

Determinación de la Calidad del Digerido Proveniente de un Biodigestor Doméstico
Alimentado con Estiércol Bovino en la Finca Marcella

Andrés Fabián Garcés Ortega y Gloria Alejandra Súa Velandia

Directora

Liliana del Pilar Castro Molano

PhD en Ingeniería Química

Codirectores

Humberto Escalante Hernández

PhD en Ingeniería Química

Laura Marcela Mantilla Ávila

Ingeniera Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2020

Dedicatoria

A mis padres Luis q.e.p.d. y Ludy, por apelar incesantemente a la educación como el camino, porque en su intento por dárme todo, también me enseñaron a luchar por mis sueños, especialmente a ellos, porque sencillamente les debo todo.

A mis hermanas Silvia y Sara, porque a pesar de que apenas empiezan a vivir, de ellas he aprendido más de lo que alguna vez imaginé.

A Katie Thomas, por acompañarme durante gran parte de este viaje, porque aún ante las situaciones más adversas, nunca ha dejado de creer en mí y resaltar mi pericia.

A Alejandra Galvis, por ofrecerme esa amistad que muchos vislumbran y pocos logran tener.

A Janelle Hill, porque su auténtica amistad y gran experticia han influenciado mi forma de ver la vida.

A mi compañera de proyecto, por todo el trabajo y los consejos afables.

Andrés Fabián Garcés Ortega

Dedicatoria

A Dios, por ser mi guía en todo momento, por otorgarme la sabiduría para afrontar los retos que me propongo y por todas las bendiciones que pone en mi camino.

A mis padres, Edelmira Velandia Mendivelso y Rosendo Súa Velandia por su amor, apoyo, confianza y esfuerzo, gracias por enseñarme el valor de la familia y acompañarme en cada paso de mi vida, los amo. Este logro es para ustedes.

A mis hermanas, Adenis que confió en mí en todo momento, gracias por apoyarme y consentirme, Mari por ser mi segunda madre y darme las herramientas necesarias para ser la persona que soy ahora, Yorlady por ser mi ejemplo a seguir, porque sin darse cuenta me guio en todo este proceso, Yolis me enseñó que detrás de un gran esfuerzo siempre habrá una enorme recompensa, Yeny por escucharme sin juzgar y regalarme respuestas elocuentes y por último, Deisy mi cómplice y alcahueta, gracias por animarme hasta el cansancio en esos momentos en los que ya no daba más. Gracias por ser ejemplo de mujeres independientes, fuertes, generosas y llenas de energía, por darme la seguridad para salir y hacer mi propio camino. Las amo.

A mis hermanos, José por esas charlas en las que me aterriza a la realidad y a Hernando, por estar pendiente de mí, consentirme y apoyarme. Los amo.

A mis sobrinas; Vane por ser mi cómplice estos últimos años, Juli por ser esa niña fuerte y llena de energía, Saris por ser tan dulce y hacerme recordar la niña que llevo dentro, Angelita, Salome e Isabella que con su ternura, perspicacia e inocencia me hacen pensar ser mejor persona, son mi razón de querer crecer cada día más. Las amo

A mi sobrino David, por su sinceridad y confianza.

A mis cuñados, Lucho y Richi, por ser parte de mi familia y mi proceso de crecimiento personal.

A mi mejor amiga, por estar hace 14 años a mi lado, a pesar de todas las circunstancias vividas, sigue ahí apoyándome y siendo un ejemplo de excelencia.

A Cami y Meli, por compartir esta etapa de principio a fin, gracias por todos los momentos y anécdotas que construimos.

A mis amigos y futuros colegas que me acompañaron en esta etapa, gracias por toda su ayuda y buena voluntad.

A mi compañero de proyecto de grado, por ser un gran apoyo para culminar este trabajo.

Gloria Alejandra Súa Velandia

Agradecimientos

A Dios, por permitirnos alcanzar esta meta.

A nuestra alma máter por concedernos el espacio para vivir, crecer y aprender.

A nuestra directora Liliana Castro Molano por la confianza, el compromiso y por guiarnos durante este proceso de aprendizaje, permitiéndonos crecer como profesionales y como personas.

Al nuestro codirector Humberto Escalante Hernández por su colaboración.

A nuestra codirectora Laura Marcela Mantilla por su compromiso, dedicación y apoyo i en todo este proceso de aprendizaje. Le agradecemos enormemente por guiarnos y compartirnos sus conocimientos para culminar con éxito este trabajo.

Al grupo de investigación del laboratorio Biotecnología por su colaboración y ánimo.

A Don Guillermo y Joaquín por su amabilidad y colaboración.

A nuestros compañeros de la universidad por todos los momentos compartidos y su contribución al alcance de esta meta.

Tabla de Contenido

	Pág.
1. Objetivos	20
1.1 Objetivo General	20
1.2 Objetivos Específicos	20
2. Metodología	20
2.1 Origen del Digerido y Toma de Muestras	21
2.2 Separación de Fases del Digerido	23
2.3 Caracterización Físicoquímica del Digerido en Estado Natural, Fase Líquida y Fase Sólida.....	23
2.4 Caracterización Bioquímica del Digerido en Estado Natural, Fase Líquida y Fase Sólida.....	24
2.4.1 Determinación de la Actividad Metanogénica Acetoclástica (AME).....	25
2.4.2 Determinación del Potencial de Biometanización Residual (PBMr).....	26
2.5 Evaluación de las Condiciones Higiénicas del Digerido	27
2.6 Caracterización Agronómica del Digerido.....	27
3. Resultados	29
3.1 Calidad Físicoquímica del Digerido.....	29

3.1.1 Contenido de Macronutrientes del Digerido y sus Fases	32
3.2 Caracterización Bioquímica del Digerido en Estado Natural, Fase Líquida y Fase Sólida.....	35
3.2.1 Actividad Metanogénica Específica (AME)	35
3.2.2 Evaluación del Potencial de Biometanización Residual (PBMr) del Digerido	36
3.3 Evaluación de las Condiciones Higiénicas del Digerido	37
3.4 Caracterización Agronómica del Digerido.....	38
3.5 Matriz de Calidad del Digerido.....	41
4. Conclusiones	43
5. Recomendaciones.....	44
Lista de Referencias	45
Apéndices	53

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A Curvas de Producción de Metano Acumulada del Ensayo de AME para las Fases Sólida y Natural.....	53
Apéndice B Curvas de Potencial de Biometanización Residual del Digerido y sus Fases.	55
Apéndice C Manual de Caracterización de Digeridos	57

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1 Especificaciones del Digestor Tubular de Bajo Costo	22
Tabla 2 Métodos Analíticos para la Determinación de Nutrientes Mayores y Menores del Digerido.....	24
Tabla 3 Caracterización Fisicoquímica del Digerido y sus Fases	29
Tabla 4 Composición de Macronutrientes y Micronutrientes del Digerido y sus Fases	32
Tabla 5 Concentración de los Iones Amonio y Fosfato del Digerido y su Fase Líquida	35
Tabla 6 Ame y PBMr en el Digerido y sus Fases.....	36
Tabla 7 Matriz de Calidad del Digerido	41

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 Número de Publicaciones sobre Digeridos Anaerobios por Año	17
Figura 2 Etapas del Desarrollo Metodológico de este Trabajo	20
Figura 3 Biodigestor Escala Doméstico Ubicado en la Finca Marcella	22
Figura 4 Tanque de Recolección del Digerido	22
Figura 5 Índice de Germinación de la Fase Natural.	40

Glosario

AGVT: ácidos grasos volátiles totales

AME: actividad metanogénica específica

AT: alcalinidad total

CE: conductividad eléctrica

DA: digestión anaeróbica

DQO: demanda química de oxígeno

DTBC: digestor tubular de bajo costo

GEI: gas de efecto invernadero

GLP: gas licuado de petróleo

ICA: instituto colombiano agropecuario

IG: índice de germinación

NH₄⁺: ion amonio

PBM_r: potencial de biometanización residual

PO₄³⁻: ion fosfato

RIS: relación inóculo sustrato

SV: sólido volátil

Resumen

Título: Determinación de la Calidad del Digerido Proveniente de un Biodigestor Doméstico Alimentado con Estiércol Bovino en la Finca Marcella *

Autores: Andrés Fabián Garcés Ortega, Gloria Alejandra Súa Velandia **

Palabras Claves: Digestión anaerobia, Digerido, Fase líquida, Fase sólida, Caracterización.

Descripción:

En Colombia se han instalado alrededor de 500 biodigestores tubulares de bajo costo de los cuales el digerido, que es una mezcla de biomasa microbiana y material no degradado, es el producto principal en términos de masa. El objetivo del trabajo fue determinar la calidad de un digerido anaerobio y de sus fracciones sólida y líquida. Las muestras fueron recolectadas de un biodigestor rural alimentado con estiércol bovino diluido. Para la separación de fases, se llevó a cabo una operación de filtración al vacío. Las caracterizaciones se hicieron con base en pruebas fisicoquímicas, bioquímicas y microbiológicas, así como en términos del potencial de fitotoxicidad. Los resultados evidenciaron que el potencial de biometanización residual fue relativamente alto en todas las fracciones: 0.058 m³CH₄ /kgSV para el digerido, 0.071 m³CH₄ /kgSV para la fracción líquida y 0.109 m³CH₄ /kgSV para la sólida. El contenido de macronutrientes en el digerido tuvo una distribución tras la separación, siendo el licor rico en amonio y el sólido en fosfatos. Además, el digerido mostró buenos resultados en los índices de germinación para todas las diluciones. No obstante, el contenido de patógenos fue alto, lo podría suponer un riesgo en salud pública según lo dispuesto por la *Environmental Protection Agency (EPA)*. Este estudio mostró que es necesario implementar postratamientos de estabilización al digerido para disminuir la presencia de patógenos y las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI).

* Trabajo de grado

** Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Directora Liliana Castro. Codirector Humberto Escalante. Codirectora Laura Mantilla.

Abstract

Title: Determination of the Quality of the Digestate Produced by a Domestic Biodigester Fed with Cow Manure from Marcella Farm *

Authors: Andrés Fabián Garcés Ortega, Gloria Alejandra Súa Velandia **

Key words: Anaerobic digestion, Digestate, Liquid phase, Solid phase, Characterization.

Description:

In Colombia, approximately 500 low-cost tubular digesters have been installed from which digestate (a mixture of microbial biomass and non-degraded matter) is the main product in terms of matter. The objective of this work was to determine the quality of an anaerobic digestate as well as its fractional parts (solid and liquid). The samples were collected from a rural biodigester fed with diluted cow manure. In order to separate the digestate samples, vacuum filtration was carried out to obtain the liquid and solid fractions. The characterizations of the digestate and its fractional parts were based on physico-chemical, biochemical and microbiological tests, as well as a phytotoxicity bioassay. Results showed that the residual biochemical potential of methane was high in all fractions: 0.058 m³CH₄ /kgVS for the digestate, 0.071 m³CH₄ /kgVS for the liquid and 0.109 m³CH₄ /kgVS for the solid. After separation of the content, it was found that ammonium was concentrated mainly in the liquid, with phosphates in the solid fraction. Furthermore, digestate showed good germination index results for all dilutions. However, the pathogens content was substantial in digestate, which could pose a public health risk according to the *Environmental Protection Agency (EPA)*. This study showed that the digestate requires post-treatments in order to decrease the pathogens content and greenhouse gas (GHG) emissions.

* Bachelor thesis

** Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Directora Liliana Castro. Codirector Humberto Escalante. Codirectora Laura Mantilla.

Introducción

La producción de biogás mediante digestión anaerobia es una alternativa de energía renovable atractiva en zonas rurales de difícil acceso que no cuentan con suministro de gas natural (Castro et al., 2017). Actualmente en Latinoamérica los sistemas más utilizados para llevar a cabo el proceso anaerobio son los digestores tubulares de bajo costo. Estos digestores constan, básicamente, de una bolsa de plástico, con una entrada (alimentación) y dos salidas en tubo de PVC (descarga de digerido y salida de biogás). El gas producido se recolecta en un reservorio diseñado también en plástico. Este tipo de digestores no incluyen sistemas de agitación ni calentamiento y suelen ser de fácil instalación y operación. Los beneficios de los digestores de bajo costo están asociados a la estabilización de materia orgánica, producción de biogás como combustible renovable, reducción de gases de efecto invernadero (GEI) y uso agronómico del digerido (Garfí et al., 2019).

A nivel nacional se han instalado alrededor de 500 biodigestores de bajo costo utilizando como sustrato estiércol bovino y porcino, principalmente (Castro et al., 2017; Garfí et al., 2019). El gas producido en estas pequeñas y medianas plantas de biogás es usado para cocinar y como calefacción para animales (Botero, 2011). El digerido es el producto principal de la digestión en términos de masa, y es una mezcla de biomasa microbiana y material no degradado durante la bioconversión.

El digerido está compuesto por una fracción líquida y una sólida. En la fracción líquida se encuentra, principalmente, nitrógeno y potasio; y en la fracción sólida, fósforo y fibras (Liedl et al., 2006). A nivel artesanal y precario, en el campo, el digerido se aplica directamente a la tierra como enmienda de suelos (Castro et al., 2017). Sin embargo, la producción de digerido tiene algunas limitaciones que impiden su gestión eficiente: a) el

digerido se produce a diario durante todo el año, pero no puede ser usado inmediatamente como acondicionador de suelos debido a las etapas de crecimiento de los cultivos, tipos de suelo, niveles de estabilización y a la incertidumbre en términos de nutrientes del digerido (Paavola & Rintala, 2008); b) en términos ambientales, su almacenamiento en tanques destapados ocasiona pérdida de gases como NH_3 y otros GEI (CH_4 , CO_2 , y N_2O) a la atmosfera como consecuencia de la degradación de materia orgánica contenida en el digerido (Guilayn et al., 2019a; Monlau et al., 2015). Lo anterior se traduce en una pérdida de eficiencia energética e impacto ambiental por las emisiones de los gases mencionados; c) finalmente, en el aspecto social, aunque el proceso de digestión anaerobia alcanza generalmente una alta remoción de microorganismos patógenos, en algunos casos es menos eficiente representando un riesgo de salud pública. La mayoría de estos patógenos podrían causar una grave morbilidad o incluso la mortalidad de seres humanos al infligir en enfermedades respiratorias, gastroenteritis e infecciones de la piel, entre otras (Ju et al., 2016; Stiborova et al., 2015).

En Colombia, el decreto 1287 de 2014 [Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio], establece los criterios para el uso de los digeridos a partir de los lodos generados en las plantas de tratamiento de agua residuales, y recopila los niveles máximos permisibles para su disposición final. No obstante, el decreto en referencia carece de una normatividad específica que cuantifique la calidad del digerido como fertilizante en términos fisicoquímicos y bioquímicos. Por lo anterior, el uso del digerido en el sector rural es principalmente la aplicación directa a la tierra sin tratamiento previo, generando los inconvenientes mencionados con anterioridad.

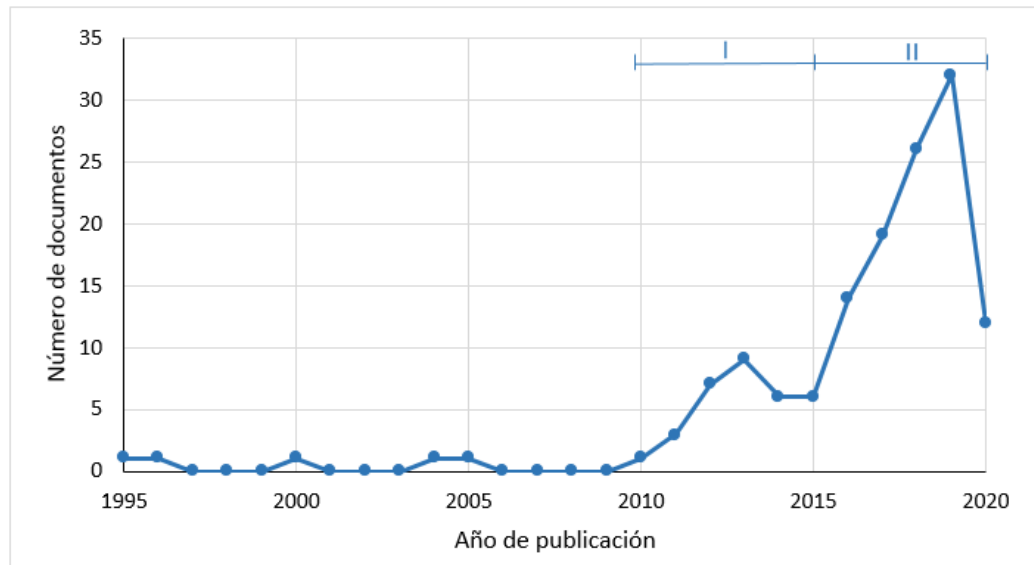
Particularmente, la finca Marcella, ubicada en Girón - Santander, dispone de un biodigestor tubular de bajo costo, alimentado con estiércol bovino. Este biodigestor produce 0,85 m³biogás/día y 0,168 m³/día de digerido. En la granja el biogás se utiliza en la cocción de alimentos, y el digerido como enmienda de suelos para los cultivos de cacao. El digerido se produce a diario durante todo el año, pero no puede ser utilizado inmediatamente como acondicionador de suelos debido a la frecuencia de los riegos, ocasionando emisiones de GEI y olores desagradables.

Por lo anterior, surgen las siguientes inquietudes referentes al uso del digerido en la finca Marcella: i) ¿contiene la concentración adecuada de nutrientes para los cultivos?; ii) ¿cuánta materia orgánica aún prevalece sin digerir y cómo se ve afectada su estabilidad?; iii) ¿contiene patógenos que conlleve un riesgo para los cultivos y consumidores?; y iv) ¿afecta los procesos de germinación como consecuencia de la inhibición por fitotoxicidad? Estas respuestas son necesarias para gestionar adecuadamente el digerido en la finca y evitar que se produzcan problemas ambientales mayores de los que ocasiona el estiércol en su estado natural. Así las cosas, se evidencia responder la siguiente pregunta de investigación: ¿cuál es la calidad del digerido proveniente del digestor tubular de bajo costo alimentado con estiércol bovino en la granja Marcella?

A continuación, se presenta la dinámica en el tiempo de los 140 documentos que han sido publicados y están relacionados con investigaciones sobre los digeridos de diferentes tipos de estiércoles. En la figura 1 se observa dos intervalos de tiempo importantes: el primer periodo (I) está comprendido desde el 2009 hasta el 2015 y el segundo (II) desde el 2015 hasta el 2020.

Figura 1

*Número de Publicaciones sobre Digeridos Anaerobios por Año**



De acuerdo con los intervalos evidenciados por la revisión bibliográfica, durante el primer periodo se reportaron documentos relacionados al impacto ambiental producido por el digerido y alternativas de uso. La implementación de digestores de bajo costo en fincas colombianas de pequeña escala contribuyó a reducir los impactos ambientales asociados con el manejo del estiércol, el uso de combustible y fertilizantes (hasta en un 80%, dependiendo de la categoría de impacto), debido a la reducción del consumo de gases licuados de petróleo (GLP) y fertilizantes sintéticos (Garfí et al., 2019). Con relación a las alternativas de uso del digerido, previos estudios hacen referencia a la recirculación de la fase sólida como alimento al digestor, en la cual se encontró una mejora en la producción de metano del 4%. Sin embargo, también se concluyó que recircular el digerido de manera continua por 120 días resultó en una disminución en la producción de metano (Dinuccion et al., 2013).

* La ecuación de búsqueda utilizada fue: "digestate" and "manure" or "slurry" and "anaerobic" and "digestion". La búsqueda se llevó a cabo el 13 de abril de 2020.

Pabón-Pereira et al. (2014) evaluaron el contenido de nutrientes en las fases sólidas y líquidas del digerido proveniente de la co-digestión del maíz y el estiércol; la investigación concluyó que la digestión anaeróbica favorecía la disponibilidad de nutrientes para las plantas, y que los compuestos inorgánicos estaban disponibles principalmente en la fase líquida. Kathijotes (2015) desarrolló un estudio con el objetivo de determinar el efecto del digerido en el rendimiento de algunos cultivos; los resultados indicaron que el digerido como biomasa es rico en macro y micronutrientes, y que se puede usar en la agricultura como mejorador de suelos. Monlau et al. (2015) realizaron estudios sobre la valorización de digeridos agrícolas en los cuales se reportó que la recirculación es un tratamiento factible para lograr una recuperación extra de energía; además, resaltaron alternativas termoquímicas para convertir el digerido sólido en energía.

En el segundo periodo (II), se han evaluado alternativas de mezclado de digeridos con otros residuos para balancear el contenido de nutrientes y utilizarlos como fertilizantes orgánicos en condiciones reales. Antosovsky et al. (2018) evaluaron el potencial de diferentes tipos de fertilizantes orgánicos, entre ellos una mezcla de abono verde con digerido, y abono verde con digerido y compost; de esta investigación se puede resaltar que son factores relevantes para la utilización del digerido como fertilizante tanto el tipo de cultivo, como la cantidad de digerido y el tiempo de aplicación. Guilayn et al. (2019) categorizaron 91 tipos de digeridos, y 34 fracciones sólidas y 25 líquidas; el estudio mostró que, según la regulación sobre fertilizantes de la unión europea, ninguno de los digeridos y fracciones evaluadas cumple con las regulaciones establecidas.

Los digeridos, dependiendo del sustrato utilizado en la digestión anaeróbica, pueden contener metales pesados, metaloides, compuestos orgánicos y patógenos. Seleiman et al.

(2020) encontró que, si las concentraciones no superan los valores máximos permitidos en el suelo, la absorción de metales y contaminantes orgánicos no causa un peligro significativo para las plantas. Adicionalmente, los compuestos orgánicos perjudiciales para la salud humana o el medio ambiente se descomponen o volatilizan en gran medida de la tierra tratada con el digerido, lo que disminuye su lixiviación en el medio ambiente. En conclusión, la aplicación de lodos en tierras de cultivo podría ser una práctica de gestión sostenible.

En este marco de ideas, para obtener la denominada “calidad del digerido” se requiere realizarle una caracterización fisicoquímica, bioquímica, microbiológica y agronómica. La caracterización bioquímica incluye la actividad metanogénica específica y el potencial de biometanización residual. En cuanto a la calidad en términos fisicoquímicos se determina, principalmente, sólidos volátiles (SV), pH, ácidos grasos volátiles totales (AGVT), demanda química de oxígeno (DQO), Fosfato (PO_4^{3-}), Amonio (NH_4^+), Nitrógeno, Fósforo (P_2O_5), Potasio (K_2O), Calcio (CaO), Magnesio (MgO), Azufre (SO_4), Fe, Na, Zn y Cu. Las características microbiológicas más importantes son coliformes fecales y coliformes totales. Finalmente, la caracterización agronómica se determina con una prueba de germinación que permite estimar los niveles de fitotoxicidad del digerido.

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Determinar la calidad del digerido anaerobio de estiércol bovino proveniente de un biodigestor tubular de bajo costo operado a condiciones mesofílicas.

1.2 Objetivos Específicos

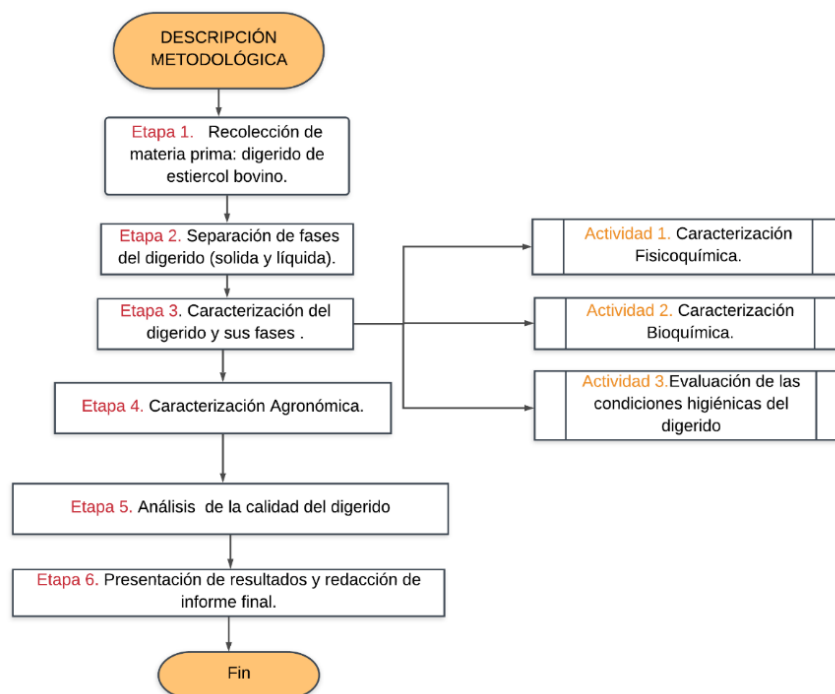
Establecer la calidad del digerido de estiércol bovino (fracción líquida y sólida) en términos fisicoquímicos, bioquímicos y condiciones higiénicas.

Evaluar la inhibición del digerido en procesos de germinación.

2. Metodología

Este trabajo se desarrolló en cinco etapas (ver figura 2). La primera involucró el proceso de toma y transporte de muestras, desde la finca Marcella hasta las instalaciones del laboratorio de biotecnología en la universidad industrial de Santander. En la segunda etapa, se efectuó la separación de fracciones para obtener tres muestras: digerido en estado natural, la fase líquida y la fase sólida. Posteriormente (tercera etapa), se caracterizaron las muestras en términos fisicoquímicos, bioquímicos e higiénicos, según los protocolos reglamentarios. En la cuarta etapa se hizo la caracterización agronómica del digerido mediante un bioensayo de fitotoxicidad. En la etapa quinta, se llevó a cabo el análisis de los resultados obtenidos. Finalmente, se organizaron los resultados junto con el análisis para redactar el informe final. Vale la pena resaltar que parte de los resultados de este trabajo fueron la contribución en la elaboración de un documento, el cual contiene los protocolos requeridos para cuantificar la calidad del digerido (Apéndice 3).

Figura 2

Etapas del Desarrollo Metodológico de este Trabajo**2.1 Origen del Digerido y Toma de Muestras**

El desarrollo de este trabajo de investigación se llevó a cabo en la finca Marcella, la cual está localizada en el municipio de Girón, Santander, a una altitud de 959 m s. n. m. y una latitud de N 7°01' 0,07'' W 73°08'13,3''. Esta región es tropical y la temperatura oscila entre 23 y 32 °C. La finca dispone de tres cabezas de ganado bovino raza Normando, que generan entre 34 y 50 kg/día de estiércol y se alimentan a un digestor tubular de bajo costo (dilución 1:3 v/v). El digestor está diseñado en polietileno y opera a 23 ± 5 °C. En la tabla 1 se resumen las características de operación del digestor (ver figura 3 **Figura 3**). El digerido se produce diariamente durante todo el año, pero solo se aplica en días específicos de la semana, por lo que se acumula en tanques sin cubierta (figura 4).

Figura 3

Biodigestor Escala Doméstico Ubicado en la Finca Marcella

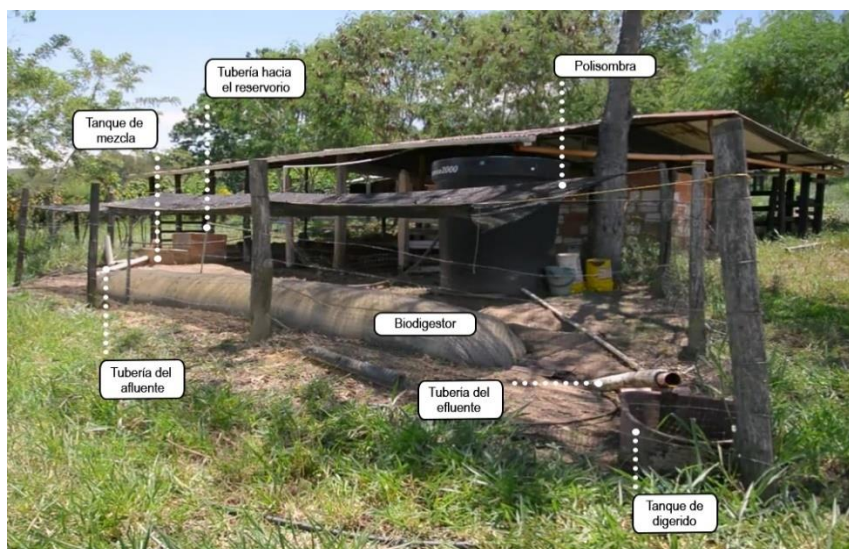


Figura 4

Tanque de Recolección del Digerido



Tabla 1

Especificaciones del Digestor Tubular de Bajo Costo

Variable	Unidades	Valor
Volumen del digestor	m ³	9,5
Volumen de operación	m ³	7,1
Carga orgánica	kgSV/m ³ _{digestor} d	0,7
Producción de digerido	L/d	136-200

Caudal promedio de biogás	m ³ /d	0,85
Tiempo de operación	años	5
Tiempo de retención hidráulica (T.R.H)	días	35

Con el propósito de obtener una muestra homogénea, cinco muestras fueron tomadas del tanque de digerido (figura 4 **Figura 4**), después de un proceso de mezclado manual y en intervalos de quince días. Esta muestra se denominó “digerido en estado natural”. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de biotecnología de la Universidad Industrial de Santander y refrigeradas a 4 °C para su posterior análisis.

2.2 Separación de Fases del Digerido

A partir del digerido en estado natural se realizó la separación de fases líquida y sólida mediante filtración al vacío, utilizando un filtro de 0,5 mm de tamaño de poro y una bomba de vacío, durante 25-30 minutos para un volumen de muestra de 250 ml.

2.3 Caracterización Fisicoquímica del Digerido en Estado Natural, Fase Líquida y Fase Sólida

Las muestras de digerido en estado natural y sus fases líquida y sólida fueron caracterizadas determinando concentración de sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV) y demanda química de oxígeno (DQO), según los métodos estándares 2540 A, 2540 E y 5220 D, respectivamente, propuestos por la APHA (*American Public Health Association*) (Rice et al., 1915). Así mismo, se cuantificó la concentración de ácidos grasos volátiles totales (AGVT) y la alcalinidad total (AT) por titulación según indica el protocolo propuesto por Jobling y colaboradores (Jobling Purser et al., 2014). El grado de acidez de las muestras se determinó con un medidor de pH 691, Metrohm. La concentración de nutrientes mayores y menores se determinó de acuerdo con los métodos analíticos presentados en la tabla 2.

Tabla 2*Métodos Analíticos para la Determinación de Nutrientes Mayores y Menores del Digerido*

Parámetro	Método analítico	Parámetro	Método Analítico
Conductividad eléctrica	LBC 41 Potenciometría	Fósforo total	NTC 234 Colorimetría
Fosfatos	APHA 4500 P E	Azufre	NTC 154 Turbidimetría
Amonios	APHA 4500-NH ₃	SO ₄	NTC 1154 Turbidimetría
Nitrógeno total	Suma de nitrógenos	Cobre	NTC 1369 Absorción A.
Potasio total	NTC 202 Emisión	Hierro	NTC 1369 Absorción A.
Calcio total	NTC 1369 Absorción A.	Zinc	NTC 1369 Absorción A.
Magnesio total	NTC 1369 Absorción A.	Sodio	NTC 1146 Emisión
Magnesio soluble	NTC 1369 Absorción A.	K ₂ O total	NTC 202 Emisión
Fósforo total	NTC 234 Colorimetría	CaO total	NTC 1369 Absorción A.

2.4 Caracterización Bioquímica del Digerido en Estado Natural, Fase Líquida y Fase Sólida

En términos bioquímicos se cuantificó la actividad metanogénica específica acetoclástica (AME) y el potencial de biometanización residual (PBMr).

2.4.1 *Determinación de la Actividad Metanogénica Acetoclástica (AME)*

La AME acetoclástica permite medir la cantidad de metano producido en el punto de máxima actividad por una muestra en condiciones óptimas de laboratorio, a partir de una concentración determinada de acetato de sodio. El ensayo de actividad se realizó a las 3 fases (digerido en estado natural, fase líquida y fase sólida), utilizando botellas de vidrio de 100 ml con un volumen de trabajo de 60 ml y una relación inóculo/sustrato en términos de SV de 5 a una temperatura de 37 °C. Las botellas fueron selladas con tapones de butilo y agrafes de aluminio, y luego se les inyectó un gas inerte que contenía N₂/CO₂ (80/20% v/v). El ensayo incluyó un blanco con el fin de terminar la producción endógena del inóculo. La variable de respuesta de la AME es la pendiente de la curva de producción acumulada de metano normalizado en función del tiempo. El volumen de metano producido se midió cada 24 horas por 5 días, mediante el método de desplazamiento alcalino con una solución 0,1N de NaOH con pH 12 y fenolftaleína como indicador. Los ensayos se realizaron por triplicado. Las ecuaciones 1 y 2 indican el volumen normalizado de metano y la determinación de la actividad metanogénica acetoclástica (Astals et al., 2015).

$$VNTP = V * \frac{P_o - P_v}{P_{atm} * T} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde:

VNTP= Volumen de gas a condiciones normales [ml]
de temperatura y presión

P_o= Presión del CH₄ a condiciones normales [mbar]

V =	Volumen de metano desplazado por la muestra	[ml]
T =	Temperatura al momento de medir	[K]
P _v =	Presión de vapor de agua	[mbar]

$$AME = \frac{P}{FC * V * SSV} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

AME = Actividad Metanogénica Específica Acetoclástica [g DQO/g SSV*día]

P = Máxima pendiente de la cinética de producción de metano [ml/d]

FC = Factor de Conversión de g DQO a 39 °C [430 mL CH₄ /g DQO]

V = Volumen del inóculo utilizado en el ensayo [L]

SSV = Concentración de SSV en el inóculo adicionado [g/L]

2.4.2 *Determinación del Potencial de Biometanización Residual (PBM_r)*

El ensayo de PBM_r permite evaluar la cantidad de metano adicional que produce un efluente debido a un proceso incompleto de digestión de los afluentes. Esta prueba fue llevada a cabo en botellas de 100 ml con un volumen de operación de 60 ml según lo establece el protocolo (Fotidis et al., 2016). Las botellas fueron selladas con tapones de butilo y agrafes de aluminio, y luego se les inyectó un gas inerte que contenía N₂/CO₂ (80/20% v/v). El ensayo se realizó a las tres fracciones (digerido en estado natural, fase líquida y fase sólida) y fueron incubadas a condiciones mesofílicas (37°C). El volumen de metano producido se midió cada 3 días durante 80 días, mediante el método de desplazamiento alcalino con una solución 0,1N de NaOH con pH 12 y fenolftaleína como indicador. Los

ensayos se realizaron por triplicado. La información obtenida permite graficar una curva de producción acumulada de metano normalizado (Ec.1) en función del tiempo.

2.5 Evaluación de las Condiciones Higiénicas del Digerido

Las condiciones higiénicas fueron determinadas para el digerido en estado natural y en términos de UFC/g de coliformes fecales y totales utilizando el método analítico LBC-234. Para llevar a cabo este método, inicialmente se prepararon diluciones seriadas para disminuir la carga bacteriana. Posteriormente, las muestras diluidas se sometieron a un proceso de filtración al vacío. Luego de esto, el sólido retenido por los filtros se sembró en placa profunda para ser incubadas (37 °C por 24 h) y así permitir el crecimiento de las colonias. Pasado el periodo de incubación, se contaron las unidades formadoras de colonia por cuadro (el filtro de papel cuenta con una cuadrícula especial). Finalmente, los resultados obtenidos se multiplicaron por los factores de dilución correspondientes.

2.6 Caracterización Agronómica del Digerido

La caracterización agronómica se realizó a la muestra de digerido en estado natural mediante la evaluación del proceso de germinación con un bioensayo de fitotoxicidad. Para llevar a cabo el bioensayo, se prepararon muestras por triplicado a concentraciones de 20, 50, 70 y 100 % v/v de digerido diluido con agua desionizada (Tiquia, 2010). Posteriormente, se introdujeron 45 ml de cada solución de digerido en tubos falcon de 50 ml y se centrifugaron por 30 min a 5000 rpm. Con el objetivo de obtener los extractos de cada dilución, los sobrenadantes se separaron con filtros de papel marca Watman No. 41. Una vez obtenidos los extractos, se humedecieron los filtros de papel con 5 ml de cada dilución y se ubicaron en cajas de Petri de 10 x 100 cm. Sobre la configuración anterior (cajas Petri) se ubicaron 10 semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) de forma aleatoria y asegurando suficiente

espacio entre ellas. Adicionalmente, se prepararon tres testigos (*controls*) de solo de agua desionizada (5 ml) siguiendo la configuración de las cajas de Petri preparadas anteriormente (Di Maria et al., 2014). Por último, las cajas de Petri fueron selladas con película plástica para evitar cualquier pérdida de humedad.

Las cajas de Petri se transfirieron a un invernadero para ser incubadas en la oscuridad durante 5 días (A. Albuquerque et al., 2012; Tiquia, 2010). Adicionalmente, se instaló un dispositivo dentro del invernadero para monitorear los cambios de temperatura. Después del periodo de incubación, se contó el número de semillas germinadas en cada placa, se midió la longitud de las radículas de las semillas germinadas con un calibrador o pie de rey digital, y se calculó el índice de germinación (IG) definido como un porcentaje relativo al testigo (Tiquia, 2010):

Porcentaje de germinación relativo (PGR):

$$\text{PGR} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el extracto}}{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el testigo}} * 100$$

(Ec. 3)

Crecimiento de radícula relativo (CRR):

$$\text{CRR} = \frac{\text{Elongación de las radículas en el extracto}}{\text{Elongación de las radículas en el testigo}} * 100$$

(Ec. 4)

Índice de germinación (IG):

$$\text{IG} = \frac{\text{PGR} * \text{CRR}}{100}$$

(Ec. 5)

3. Resultados

3.1 Calidad Fisicoquímica del Digerido

El potencial de un digerido para convertirse en producto de valor agregado se basa en su caracterización fisicoquímica y contenido de nutrientes. A continuación, se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica para el digerido y sus fases (tabla 3).

Tabla 3

Caracterización Fisicoquímica del Digerido y sus Fases

Parámetro	Unidad	Fase Natural	Fase Líquida	Fase Sólida
pH	-	7,1±0,27	6,9±0,6	7,3±0,0
ST	%	2,1±0,4	0,75±0,07	20,23±1,08
SV	%	1,4±0,2	0,54±0,05	15,58±0,61
SV/ST	%	66,66	NA	NA
DQO	mg/L	17000±125,0	8450±50,0	8550±0,0
AGVT	mg/L	600±0,0	360±0,0	NA

Nota. NA (no aplica) debido a que no se cuenta con el protocolo para cuantificar la calidad del parámetro.

Un proceso anaerobio operando adecuadamente presenta un pH entre 6,8 y 7,2 en el digerido (Albuquerque et al., 2014). En este estudio, el pH del digerido en su fase natural es ligeramente alcalino (>7,0). Este valor de pH indica que el proceso en el digestor se está desarrollando de forma adecuada. Además, si el digerido es utilizado en la agricultura, su pH no debería alterar significativamente el pH natural del suelo, dado que es compatible con las medidas de acidez comunes reportadas para suelos agrícolas (Solé-Bundó et al., 2017). El pH de la fase sólida es más alcalino que el de la fase líquida como consecuencia de que la fase sólida concentra la mayor parte de cationes básicos como Ca_2^+ y K^+ , entre otros. Estos

cationes incrementan el valor de pH debido a que alteran la neutralidad en la carga de la solución, lo que desplaza el equilibrio de forma que disminuye la concentración de iones H^+ como respuesta (Möller & Müller, 2012).

Como resultado de la separación de fases se determinó que tan solo el 23% P/P del digerido anaerobio corresponde a la fase sólida, por lo que puede considerarse como un producto líquido. El parámetro SV/ST indica el porcentaje de materia biodegradable. En procesos anaerobios operados a $37^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$, la relación SV/ST debe estar entre 40% y 50% (Castro, 2017; Garfí et al., 2011; Lansing et al., 2008). Los resultados de este estudio mostraron que la relación SV/ST fue de 66,66%; indicando que el digerido presenta baja estabilidad por su alta concentración de materia biodegradable. De acuerdo con la literatura, el porcentaje de biodegradabilidad para digestores rurales alimentados con estiércol bovino se encuentra entre 43% y 66%, operando el digester a condiciones mesofílicas (Castro, 2017; Garfí et al., 2011; Lansing et al., 2008; Martí-Herrero et al., 2015). Este amplio intervalo puede deberse a las variaciones de carga orgánica alimentadas al digester, lo cual altera las temperaturas de operación, que suelen estar entre los $20^{\circ}C$ y los $30^{\circ}C$, y los tiempos de retención. Por lo anterior, se requiere un postratamiento para estabilizar el digerido.

La estabilidad de un digerido también es cuantificada por su concentración de DQO. En la tabla 3 se observa que el digerido bajo estudio presenta una concentración de 17000 ± 125 mg/L, lo que indica que la matriz tiene una alta concentración de materia orgánica disponible para ser degradada. Adicionalmente, este aspecto se corrobora con los resultados obtenidos para la relación SV/ST. De acuerdo con lo anterior, el digerido estudiado no es estable. Dębowski et al. (2017), reportaron una concentración de DQO de 6200 mg/L, para un digerido de estiércol bovino. Sin embargo, vale la pena resaltar que los

resultados sobre las concentraciones de DQO varían en función de las características del alimento y su dilución, las condiciones de operación, los procesos de sedimentación dentro del digester y del rendimiento del proceso de la DA (Garfí et al., 2016).

Con respecto a la fase líquida del digerido, se obtuvo una concentración de DQO de $8450 \pm 50,0$ mg/L, lo que significa que esta fracción concentra aproximadamente el 50% del contenido orgánico del digerido, aún después de la operación de filtración al vacío. Este resultado indica que es posible utilizar la fracción líquida del digerido para recircularla en el digester y la fracción sólida puede ser útil en procesos de compostaje.

Los ácidos grasos volátiles totales (AGVT) representan materia orgánica soluble fácilmente degradable. La importancia de la cuantificación de los AGVT en los digeridos radica en que éstos compuestos pueden ser tóxicos para el suelo y generar asfixia radicular, lo que influye negativamente en las funciones fisiológicas de las plantas en caso de que el digerido tenga usos agrícolas (Albuquerque et al., 2014). En la tabla 3 se presenta una concentración de AGVT de 600 mg/L para el digerido en su fase natural, y 360 mg/L para la fracción líquida de digerido. Las concentraciones de ácidos obtenidas corroboran los resultados expuestos anteriormente, los cuales muestran que la alta presencia de materia orgánica es indicativa de un digerido no estabilizado. En términos generales la literatura reporta concentraciones de AGVT para digerido entre 170 mg/L y 580 mg/L (Risberg et al., 2017); mientras que la concentración de AGVT del digerido del presente estudio es ligeramente superior (600 mg/L). Así mismo, Risberg et al. (2017) refieren que valores superiores a 500 mg/L pueden tener efectos inhibitorios en el suelo. Por lo anterior, en caso de utilizar el digerido de la finca Marcella para fines agrícolas, debe ser estabilizado previo a su aplicación.

3.1.1 *Contenido de Macronutrientes del Digerido y sus Fases*

El contenido de nutrientes y su degradabilidad determinan el potencial fertilizante de un digerido. Es importante resaltar que la valorización de un digerido como fertilizante se debe a la presencia de nitrógeno amoniacal, principalmente, junto con otros nutrientes deseables como fósforo y potasio (Albuquerque et al., 2014). Por lo tanto, el digerido puede ser una fuente útil de nutrientes vegetales, efectivos para plantas de cultivo. Así mismo, las fracciones orgánicas del digerido pueden contribuir a la renovación de la materia orgánica del suelo, influyendo en las características biológicas, químicas y físicas de este (Makádi et al., 2012). En la tabla 4, se presenta la composición de macronutrientes y micronutrientes existentes en el digerido, desarrollado en esta investigación.

Tabla 4

Composición de Macronutrientes y Micronutrientes del Digerido y sus Fases

Parámetro	Unidad	Fase Natural	Fase Líquida	Fase sólida
Nitrógeno total	%P/P	0,036	0,04	0,029
Potasio total	%P/P	0,06	0,06	0,06
Calcio total	%P/P	0,06	0,06	0,1
Magnesio total	%P/P	0,02	0,02	0,05
Magnesio soluble	%P/P	0,01	0,01	0,005
Fosforo total	%P/P	0,013	0,007	0,04
Azufre	%P/P	0,025	0,013	0,03
SO ₄	%P/P	0,075	0,039	0,08
Cobre	%P/P	0,00049	0,00059	0,001
Hierro	%P/P	0,01	0,01	0,04
Zinc	%P/P	0,013	0,015	0,004
Sodio	%P/P	0,03	0,01	0,004

K ₂ O total	%P/P	0,07	0,07	0,07
CaO total	%P/P	0,08	0,08	0,14
MgO total	%P/P	0,03	0,03	0,08
MgO soluble	%P/P	0,017	0,017	0,009
P ₂ O ₅	%P/P	0,03	0,016	0,09

En la finca Marcella, el digerido es usado como fertilizante en un cultivo de Cacao *Theobroma cacao L* (Clones: ICS-1, ICS-39, ICS-60, CCN-51, CAP-34, IMS-67, TSH-565) y en forraje para ganado (*Brachiaria brizantha*). El potasio (K) es el nutriente más absorbido por el cacao, seguido por el nitrógeno (N), fósforo (P), calcio (Ca) y magnesio (Mg) (López et al., 2015). Además, para fertilizar cacao y forrajes se requiere otros nutrientes en menor medida como Azufre (S), Manganeso (Mn), Boro (B), Hierro (Fe), Zinc (Zn), cobre (Cu) y Aluminio (Al) (Robinson et al., 2009; Snoeck et al., 2016). En la tabla 4 se observa que el digerido contiene en su mayoría los nutrientes requeridos por los cultivos de cacao y, aunque se encuentran en bajas concentraciones comparado con fertilizantes inorgánicos y orgánicos certificados, sí alcanza a realizar un reciclaje de nutrientes.

El N es muy soluble y por tanto aplicaciones excesivas de digerido pueden provocar altas concentraciones de nitratos en el suelo que exceden las necesarias para el crecimiento vegetal y puede suponer riesgo de lixiviación y contaminación de acuíferos (Albuquerque et al., 2014). La concentración de N en el digerido es de 0,036%, que es un aporte significativo al suelo teniendo en cuenta que la concentración mínima de N que requiere un cultivo de cacao es de 0,06% (Fernández Lizarazo et al., 2016).

Tambone et al. (2010) reportan contenidos de P y K de 0,0029% y 0,002%, respectivamente, para compost de estiércol bovino. El digerido de este estudio presenta

contenidos de P de 0,013% y de K de 0,06%; lo cual indica que es mejor que el compost como suplemento de estos macronutrientes escasos en el suelo.

La concentración de macronutrientes del digerido de este estudio es baja comparado con la ficha técnica del producto Biol Terrazonet, certificado por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), que reportó valores de: 1,13 % N; 0,083 % K y 0,45 % P₂O₅. La diferencia se debe a que este último es un digerido proveniente de un sustrato de origen porcino. Por su parte, en cuanto al contenido de micronutrientes, Terrazonet obtuvo: 0,048 % Ca total; 0,00871 % Mg total y 0,00398 % Zn. Estos valores son similares a los reportados en este estudio, lo que indica que el contenido de micronutrientes y elementos menores es aprovechable para suelos y cultivos.

No se cuenta con una normatividad colombiana que relacione la composición de los digeridos para el uso como fertilizante. Adicional a esto, cada cultivo, dependiendo de la calidad del suelo, tiene sus propios requerimientos nutricionales. Según lo mencionado anteriormente, el digerido no puede ser considerado producto fertilizante. Sin embargo, según su contenido en nutrientes, debe tenerse en cuenta para su gestión agrícola debido que permite el reciclaje de la mayoría de los nutrientes requeridos por la finca caso de estudio.

La proporción de NH₄⁺ es generalmente más alta en el digerido que en el sustrato orgánico que entra en el proceso de digestión anaerobia (Arthurson, 2009). El digerido de este estudio contiene 114 mg NH₄⁺/L. Esta cantidad de amonio es de gran importancia en un fertilizante, ya que está inmediatamente disponible para la planta. La distribución de fertilizantes orgánicos en tierras de cultivo generalmente tiene efectos positivos sobre las propiedades químicas del suelo (Doran, 2002) y puede aumentar el contenido de materia

orgánica del suelo, que es muy importante para mantener o mejorar la calidad del suelo (Nkoa, 2014).

El P es esencial para el crecimiento de microorganismos. Las formas habituales de P en los efluentes de ganado de los digestores anaerobios son polifosfatos inorgánicos y fosfatos orgánicos (Castro et al., 2017). Los resultados obtenidos en esta investigación sobre fosfatos (tabla 5) indican que se puede hacer un reciclaje de nutrientes al suelo. De acuerdo con la literatura y los resultados obtenidos en este estudio, la fase líquida del digerido se caracteriza por bajos contenidos de P y altos contenidos de N y K (Möller & Müller, 2012). Además, la fase sólida contiene más cantidad de fosfatos que la fase líquida y se ha propuesto para su uso como una enmienda fosfórica (Provenzano et al., 2014; Tambone et al., 2010).

Tabla 5

Concentración de los Iones Amonio y Fosfato del Digerido y su Fase Líquida

Parámetro	Unidad	Fase Natural	Fase Líquida	Fase Sólida
PO ₄ ³⁻	mg PO ₄ ⁻ /L	76±0	24±4	NA
NH ₄ ⁺	mg NH ₄ ⁺ /L	114±6	144±22	NA

Nota. NA (no aplica) debido a que no se cuenta con el protocolo para cuantificar la calidad del parámetro.

3.2 Caracterización Bioquímica del Digerido en Estado Natural, Fase Líquida y Fase Sólida

3.2.1 Actividad Metanogénica Específica (AME)

La AME es un parámetro significativo que permite cuantificar la máxima capacidad de producción de metano por el grupo de microorganismos presentes en el digerido. Esta presenta un comportamiento que se acerca a la linealidad en la producción de CH₄,

demostrando una actividad constante de los microorganismos (apéndice A). A partir de la zona lineal se obtienen los valores de AME (ver tabla 6).

Los datos obtenidos indican que la fase líquida del digerido tiene una mayor actividad de los consorcios microbianos para la producción de metano. Además, los resultados muestran que el digerido tiene un consorcio microbiano adecuado para el arranque de otros digestores; no obstante, este puede traer problemas en su uso agronómico debido a que puede causar incluso la degradación de la materia orgánica nativa o propia del suelo (Albuquerque et al., 2014).

Tabla 6

Ame y PBMr en el Digerido y sus Fases

Parámetro	Unidad	Fase Natural	Fase Líquida	Fase Sólida
AME	gDQO/gSV*d	0,050±0,0	0,075±0,0	0,016±0,0
PBMr	m ³ CH ₄ /kgSV	0,058±0,009	0,071±0,014	0,109±0,005

3.2.2 Evaluación del Potencial de Biometanización Residual (PBMr) del Digerido

La importancia del potencial de biometanización residual está asociada al impacto ambiental que genera el digerido al ser inestable. Cuando se almacena un material digerido no estable en un contenedor, las características del sistema hacen posible que se establezca una condición de anaerobiosis que permite que la actividad microbiológica continúe. Por lo anterior, se generan olores desagradables y producción de gases de efecto invernadero por cuenta de la descomposición del contenido de materia degradable (Albuquerque et al., 2012; Raposo et al., 2009). Por lo tanto, un digerido no estable debe ser tratado sin importar cual sea la alternativa final de gestión seleccionada y de esta manera disminuir el impacto ambiental negativo que puede generar.

Thygesen et al. (2014) reportaron PBMr de 0,156 y 0,240 m³ CH₄ /kg SV para digeridos provenientes de estiércol bovino y porcino en condiciones mesofílicas y un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 16-25 días. En comparación con este estudio, los resultados obtenidos (tabla 6) son bajos representando una menor producción de metano en el digerido, debida principalmente a que el tiempo de retención en este estudio es mayor (35 días).

Menardo et al. (2011), por su parte, obtuvieron potenciales de 0,037 – 0,002 m³CH₄/kgSV para digestores alimentados con estiércoles y cultivos energéticos en diferentes proporciones. Estos resultados comparados con los obtenidos en este estudio son significativamente bajos por lo que conviene resaltar que los digestores en cuestión son operados con TRH de 100-105 días a 41 °C.

Con base en lo anterior, es posible concluir que el digerido aún contiene materia orgánica disponible para su degradación (tabla.6). Ante este panorama, se sugiere implementar un proceso adicional de desgasificación. La desgasificación permite recuperar energía extra en forma de biogás, evita la emisión de olores desagradables, así como de gases de efecto invernadero (Castro et al., 2017).

3.3 Evaluación de las Condiciones Higiénicas del Digerido

Debido a que los materiales digeridos provienen de un sustrato de origen fecal, estos están asociados con contenidos de organismos patógenos, parásitos y virus, siendo una vía de transmisión de enfermedades para las plantas, animales y el hombre (Albuquerque et al., 2014). El análisis microbiológico realizado permitió conocer que las unidades formadoras de colonias (UFC/g) son 1x10⁵ y 1,4x10⁵ para Coliformes Fecales y Coliformes totales, respectivamente. Desde el punto de vista higiénico-sanitario, los requerimientos que un material digerido debe cumplir son muy estrictos de acuerdo con la legislación de la EPA

(*Environmental Protection Agency*), la cual indica que el digerido se encuentra en la clasificación B y, por tanto, es conveniente realizar un postratamiento antes de su gestión agrícola (Agency, 2003).

Según la EPA, las tecnologías fáciles de implementar en las zonas rurales para reducir significativamente el contenido de patógenos de un digerido de categoría B son: digestión aerobia, digestión anaerobia, compostaje y estabilización con cal (Agency, 2003). Sin embargo, Jiang et al. (2020) & López et al., (2020) concluyeron que la digestión (aerobia o anaerobia) mesofílica no es una tecnología adecuada si el interés es reducir la carga microbiana de lodos efluentes.

Por otro lado, el compostaje es una alternativa que incrementa el potencial fertilizante del digerido, inactiva microorganismos patógenos y elimina compuestos fitotóxicos. Esta alternativa precisa de una operación de separación sólido-líquido (Albuquerque et al., 2014) y de la disposición de un sistema de aireación a presión o de volteado mecánico, así como del terreno suficiente hasta alcanzar la maduración del compost (4-6 semanas) (Mahamud et al., 1996). Finalmente, la estabilización alcalina con cal es eficiente en la reducción de patógenos. Para llevar a cabo este proceso, es necesario elevar el pH del digerido entre 11-12 unidades para lograr reducir la densidad bacteriana y viral de manera efectiva (Torres et al., 2005). No obstante, el lodo final debe aplicarse preferiblemente a suelos ácidos como consecuencia del tratamiento alcalino y los costos varían en función del volumen de digerido generado (Mahamud et al., 1996).

3.4 Caracterización Agronómica del Digerido

El término digerido debe ir asociado siempre a madurez, lo que se relaciona con la transformación del material orgánico en un producto final y estable y la ausencia de efectos

fitotóxicos (Albuquerque et al., 2014). Los resultados encontrados en esta investigación son positivos comparados con el 50 % de IG sugerido en la literatura como valor límite de fitotoxicidad (Paredes et al., 2001). Con relación al digerido puro (100% v/v), este respondió positivamente a la prueba, contrario a lo reportado por Albuquerque y colaboradores (2012) donde no se detectó germinación alguna para un digerido de estiércol bovino con glicerina. Esta ausencia de germinación podría deberse a su alta concentración de nitrógeno amoniacal (Albuquerque et al., 2012).

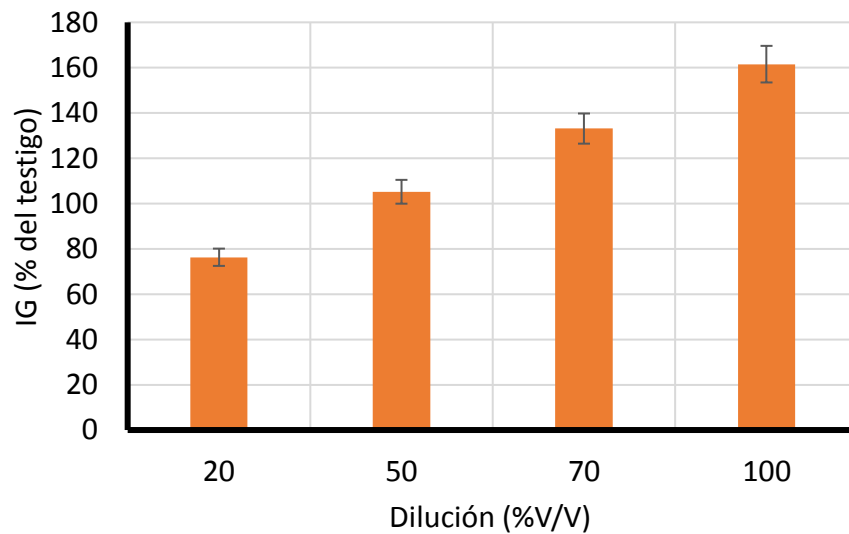
La fitotoxicidad puede ser consecuencia de numerosas razones: actividad microbiana alta, la acumulación de compuestos tóxicos como ácidos orgánicos, altas concentraciones de amonio o la presencia de metales pesados y sales minerales, entre otras. Muchas veces más de una de ellas influye simultáneamente con otras, lo que dificulta determinar cuál parámetro ejerce la influencia mayor (Tiquia, 2010). No obstante, la fitotoxicidad con frecuencia se asocia con el alto contenido de amonio y sales solubles en la muestra (J. A. Albuquerque et al., 2012; Di Maria et al., 2014; Solé-Bundó et al., 2017). Los resultados de CE en la fase natural, el licor y la fase sólida son 0,03, 0,003, 0,93 dS/m, respectivamente. La CE mide la concentración de iones libres o el grado de salinidad de la solución. Por lo tanto, esta debe ser considerada cuando el digerido se emplee como fertilizante, por el hecho de que un alto grado de salinidad puede afectar las propiedades eléctricas del suelo (Coelho et al., 2018). Sin embargo, la literatura reporta valores muy variables de CE para digeridos anaerobios líquidos. Dado que la fase natural exhibe un CE cercano al reportado por Voelkner et al. (2015), este podría considerarse como bajo e inofensivo en el proceso de germinación de las plantas. Así mismo, la CE reportada por la compañía Terrazonet S.A.S. (certificada por el ICA) es 0,95 dS/m. Por lo tanto, el grado de salinidad de la fase natural es prácticamente

despreciable y no debería alterar significativamente la conductividad de los suelos agrícolas tras su aplicación.

En concordancia con lo anterior, la figura 5 muestra una tendencia de incremento en el IG conforme aumenta la concentración de digerido. Este bioensayo evidencia que el digerido puede ser aplicado directamente sobre los suelos agrícolas sin correr el riesgo de inhibición en la germinación por fitotoxicidad como consecuencia de un exceso de amoníaco o concentración de sales disueltas.

Figura 5

Índice de Germinación de la Fase Natural.



3.5 Matriz de Calidad del Digerido

A continuación, se presenta un resumen de los parámetros evaluados para definir la calidad del digerido caso de estudio.

Tabla 7

Matriz de Calidad del Digerido

Variable	Unidad	Valor	Rango Recomendado	Comentarios	Evaluación		
Estabilidad	SV/ST	%	66,66	43-66	El digerido tiene alto contenido de materia orgánica. Requiere estabilización	Desfavorable	
	Fisicoquímicas	DQO	mg/L	17000±125,0			< 500
		AGVT	mg/L	600±0,0			< 500
Condiciones higiénicas	Coliformes totales y fecales	UFC/g	1.4x10 ⁵ - 1x10 ⁵	< 1x10 ³	El digerido se clasifica de clase B. Requiere un postratamiento	Desfavorable	
Contenido de nutrientes del digerido	Nutrientes	Macronutrientes (NPK)	%P/P	N: 0,360 P: 0,130 K: 0,6	NA	El digerido no puede ser considerado producto fertilizante. Sin embargo, su contenido	
		Micronutrientes (Mg,Ca,S)	%P/P	Mg: 0,2 Ca: 0,6 S: 0,250			
		Amonio	mg NH ₄ ⁺ /L	114±6			

		Fosfato	mg PO ₄ ⁻ /L	76±0		en nutrientes puede tenerse en cuenta para su uso agrícola.	
Calidad agronómica	Fitotoxicidad	IG	-	161,53	>50	El digerido no presenta riesgo de inhibición si se aplica sin dilución.	Favorable
						Adecuado como inóculo en otros digestores.	Favorable
Valorización energética del digerido	Bioquímica	AME	gDQO/ gSVd	0,050±0,0	0,02 - 0,04	Para su uso en cultivos agrícolas puede causar degradación en los suelos.	Desfavorable
		PBMr	m ³ CH ₄ /kgSV	0,058±0,009	NA	Por emisión de GEI. Se recomienda una etapa de valorización energética.	Desfavorable

Nota. NA (no aplica) debido a que no se cuenta con una normatividad que exija valores máximos o mínimos de este parámetro.

4. Conclusiones

Los parámetros de estabilidad, reciclaje de nutrientes y valorización energética, mostraron que el digerido aun contiene materia orgánica por degradar, lo que evidencia que es inestable. Su densidad nutricional permite su gestión como enmienda de suelos, gracias a que concentra macronutrientes importantes como NPK. La AME confirma la buena calidad del digerido como inóculo, pero su uso en actividades agrícolas podría representar un riesgo para las propiedades nativas del suelo. Las condiciones higiénicas del digerido demostraron que es necesario implementar un postratamiento que disminuya la presencia de microorganismos patógenos.

El bioensayo de fitotoxicidad mostró que el digerido cuenta con un índice de germinación de 161,53%, lo que indica que su potencial agronómico es alto sin dilución previa. Adicionalmente, se comprobó que el pH de 7,1 es consistente con los valores de acidez reportados en la literatura para suelos agrícolas.

5. Recomendaciones

Se determinó que el 23% P/P del digerido anaerobio estudiado corresponde a la fase sólida, por lo que puede considerarse como un producto líquido. Las propiedades nutricionales del digerido se ven modificadas tras la separación de fases, lo que es desfavorable para su aprovechamiento, según los intereses del usuario. Por lo tanto, no es necesario separar el digerido para su gestión.

Se sugiere implementar una etapa adicional de digestión anaerobia con el fin de estabilizar el contenido de materia orgánica y valorizar el biogás extra del digerido.

Realizar un análisis de suelo en la finca Marcella para poder elaborar un plan de fertilización basado en los nutrientes del digerido.

Lista de Referencias

- Albuquerque, J. A., de la Fuente, C., Ferrer-Costa, A., Carrasco, L., Cegarra, J., Abad, M., & Bernal, M. P. (2012). Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues. *Biomass and Bioenergy*, *40*, 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.02.018>
- American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, & Water Environment Federation. (1915). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (Vol. 2). American Public Health Association.
- Antosovsky, J., Ryant, P., Prudil, M., Gruber, M., & Hammerová, A. (2018). The Effect of Different Organic Fertilizers and Different Localities on Crop Yield in Conditions of Organic Farming. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, *66*(4), 843-851.
- Arthurson, V. (2009). Closing the Global Energy and Nutrient Cycles through Application of Biogas Residue to Agricultural Land – Potential Benefits and Drawback. *Energies*, *2*(2), 226–242. <https://doi.org/10.3390/en20200226>
- Astals, S., Batstone, D. J., Tait, S., & Jensen, P. D. (2015). Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity. *Water Research*, *81*, 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.05.063>
- Botero Botero, R. (2011). El biodigestor de bajo costo; su aporte a la mitigación del cambio climático y su potencial para reducir la pobreza rural en América Latina y el Caribe. *UTN Informa (Costa Rica)*.(Jul-Set, 13(57), 60-65.
- Castro, L., Carballo, M., Martí-Herrero, J., & Escalante, H. (2017). Monitoreo a escala de

real de un digestor anaeróbico de bajo costo instalado en una planta de sacrificio animal. *Revista RedBioLAC*.

Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L. J., Vecino, K., Rojas, G., & Mantilla, L. (2017). Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality. *Bioresource Technology*, 239, 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.035>

Castro, L. D. P., Vecino-Gutierrez, K. P., Díaz-Moyano, L. J., Jaimes-Estévez, J., & Escalante-Hernández, H. (2018). Lighting the anaerobic digestion process in rural areas: obtainment of struvite from bovine manure digestate. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(2), 78–88. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.71184>

Coelho, J. J., Prieto, M. L., Dowling, S., Hennessy, A., Casey, I., Woodcock, T., & Kennedy, N. (2018). Physical-chemical traits , phytotoxicity and pathogen detection in liquid anaerobic digestates. *Waste Management*, 78, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.05.017>

Dębowski, M., Szwaja, S., Zieliński, M., Kisielewska, M., & Stańczyk-Mazanek, E. (2017). The Influence of Anaerobic Digestion Effluents (ADEs) Used as the Nutrient Sources for *Chlorella* sp. Cultivation on Fermentative Biogas Production. *Waste and Biomass Valorization*, 8(4), 1153–1161. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9667-1>

Di Maria, F., Sordi, A., Cirulli, G., Gigliotti, G., Massaccesi, L., & Cucina, M. (2014). Co-treatment of fruit and vegetable waste in sludge digesters. An analysis of the relationship among bio-methane generation, process stability and digestate phytotoxicity. *Waste Management*, 34(9), 1603–1608. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.05.017>

- Dinuccio, E., Gioelli, F., Cuk, D., Rollè, L., & Balsari, P. (2013). The use of co-digested solid fraction as feedstock for biogas plants. *Journal of Agricultural Engineering*.
- Doran, J. W. (2002). Soil health and global sustainability: Translating science into practice. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 88(2), 119–127. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(01\)00246-8](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(01)00246-8)
- Fernández Lizarazo, J. C., Bohorquez Santana, W., & Rodríguez Villate, A. (2016). Dinámica nutricional de cacao bajo diferentes tratamientos de fertilización con N, P y K en vivero. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 10(2), 367–380. <https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.4702>
- Fotidis, I. A., Laranjeiro, T. F. V. C., & Angelidaki, I. (2016). Alternative co-digestion scenarios for efficient fixed-dome reactor biomethanation processes. *Journal of Cleaner Production*, 127, 610–617. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.04.008>
- Garfí, M., Castro, L., Montero, N., Escalante, H., & Ferrer, I. (2019). Evaluating environmental benefits of low-cost biogas digesters in small-scale farms in Colombia: A life cycle assessment. *Bioresource Technology*, 274, 541–548. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.007>
- Garfí, M., Gelman, P., Comas, J., Carrasco, W., & Ferrer, I. (2011). Agricultural reuse of the digestate from low-cost tubular digesters in rural Andean communities. *Waste Management*, 31(12), 2584-2589.
- Garfí, M., Martí-herrero, J., Garwood, A., & Ferrer, I. (2016). Household anaerobic digesters for biogas production in Latin America : A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 60, 599–614. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.01.071>
- Guilayn, F., Jimenez, J., Martel, J. L., Rouez, M., Crest, M., & Patureau, D. (2019a). First

- fertilizing-value typology of digestates: A decision-making tool for regulation. *Waste Management*, 86, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.01.032>
- Guilayn, F., Jimenez, J., Martel, J., Rouez, M., Crest, M., & Patureau, D. (2019b). First fertilizing-value typology of digestates : A decision-making tool for regulation. *Waste Management*, 86, 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.01.032>
- Jiang, Y., Xie, S. H., Dennehy, C., Lawlor, P. G., Hu, Z. H., Wu, G. X., ... & Gardiner, G. E. (2020). Inactivation of pathogens in anaerobic digestion systems for converting biowastes to bioenergy: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 120, 109654.
- Jobling Purser, B. J., Thai, S. M., Fritz, T., Esteves, S. R., Dindale, R. M., & Guwy, A. J. (2014). An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food waste. *Water Research*, 61, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.05.020>
- Ju, F., Li, B., Ma, L., Wang, Y., Huang, D., & Zhang, T. (2016). Antibiotic resistance genes and human bacterial pathogens: Co-occurrence, removal, and enrichment in municipal sewage sludge digesters. *Water Research*, 91, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.071>
- Lansing, S., Viquez, J., Martínez, H., Botero, R., & Martin, J. (2008). Quantifying electricity generation and waste transformations in a low-cost, plug-flow anaerobic digestion system. *ecological engineering*, 34(4), 332-348.
- Liedl, B. E., Bombardiere, J., & Chatfield, J. M. (2006). Fertilizer potential of liquid and solid effluent from thermophilic anaerobic digestion of poultry waste. *Water Science and Technology*, 53(8), 69–79. <https://doi.org/10.2166/wst.2006.237>

- López, A., Rodríguez-Chueca, J., Mosteo, R., Gómez, J., & Ormad, M. P. (2020). Microbiological quality of sewage sludge after digestion treatment: A pilot scale case of study. *Journal of Cleaner Production*, 254, 120101. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120101>
- López, O., Ramírez, S. I., Espinosa, S., Moreno, J. L., Ruiz, C., Villarreal, J. M., & Ruiz, L. (2015). Manejo agroecológico de la nutrición en el cultivo del cacao. *Universidad Autónoma de Chiapas, MEX.*
- Mahamud, M., Gutiérrez, A., & Sastre, H. (1996). Biosólidos generados en la depuración de aguas: Métodos de tratamiento. *Ingeniería Del Agua*, 3(3), 45–54. <https://doi.org/10.4995/ia.1996.2703>
- Makádi, M., Tomócsik, A., & Orosz, V. (2012). Digestate: a new nutrient source—review. *Biogas*, 295, 312.
- Martí-Herrero, J., Ceron, M., Garcia, R., Pracejus, L., Alvarez, R., & Cipriano, X. (2015). The influence of users' behavior on biogas production from low cost tubular digesters: A technical and socio-cultural field analysis. *Energy for Sustainable Development*, 27, 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.esd.2015.05.003>
- Menardo, S., Gioelli, F., & Balsari, P. (2011). The methane yield of digestate: Effect of organic loading rate, hydraulic retention time, and plant feeding. *Bioresource Technology*, 102(3), 2348–2351. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.094>
- Möller, K., & Müller, T. (2012). Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth: A review. *Engineering in Life Sciences*, 12(3), 242–257. <https://doi.org/10.1002/elsc.201100085>
- Monlau, F., Sambusiti, C., Ficara, E., Aboulkas, A., Barakat, A., & Carrère, H. (2015). New

- opportunities for agricultural digestate valorization: current situation and perspectives. *Energy & Environmental Science*, 8(9), 2600-2621.
- Nkoa, R. (2014). Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2), 473-492.
- Paavola, T., & Rintala, J. (2008). Effects of storage on characteristics and hygienic quality of digestates from four co-digestion concepts of manure and biowaste. *Bioresource Technology*, 99(15), 7041–7050. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.01.005>
- Pabón-Pereira, C. P., De Vries, J. W., Slingerland, M. A., Zeeman, G., & Van Lier, J. B. (2014). Impact of crop-manure ratios on energy production and fertilizing characteristics of liquid and solid digestate during codigestion. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 35(19), 2427–2434. <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.908242>
- Paredes, C., Bernal, M. P., Roig, A., & Cegarra, J. (2001). Effects of olive mill wastewater addition in composting of agroindustrial and urban wastes. *Biodegradation*, 12(4), 225–234. <https://doi.org/10.1023/A:1017374421565>
- Provenzano, M. R., Malerba, A. D., Pezzolla, D., & Gigliotti, G. (2014). Chemical and spectroscopic characterization of organic matter during the anaerobic digestion and successive composting of pig slurry. *Waste Management*, 34(3), 653–660. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.12.001>
- Raposo, F., Borja, R., Martín, M. A., Martín, A., de la Rubia, M. A., & Rincón, B. (2009). Influence of inoculum-substrate ratio on the anaerobic digestion of sunflower oil cake in batch mode: Process stability and kinetic evaluation. *Chemical Engineering Journal*,

- 149(1–3), 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2008.10.001>
- Red española de compostaje. (2014). *De residuo a recurso: el camino hacia la sostenibilidad*. Mundi-Prensa.
- Resolucion 00150 de 2003 [Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural]. Por la cual se adopta el Reglamento Técnico de Fertilizantes y Acondicionadores de Suelos para Colombia. Enero 21 de 2003.
- Risberg, K., Cederlund, H., Pell, M., Arthurson, V., & Schnürer, A. (2017). Comparative characterization of digestate versus pig slurry and cow manure – Chemical composition and effects on soil microbial activity. *Waste Management*, *61*, 529–538. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.12.016>
- Robinson, D., Scheneiter, O., & Melgar, R. (2009). Fertilización y utilización de nutrientes en campos forrajeros de corte. *Fertilidad y fertilizantes*.
- Seleiman, M. F., Santanen, A., & Mäkelä, P. S. A. (2020). Recycling sludge on cropland as fertilizer – Advantages and risks. In *Resources, Conservation and Recycling* (Vol. 155, p. 104647). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104647>
- Snoeck, D., Koko, L., Joffre, J., Bastide, P., & Jagoret, P. (2016). Cacao nutrition and fertilization. In *Sustainable agriculture reviews* (pp. 155-202). Springer, Cham.
- Solé-Bundó, M., Cucina, M., Folch, M., Tàpias, J., Gigliotti, G., Garfí, M., & Ferrer, I. (2017). Assessing the agricultural reuse of the digestate from microalgae anaerobic digestion and co-digestion with sewage sludge. *Science of the Total Environment*, *586*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.006>
- Stiborova, H., Wolfram, J., Demnerova, K., Macek, T., & Uhlik, O. (2015). Bacterial community structure in treated sewage sludge with mesophilic and thermophilic

- anaerobic digestion. *Folia Microbiologica*, 60(6), 531–539.
<https://doi.org/10.1007/s12223-015-0396-9>
- Tambone, F., Scaglia, B., D'Imporzano, G., Schievano, A., Orzi, V., Salati, S., & Adani, F. (2010). Assessing amendment and fertilizing properties of digestates from anaerobic digestion through a comparative study with digested sludge and compost. *Chemosphere*, 81(5), 577–583. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.034>
- Thygesen, O., Sommer, S. G., Shin, S. G., & Triolo, J. M. (2014). Residual biochemical methane potential (BMP) of concentrated digestate from full-scale biogas plants. *Fuel*, 132, 44–46. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.04.062>
- Tiquia, S. M. (2010). Reduction of compost phytotoxicity during the process of decomposition. *Chemosphere*, 79(5), 506–512.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.040>
- Torres, P., Marmolejo, L. F., & Botina, A. (2005). Mejoramiento del potencial agrícola de lodos digeridos anaeróbicamente con el uso de cal. *Agronomía Colombiana*, 23(2), 310-316.
- USEPA, J. (2003). Environmental regulations and technology: Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge. *United States Environment Protection Agency, Cincinnati, OH*.
- Voelkner, A., Ohl, S., Holthusen, D., Hartung, E., Dörner, J., & Horn, R. (2015). Impact of mechanically pre-treated anaerobic digestates on soil properties. *Journal of soil science and plant nutrition*, 15(4), 882-895.

Apéndices

Apéndice A Curvas de Producción de Metano Acumulada del Ensayo de AME para las Fases Sólida y Natural

Figura 1

Curva de Producción de Metano Acumulada del Ensayo de AME para la Fase Natural

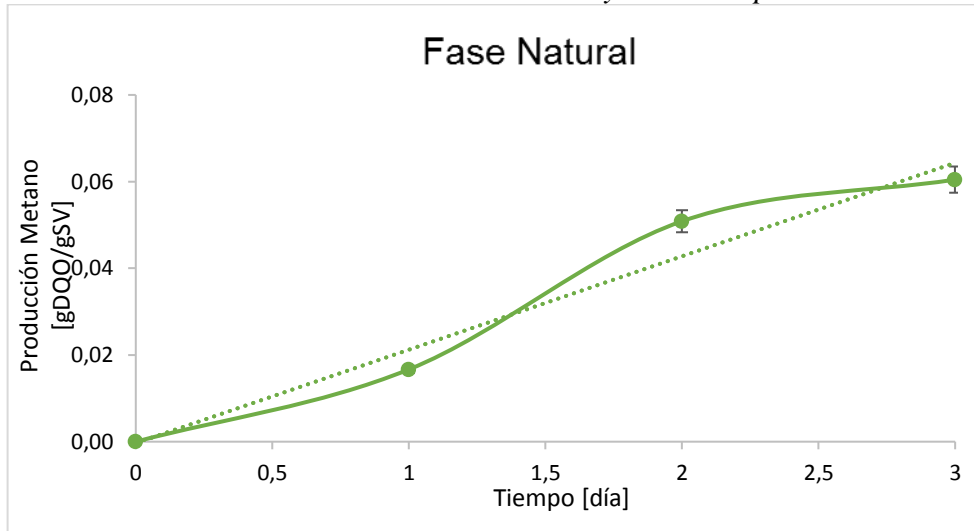


Figura 2

Curva de Producción de Metano Acumulada del Ensayo de AME para la Fase Sólida

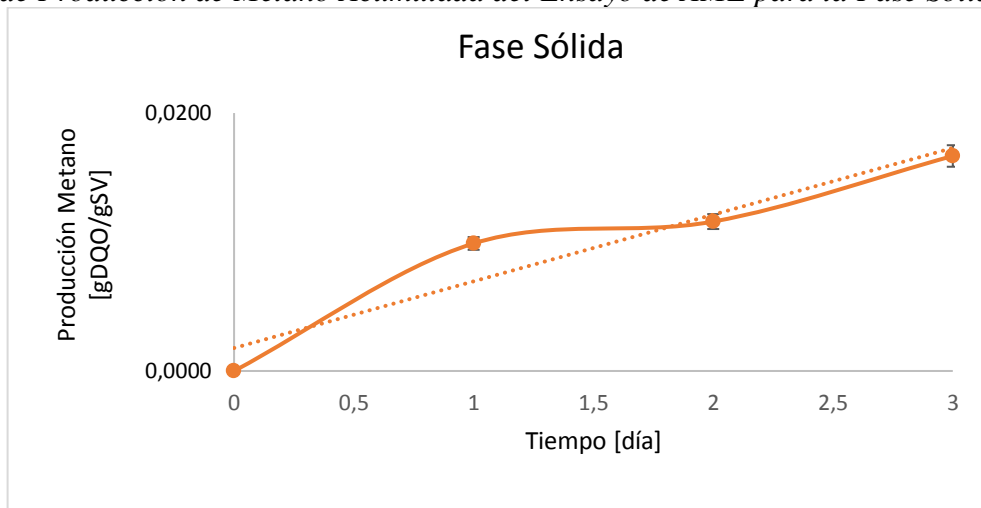
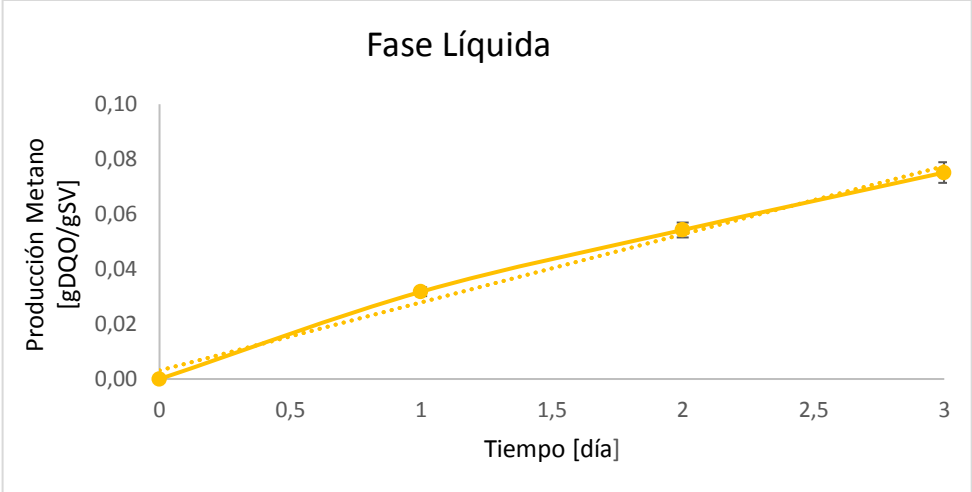


Figura 3

Curva de Producción de Metano Acumulada del Ensayo de AME para la Fase Líquida



Apéndice B Curvas de Potencial de Biometanización Residual del Digerido y sus Fases.

Figura 1

Potencial de Biometanización de la Fase Natural

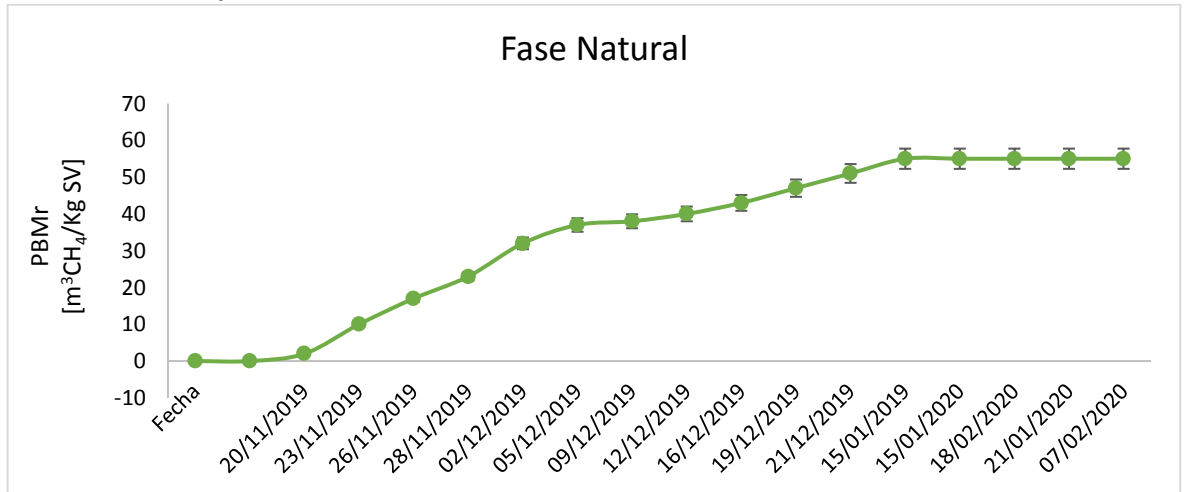


Figura 2

Potencial de Biometanización de la Fase Sólida.

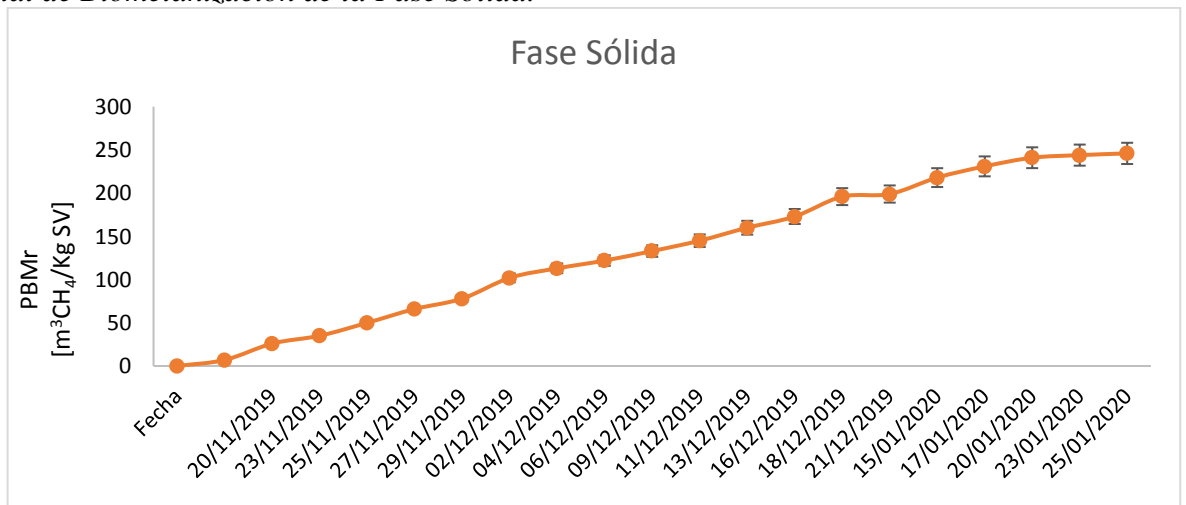
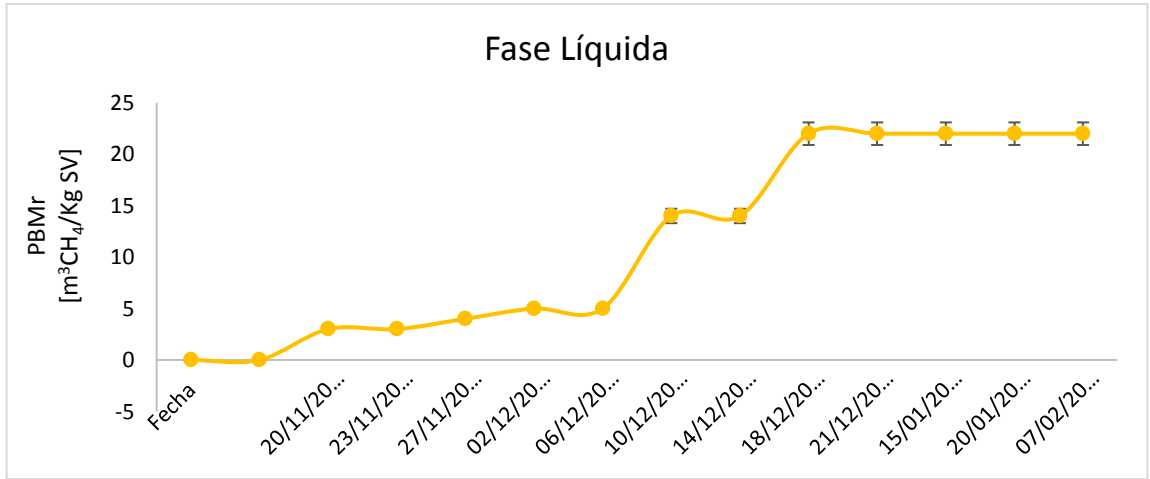


Figura 3

Potencial de Biometanización de la Fase Líquida



Apéndice C Manual de Caracterización de Digeridos

Determinación de Sólidos Totales (ST)

Los sólidos totales constituyen los sólidos suspendidos y disueltos de una muestra. Estos pueden ser obtenidos mediante operaciones de evaporación y secado de la muestra a una temperatura determinada. Para su cálculo, seguir el procedimiento descrito a continuación:

- Llevar al horno dos crisoles por cada muestra a procesar y dejarlos a 103-105°C durante dos horas. Dejarlos enfriar en el desecador y pesarlos (A).
- Depositar en cada crisol una alícuota bien homogenizada de la muestra a analizar y pesarlos (B).
- Llevarlos al horno a 103-105°C hasta que la muestra esté seca. Dejar enfriar en el desecador y pesarlos. Llevar nuevamente los crisoles al horno y dejarlos una hora más, enfriar y pesar nuevamente. Repetir el ciclo hasta peso constante (C) o hasta que la diferencia con el peso anterior sea menor al 4%.
- Procesar los datos con la ecuación:

$$ST = \frac{(C - A) * 1\ 000}{B - A}$$

Donde:

- *ST* son los sólidos totales en mg/kg.
- *A* es el peso del crisol vacío en mg.
- *B* es el peso del crisol más la muestra húmeda en mg.
- *C* es el peso del crisol más la muestra seca en mg.
- *B - A* es el peso inicial de la muestra en mg.

Determinación de Sólidos Volátiles (SV)

Los SV son la fracción de materia que se volatiliza de la muestra cuando ésta es sometida a un proceso de calcinación. El siguiente procedimiento permite calcular los sólidos volátiles mediante el método gravimétrico:

- Una vez separados los sólidos totales de las muestras, los crisoles se llevan a una mufla a 550°C durante una hora.
- Apagar y dejar que baje la temperatura. Sacar los crisoles y pasarlos al desecador.
- Pesarlos y repetir el ciclo de calcinar, enfriar y pesar hasta peso constante (D) o hasta que la diferencia con el peso anterior sea menor al 4%.
- Para el cálculo de los SV, se recomienda utilizar la siguiente expresión:

$$SV = \frac{(C - D) * 1000}{B - A}$$

Donde:

- SV representa la masa de sólidos volátiles en mg/g.
- A es el peso del crisol vacío en mg.
- B es la suma del peso del crisol más el peso de la muestra húmeda en mg.
- C es la suma del peso del crisol más el peso de la muestra seca en mg.
- D es la suma del peso del crisol más el peso de la muestra calcinada.
- B - A es el peso inicial de la muestra en mg.

Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La DQO es una medida de la cantidad de oxígeno necesaria para la oxidación de los compuestos orgánicos de una muestra en presencia de una solución ácida de dicromato. El siguiente procedimiento permite determinar la DQO mediante el método colorimétrico:

- Descontaminar los tubos de ensayo de 16 x 100 mm con tapa rosca con ácido sulfúrico al 20% y luego llevarlos a la mufla a 500°C por una hora.
- Medir 2.5 ml de muestra en un tubo de ensayo y adicionar 1.5 ml de solución digestora más 3.5 ml de solución catalítica. Esta última verterla con cuidado por las paredes del tubo. Preparar un blanco reemplazando la muestra por agua destilada - AD-. Analizar las muestras por duplicado.
- Cerrar herméticamente los tubos, agitarlos cuidadosamente (se producirá una reacción exotérmica) y llevarlos al digestor a 150°C por 2 horas.
- Posteriormente, se deben extraer los tubos, agitarlos y dejarlos enfriar. Preparar el equipo de espectrofotometría y registrar las lecturas 600 nm para valores de DQO altos y a 420 nm para valores bajos.
- Para el cálculo de la DQO, la siguiente expresión puede ser usada:

$$DQO = \frac{mg \text{ de oxígeno en volumen final} * 1000}{mL \text{ de muestra}}$$

Preparación de los Reactivos

Para la solución digestora, adicionar a temperatura ambiente 5.1 g de dicromato de potasio, 84 ml de ácido sulfúrico concentrado y 16.7 g de sulfato de mercurio a 250 ml de agua destilada. Luego, dejar enfriar la muestra y completar 500 ml.

- Para la solución catalítica, adicionar 22 g de sulfato de plata a una botella de 4.09 kg de ácido sulfúrico concentrado. Agitar hasta disolver.
- Si existe nitritos en la muestra, adicionar 10 mg de ácido sulfámico por cada mg de NO₂--N presente en el volumen de muestra usado. Agregar la misma cantidad al blanco de agua destilada.

- Hidrogenoftalato de potasio o biftalato ácido de potasio (KHP): Disolver 0.425 g de KHP en 400 ml de agua destilada y llevar a 500 ml. Preparar bajo condiciones estériles y mantener en refrigeración. Este debe ser preparado semanalmente. Nota: el DQO teórico del KHP es 1.176 mg O₂/mg. 1 ml= 1mg DQO.

Determinación de Ácidos Grasos Volátiles Totales (AGVT) y Alcalinidad Total (AT)

Los AGV son ácidos orgánicos de bajo peso molecular que se obtienen durante la fase acidogénica de la digestión anaerobia como producto de la fermentación de las macromoléculas presentes. Los AGV concentran, principalmente: acetato, ácido propiónico, butírico y láctico.

Por otro lado, la alcalinidad es una medida de la capacidad de una muestra de neutralizar ácidos. Los compuestos que más contribuyen a la AT son los carbonatos y bicarbonatos, que son producto de la reacción de CO₂ con la materia orgánica.

Para el cálculo de los AGVs de una muestra y la determinación de su alcalinidad, se recomienda el siguiente protocolo:

- Centrifugar entre 7 y 20 ml de muestra a 5000 rpm por 30 minutos en un tubo Falcon de 50 ml. El volumen de la muestra depende de los sólidos en la muestra.
- Obtener el sobrenadante y verterlo en un tubo o vaso de precipitado y medir el pH inicial.
- A 5 ml de la muestra, adicionar 25 ml de agua destilada y llevar a la plancha de agitación usando agitador magnético (perla) en vaso de 50 ml.
- Medir nuevamente el pH. Si es mayor que 6.5, agregar solución de HCl al 0.1N hasta bajar el pH a 6.5. Luego, iniciar la titulación con HCl 0.1N hasta pH 3.0. Registrar el volumen utilizado (A).

- Pasar la muestra a un balón de destilación, conectar al equipo de calentamiento y suministrar calor por 2 min después de observar una ligera ebullición.
- Desmontar el balón del destilador e introducirlo en hielo para provocar un choque térmico.
- Pasar la muestra al vaso y llevarla nuevamente a agitación con la perla mientras se mide el pH y se adiciona NaOH 0.1N hasta pH 6.5. Anotar el volumen gastado (B).
- Para el cálculo de los AGVs y la AT, utilizar las siguientes expresiones:

$$AT = \frac{A * N HCl}{Volumen de la muestra} * 50\ 000$$

Donde:

- A es el volumen de HCl utilizado.
- N HCl = 0.1
- Volumen de la muestra = 5 ml
- $50\ 000 = \frac{50\ mg\ CaCo_3}{meq * 1000\ mL/L}$

$$AGV = \frac{B * N NaOH}{Volumen de la muestra} * 60\ 000$$

Donde:

- B es el volumen de NaOH utilizado
- N NaOH = 0.1
- Volumen de la muestra = 5 ml
- $60\ 000 = \frac{60\ mg\ ácido\ acético}{meq} * 1\ 000\ mL/L$

Determinación de pH

El potencial de hidrogeno pH, es una medida de la acidez o alcalinidad de una muestra. Este indicador depende de la concentración de iones de hidrógeno.

El pH puede ser medido mediante el método potenciométrico, que se fundamenta en la diferencia de potencial generada entre un electrodo indicador y otro de referencia sumergidos en la muestra. Esta diferencia es procesada por un sistema que devuelve el resultado en unidades de pH. Para la determinación del pH seguir el siguiente protocolo:

- Introducir el electrodo en la muestra a analizar y esperar hasta que el valor aparezca en la pantalla y se estabilice para registrar la medición.
- Extraer el electrodo, enjuagarlo con agua destilada, secarlo y dejarlo en la solución que está en el recipiente de almacenamiento junto al equipo. Apagar y desconectar.

Determinación de Amonio

Para determinar la concentración del ion amonio, seguir el procedimiento detallado a continuación:

- Tomar un volumen suficiente de muestra y centrifugarla a 5000 rpm durante 30 minutos.
- Recuperar solo el sobrenadante y pasarlo por papel filtro No. 41.
- Corroborar que el pH de las muestras esté entre 4 y 13, de ser necesario ajustarlo con solución de hidróxido de sodio o con ácido sulfúrico.
- Pipetear 5 ml de muestra en un tubo de ensayo y añadir 0,6 ml de reactivo NH_4^{-1} con pipeta y agitar.
- Añadir 1 microcuchara azul rasa de NH_4^{-2} y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.
- Dejar en reposo por 5 minutos (tiempo de reacción).
- Añadir 4 gotas de reactivo NH_4^{-3} y agitar.
- Dejar en reposo 5 minutos y luego pasar la muestra por espectrofotometría.

Determinación Fosfatos

El fósforo es esencial para el crecimiento de los organismos y puede ser el nutriente limitante de la productividad primaria. El fósforo orgánico es la fracción de fosfato que es convertida a ortofosfato solo mediante destrucción oxidativa de la materia orgánica. Se presenta en forma suspendida o disuelta. Para la determinación de ortofosfatos de una muestra mediante el método colorimétrico de ácido ascórbico, seguir el protocolo a continuación:

- Descontaminar los tubos de 16 mm necesarios mediante el enjuague del material de vidrio con detergentes exentos de fosfato o dejarlo llenado con ácido clorhídrico (aprox. 10%) durante varias horas.
- El valor de PH debe encontrarse en el rango de 0 -10. De no ser así, ajustar con ácido sulfúrico.
- Filtrar las muestras turbias en vasos de precipitado.
- Adicionar 100 μL de la muestra a los tubos tapa rosca.
- Adicionar 4900 μL de agua destilada a los tubos tapa rosca.
- Añadir 5 gotas del reactivo PO_4^{-1} en los tubos y mezclar.
- Añadir 1 microcucharada azul rasa del reactivo PO_4^{-2} en los tubos y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente.
- Tapar los tubos tapa rosca después de añadir el reactivo 2.
- Dejar en reposo 5min (tiempo de reacción), luego introducir la muestra de medición en la cubeta y medir en el espectro.

Nota: Los ensayos de medición se deben realizar por duplicado. Para las muestras con más de 5 mg/l de $\text{PO}_4\text{-P}$, es necesario que sean diluidas con agua destilada antes de la

disgregación. Durante la adición de los reactivos, el frasco de debe mantener vertical en todo momento. Analizar las muestras inmediatamente después de la toma de muestras.

Tabla 1

Intervalo de Medida y Número de Determinaciones

Cubeta (mm)	Intervalo de Medida mg/l de PO ₄ -P	mg/l de		Número de Determinaciones
		PO ₄ ³⁻	P ₂ O ₅	
100	0,0025-0,5000	0,0077- 1,5331	0,0057- 1,1457	220 o 420
50	0,005-1,000	0,015- 3,066	0,011- 2,291	
20	0,03-2,50	0,09- 7,67	0,07- 5,73	
10	0,05-5,00	0,2-15,3	0,11- 11,46	

Potencial de Biometanización Residual (PBMr)

Este ensayo permite evaluar la cantidad de metano adicional que puede producir el digerido en condiciones anaeróbicas. El procedimiento es:

- Medir 60 ml de digerido y pasar la muestra a una botella de vidrio de 100 ml.
- Sellar las botellas con un tapón de goma y fijarlas con un agrafe.
- Inyectar un gas inerte en el espacio libre superior de la botella (99.99% N₂, 80/20% N₂/CO₂, 99.99% He).
- Llevar las muestras a una incubadora a condiciones mesofílicas (37°).
- Para medir el volumen de metano, se debe disponer una botella con solución alcalina en posición invertida y se debe sujetar a un soporte metálico. En el tapón de butilo que tiene la botella, introducir la aguja de la manguera corta y ubicar una probeta para la recepción del líquido.

- Introducir una aguja de la manguera larga en el tapón de la botella con NaOH, asegurándose previamente que el regulador de flujo esté cerrando el paso del aire. La aguja del otro extremo se introduce en el tapón del recipiente que contiene a la muestra.
- Deslizar el regulador de flujo de la manguera larga, para permitir el paso del biogás del biorreactor hacia la botella con solución alcalina.
- Registrar el volumen desplazado en ml.
- Medir el volumen de metano diariamente hasta que se registre una producción de 0 ml durante 8 mediciones consecutivas.
- Es necesario llevar el volumen de biogás a condiciones normalizadas (V_{NPT}). Esto se puede hacer mediante la siguiente ecuación:

$$V_{NPT} = V * \frac{P_0 - P_v}{P_{atm} * T}$$

Donde:

- V_{NPT} es el volumen de gas en condiciones normales de temperatura y presión en ml.
- P_0 es la presión del CH_4 en condiciones normales en mbar.
- V es el volumen de gas generado en ml.
- P_{atm} es la presión atmosférica.
- T es la temperatura al momento de medir en K.
- P_v es la presión de vapor de agua mbar.

Actividad Metanogénica Específica (AME)

La AME (Acetoclástica) permite cuantificar la cantidad de metano producido en el punto de máxima actividad por una muestra en condiciones óptimas de laboratorio, a partir

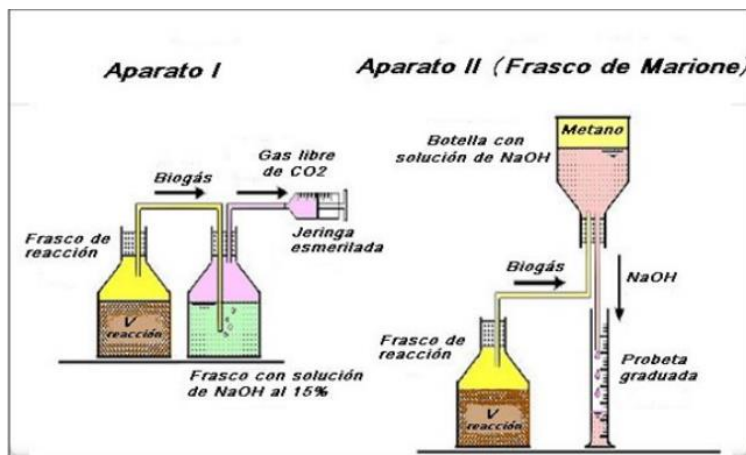
de una concentración determinada de acetato. Para medir la AME, se sugiere seguir protocolo a continuación:

- Pesar 99.0 ± 0.1 g de inoculo diluido (10 g VS L^{-1}) en una botella de vidrio de 100 mL.
- Agregar 1 mL de solución de acetato de sodio.
- Agitar y medir el pH del contenido de la botella.
- Inyectar un gas inerte en el espacio libre superior de la botella (99.99% N₂, 80/20% N₂/CO₂, 99.99% He).
- Sellar las botellas con un tapón de goma y fijarlas con un agrafe.
- Llevar las muestras a una incubadora a condiciones mesofílicas.
- Medir la producción de metano 0.5, 1.0, y 1.5 días después de iniciado el ensayo.

Nota: A pesar de que los intervalos de tiempo anteriores son aplicables a la mayoría de las muestras, estos pueden ser más cortos (0.25, 0.5 y 1 día) para muestras muy activas o extenderse (1, 2 y 3 días) para muestras poco activas.

Figura 1

Medición de Producción de Metano



- Graficar la producción específica acumulada de metano en gDQO.gSV^{-1} contra tiempo. Recuerde que 350 mL de metano a condiciones estándar ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1 bar) es igual a 1 gramo de DQO.
- Determinar la pendiente y la incertidumbre de la zona lineal de la gráfica.

Determinación de Metano Soluble

Esta prueba permite evaluar la cantidad de biogás que se mantiene solubilizado en el efluente del digestor (digerido). Aunque el metano es poco soluble en agua éste junto a otros gases (dióxido de carbono y sulfuro de hidrógeno) aún permanecen disueltos en la fase líquida del digerido final:

- Tomar cuidadosamente 25 mL de muestra en matraces esterilizados de 60 mL, evitando cualquier turbulencia. Los frascos se deben cerrar inmediatamente con tapones de goma y sellado con agrafes.
- Llevar las muestras a una nevera y mantenerlas bajo refrigeración hasta el momento del análisis.
- Después de extraerlos de refrigeración, transferir los matraces a una incubadora (temperatura controlada de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante al menos 50 minutos. Mezclar durante 10 min con agitadores magnéticos para establecer el equilibrio entre las fases líquida y gaseosa.
- Tomar una muestra del espacio superior del matraz e inyectar 0,5 ml de gas en un cromatógrafo de gases.
- Después de los análisis anteriores, pesar los matraces y determinar el peso neto. Con el peso neto es posible calcular el volumen de líquido si se considera una masa

específica de 1.0 g*mL⁻¹. Evaluar el volumen de la fase gaseosa considerando la diferencia en relación con el volumen total del matraz (60 mL).

- Cálculos: La concentración de metano disuelto se determina mediante la siguiente ecuación:

$$[\text{CH}_4]_{\text{dis}} = \frac{\left(\frac{[\% \text{CH}_4]_{\text{gas}}}{100}\right) * [d * V_{\text{gas}} + (P_{\text{T}} - P_{\text{v}}) * K_{\text{H}} * V_{\text{L}}]}{V_{\text{L}}}$$

Donde:

- $[\text{CH}_4]_{\text{dis}}$: es la concentración de metano disuelto en mg*L⁻¹.
- $[\text{CH}_4]_{\text{gas}}$: es la concentración de metano en la fase gaseosa contenida en el matraz.
- d es la densidad del metano: 595,4 mgL⁻¹ a 0,91 atm y 25 °C o 608,6 a 0,93 atm y 25 °C.
- V_{gas} : volumen de la fase gaseosa en el matraz en mL.
- P_{T} es la presión atmosférica.
- P_{v} es la presión de vapor del agua: 0,032 atm a 25 °C.
- K_{H} : constante de Henry para el metano: 21,5 mgL⁻¹atm⁻¹ a 25 °C
- V_{L} : volumen de la fase líquida en el matraz en mL.

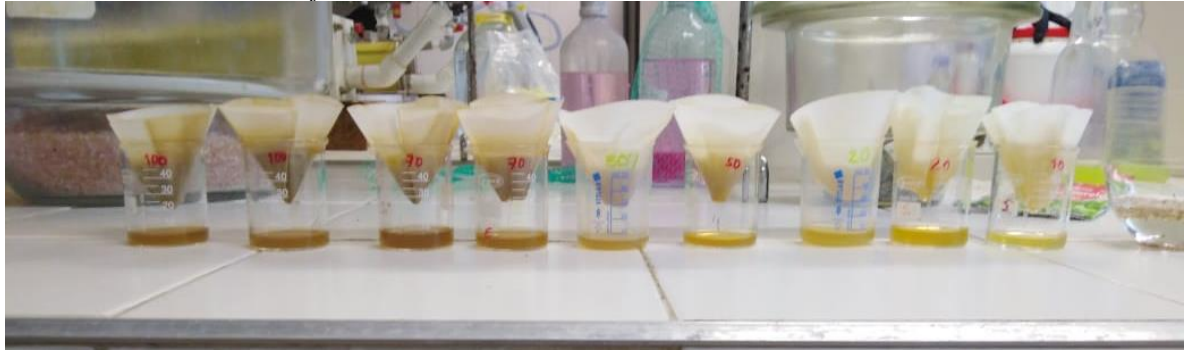
Determinación de la Fitotoxicidad

La fitotoxicidad permite describir el grado de efecto tóxico producido por un compuesto sobre el crecimiento de las plantas. Las condiciones de temperatura y luminosidad durante el periodo de germinación dependen del tipo de semilla a evaluar. Esta prueba se llevará a cabo con semillas de berro (*Lepidium sativum* "Alenois") y lechuga (*Lactuca sativa* "Bionda degli Ortelani"). El protocolo es:

- Preparar diferentes muestras a diferentes concentraciones de digerido (100%, 70%, 50% 20% y 10%) de fracción en volumen diluidas con agua desionizada.
- Centrifugar las muestras a 5000 rpm por 30 minutos, extraer los sobrenadantes y filtrar con filtros Watman No. 41.
- Ubicar papel de filtro en las placas de Petri de 8,5 cm de diámetro y humedecerlos con 5 ml de la muestra. Repetir el proceso para cada muestra de digerido.
- Sembrar diez semillas de lechuga *Lactuca Sativa* por placa y replicar cada experimento de 3 a 5 veces e introducirlas en una película plástica.

Figura 2

Filtración de las Muestras a Diferentes Concentraciones

**Figura 3**

*Placa de Petri con las Semillas de Lechuga (*Lactuca Sativa*)*



- Transferir las placas a una cámara de germinación bajo condiciones controladas de temperatura (17 °C para las semillas de lechuga) y luminosidad (5 días de oscuridad para las semillas de lechuga).

Figura 4

Placas con Semillas a Diferentes Concentraciones de Digerido



- Después de este periodo, realizar el conteo de las semillas germinadas, medir la longitud radical de los vástagos y calcular el índice de germinación (IG).

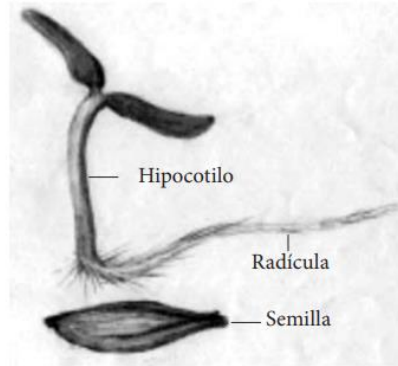
Figura 5

Medición de la Longitud Radicular



Figura 6

Partes de la Semilla Germinada



- Procesar la información con las expresiones:

$$\text{PGR} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el extracto}}{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en el testigo}} * 100$$

$$\text{CRR} = \frac{\text{Elongación de las radículas en el extracto}}{\text{Elongación de las radículas en el testigo}} * 100$$

$$\text{IG} = \frac{\text{PGR} * \text{CRR}}{100}$$

Donde:

- PGR: Porcentaje de germinación relativo.
- CRR: Crecimiento de radícula relativo.
- IG: Índice de germinación.