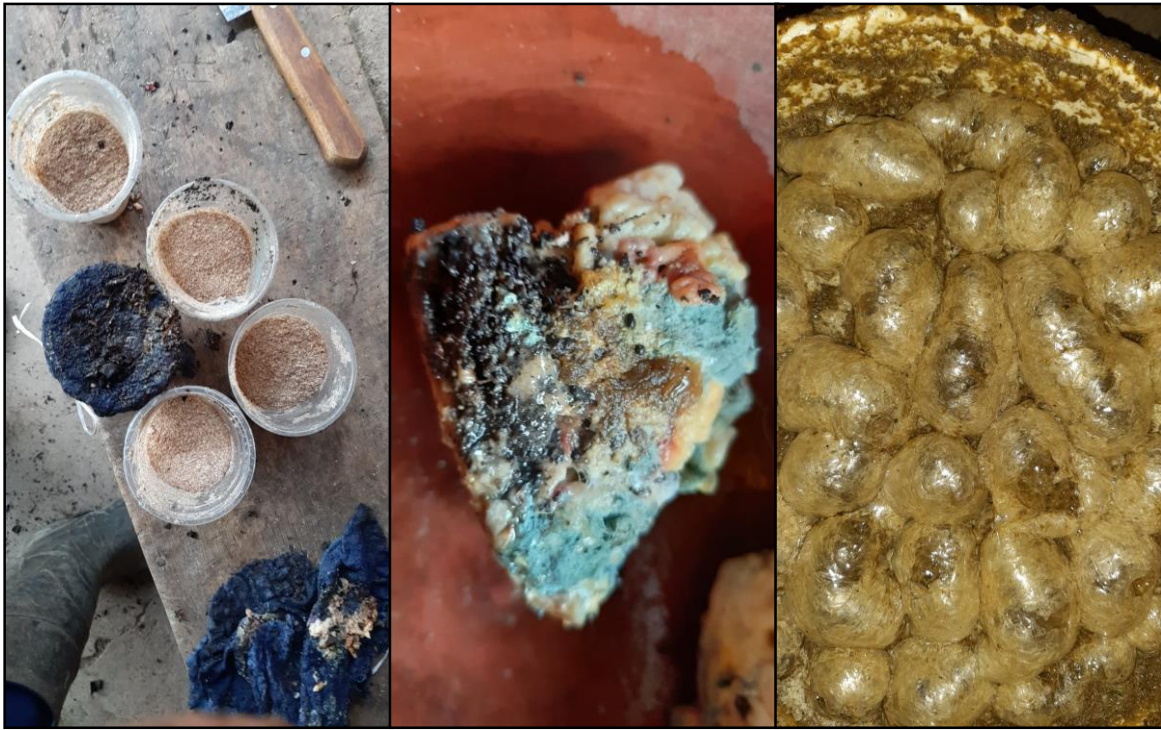
- Weber, B., Rojas, M., Torres, M., y Pampillón, L.(2012). Producción de Biogás en México. Guanajuato, México: REMBIO. Recuperado de <http://rembio.org.mx/wp-content/uploads/2014/12/CT5.pdf>
- Weiss, D. (1993). Methanogenesis and the unity of biochemistry. *Cell*, 72 (6), 819-822. doi: [10.1016/0002-8674\(93\)90570-G](https://doi.org/10.1016/0002-8674(93)90570-G)
- Wu, X., Yao, W., Zhu, J., y Miller, C. (2010). Biogas and CH₄ productivity by co-digesting swine manure with three crop residues as an external carbon source. *Bioresource Technology*, 101 (11), 4042–4047. doi: [10.1016/j.biortech.2010.01.052](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.052)
- Zea, J., Bernal, J., y Carvajal, D. (2015). Biodigestores de escala a 50 litros una solución para la producción de gas, abono y aprovechamiento de los residuos sólidos y organicos. (proyecto tecnológico). Corporación Universitaria Minuto de Dios, Soacha, Colombia. Recuperado de https://repository.uniminuto.edu/bitstream/handle/10656/3969/TTL_ZeaBeltranJakiAlexander_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Apéndices

Apéndice A. Llenado de biodigestores



Apéndice B. Mezcla control

Apéndice C. Adquisición y multiplicación de microorganismos del bosque

Apéndice D. Muestras del contenido ruminal y lodo de residuos porcícolas

