Evaluación de fuentes de materia orgánica fecal como inóculo en la producción de metano

• Olivia García-Galindo • Aurelio Pedroza-Sandoval* •
• José Antonio Chávez-Rivero • Ricardo Trejo-Calzada •
Universidad Autónoma Chapingo, México
*Autor de correspondencia

• Ignacio Sánchez-Cohen •
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México

Resumen

García-Galindo, O., Pedroza-Sandoval, A., Chávez-Rivero, J. A., Trejo-Calzada, R., & Sánchez-Cohen, I. (marzo-abril, 2015). Evaluación de fuentes de materia orgánica fecal como inóculo en la producción de metano. *Tecnología y Ciencias del Agua*, *6*(2), 35-49.

Las energías alternativas están tomando auge ante los altos costos de los hidrocarburos fósiles y el impacto ambiental. El objetivo de este estudio fue determinar la mejor fuente de materia orgánica fecal como inóculo inicial a diferentes temperaturas en la producción de metano. Se establecieron reactores Batch de 1 000 ml en condiciones *in vitro*, a los cuales se les adicionó materia orgánica fecal y una solución microbiana como inóculo inicial. Se usó un diseño en bloques al azar con tres repeticiones. Se evaluaron cuatro fuentes de materia orgánica: humano, vaca, cerdo, cabra, más las combinaciones dobles posibles; cada tratamiento se sometió a temperaturas de 3, 37 y 50 °C. El pH con ligera tendencia hacia la acidez propició una mayor demanda química de oxígeno (DQO) y, por ende, mayor producción de metano. De acuerdo con la DQO, las fuentes orgánicas de cerdo y la combinación de cabra y cerdo fueron los mejores tratamientos ($P < 0.05$) en la producción de metano, principalmente a una temperatura de 37 °C. En una segunda fase de escalamiento del mejor tratamiento identificado en la fase *in vitro*, mediante uso de un reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket, por sus siglas en inglés), el pH se estabilizó hacia el valor neutro, con ligera tendencia al final hacia la acidez, haciendo más eficiente la remoción de la materia orgánica y, por tanto, la producción de metano.

Palabras clave: energía alternativa, gas metano, biogás, impacto ambiental.

Abstract

García-Galindo, O., Pedroza-Sandoval, A., Chávez-Rivero, J. A., Trejo-Calzada, R., & Sánchez-Cohen, I. (March-April, 2015). Evaluation of Different Sources of Organic Fecal Matter as Inoculum for Methane Production. Water Technology and Sciences *(in Spanish), 6(2), 35-49.*

The use of alternative energies is growing in light of the high costs of fossil fuels and their environmental impact. The objective of this study was to determine the best source of organic fecal matter for use as an initial inoculum in the production of methane, at different temperatures. Batch reactors of 1 000 ml were established in vitro and organic fecal matter and a microbial solution were added as an initial inoculum. A random block design with three repetitions was used. Four sources of organic matter were evaluated —human, cow, pig and goat— as well as the possible double combinations. Each treatment was subjected to temperatures of 3, 37 and 50 °C. A slightly acidic pH created a higher chemical oxygen demand (COD) and therefore a larger production of methane. According to the COD, organic matter from pigs and the combination of pigs and goats were the best treatments ($P < 0.05$) for the production of methane, primarily at a temperature of 37°C. The removal of organic matter was more efficient and thus methane production was improved during a second scaling phase of the best treatment identified in the in vitro stage, using a UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) reactor, with a pH stabilized near neutral and slightly acidic at the end of the experiment.

***Keywords**: Alternative energy, methane gas, biogas, environmental impact.*

Recibido: 22/01/2014
Aceptado: 01/12/2014

Introducción

Desde el punto de vista ecológico, la carencia de agua y el impacto ambiental por el uso de energía fósil son algunos de los problemas más frecuentes en el planeta, principalmente en las zonas áridas, donde el recurso hídrico es el factor de mayor restricción. La producción de gas metano mediante digestión anaerobia y el tratamiento de aguas residuales para su reutilización es una alternativa viable donde la producción del biogás y el uso eficiente del agua representan una opción alternativa a la problemática regional (Fang, Ke, & Shang, 2004). En cuanto a la producción de biogás, se tiene que los principales gases de efecto invernadero (GEI) son el dióxido de carbono, el metano, los óxidos de nitrógeno y los clorofluorocarbonos, entre otros de menor efecto. El dióxido de carbono es uno de los de mayor impacto, el cual llega a la atmósfera por efectos de la actividad humana, como la quema de combustibles fósiles y la tala de bosques, que reduce la fijación biológica del CO_2 (Carmona, Bolívar, & Giraldo, 2005). El metano contribuye con 15% del calentamiento global. Es uno de los gases que posee mayor capacidad de generar efecto invernadero, 23 veces más que el CO_2; por fortuna, no se encuentra en grandes cantidades en la atmósfera, pero es importante no permitir que se incremente su presencia (Moss & Givens, 2000). Una de las fuentes que lo genera es la producción animal, en particular la cría de rumiantes: bovinos, caprinos, ovinos, búfalos y camélidos. Estos animales digieren los alimentos mediante un proceso que se conoce como "fermentación entérica", donde los microorganismos presentes en el aparato digestivo (rumen) fermentan los alimentos; esta fermentación libera hacia la atmósfera metano como subproducto. En los no rumiantes, la fermentación ocurre en el intestino grueso y las bacterias tienen una capacidad muy inferior de generar metano (McCaughey, Wittenberg, & Corrigan, 1999).

Así, la cantidad de metano liberado dependerá del tipo de animal, tipo y digestibilidad de alimento y nivel de producción. Asimismo, el manejo del estiércol es causante de emisiones de metano y óxido nitroso. Los animales alimentados en confinamiento con raciones de alimentos concentrados de alto valor energético producen un estiércol con el doble de capacidad de emisión de metano, en relación con el estiércol del ganado que consume forraje voluminoso (Orrico-Junior, Orrico, & Júnio, 2011).

No obstante lo anterior, desde el punto de vista antropocéntrico, la producción de alimentos de origen animal y principalmente de los rumiantes es una necesidad, pero no debe ser causa para seguir ignorando el problema; por el contrario, es necesario analizar soluciones alternativas, aunque no tanto en erradicar el problema por la complejidad que ello implica, sino encaminadas a mitigar el impacto negativo que genera este tipo de actividades. Desde el punto de vista ecológico, una opción es la identificación de usar este tipo de desechos de acuerdo con su potencial de generación de gases de efecto invernadero (GEI), como el metano; por un lado, usarlos como fuente de materia prima y, por otro, hacer uso de energías alternativas, como los biocombustibles, en las necesidades domésticas o inclusive industriales que hoy día demanda la sociedad. Desde esta perspectiva, los biocombustibles constituyen una opción importante ante la demanda actual energética en los ámbitos nacional e internacional, ya que pueden ser utilizados como fuente energética para diferentes usos, con lo cual se mitiga el efecto de los GEI y se abona a la sustentabilidad de los procesos naturales (Carere, Sparling, Cicek, & Levin, 2008). En particular, la producción de metano a partir de desechos orgánicos es una alternativa viable y cada vez de mayor pertinencia. En las zonas rurales de los países en desarrollo, diversas biomasas de celulosa están disponibles en abundancia y, además, tienen un buen potencial para satisfacer las demandas de energía, en especial en el sector doméstico (Shanta & Ramakant, 2010). Con base en lo anterior, la producción de biogás mediante digestión anaerobia con uso de reactores

Batch tipo ASBR (Anaerobic Secuencing Batch Reactor, por sus siglas en inglés) es cada vez más común, por las ventajas que presenta este tipo de dispositivos: facilidad de operación, tratamiento efectivo de compuestos de difícil degradación, como el fenol, y estabilidad del proceso ante cambios de temperatura (Guieysse, Wikströnm, Forsman, & Mattiasson, 2001; Bermúdez, Rodríguez, Martínez, & Terry, 2003; Chen, Cheng, & Creamer, 2008). Además, los resultados obtenidos en este tipo de reactores facilitan la toma de decisiones al momento de diseñar y construir un sistema de tratamiento para la producción de biogás, el cual debe considerar: 1) la máxima protección a la salud pública y el ambiente, y 2) que tenga los mínimos costos de construcción y operación (Lorenzo & Obaya, 2006). En este escenario surge la necesidad de evaluar la eficiencia de los reactores tipo UASB en el tratamiento de aguas residuales, como opción de doble propósito: producir biogás y tratar aguas residuales para su reúso en regiones donde el agua es una limitante, pero que, a su vez, son regiones productoras de altas cantidades de materia orgánica (estiércoles), como es la situación del área de estudio.

Los reactores del tipo UASB presentan una serie de ventajas sobre los sistemas aerobios convencionales, siendo las principales: un menor costo de implementación y manutención; menor producción de lodos excedentes; menor consumo de energía eléctrica, y simplicidad del funcionamiento (Ramírez & Koetz, 1998). De esta manera, los filtros anaerobios son relativamente pequeños, fáciles de construir, presentan buenas eficiencias de remoción de materia orgánica (Castillo, Solano, & Rangel, 2006) y mejoran el grado de tratamiento de las aguas para las etapas subsecuentes, ya que en ellos hay mayor concentración de bacterias que en otros sistemas, lo cual permite operar con velocidades de carga orgánica más elevadas, además de minimizar problemas de colmatación por sólidos y reducir la posibilidad de cortocircuitos.

Con base en lo anteriormente expuesto, el estudio tuvo como objetivo identificar la o las mejores fuentes de materia orgánica fecal o sus combinaciones en la producción de gas metano a diferentes temperaturas mediante degradación anaeróbica con uso de reactores Batch y, en una segunda etapa experimental, probar el mejor tratamiento de la primera fase para su aplicación en un reactor UASB en la producción de biogás.

Materiales y métodos

Ubicación geográfica

El estudio se realizó en condiciones *in vitro* en el laboratorio de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA) de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) en Bermejillo, Mapimí, Durango, México. La región se ubica en las coordenadas 104° 36″ 36′ y 103° 33″ 36′ longitud oeste, y los 26° 5″ 24′ y 25° 28″ 48′ de latitud norte. Además, se contó con el apoyo del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, ubicado en el kilómetro 9.6 Libramiento Norte, carretera Irapuato-León, 36821 Irapuato, Guanajuato, México, localizado en las coordenadas 20° 43″ 8′ norte, 101° 19″ 43′ oeste (García, 1973).

Colecta de muestra

Los diferentes materiales orgánicos usados como fuente de inóculo para la producción de metano se obtuvieron de distintos sitios del área de influencia de la URUZA: la materia orgánica de humano se obtuvo del cárcamo recolector de aguas negras; la de cerdo, cabra y bovino, de la propia granja pecuaria universitaria. Las muestras fueron colectadas en frascos de plástico transparente de un litro de capacidad, los cuales fueron cerrados una vez recolectadas las muestras y transportadas al laboratorio.

Establecimiento y operación del reactor Batch

El estudio se estableció en reactores Batch de 1 000 ml de capacidad, de acuerdo con lo citado por Guieysse *et al*. (2001). Para ello se

colocaron primero 10 g de trozos de plástico de botella, como soporte inerte para favorecer la formación de la biopelícula bacterial, después de haber aplicado el inóculo tanto de material orgánico fecal como microbiano. El consorcio bacteriano aplicado dentro de los reactores consistió en 50 ml de solución, conteniendo una diversidad de bacterias anaeróbicas dentro de las que destacan *Pseudomonas* spp. y *Brevibacillus* sp., entre otras, las cuales degradan la materia orgánica mediante un proceso anaeróbico. El consorcio utilizado fue proporcionado por la planta tratadora de aguas residuales del municipio de Lerdo, Durango. Se emplearon 4 g de materia fecal para cada fuente de inóculo, diluido en 700 ml de agua, en cada uno en los reactores de régimen estacionario o también denominados Batch tipo ASBR (Anaerobic Secuencing Batch Reactor) (Guieysse *et al*., 2001). La cantidad de 4 g por reactor en 700 ml de agua fue determinada de manera proporcional a la carga orgánica promedio que la mayor parte de las aguas residuales tiene en la región de estudio, en la perspectiva de que la información que se pueda generar pueda ser aplicada, en caso positivo, para la producción de biogás y, al mismo tiempo, obtener aguas residuales tratadas. Una vez que se introdujo el material orgánico, los reactores se cerraron y se extrajo el aire hasta llevarlos a condiciones de anaerobiosis (figura 1). Después se tomó una muestra de gas con ayuda de una aguja y tubo vacutainer. La muestra se almacenó para su posterior cuantificación; este mismo procedimiento se hizo cada semana hasta finalizar el experimento, el cual se estableció durante el periodo de noviembre y diciembre de 2011, con la finalidad de identificar la producción de metano durante las diferentes etapas de crecimiento bacteriano del consorcio. Por tal motivo, el tiempo de retención hidráulico fue de 30 días, tomando sólo en consideración 28 para fines prácticos del experimento.

Diseño experimental

Se usó un diseño de bloques al azar con tres repeticiones. Un factor de variación fue las fuentes de materia orgánica fecal (FMOF): vaca (V), humano (H), cabra (Ca) y cerdo (Ce), y las diferentes combinaciones simples V-H, V-Ca, V-Ce, H-Ca, H-Ce, Ca-Ce, más el testigo; el otro factor de variación fue el de las temperaturas a las cuales se sometieron cada uno de los tratamientos: 3, 37 y 50 °C, mediante uso de incubadora para las temperaturas de 37 y 50 °C, y refrigerador para la temperatura de 3 °C. Fue un total de 33 tratamientos producto del factorial 11 x 3.

Variables evaluadas

Potencial de hidrógeno (pH), medido con el potenciómetro Conductronic PC45; demanda química de oxígeno (DQO) como parámetro para establecer la remoción de materia orgá-

Figura 1. Preparación y montaje de los reactores Batch en el laboratorio.

nica, medido mediante colorímetro HACH DR/890; producción de gas metano (CH_4), obtenido mediante análisis de cromatografía de gases (CG) con uso de equipo Agilent Technologies, modelo 7890. Las variables de pH y DQO se midieron al inicio y final del experimento, correspondientes al 24 de noviembre y 15 de diciembre de 2011, respectivamente. Lo anterior, de acuerdo con los tiempos de análisis de agua-determinación mediante la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas, de acuerdo con la norma NMX-AA-154-SCFI-2011, que hace alusión a los criterios para la determinación en particular de la demanda química de oxígeno total y potencial de hidrógeno (Semarnat, 2011). Durante el transcurso del proyecto se realizaron cuatro mediciones de metano de forma semanal, para posteriormente cuantificarlo mediante cromatografía de gases.

En la fase de escalamiento se diseñó y montó un reactor UASB de 1 000 litros de capacidad. Con base en el mejor tratamiento resultado de la fase *in vitro*, se procedió a colectar materia orgánica de cerdo y cabra. Para ello se emplearon 4 kg de materia orgánica (2 kg de cerdo y 2 kg de cabra), 10 kg de soporte inerte basado en plástico de botellas y 50 l de consorcio bacteriano. Lo anterior en forma proporcional al peso y volumen usado en la fase *in vitro*. Una vez montado el reactor y obtenida la formación de la película, se adicionó la materia orgánica a tratar y se monitorearon la temperatura, potencial de hidrógeno y demanda química de oxígeno. El monitoreo fue cada tercer día, por un periodo de 33 días, dando un tiempo de retención hidráulica de 24 horas por carga de 1 000 l. Con base en estas determinaciones, se estimó la producción de gas metano a partir de la ecuación identificada por Cámara, Hernández y Paz (s/f), mediante la ecuación:

$$VCH_4 = (0.3516)\,[(So - S)\,(1/1\,000)\,1.42Px]$$

Donde:

VCH_4 = volumen de metano (m^3).
So = DQO última del influente (mg l^{-1}).
S = DQO última de efluente (mg l^{-1}).
Px = masa neta de tejido celular producida diariamente (kg $día^{-1}$).

Resultados y discusión

De acuerdo con los análisis estadísticos realizados ($P \leq 0.05$), no se identificó efecto de interacción entre los factores de variación en estudio, correspondiente a las fuentes de materia orgánica fecal y temperaturas, por lo cual se procedió a hacer un análisis por separado de cada factor de variación.

Potencial de hidrógeno

El potencial de hidrógeno (pH) varió de forma significativa ($P \leq 0.05$) al inicio del experimento, dependiendo de la fuente de materia orgánica. Los valores más altos, que fueron superiores a 8, correspondieron a las fuentes orgánicas de H, Ce, H-Ce, H-Ca y Ce-Ca; en tanto que el resto registró pH menores que 7. En el pH final se identificó una mayor estandarización hacia el valor neutro (7.2), lo cual es un medio más favorable para el desarrollo microbiano (cuadro 1). El pH es un parámetro crítico en el crecimiento de microorganismos, ya que cada tipo de microorganismo sólo puede crecer en un rango estrecho de pH, fuera del cual decrece el crecimiento de su población. Durante la fase de crecimiento poblacional de los microorganismos, éstos modifican el pH del medio que los contiene, por lo general hacia la acidez, lo cual puede deberse a diversos factores, uno de los cuales es la liberación de productos de reacciones metabólicas. Van Haandel y Britz (1994) indican que el valor y la estabilidad del pH en un reactor es importante debido a que la actividad metanogénica es altamente vulnerable a los cambios de pH, comparada con las demás poblaciones presentes; si el pH es inferior a 6.3 o superior que 7.8, la metanogénesis disminuye de manera significativa. A valores bajos de pH, la fermentación ácida prevalece sobre la fermentación metanogénica, resultando en la acidificación del contenido del reactor.

Cuadro 1. Efecto de la fuente de materia orgánica fecal (FMOF) en el potencial de hidrógeno inicial y final.

FMOF	pHi	Phf
Sin MOF	7.0 k	7.1 ab
V	7.5 i	7.2 ab
H	8.5 a	7.2 ab
Ca	7.4 j	6.9 b
Ce	8.0 e	7.3 a
H-V	7.9 f	7.2 ab
H-Ca	8.3 c	7.2 ab
H-Ce	8.4 b	7.4 a
V-Ca	7.7 h	7.3 a
V-Ce	7.9 g	7.3 a
Ce-Ca	8.2 d	7.2 ab
Promedio	7.8	7.2

Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Cifras con diferente letra dentro de una misma columna son estadísticamente diferentes; pHi = potencial de hidrógeno inicial; pHF = potencial de hidrógeno final.

Los resultados anteriores fueron similares a los reportados por Martínez, Maldonado, Ríos y Garza (2008), quienes trabajaron con aguas complejas en sistemas de tratamiento con biopelículas, y observaron que los valores de pH variaron entre 6 y 9, con un promedio hacia el valor neutro, lo cual indica que en estas condiciones, la actividad microbiana se comporta de forma eficiente. Van Kessel y Russell (1995) indican que las bacterias metanógenas son sensibles a pH bajos y que la inhibición de la metanogénesis es causada por la toxicidad de los ácidos de la fermentación que se produce en estas condiciones.

Demanda química de oxígeno

Respecto a la eficiencia de remoción de la materia orgánica identificada a través de la DQO, se encontró que la materia fecal de vaca, la combinación vaca-humano y vaca-cabra (74.7, 88.4 y 82.01%, respectivamente) y la combinación humano-cabra (83.92%) son las que mostraron una mejor eficiencia en la remoción de la materia orgánica ($P < 0.05$). Lo anterior puede estar relacionado con que el consorcio bacteriano utilizado se haya adaptado de forma más fácil a estas combinaciones de fuente de inóculo fecal, en comparación con la materia fecal de cerdo y las combinaciones de éste con las excretas humanas y de vaca, las cuales mostraron tener una menor eficiencia (56.4, 58.5 y 49.22%, respectivamente). De todo ello se deduce que el consorcio bacteriano requirió de un tiempo mayor en adaptarse al estiércol de cerdo por ser un material fecal de mayor complejidad, desarrollándose una mayor actividad de degradación, lo cual requirió, a su vez, un mayor tiempo de adaptación del consorcio bacteriano utilizado. El testigo registró valores prácticamente nulos de DQO, lo cual es congruente, dada la ausencia de materia orgánica (cuadro 2). De esta manera, se tiene que la DQO está relacionada de modo directo con la actividad de degradación de la materia orgánica y la producción de metano, ya que la digestión anaerobia es un proceso de transformación y no de destrucción de la materia orgánica; como no hay presencia de un oxidante en el proceso, la capacidad de transferencia de electrones de la materia orgánica permanece intacta en el metano producido. En vista de que no hay oxidación, se tiene que la DQO teórica del metano equivale a la mayor parte de la DQO de la materia orgánica digerida (de 90 a 97%), y una mínima parte es convertida en lodo (de 3 a 10%). En las reacciones bioquímicas que ocurren en la digestión anaerobia, sólo una

Cuadro 2. Efecto de diferentes fuentes de materia orgánica fecal (FMOF) en la demanda química de oxígeno inicial (DQOI) y final (DQOF).

FMOF	DQOI (mg l^{-1})	DQOF (mg l^{-1})
Sin MOF	0.00 h	6.1 f
V	916.5 e	232.3 cde
H	564.0 g	183.0 def
Ca	1 500.0 b	364.0 bcd
Ce	1 516.6 a	660.5 a
H-V	744.0 f	86.3 ef
H-Ca	1 500.0 b	241.1 cde
H-Ce	1 005.8 d	416.8 bc
V-Ca	1 500.0 b	269.8 cde
V-Ce	1 074.0 c	545.3 ab
Ce-Ca	1 500.0 b	561.6 ab

Prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Cifras con diferente letra dentro de una misma columna son estadísticamente diferentes.

pequeña parte de la energía libre es liberada, mientras que la mayor parte de esa energía permanece como energía química en el metano producido (Rodríguez, s/f).

Asimismo, la DQO inicial fue estadísticamente mayor que los 37 °C con un valor de 1 077.6 mg l^{-1}, en relación con los 1 073.1 demandados en las temperaturas extremas (3 y 50 °C), entre las cuales no hay diferencia estadística. De igual forma, a 3 °C, la DQO final fue significativamente mayor, siguiéndole en importancia la de 50 °C; por último, la más baja fue la de 37 °C (figura 2). El aparente contraste de valores entre la DQOI y la DQOF puede deberse a la velocidad de degradación, donde la temperatura de 37 °C fue la de mayor actividad, de tal manera que al final ya no había materia orgánica suficiente por degradar, con lo cual inicia la cuarta etapa de la cinética de crecimiento bacteriano, conocida como la fase de muerte del consorcio. Esto puede indicar que la mayor parte de los microorganismos que conforman el consorcio bacteriano pueden ser del tipo mesófilo, es decir, adaptados a rangos de temperatura óptimos entre los 20 y 40 °C, donde se tiene la mayor actividad de degradación de la materia orgánica y reflejada ésta por los valores de DQO.

Producción de gas metano

El comportamiento a través del tiempo de la producción de gas metano —tomando como prototipo los dos tratamientos tanto en DQO como de producción de metano (Ce y Ce-Ca)— muestra una fase de crecimiento exponencial a partir de los siete días después de iniciado el experimento (DDIE), lo cual se mantiene hasta los 14 DDIE, expresándose en una alta actividad de degradación de materia orgánica, reflejada por la alta demanda química de oxígeno, lo cual finalmente se expresa en una mayor producción de metano. De los 14 a los 21 DDIE, se identifica una fase de estabilización e inicio de decremento de la producción de metano, posiblemente asociado con la fase de decremento de la carga orgánica como alimento de la población microbiana y también por el cambio dentro de la actividad enzimática, donde el consumo de sustrato será sólo para mantenerse. A partir de los 21 y hasta los 28 DDIE se produce la fase de muerte de los microorganismos, reflejándose en la menor tasa de producción de metano, lo anterior asociado con la falta de materia orgánica fecal (figura 3). Este proceso es similar a lo reportado por Sanz (2011), y Behling, Caldera, Marín, Rincón y

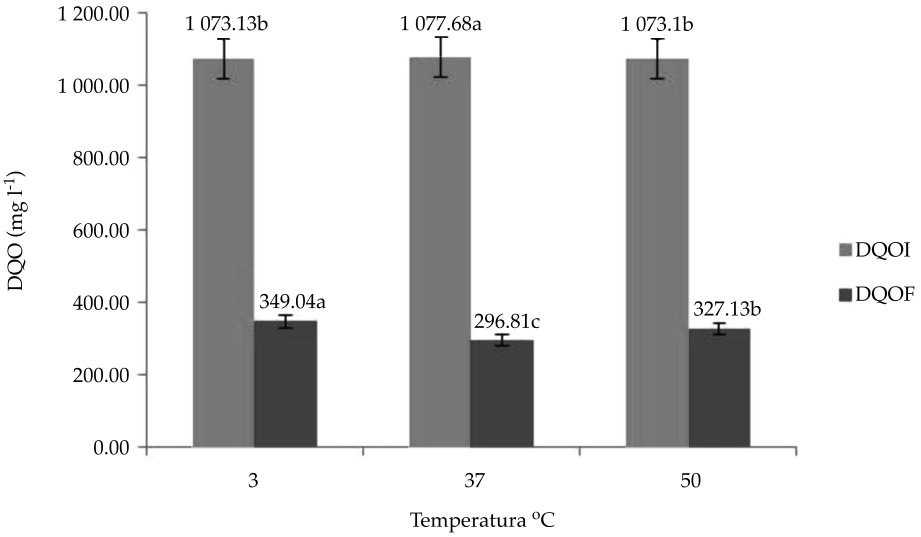

Figura 2. Efecto de la temperatura (*T*) en la DQO obtenida de los valores promedio de todos los tratamientos de las fuentes de materia orgánica fecal. Prueba de Tukey ($P < 0.05$). Cifras con letras diferentes sobre las barras apareadas son estadísticamente diferentes. DQOI = demanda química de oxígeno inicial. DQOF= demanda química de oxígeno final.

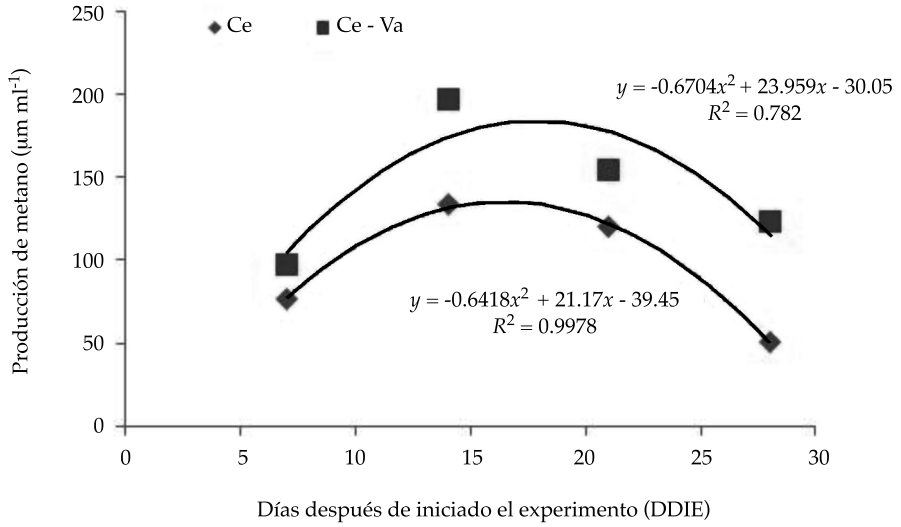

Figura 3. Comportamiento temporal en la producción de metano a los 7, 14, 21 y 28 días después de iniciado el experimento.

Fernández (2005), quienes indican la existencia de una baja producción de metano en la etapa de adaptación en los primeros cinco días; una producción exponencial dentro del rango de 5 a 15 días; una etapa de estabilización del día 15 al 20, y una disminución en la etapa de muerte de los días 20 a 25.

Los mejores tratamientos en la producción de metano fueron las fuentes de materia orgánica fecal de cerdo (Ce) y la combinación de cerdo-cabra (Ce-Ca) y vaca-cerdo (V-Ce), con valores de 133.2, 197.4 y 154.9 µm ml^{-1} a los 14 DDIE, respectivamente. Esta etapa fue la de máxima producción de metano en la mayoría

de los tratamientos. El resto de los tratamientos está en valores menores a los antes citados, sin una gran variación estadística entre ellos. Las fuentes orgánicas de humano (H) y la combinación de vaca-humano (V-H) fueron los de menor efecto en la producción de metano, sin diferencia estadística con el testigo (cuadro 3), lo cual es congruente con lo identificado en el análisis estadístico de la DQO.

Respecto a la temperatura, se obtuvo que la producción de metano fue significativamente mayor a los 37 y 50 °C, excepto esta última en la primera y tercera evaluación. Lo anterior es congruente, dado que se espera que a mayor temperatura se acelere el proceso de degradación de la materia orgánica y, por ende, haya una mayor producción de biogás, siendo la de 37 °C la más consistente a lo largo del periodo del experimento; las temperaturas extremas tienden a inhibir dicho proceso (figura 4).

Lo anterior es relevante, pues la temperatura de 37 °C es la más frecuente durante el periodo de primavera-verano en la región de estudio, lo cual permitiría tener una buena producción de metano usando materia orgánica de cerdo o la combinación de ésta con la de cabra; ambos insumos orgánicos son de alta frecuencia en el área de influencia donde se llevó a cabo el estudio, que se destaca por la explotación intensiva de este tipo de especies ganaderas (Sagarpa-Ceiegdrs, 2003). Los resultados anteriores coinciden con lo reportado por Martínez *et al*. (2008), quienes indican que las condiciones de temperatura óptima para el tratamiento de agua residual se encuentra entre 30 y 40°C, puesto que en rangos inferiores a 15 °C o superiores a 45 °C, el crecimiento de bacterias es inhibido, provocando una disminución en la eficiencia de remoción de DQO.

Desde el punto de vista de correlación entre variables se identificó una correlación significativa entre el pH y la DQO: entre mayor es aquél, mayor es la DQO y a la inversa, lo cual es identificable en la DQO inicial ($P = 0.0014$) y la DQO final ($P = 0.003$). De igual forma se corrobora lo citado en la primera parte de los resultados: hay una correlación positiva significativa entre la DQO y la producción de metano (CH_4), donde la correlación de la DQO inicial y la producción de metano es altamente significativa ($P = 0.0001$), y la DQO final es significativa ($P = 0.0146$). En cuanto a la relación entre el pH con la producción de metano, se identificó que al principio no hay efecto del pH inicial con la producción de metano, pero sí con el pH final ($P = 0.0008$) (cuadro 4), lo que

Cuadro 3. Efecto de la fuente de materia orgánica fecal (FMOF) en la producción de metano.

FMOF	P.CH_4 (μm ml^{-1}) 7 DDIE	P.CH_4 (μm ml^{-1}) 14 DDIE	P.CH_4 (μm ml^{-1}) 21 DDIE	P.CH_4 (μm ml^{-1}) 28 DDIE
Sin MOF	0.24 d	0.2 d	0.2 d	0.2 b
V	18.0 cd	48.46 cd	38.7 bcd	33.1 ab
H	0.74 d	0.3 d	0.4 d	0.4 b
Ca	54.2 abc	72.7 bcd	103.2 abc	37.7 ab
Ce	76.6 ab	133.2 abc	120.0 ab	50.8 ab
H-V	4.3 cd	6.4 d	3.5 d	4.1 b
H-Ca	14.5 cd	22.1 d	8.0 cd	20.9 ab
H-Ce	46.2 bcd	83.2 bcd	40.7 bcd	92.7 ab
V-Ca	31.3 dcd	42.0 cd	16.7 cd	47.0 ab
V-Ce	80.0 ab	154.9 ab	85.8 abcd	127.1 a
Ce-Ca	97.0 a	197.4 a	154.0 a	123.2 a

Prueba de Tukey ($P < 0.05$). Cifras con diferentes letras dentro de una misma columna son estadísticamente diferentes. DQOI = demanda química de oxígeno inicial; DQOF = demanda química de oxígeno final; P.CH_4 = producción de gas metano; DDIE = días después de iniciado el experimento.

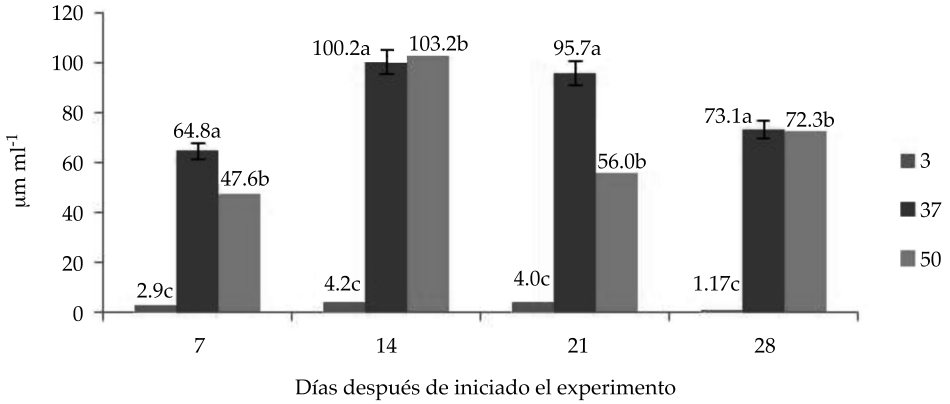

Figura 4. Efecto de la temperatura final en la demanda química de oxígeno y la producción de gas metano a partir del promedio de las diferentes fuentes de materia orgánica fecal. Prueba de Tukey ($P < 0.05$). Cifras con diferentes letras dentro de cada bloque de columnas son estadísticamente diferentes.

Cuadro 4. Análisis de correlación de Pearson entre las variables de potencial de hidrógeno (pH), demanda química de oxígeno (DQO) y producción de metano (CH_4).

	PHI	**DQOI**	**PICH$_4$**	**PHF**	**DQOF**	**PFCH$_4$**
PHI	1.00000	0.31625 0.0014	0.10176 0.3162	0.22235 0.0270	0.29541 0.0030	0.12638 0.2126
DQOI		1.00000	0.41026 < 0.0001	0.04887 0.06310	0.58003 < 0.0001	0.24470 0.0146
PICH$_4$			1.00000	0.27543 0.0058	0.36984 0.0002	0.69855 < 0.001
PHF				1.00000	0.05959 0.5579	0.33051 0.0008
DQOF					1.00000	0.29200 0.0034
PICH$_4$						1.00000

PHI = potencial de hidrógeno inicial; PHF = potencial de hidrógeno final; DQOI = demanda química de oxígeno inicial; DQOF = demanda química de oxígeno final; PICH$_4$ = producción inicial de gas metano; PFCH$_4$ = producción final de gas metano.

confirma que la actividad microbiana es mejor en pH neutros que en pH alcalino (Van Kessel & Russell, 1995).

En relación con la fase de escalamiento del mejor tratamiento identificado en la fase *in vitro* (materia fecal cerdo-cabra), se observó un efecto estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$) entre los días de muestreo en DDIE para el potencial de hidrógeno, temperatura y demanda química de oxígeno, lo cual indica la variabilidad del proceso a través del tiempo (cuadro 5).

Al inicio del experimento, el potencial de hidrógeno (pH) fue significativamente más alcalino, cercano a valores de 8; en tanto que el resto del periodo se mantuvo más hacia el valor neutro con valores de 7, hasta finalizar con una tendencia hacia la acidez, con valores de 6.3. Lo anterior se debe a la liberación de productos de reacciones secundarias de las bacterias que conformaron el consorcio bacteriano. El pH de esta fase de estudio osciló entre 8.0 y 6.3 como pH inicial y pH final, respectivamente, en relación directa con los parámetros establecidos por Van Haandel y Britz (1994), lo cual se vio reflejado en la producción de gas metano a lo largo del experimento, donde los valores de pH fueron de 7.0 (cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto del tiempo en el potencial de hidrógeno, temperatura y demanda química de oxígeno.

DDIE	pH	*T* (°C)	DQO (mg l^{-1})
1	8.00 a	22 a	1 650 a
3	7.00 b	22 a	1 067 b
5	7.00 b	21 b	846 c
7	7.00 b	21 b	836 c
9	7.00 b	20 c	785 d
11	7.00 b	19 d	792 d
13	7.00 b	19 d	668 e
15	7.00 b	19 d	644 f
17	7.00 b	18 e	582 g
19	6.66 bc	18 e	500 i
21	7.00 b	19 d	565 h
23	7.00 b	19 d	419 j
25	7.00 b	18 e	413 j
27	7.00 b	18 e	395 j
29	7.00 b	18 e	384 k
31	7.00 b	18 e	380 k
33	6.33 cd	18 e	170 l

Prueba de Tukey ($P < 0.05$). Cifras con la misma letra dentro de una misma columna son estadísticamente iguales. DDIE = días después de iniciado el experimento; pH = potencial de hidrógeno; *T* = temperatura; DQO = demanda química de oxígeno.

En cuanto a la temperatura, se identificó que a los 9 DDIE se tuvo la fecha estadísticamente diferente del resto ($P \leq 0.05$), con un valor de 20 °C; en tanto que las demás fechas de muestreo registraron una temperatura inicial de 22 °C hasta finalizar con 18 °C, esta última como temperatura más baja registrada durante el experimento. Los procesos biológicos de digestión anaerobia dependen fuertemente de la temperatura, por lo cual, de manera general, se puede decir que la tasa óptima de crecimiento de las bacterias ocurre dentro de rangos de temperatura limitados, a pesar de que su sobrevivencia puede ocurrir dentro de rangos amplios (de 30 a 40 °C); sin embargo, esta actividad es posible a temperaturas bajas (10 °C), pero la eficiencia del sistema de tratamiento anaerobio decrece de modo significativo con la disminución de la temperatura, lo cual no se observó de forma evidente en el presente estudio, puesto que los rangos de temperaturas que se registraron en el periodo de muestreo oscilaron en un rango de 18 a 22 °C.

En relación con la remoción de materia orgánica expresada mediante la variable DQO, se tiene que la mayoría de las fechas de muestreo presentó diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$), excepto los días 5 y 7; 9 y 11; 23, 25 y 27; 29 y 31, las cuales fueron estadísticamente iguales (cuadro 5). Desde el inicio del monitoreo del influente sobre el efluente, se observó que a medida que el tiempo pasó, el consorcio bacteriano que conformó la biopelícula fue adaptándose al nuevo sustrato, con lo cual la concentración de materia orgánica fue disminuyendo día con día, expresándose mediante el incremento de la eficiencia de remoción de la materia orgánica. Lo anterior está relacionado con que la biopelícula formada en el soporte fue sometida a cambios drásticos en el tipo de sustrato del cual se alimentó y, conforme a los cambios de la actividad enzimática de la biopelícula, se inició un crecimiento exponencial de la actividad de degradación, iniciando con una DQO de 1 650 mg l^{-1} llegando a su máxima eficiencia de un 90% el día 33, al registrar los valores más

bajos de DQO de 170 mg l^{-1}, es decir, conforme transcurrió el tiempo, la eficiencia de remoción de materia orgánica se vio favorecida incluso con las temperaturas registradas en el periodo de muestreo, lo cual indica otras de las ventajas y eficiencias del sistema de tratamiento anaerobio (figura 5). Lo anterior puede atribuirse a lo que menciona Maldonado (2008), quien cita que la biopelícula sufre cargas de *shock*, que es básicamente el cambio de sustrato; esto, tomando en cuenta que las bacterias metanogénicas son extraordinariamente sensibles a la presencia de compuestos tóxicos en el agua residual a la que fueron sometidas durante el tratamiento anaerobio. Sin embargo, conforme avanza el periodo del proceso y éste es suficientemente largo, los microorganismos tienen la capacidad de adaptarse a ciertas concentraciones de las diversas sustancias tóxicas. Este periodo es denominado tiempo de retención de sólidos (TRS) en el reactor, el cual puede estar referido a un tiempo de días o hasta meses, lo que hace que en este último caso se requiera un mayor periodo para que los microorganismos se adapten a las concentraciones de las sustancias tóxicas.

Sobre la producción de gas metano, éste se incrementó a los 13 días después de iniciado el experimento, cuando, de acuerdo con Sanz (2011), el consorcio bacteriano tiene un proceso de crecimiento exponencial, al ocurrir altos consumos de sustrato y, por consiguiente, se presenta una mayor producción de gas metano. De igual forma, se puede observar el decremento constante en la DQO, lo cual, de acuerdo con Massé y Massé (2000) es un indicativo de que los procesos anaerobios tratan la materia orgánica, transformándola en metano y dióxido de carbono; conforme la materia orgánica se degrada, existe una mayor producción y liberación de subproductos, principalmente gas metano y dióxido de carbono (figura 6). Se identificó un incremento constante en la producción de gas metano, en especial a partir de los 13 DDIE, con valores aproximados a 0.345 m^3 de gas metano producido, llegando a su máximo el día 33 con 0.520 m^3.

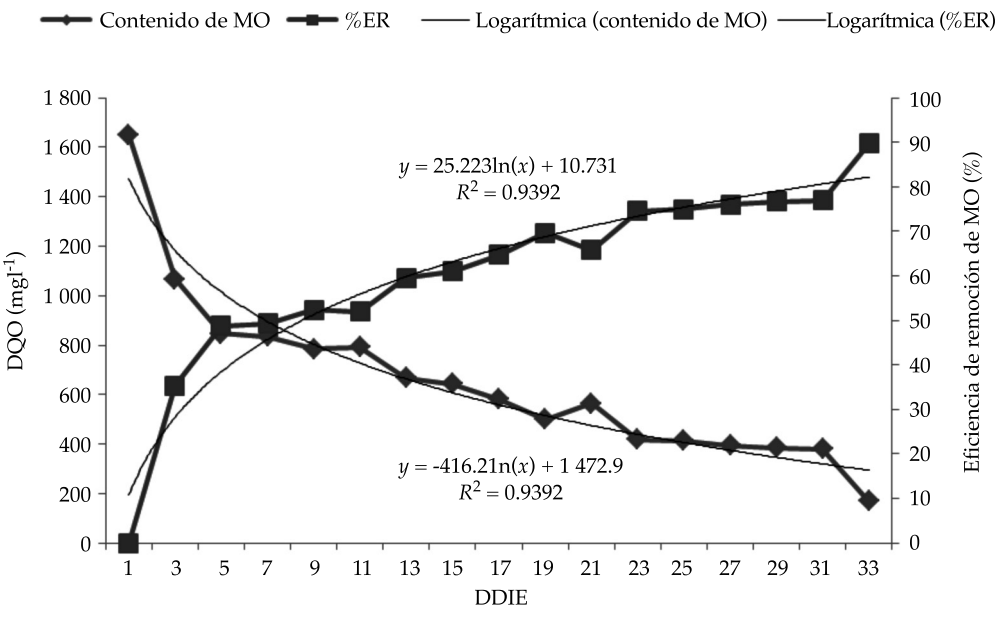

Figura 5. Comportamiento de la DQO y la eficiencia de remoción de MO a través del tiempo en días después de iniciado el experimento (DDIE).

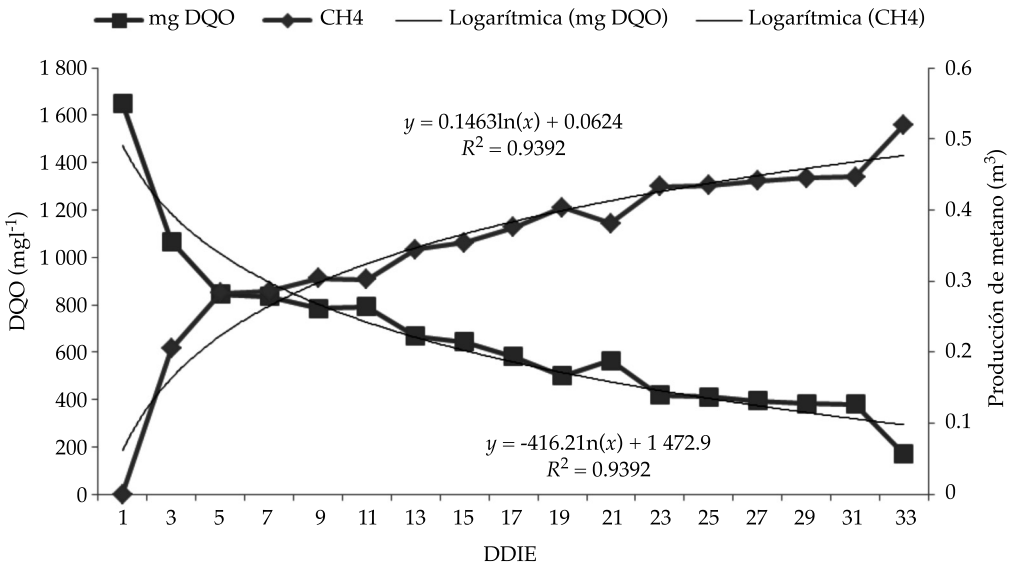

Figura 6. Demanda química de oxígeno como indicador de la remoción de MO y la consecuente producción de gas metano ($EPCH_4$).

Conclusiones

El potencial de hidrógeno de los diferentes tratamientos inició con valores ligeramente alcalinos, para luego tender hacia el valor neutro (7), lo cual se correlacionó con una mayor DQO y una mayor producción de metano.

La DQO y la producción de metano fueron positivamente correlacionadas y ambas fueron mayores cuando se usó materia orgánica fecal de cerdo (Ce) y la combinación de vaca-cerdo (V-Ce).

La mayor DQO y mayor producción de metano se logró a los 14 días de establecido el experimento en la mayoría de los tratamientos, en particular aquellos sometidos a 37 °C.

La fase *in vitro* es congruente con los resultados obtenidos en la fase de escalamiento, donde el pH se estabiliza hacia valores neutros con ligera tendencia al final hacia la acidez, lo cual hace más eficiente la remoción de la demanda química de oxígeno y, por tanto, una mayor producción de gas metano.

Agradecimientos

Se hace un reconocimiento al Consejo de Ciencia y Tecnología del estado de Durango, a la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas de la Universidad Autónoma Chapingo y al Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav-IPN) Unidad Irapuato, por las facilidades y el apoyo brindado para la realización del presente estudio.

Referencias

Behling, Q. E. H., Caldera, Y. A., Marín, J. C., Rincón, L. C., & Fernández, L. M. (2005). *Eficiencia de un reactor anaeróbico en el tratamiento del efluente de una tenería* [en línea]. Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental de la Escuela de Ingeniería Civil de la Universidad de Zulia, Venezuela. Citado el 17 de mayo de 2013. Recuperado de http://www.revistas.luz.edu.ve/index.php/bcib/article/viewFile/101/3339.

Bermúdez, R., Rodríguez, S., Martínez, M., & Terry, A. (2003). Ventajas del empleo de reactores UASB en el tratamiento de residuales líquidos para la obtención de biogás. *Tecnol. Química*, *23*, 37-44.

Cámara-Da, L., Hernández, M., & Paz, L. (s/f.). *Manual de diseño para plantas de tratamiento de aguas residuales alimenticias. Miniproyecto de Ingeniería Química*. Recuperado de http://uniciencia.ambientalex.info/infoCT/Mandisplataaguresaliar.pdf.

Carere, C. R., Sparling, R., Cicek, N., & Levin, D. (2008). Third Generation Biofuels Via Direct Cellulose Fermentation. *Genome Biology*, *9*, 242. Citado el 15 de mayo de 2013. Recuperado de http://www.vurup.sk/pc/vol49_2007/issue2/pdf/pc_2_2007_jordanov.pdf.

Carmona, J. C., Bolívar, D. M., & Giraldo, L. A. (2005). El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental ductivo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, *18*(1). Citado el 24 de julio de 2013. Recuperado de http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/6.

Castillo, E. F., Solano, J. K., & Rangel, M. P. (2006). Evaluación operacional de un sistema a escala laboratorio de biopelícula anaerobia soportada para el tratamiento de aguas residuales domésticas. *Revista ION*, *19*(1), 18-22. Citado el 24 de julio de 2013. Recuperado http:// www.redalyc.org/pdf/3420/342030277004.pdf.

Chen, Y., Cheng, J. J. & Creamer, K. S. (2008). Inhibition of Anaerobic Digestion Process: A Review. *Bioresurce Technology*, *99*(10), 4044-4064.

Fang, H. H. P., Ke, L. U., & Shang, S. Z. (2004). Anaerobic Degradation of Phenol in Wastewater at Ambient Temperature. *Water Science and Technology 49*, 95-102.

García, E. (1973). *Apuntes de climatología* (155 pp.). México, DF: Universidad Nacional Autónoma de México.F

Guieysse, B., Wikströnm, P., Forsman, M., & Mattiasson, B. (2001). Biomonitoring of Continuous Microbial Community Adaptation Towards More Efficient Phenol-Degradation in a Fed-Batch Bioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *56*, 780-787.

Lorenzo, Y., & Obaya, M. C. (2006). La digestión anaerobia y los reactores UASB. *Generalidades. ICIDCA. Sobre los derivados de la caña de azúcar*, *40*(1), 13-21. Citado el 22 de julio de 2013. Recuperado de http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223121549002.

Maldonado, C. A. (2008). Tratamiento de agua residual del rastro, mediante biopelículas anaerobias desarrolladas en *Opuntia imbricata"* (70 pp.). Tesis inédita de maestría. Monclova, México: Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Biología.

Martínez, R. J., Maldonado, C. A., Ríos, G. L. J., & Garza, Y. (2008). *Tratamiento de agua residual del rastro mediante biopelículas anaerobias desarrolladas en* Opuntia imbricata *y lodo granular*. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Citado el 20 do julio de 2013. Recuperado de *www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/...IV/.../CIV-75.pd*.

Massé, D. I., & Massé, L. (2000). Characterization of Wastewater from Hog Slaughterhouse in Eastern Canada and Evaluation of their In-Plant Wastewater Treatment System., *Can. Agr. Eng*., *42*, 139-146.

McCaughey, W., Wittenberg, K., & Corrigan, D. (1999) Impact of Pasture Type on Methane Production by Lacting Beef Cows. Can. J. Sc., 79(2), 221-226.

Moss, A. R., & Givens, D. I. (2002). The Effect of Supplementing Grass Silage with Soya Bean Meal on Digestibility, in Sacco Degradability, Rumen Fermentation and Methane Production in Sheep. Animal Feed Science and Technology, 97, 127-143.

Orrico-Junior, M. A. P., Orrico. A. C. A., & Júnio, J. L. (April, 2011). Animal Production and Environment: A Comparison between Potential of Methane Emission from Waste and Quantity of Produced Food. *Journal Engenharia Agrícola*, 31(2). Citado el 20 de julio de 2013. Recuperado de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69162011000200020&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

Ramírez, O., Koetz, P. (1998). *Evaluación de un reactor UASB para el tratamiento de efluentes de la industria de aceite de arroz*. VTtaller y Seminario Latinoamericano de Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales. Viña del Mar, Chile,.

Rodríguez, V. J. A. (s./f.). *Tratamiento anaerobio de aguas residuales*. Universidad el Valle de Cali, Colombia. Citado el 20 de agosto de 2013. Recuperado de http://www.ingenieroambiental.com/4014/tratamiento545.pdf

Semarnat (2011). Normas Mexicanas en Materia de Agua. Citado el 20 de junio de 2013. Recuperado de http://www.semarnat.gob.mx/leyes-y-normas/nmx-agua.

Sagarpa-Ceiegdrs (2003). Anuario estadístico de la producción agropecuaria de la Región Lagunera Durango-Coahuila (163 pp.). Ciudad Lerdo, México: Delegación en la Región Lagunera Durango-Coahuila. Subdelegación de Planeación y Desarrollo Social.

Sanz, J. L. (2011). *Microbiología ambiental*. Taller práctico. México, DF: Universidad Autónoma Metropolitana. Citado el 25 do mayo de 2013. Recuperado de http://www.cbm.uam.es/imagweb/Memoria.../04bvirologiaymicrobiologia.pdf.

Shanta, S., & Ramakant, S. (2010). Biogas Production Enhancement by Soya Sludge Amendment in Cattle Dung Digesters. *Biomass and Bionergy*, *34*, 278-1282.

Van Haandel, M. M., & Britz, T. J. (1994). Characterization and Numerical Analysis of the Microbial Community in Raw Baker's Yeast Factory Effluent. *Water SA*., *20*(2). Citado el 15 do junio de 2013. Recuperado de http://www.wrc.org.za/downloads/watersa/1994/April/0784%20abstract.pdf.

Van Kessell, J. S., & Russell, B. (November, 1995). *The Effect of pH in Vitro Methane Production from Ruminal Bacteria* (Abstract # 2). In 23rd Biennial Conference on Rumen Function, Chicago, Illinois, USA, *23*, 14-16.

Dirección institucional de los autores

M.C. Olivia García Galindo

Estudiante de la maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente en Zonas Áridas
Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA)
Universidad Autónoma Chapingo
Km. 35 Carretera Gómez Palacio-Ciudad Juárez
35230 Bermejillo, Durango, México
Teléfono: +52 (872) 7760 160
oly_ggalindo@hotmail.com

Dr. Aurelio Pedroza Sandoval

Subdirector de Investigación de la Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA)
Universidad Autónoma Chapingo
Km. 35 Carretera Gómez Palacio-Ciudad Juárez
35230 Bermejillo, Durango, México
Teléfono: +52 (872) 7760 160
apedroza@chapingo.uruza.edu.mx

M.C. José Antonio Chávez-Rivero

Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA)
Universidad Autónoma Chapingo
Km. 35 Carretera Gómez Palacio-Ciudad Juárez
35230 Bermejillo, Durango, México
Teléfono: +52 (872) 7760 160
job77@chapingo.uruza.edu.mx

Dr. Ricardo Trejo-Calzada

Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas (URUZA)
Universidad Autónoma Chapingo
Km. 35 Carretera Gómez Palacio-Ciudad Juárez
35230 Bermejillo, Durango, México
Teléfono: +52 (872) 7760 160

Dr. Ignacio Sánchez-Cohen

Centro Nacional de Investigación y Desarrollo en Relaciones Agua-Suelo-Planta-Atmósfera
Km. 6.5, margen derecha Canal de Sacramento
35150 Gómez Palacio, Durango, México
Teléfono: +52 (871) 7191 076
sanchez.ignacio@inifap.gob.mx