



*Universidad Autónoma del  
Estado de Hidalgo*

---

---

*Instituto de Ciencias Agropecuarias*

*Efecto de la Concentración del Lactosuero en un  
Bioproceso Anaerobio para la Producción de Biosólidos*

*Tesis*

*Para obtener el Título de  
Ingeniero en Alimentos*

*Presenta Adabella Suárez Vargas*

*Director de tesis: Dr. Rafael Germán Campos Montiel*

*Tulancingo, Hgo. Febrero 2009*

# *Agradecimientos*

---

---

A mi mamá y papá

Simplemente no tengo las palabras para agradecerles y expresarles cuanto los amo, por que gracias a ustedes he logrado todo esto y siempre serán mi admiración en la vida (Viki y Martiniano) efectivamente sin ustedes no lo hubiera logrado.

A mis hermanos

Alma (luchito), Yazmin, Yocelin, Elizabeth, Rodrigo y Martin por compartir y disfrutar nuestra vida que la han hecho muy FELIZ, por que se que cada uno de ustedes los necesito para seguir adelante.

Es una bendición de Dios tener una familia así como la que tengo gracias Dios por dármela.

---

Al Dr. Rafael G. Campos Montiel por permitirme ser parte de su grupo de trabajo fue una dicha haber realizado mi Tesis con usted. Y por la paciencia, apoyo y amistad que siempre me ha brindado.

A mis asesores de Tesis

Dra. Irma Caro, M.B Diana J. Pimentel, M.C. Sergio Soto, M.C. Margarita Cisneros y M. Martha Gayosso por todo el tiempo y dedicación invertida, para que esta Tesis quedara lo mejor posible. Gracias por sus consejos y observaciones.

Al M.C Sergio por todo el apoyo y tiempo que me dedico para la realización de esta Tesis. Gracias por brindarme su amistad en todo este tiempo....

A mis amigos que me han brindado su amistad y que nunca se olvidaran los momentos que compartimos

Diane, Emilia, Lorena, Yaque, Chabe, Beto, Hugo y Alex.

Gracias querida amiga Diane.

Amis compañeros de Primera Generación de Ing. Alimentos

Emilia, Rafael, Julián, y Martin... por que somos los "Primeros"

## ÍNDICE

|  |           |
|--|-----------|
| <b>ÍNDICE GENERAL</b>  | <b>4</b>  |
| <b>ÍNDICE DE CUADROS</b>   | <b>7</b>  |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>   | <b>8</b>  |
| <b>ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA</b>   | <b>9</b>  |
| <b>RESUMEN</b>   | <b>10</b> |
| <br>   |           |
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b>   |           |
| 1. Introducción.....   | 11        |
| <br>   |           |
| <b>2. JUSTIFICACIÓN</b>  |           |
| 2. Justificación.....  | 13        |
| <br>   |           |
| <b>3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>  |           |
| 3.1 Hipótesis.....   | 14        |
| 3.2 Objetivo general.....  | 14        |
| <br>   |           |
| <b>4. REVISIÓN DE LITERATURA</b>   |           |
| 4.1.1 Clasificación de residuos.....   | 15        |
| 4.1.2 Lactosuero.....  | 15        |
| 4.1.3 Disposición del Lactosuero en la región.....   | 17        |
| 4.2 Estiércol.....   | 18        |
| 4.2.1 El estiércol utilizado como abono.....   | 20        |
| 4.2.2 Manejo y aplicación del estiércol.....   | 20        |
| 4.2.3 Efecto de los abonos orgánicos sobre la disponibilidad de<br>nutrientes en el suelo..... | 22        |
| 4.3 Biosólidos.....  | 22        |
| 4.3.1 Beneficios de los biosólidos.....  | 25        |
| 4.3.2 Alternativas de aprovechamiento de biosólidos.....                                       | 25        |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 4.3.3 | Aplicación de los biosólidos en explotaciones agrícolas y forestales..... | 26 |
| 4.3.4 | Los biosólidos no presentan peligro.....                                  | 28 |
| 4.4   | Digestión anaerobia.....  | 29 |
| 4.4.1 | Proceso microbiológico y bioquímico de la digestión anaerobia.....        | 30 |
| 4.4.2 | Primera fase: Hidrólisis.....   | 32 |
| 4.4.3 | Segunda fase: Acetogénica.....  | 35 |
| 4.4.4 | Tercera fase: Metanogénica.....   | 35 |
| 4.4.5 | Digestión anaerobia del lactosuero.....                                   | 36 |
| 4.5   | Antecedentes.....   | 39 |
| 4.6   | Fundamentos de métodos analíticos para la medición de variables.....      | 41 |

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 5.1   | Lugar de estudio.....                                 | 45 |
| 5.2   | Materiales.....                                       | 45 |
| 5.3   | Diseño del experimento.....                           | 45 |
| 5.4   | Análisis estadístico.....                             | 46 |
| 5.5   | Parámetros fisicoquímicos.....                        | 46 |
| 5.5.1 | <i>Determinación</i> Carbohidratos totales.....       | 46 |
| 5.5.2 | Determinación de Ácidos orgánicos.....                | 47 |
| 5.5.3 | <i>Determinación</i> de pH.....                       | 48 |
| 5.5.4 | Determinación Sólidos totales y volátiles.....        | 49 |
| 5.5.5 | Determinación de proteína por el método de Lowry..... | 49 |
| 5.5.6 | Determinación de Nitrógeno Kjendhal.....              | 50 |
| 5.5.7 | Determinación de Fósforo total.....                   | 51 |

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

|  |    |
|--|----|
| 6.1 Determinación de parámetros físico-químicos..... | 52 |
| Carbohidratos totales.....                           | 52 |
| Ácidos orgánicos.....                                | 53 |
| pH.....  | 56 |
| Sólidos totales y volátiles.....                     | 57 |
| Proteína soluble.....                                | 59 |
| Nitrógeno <i>total</i> .....                         | 60 |
| Fósforo total.....                                   | 61 |
| <br>   |    |
| 7. CONCLUSIONES                                      | 62 |
| 8. RECOMENDACIONES                                   | 63 |
| 9. REFERENCIAS                                       | 65 |
| 10. ANEXOS   | 72 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|  |    |
|--|----|
| <b>Cuadro 1.</b> Composición química del lactosuero.   | 6  |
| <b>Cuadro 2.</b> Características químicas del estiércol  | 9  |
| <b>Cuadro 3.</b> Principales enzimas que interviene en<br>la digestión anaerobia   | 27 |
| <b>Cuadro 4.</b> Principales bacterias de la digestión anaerobia   | 27 |
| <b>Cuadro 5.</b> Tratamientos a diferentes concentraciones de lactosuero.  | 35 |
| <b>Cuadro 6.</b> Resultados de la concentración de carbohidratos a lo largo<br>del bioproceso                                      | 42 |
| <b>Cuadro 7.</b> Resultados de proteína soluble en los 5 tratamientos  | 50 |
| <b>Cuadro 8.</b> Concentración de nitrógeno total en % de base seca de los 5<br>tratamientos a lo largo del análisis experimental. | 51 |
| <b>Cuadro 9.</b> Resultados de % de fósforo total en los 5 tratamientos  | 52 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figura 1.</b> Porcentaje de la disposición del lactosuero en el valle de Tulancingo                                | 7         |
| <b>Figura 2.</b> Secado del estiércol de vaca al aire libre.  | 11        |
| <b>Figura 3.</b> Ciclo natural de los nutrientes.   | 14        |
| <b>Figura 4.</b> Equipo utilizado en la inyección de biosólidos   | 16        |
| <b>Figura 5.</b> Aplicación de biosólidos líquidos  | 17        |
| <b>Figura 6.</b> Aplicación de biosólidos líquidos en bosque.   | 17        |
| <b>Figura 7.</b> Diagrama de la digestión anaerobia.  | 21        |
| <b>Figura 8.</b> Rutas metabólicas de degradación de la glucosa por<br>las bacterias acidogénicas                     | 24        |
| <b>Figura 9.</b> Digestión anaerobia del lactosuero.  | 28        |
| <b>Figura 10.</b> Reacción entre la proteína y los reactivos  | 33        |
| <b>Figura 11.</b> Biorreactores utilizados  | 36        |
| <b>Figura 12.</b> Curva patrón de azúcar  | 37        |
| <b>Figura 13.</b> Equipo de electroforesis capilar.   | 38        |
| <b>Figura 14.</b> Potenciómetro   | 38        |
| <b>Figura 15.</b> Curva patrón de proteínas.  | 40        |
| <b>Figura 16.</b> Curva patrón de fosfato de potasio  | 41        |
| <b>Figura 17.</b> Concentración de ácido acético  | 43        |
| <b>Figura 18.</b> Concentración de ácido láctico  | 44        |
| <b>Figura 19.</b> Concentración de ácido butírico   | 45        |
| <b>Figura 20.</b> Resultados pH   | 47        |
| <b>Figura 21.</b> Comportamiento de los sólidos totales   | 48        |
| <b>Figura 22.</b> Concentración de los sólidos volátiles en los sistemas<br>estudiados durante la digestión anaerobia | <b>49</b> |



## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGIA

|      |                             |
|------|-----------------------------|
| L    | Litro                       |
| mL   | Mililitro                   |
| °C   | Grado centígrado            |
| pH   | Potencial de Hidrógeno      |
| MS   | Materia Seca                |
| %    | Porcentaje                  |
| R    | Coefficiente de correlación |
| Kg   | Kilogramo                   |
| cm   | Centímetro                  |
| g    | Gramo                       |
| µm   | Micrómetro                  |
| UV   | Ultravioleta                |
| nm   | Nanómetro                   |
| mg   | Miligramo                   |
| mg/L | Miligramos por Litro        |
| P    | Fósforo total               |
| N    | Nitrógeno                   |
| D.I  | Diámetro interno            |
| D.E  | Diámetro externo            |

## RESUMEN

En el valle de Tulancingo se generan alrededor de 500,000L de lactosuero al día por lo que está causando daños ambientales por no ser tratado ni reutilizarlo. El proceso de digestión anaerobia es una alternativa para el tratamiento de lactosuero en co-digestión con el estiércol de bovino para poder obtener un biosólido. Debido a las características de los microorganismos involucrados en ella. En esta investigación se determinó el efecto de la adición de lactosuero a diferentes concentraciones al estiércol para la obtención de un biosólido. Se trabajó en biorreactores de vidrio, se realizaron diferentes mezclas de lactosuero con estiércol, teniendo 5 diferentes concentraciones 0, 6.25, 12.5, 25, y 50% de lactosuero. La parte experimental duró nueve meses, y cada tercer mes se determinaron azúcares totales, ácidos orgánicos, pH, sólidos totales y volátiles, nitrógeno, proteína soluble y fósforo. Los resultados mostraron que el lactosuero no afectó la digestión anaerobia en ningún tratamiento. En todos los tratamientos los carbohidratos se degradaron en más del 97 % y el ácido láctico disminuyó en un 98 %. Los biosólidos obtenidos en todos los tratamientos tuvieron un pH mayor 7.5, el tratamiento con 50 % de lactosuero fue el que contenía la mayor cantidad de nitrógeno total 1.34 y fósforo 0.86 %. Finalmente observando los resultados obtenidos, se puede concluir que el uso del lactosuero ácido en un 50% en co-digestión con el estiércol no afectó la digestión anaerobia para obtener un biosólido estable; pudiendo así mantener las mismas características de uso del estiércol mismo.

## 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente el incremento productivo y de consumo de fertilizantes químicos en la industria agrícola desplazó el uso de los abonos orgánicos que hoy en día se conocen mejor como biosólidos. Sin embargo, los abonos orgánicos están recuperando su importancia a través de diversos estudios realizados sobre las ventajas que estos proporcionan. Uribe (2000) menciona que los biosólidos, son materiales orgánicos ricos en nutrientes, derivados del tratamiento de las aguas negras residuales, desechos agroalimentarios, los cuales han sido estabilizados, cumpliendo con un proceso de formación específico y un estricto criterio de calidad y por lo tanto son adecuados para su aplicación al suelo.

Los biosólidos ofrecen una oportunidad de bajo costo para proveer de N a los cultivos, aumentar la disponibilidad de nutrientes, los cuales son fijados bajo condiciones normales en suelos proporcionando un mayor efecto residual, así como el aumento en la capacidad de retención de humedad, la formación de complejos orgánicos que sirven como nutrientes para las plantas. Un ejemplo de tales usos es la incorporación de biosólidos al terreno para abastecerlo de nutrientes y para renovar la materia orgánica de terrenos agrícolas, bosques, campos de pastoreo, o en superficies alteradas que necesitan recuperación (Capulín *et al.*, 2001). Un proceso aplicable al tratamiento de residuos orgánicos para la obtención de un biosólido es por medio de la digestión anaerobia la cual va a dar la estabilidad para que esté pueda ser utilizado. Por lo que, utilizando el proceso de digestión anaerobia es posible convertir gran cantidad de desechos como; estiércoles, efluentes de la industria alimentaria como el lactosuero, que son residuos que actualmente están causando daños irreversibles al medio ambiente debido a que no se les ha dado el uso ni el tratamiento correcto para su aprovechamiento.

El término co-digestión se emplea para expresar la digestión anaerobia conjunta de dos o más substratos de diferente origen. La principal ventaja radica en el aprovechamiento de la sinergia de las mezclas, compensando las carencias de cada uno de los substratos por separado (Brinkman, 1999).

Actualmente en el valle de Tulancingo se realiza una intensa actividad en el área del procesamiento de quesos, estimada en una producción de medio millón de litros diarios de lactosuero. De la totalidad del lactosuero generado, se considera que tan solo un 55% de lactosuero se le da un uso adecuado. Y el restante es vertido al drenaje de las empresas, por lo que una gran cantidad de este residuo se desecha a los ríos y zanjas de la región, provocando así una contaminación no solo del suelo, sino del aire, además, crea focos de contaminación debido a que se encuentran innumerables grupos de bacterias (Campos-Montiel, 2007).

Por tal motivo y con fines de reducir este problema, en esta tesis se presenta una alternativa de reusar el lactosuero y el estiércol mediante un proceso de co-digestión, para la obtención de un biosólido que podrá ser utilizado en las tierras de cultivo.

## 2. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, notamos cómo la relevante situación de riesgo respecto a la contaminación ambiental va incrementando; por lo tanto, considerar cada propuesta preventiva para detener el deterioro de nuestro ambiente implica una contribución a la humanidad.

En ésta investigación se hace referencia a un alto contaminante ambiental: el lactosuero es, uno de los principales problemas de la industria quesera que se presenta. Actualmente en el valle de Tulancingo, se generan 500,000 L/día de lactosuero, y sólo el 55 % del volumen total de este subproducto lácteo es reutilizado, mientras que el resto es vertido al sistema de drenaje, alcantarillado ó directamente a efluentes generales, sin realizarle ningún proceso de tratamiento, lo que conlleva a la contaminación ambiental (Campos-Montiel, 2007).

Dicha substancia funge como residuo tóxico para el medio ambiente en general. Sin embargo, si el lactosuero fuera tratado adecuadamente, implicaría un medio de tratamiento a la tierra de cultivo convirtiéndolo en un biosólido.

Un ejemplo de biosólido es el estiércol, el cual en la actualidad tampoco es utilizado de manera adecuada para la tierra de cultivo, sin ser de manera implícita un contaminante de gran perjuicio para el medio ambiente.

La propuesta planteada en la presente investigación, supone un tratamiento de lactosuero con el estiércol por medio de la digestión anaerobia, para la obtención de un biosólido de provecho para las tierras de cultivo, reduciendo simultáneamente la contaminación ambiental que es un problema que se presenta actualmente en la región de Tulancingo Hgo.

### **3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

#### **3.1 Hipótesis**

- ❖ La adición del lactosuero al estiércol mejora la digestión anaerobia de éste para la obtención de un biosólido.

#### **3.2 Objetivo general**

- ❖ Determinar cuál es la concentración más adecuada de lactosuero, en un bioproceso anaerobio para la producción de un biosólido.

#### **Objetivos específicos**

- ❖ Cuantificar la degradación de azúcares totales y proteínas durante la digestión anaerobia del estiércol a diferentes concentraciones de lactosuero.
- ❖ Cuantificar la producción de ácidos orgánicos en la mezcla lactosuero- estiércol a diferentes concentraciones.
- ❖ Determinar la cantidad de nitrógeno total y fósforo total en el biosólido producido.

## 4. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1.1 Clasificación de residuos

Los cambios socioeconómicos de las últimas décadas, altas concentraciones de población en núcleos urbanos, el desarrollo de la industria agroalimentaria, la intensificación de las explotaciones ganaderas, prácticas consumistas, etc., han propiciado la producción de grandes cantidades de residuos orgánicos que ocasionan graves problemas ambientales. Debido a esto es necesario buscar alternativas que proporcionen la reutilización, y valoración de la materia orgánica de los residuos.

De acuerdo a Pomares (1998) los residuos los clasifica en función a su origen;

- Residuos procedentes del sector primario: residuos agrícolas, ganaderos y forestales.
- Residuos procedentes del sector secundario: residuos industriales (agroalimentarios, textiles, etc.)
- Residuos procedentes del sector terciario o de servicios: constituidos por residuos sólidos urbanos (RSU) y lodos de estaciones depuradoras de aguas residuales

De acuerdo a lo mencionado, en el sector primario se encuentra el estiércol de bovino y en el sector secundario el lactosuero. Ambos residuos son causantes de graves problemas ambientales como contaminación del suelo, agua y aire principalmente, que están causando irreparables daños en el medio que vivimos.

### 4.1.2 Lactosuero

#### ***Definición de Lactosuero***

El lactosuero es el subproducto resultante de la elaboración del queso que se obtiene tras la separación de las proteínas y de la grasa (Spreer, 1991). El lactosuero contiene mayor cantidad de los compuestos de la leche que son solubles en agua. La composición química del lactosuero depende de los factores de variabilidad de la elaboración de queso y de las características de la leche, encontrándose dos tipos de

lactosuero: dulce y ácido (Cuadro 1). La diferencia principal entre ellos es el pH que oscila entre 5-6. El componente más abundante del lactosuero es el agua como se observa en el cuadro 1, mientras que los compuestos nitrogenados son los menos abundantes, de éstas la mitad son proteínas de alto valor nutritivo que se clasifican en albúminas, globulinas y una fracción denominada proteosa-peptona. Además, contiene vitaminas hidrosolubles como la riboflavina o vitamina B<sub>2</sub>, que es la más importante (Spreer, 1991).

**Cuadro 1.** Composición química del lactosuero (Spreer, 1991).

| Parámetro               | Suero dulce % | Suero ácido % |
|-------------------------|---------------|---------------|
| Agua                    | 93-95         | 93-95         |
| Extracto seco           | 5-7           | 5-7           |
| Lactosa                 | 4.5-5.3       | 3.8-5.2       |
| Proteínas               | 0.6-1.1       | 0.2-1.1       |
| Grasa                   | 0.1-0.4       | 0.1-0.5       |
| Sales minerales         | 0.5-0.7       | 0.5-1.2       |
| Ácido láctico           | 0.1-0.2       | 0.2-1.2       |
| Cloruros                | 0.15-0.6      | 0.16-0.6      |
| Compuestos nitrogenados | 0.05-0.3      | 0.05-0.3      |
| Valor de p H            | 6.4           | 5.0           |

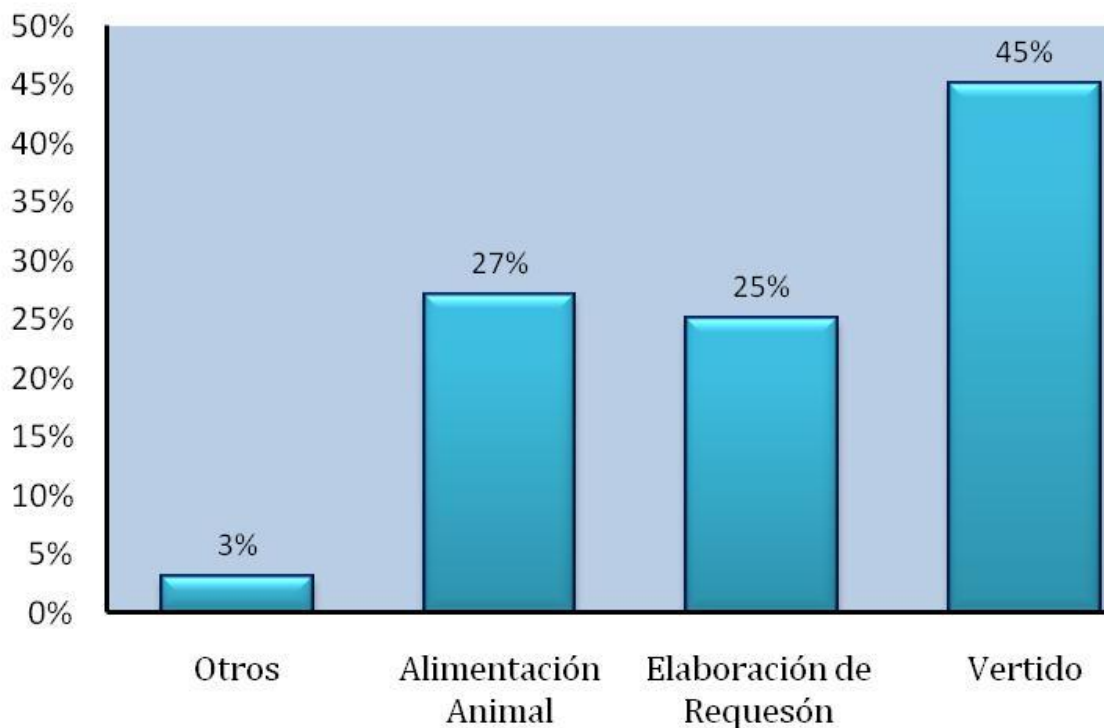
Por otra parte, la materia orgánica presente en el lactosuero, como son las proteínas y la lactosa, son fuentes esenciales para el crecimiento de microorganismos, lo cual lo hace un medio de cultivo idóneo para bacterias ácido lácticas, cuya proliferación aunada a la presencia de lactosuero constituyen una de las causas principales de contaminación del medio ambiente en la región.

Así mismo, debido a la composición físico-química del lactosuero se pueden obtener una amplia gama de productos derivados de su industrialización. Por ejemplo, la lactosa se puede transformar en glucosa y galactosa, mediante la fermentación del lactosuero, se pueden obtener las bacterias ácido lácticas y otros microorganismos utilizados en la propias queserías, ácido láctico, alcohol, ácido acético, ácido propiónico, enzimas (proteasas y pectinasa), penicilina, vitamina B<sub>2</sub> y B<sub>12</sub> aceite y proteína unicelular para alimento humano y de animales (García, 1999).



### 4.1.3 Disposición del lactosuero en la región

El Valle de Tulancingo es reconocido por la intensa actividad quesera, que contribuye al desarrollo económico de la zona; sin embargo, el lactosuero generado es uno de los residuos más contaminantes que existen en la industria láctea, especialmente cuando este no es aprovechado. Se estima que se producen alrededor de 500,000 L de lactosuero al día, de los cuales el 55 % es reutilizado para diversas actividades, entre las que cabe destacar: alimentación de ganado, elaboración de requesón y otros recursos; el resto es vertido sin tratar aproximadamente 210,000 L/día (Campos-Montiel, 2007).



**Figura 1.** Porcentaje de la disposición del lactosuero de leche en el valle de Tulancingo.

En la figura 1 podemos apreciar la cantidad de lactosuero que es vertido directamente al medio ambiente como son: ríos, drenajes, canales, y tierras de cultivo de la región; estimulando así la contaminación de agua y suelo; provocando con ello erosión y la

generación de focos de contaminación debido a la proliferación de bacterias patógenas (Campos-Montiel, 2007).

Desafortunadamente, los empresarios no han tomado conciencia del problema que se genera al verter el lactosuero, ya sea por desconocimiento del impacto ambiental que provoca o por falta de recursos económicos para implementar tecnologías modernas en los procesos de producción y de manejo de los residuos generados.

## **4.2 Estiércol**

### ***Definición de Estiércol***

Existen diversas definiciones de estiércol encontradas en la literatura algunas de ellas se describen a continuación. El estiércol es el producto que se obtiene de la fermentación anaeróbica de los residuos alimentarios, sucedida en el intestino de los rumiantes, por lo que es materia orgánica en descomposición, rica en muchos nutrientes que son importantes para el suelo (Joly, 1993). Y Uribe (2000) define al estiércol como desechos de materia orgánica rica en nutrientes, que es excretada por los animales y que son utilizados como abono. Además, los estiércoles son una fuente importante de nutrimentos vegetales; con un buen manejo se mejora su aprovechamiento, contribuyendo a incrementar el rendimiento y calidad de los productos agrícolas, así como a disminuir la contaminación ambiental (Capulín *et al.*, 2001).

La composición química del estiércol está determinada por la especie, la edad, la dieta y la digestibilidad del animal además del manejo que se le de al desecho (Cuadro 2). Por ejemplo, el estiércol de bovinos contiene aproximadamente 0.55 % de nitrógeno (N) y 0.25% de pentóxido de fosfato ( $P_2 O_5$ ) (Monroy y Viniegra, 1986). El manejo del estiércol conduce a pérdidas de nitrógeno por volatilización de éste y de otros nutrimentos.

**Cuadro 2.** Características químicas del estiércol de bovino

| Peso de los animales | Potasio % | Humedad % | Nitrógeno % | Fosforo % | Referencia         |
|----------------------|-----------|-----------|-------------|-----------|--------------------|
| 364                  | 0.54      | 68        | 1.0         | 0.18      | Loehr              |
| 454                  | 0.44      | 68        | 0.9         | 0.09      | Taiganides         |
| -                    | 0.14-0.28 | líquido   | 0.24-0.6    | 0.090.25  | Morris             |
| -                    | 0.13-0.92 | 0         | 0.3-1.3     | 0.15-0.5  | Baines             |
| -                    | 0.45      | 80        | 0.7         | 0.2       | Benne <i>et al</i> |
| 432                  |           | 85        | 0.5         |           | Hart               |

(Albin, 1971)

El estiércol es considerado un problema de contaminación ambiental; a pesar de lo cual no se le ha prestado la atención adecuada; éstos desechos son altamente contaminantes debido a que contienen materia orgánica, nutrientes y microorganismos que propician la disminución del oxígeno disponible y el incremento de amonio en el agua provocando la muerte de la vida acuática y amenazando la vida terrestre debido al consumo de agua por personas, animales y plantas (Simpson, 1998).

La cantidad de estiércol producido en el Valle de Tulancingo puede estimarse en términos de 14,372 cabezas de ganado, que producen 43,116 Kg de estiércol diariamente (3 Kg/día animal) cifra, que coloca al estiércol entre los residuos orgánicos producidos en mayor volumen (INEGI, 2006).

Además, el manejo de la gran cantidad de excretas originada por la explotación ganadera, se ha limitado al lavado de los corrales, que utiliza grandes cantidades de agua que finalmente son depositadas a efluentes que son vertidos directamente al medio ambiente. Situación a la que no se le ha prestado la atención debida, por tratarse de productos de desecho; por lo tanto, es importante encontrar formas para mejorar el manejo y aprovechamiento de los estiércoles, pudiendo contribuir con esto a incrementar el rendimiento y la calidad de los productos agrícolas, y reducir la contaminación ambiental (Hobson, 1990).

#### **4.2.1 El estiércol utilizado como abono**

Entre los usos más importantes que se le han dado al estiércol se encuentran el uso como abono orgánico, alimentación animal, fuente de energía y sólidos para cama de animales. El estiércol de bovino es considerado desde hace miles de años como abono orgánico para las tierras de cultivo. Las principales ventajas (Laird *et al.*, 1986) de este uso son:

- ♣ Mayor efecto residual
- ♣ Aumento en la capacidad de retención de humedad del suelo a través de su efecto sobre la estructura, la porosidad y la densidad aparente
- ♣ Formación de complejos orgánicos con los nutrientes manteniendo a estos en forma aprovechable para la planta
- ♣ Liberación del CO<sub>2</sub> que propicia la solubilización de nutrientes
- ♣ Abastecimiento de carbono orgánico como fuente de energía a la flora microbiana

El método y la forma de aplicación del estiércol son factores importantes a considerar para evitar pérdidas de nutrimentos -principalmente de N- y para mantener la mayor cantidad de esos elementos disponibles para el cultivo (Schmitt y Rehm, 1998).

#### **4.2.2 Manejo y aplicación del estiércol**

En México el método de tratamiento de estiércol más usado es, el secado al aire libre (Figura 2); en el cual el desecho es depositado en un terreno cercano al establo sin recibir ningún manejo para su composteo (Castellanos, 1984; Young *et al.*, 1985) requiriéndose de 8 a 12 meses o más para que se establezca mediante un proceso mixto aerobio-anaerobio.



**Figura 2.** Secado del estiércol

Este manejo es la principal razón por la que el estiércol causa graves problemas de contaminación ambiental, ya que genera una gran proliferación de moscas, se producen malos olores y una gran dispersión y suspensión de partículas finas en el aire, causando que algunos nutrientes se volatilicen (Schmitt y Rehm, 1998). El estiércol debe incorporarse al suelo lo más rápidamente posible mediante barbecho (Monroy y Viniegra, 1986). Así el aprovechamiento biotecnológico de los desperdicios o subproductos orgánicos ofrece alternativas atractivas para resolver algunos de los problemas como es la contaminación ambiental.

La digestión anaerobia, que consiste en la degradación de la materia orgánica presente en los residuos, es actualmente una tecnología adecuada para el tratamiento y estabilización de diferentes tipos de desechos, abarcando desde aguas residuales industriales, domésticas o urbanas, lodos generados en la depuración de las aguas y residuos sólidos. Como se ha mencionado anteriormente que el estiércol y el lactosuero son residuos contaminantes, en este trabajo se propone como alternativa la reutilización de éstos, en co-digestión, para la producción de un biosólido.

### **4.2.3 Efecto de los abonos orgánicos sobre la disponibilidad de nutrientes en el suelo.**

Uno de los efectos más importantes de los abonos orgánicos en el suelo es el suministro de nitrógeno aprovechable para la plantas. Sin embargo, la liberación de éste nutrimento sólo ocurre mediante una relación estrecha carbono/nitrógeno (C/N) del material utilizado. Vitosh, *et al.*, (1986) mencionan que el aprovechamiento del nitrógeno, fósforo y azufre contenidos en los abonos orgánicos, se hallan en cierta forma regulado por la relación de concentraciones de carbono y de éstos elementos en el material orgánico. Además de la aportación directa de nutrientes de la materia orgánica al suelo, ésta forma complejos con los nutrientes presentes en el suelo ó adicionados como fertilizantes manteniéndolos en forma aprovechable (Monroy y Viniegra 1986).

Los efectos benéficos generales de la adición de abonos orgánicos al suelo se traducen en una elevación de los rendimientos que muchas veces no se logra con los fertilizantes químicos. Por otra parte, el efecto benéfico de las estercoladuras sobre el rendimiento de las cosechas puede prolongarse por muchos años después de su aplicación al suelo.

### **4.3 Biosólidos**

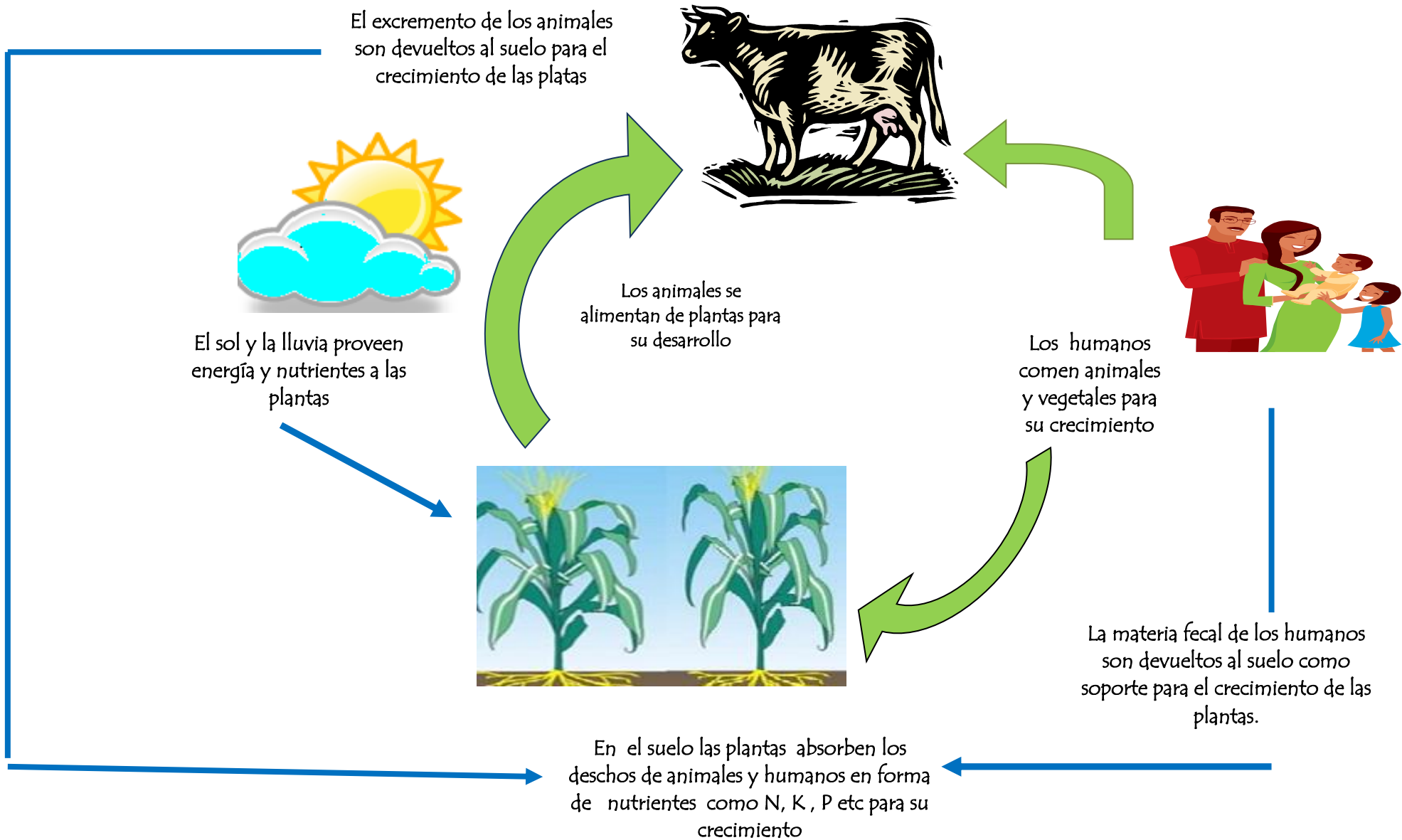
Las cosechas que suministran nuestra comida y la de los animales crecen en el suelo; para cultivarlas se necesitan fertilizantes y agua principalmente. El fertilizante proporciona los nutrientes esenciales, como carbono, oxígeno, fósforo, potasio, nitrógeno, azufre, calcio, hierro, magnesio, molibdeno, boro, cobre, y zinc. Las plantas recogen estos nutrientes que son necesarios para su desarrollo normal y aprovechando la luz del sol, las plantas fabrican comestibles orgánicos ricos en carbono, carbohidratos, grasas, y proteínas. Los mismos nutrientes que son esenciales para el crecimiento de las plantas también son fundamentales para el desarrollo de los humanos y de los animales. Parece simplemente natural, regresar esta rica fuente de nutrientes y materia orgánica de nuevo al suelo para perpetuar el ciclo de vida (Figura 3). Como los desechos de animales, son parte del ciclo natural de la vida estos contienen materia orgánica e inorgánica (Gervin, 2005).

### ***Definición de biosólidos***

En la actualidad muchos de los desechos que entran al alcantarillado municipal junto con otros residuos domésticos son recolectados junto con las aguas residuales de fuentes industriales o comerciales, son tratadas para su estabilización dando origen a lodos (biosólidos), los cuales pueden ser usados en tierras agrícolas, ya que son una fuente natural reciclable. Los biosólidos propiamente preparados ó estabilizados proveen una rica fuente de los elementos nutrimentales para las plantas o suelos que necesitan una recuperación (Vélez, 2007). La estabilización se realiza para reducir su nivel de patogenicidad, su poder de fermentación y su capacidad de atracción de vectores gracias a este proceso, el biosólido tiene aptitud para utilización agrícola, forestal, y recuperación de suelos degradados (Serrato, 2002). Los biosólidos después de darles tratamiento y procesarlos, pueden reciclarse y aplicarse como fertilizante para mejorar y conservar los suelos productivos y estimular el crecimiento de las plantas. La aplicación controlada de biosólidos a la tierra completa un ciclo natural en el medio ambiente (Vélez, 2007).

Por otra parte Figueroa *et al*, (2002) definen a los biosólidos como materiales de desecho, sólidos o semisólidos, oscuros con alto contenido de materias orgánicas y nutrientes que pueden ser utilizados como abono en suelos muy deteriorados para abastecerlos de nutrientes y para renovar la materia orgánica del terreno.

La producción de biosólidos a partir del tratamiento de aguas residuales no es nueva en el mundo; se conocen reportes desde el siglo XIX y ya en 1920 existían opciones comerciales a partir de la transformación de los biosólidos en fertilizantes agrícolas (Gervin, 2005).



**Figura 3.** Ciclo Natural de los Nutrientes



#### **4.3.1 Beneficios de los biosólidos**

Los biosólidos mejoran las características del suelo, tales como la textura y la capacidad de absorción de agua, brindando así condiciones favorables para el crecimiento de las raíces e incrementan la tolerancia de la vegetación a la sequía (Simpson, 1998). Además los biosólidos pueden servir como una alternativa o sustituto de los costosos fertilizantes químicos. Los nutrientes contenidos en los biosólidos ofrecen diversas ventajas en comparación con los fertilizantes inorgánicos debido a que son orgánicos. Estas formas orgánicas de nutrientes son menos solubles en agua, por lo tanto, tienen una menor probabilidad de lixiviarse al agua subterránea o ser arrastrados a las aguas superficiales (Smith, 1996).

Se desconoce la cantidad exacta de biosólidos generados en México: no obstante, algunas estimaciones en 1994 reportan cifras de 100,000 Ton. para la región centro del país, pero otras consideran una generación de 12 millones de Ton. al año. Se estima que la generación de biosólidos en México alcanzará aproximadamente 850,000 Ton. de materia seca por año (Uribe, 2000).

#### **4.3.2 Alternativas de aprovechamiento de los Biosólidos**

En la agricultura moderna es absolutamente necesario el uso de agroquímicos para mantener altos rendimientos en los cultivos, pero algunas desventajas que presentan los fertilizantes es que alteran las propiedades químicas y biológicas del suelo; asimismo, los fertilizantes nitrogenados propician la lixiviación de nitratos que contaminan los acuíferos (Medina y Cano, 2001).

Las alternativas de aprovechamiento de biosólidos son las siguientes:

- Agrícola y pecuario
- Silvicultura (plantaciones forestales, viveros)
- Recuperación de suelos degradados
- Adecuación de zonas verdes (separadores viales, parques)
- Elaboración de abonos y enmiendas

- ✱ Cobertura intermedia o final de rellenos sanitarios
- ✱ Biorremediación de suelos contaminados

#### 4.3.3 Aplicación de los biosólidos en explotaciones agrícolas y forestales

Existen diversos métodos para la aplicación de biosólidos al terreno, la selección del método depende del tipo de terreno y del estado físico de los biosólidos. Los biosólidos líquidos contienen esencialmente del 94 al 97 % de agua y cantidades de sólidos relativamente bajas (del 3 al 6 %). Éstos se pueden inyectar al suelo, o pueden ser aplicados a la superficie del terreno. Para la inyección de biosólidos al suelo se utilizan vehículos especializados, tal como se muestra en la figura 4, que tienen mangueras que salen del tanque de almacenamiento hacia las toberas de inyección, donde se liberan los biosólidos (U.S. EPA, 1995).



**Figura 4.** Equipo de inyección de biosólidos

Para la aplicación superficial, los biosólidos son depositados en la superficie del terreno, (Figura 5) generalmente se incorporan al suelo utilizando equipos agrícolas convencionales. Los biosólidos líquidos se rocían desde un tanque remolcado por un camión u otro vehículo. (U.S. EPA, 1995). La figura 6 muestra el rocío de los biosólidos,

un método de aplicación utilizado principalmente en bosques o en zonas que requieren de actividades de recuperación.



**Figura 5.** Aplicación de biosólidos líquidos

Mientras que los biosólidos deshidratados no requieren de ningún tipo de equipo especializado y se pueden aplicar con la ayuda de los equipos agrícolas convencionales, tales como los esparcidores de estiércol operados con tractores.



**Figura 6.** Aplicación de biosólidos líquidos en el bosque

El reciclamiento de los biosólidos es benéfico para el medio ambiente. La materia orgánica se ha reciclado desde hace siglos para mejorar la fertilidad y productividad de la tierra. Cuando se aplican y manejan adecuadamente, los biosólidos proporcionan nutrientes esenciales a las plantas (Uribe, 2000)

#### **4.3.4 Los biosólidos no presentan peligros**

**A)** Décadas de estudios han demostrado que los biosólidos pueden usarse sin peligro en los cultivos alimenticios. La United State Environmental Protection Agency (EPA) revisó las prácticas actuales, las preocupaciones por la salud pública y las normas de regulación, y concluyó que "el uso de estos materiales en la producción de cosechas para consumo humano cuando se practican de acuerdo con los lineamientos y reglamentaciones federales existentes, presentan muy pocos riesgos para el consumidor, la producción de cultivos y el medio ambiente".

**B)** En la Norma 503 de la Agencia de Protección Ambiental, Estándares (EPA) para la Aplicación y Disposición de Lodos de Aguas Residuales (*40 CFR Part 503 Rule: Standards for the Use and Disposal of Sewage Sludge*), se requiere que los sólidos de las aguas residuales sean procesados antes de ser aplicados o incorporados al terreno. Este proceso, denominado "estabilización", ayuda a minimizar la generación de olores, destruir los agentes patógenos (organismos causantes de diversas enfermedades), y reducir las probabilidades de atracción de vectores.

**C)** Existen diversos métodos para la estabilización como:

- ♣ El ajuste del pH, o la estabilización alcalina.
- ♣ La digestión anaerobia
- ♣ El compostaje
- ♣ El secado térmico

De acuerdo a esta norma se definen dos tipos de biosólidos con respecto a la reducción de agentes patógenos; Clase A y Clase B, dependiendo del tipo de tratamiento que los sólidos hayan recibido; y ambas clases son adecuados para la aplicación al suelo.

**D)** Los biosólidos de la Clase A son aquellos tratados de tal manera que no contengan agentes patógenos a niveles detectables principalmente coliformes fecales (NMP/g < 1000). Los biosólidos de clase A, pueden ser usados sin ninguna restricción en cultivos de consumo directo. Los biosólidos de la clase B se obtienen por medio de la digestión anaerobia, mediante este proceso se reduce la capacidad de fermentación, atracción de vectores y patogenicidad de los lodos generados en las plantas de tratamiento de aguas residuales y de la fracción orgánica presente en los residuos sólidos (U.S. EPA 2000). Sin embargo contienen niveles detectables de agentes patógenos, de tal modo que solo pueden ser usados en recuperación de suelos, plantaciones forestales, cultivos que no se consuman directamente como el maíz, sorgo, alfalfa, avena etc, y cobertura de rellenos sanitarios; sin embargo, las concentraciones de indicadores de contaminación fecal limitan su aprovechamiento por un tiempo en cultivos agrícolas de consumo directo como las hortalizas.

#### **4.4 Digestión anaerobia**

El proceso anaerobio ocurre de forma espontánea en la naturaleza para degradar la materia orgánica, produciendo, por ejemplo: el gas de los pantanos, el gas natural de yacimientos subterráneos o incluso el gas metabólico producido en el estómago de los rumiantes. Hasta mediados del siglo XIX no se tuvo certeza de la participación de organismos vivos unicelulares en el proceso, siendo Beauchamp, en 1868, quién estableció la presencia de microorganismos en los procesos de producción de metano. Dalton, en 1804, estableció la composición química del metano (CH<sub>4</sub>). Pasteur descubrió que mediante la temperatura se podía favorecer el desarrollo de los microorganismos más interesantes. Propoff, en 1875, descubrió que la formación de biogás sólo se producía en condiciones anaerobias.

A partir de la década de los 60, se impulsó notablemente la tecnología de producción de biogás a partir de estiércol bovino con el doble objetivo del aprovechamiento energético y uso como fertilizante. Algunos países industrializados han creado importantes programas de desarrollo de plantas anaerobias a escala industrial, teniendo como objetivos principales la gestión de residuos principalmente ganaderos, la estabilización y sanitización de los mismos, y el fomento de las energías renovables para disminuir la emisión neta de gases de efecto invernadero (Angelidaki y Ahring, 1997).

### ***Definición de digestión anaerobia***

La digestión anaerobia es un proceso biológico degradativo llevado a cabo por un consorcio de bacterias que son sensibles o completamente inhibidas por el oxígeno, en el cual parte de los materiales orgánicos de un sustrato son convertidos en biogás, una mezcla de dióxido de carbono y metano con trazas de otros elementos (Muñoz- Valero *et al.*, 1987). Por su parte, Metcalf y Eddy (1996) definen a la digestión anaeróbica como el proceso por el cual la materia orgánica, en ausencia de oxígeno, se convierte en metano (CH<sub>4</sub>) y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Como resultado, se obtiene biogás y un biosólido estable y de bajo contenido de materia orgánica y microorganismos patógenos.

Utilizando el proceso de digestión anaerobia es posible convertir gran cantidad de residuos: residuos vegetales, estiércoles, efluentes de la industria alimentaria, fermentativa, papelera y química, en subproductos útiles. En la digestión anaerobia más del 90% de la energía disponible por oxidación directa se transforma en metano, consumiéndose sólo un 10% de la energía en crecimiento bacteriano frente al 50% consumido en un sistema aerobio (Muñoz - Valero *et al.*, 1987).

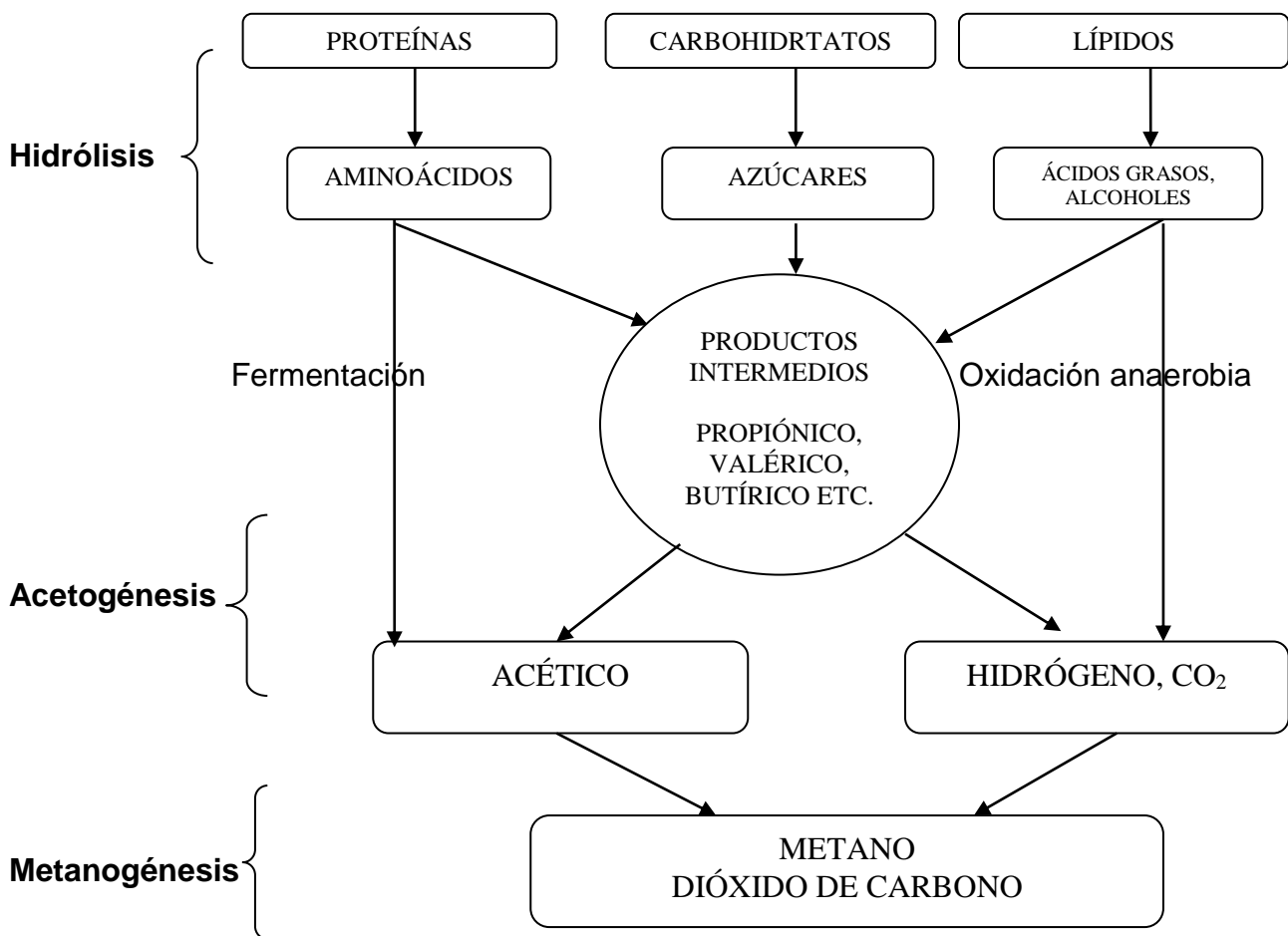
#### **4.4.1 Proceso microbiológico y bioquímico de la digestión anaerobia.**

Los modelos tradicionales de la digestión anaerobia dividen las reacciones que ocurren durante el proceso de degradación de la materia orgánica en varias fases, llevadas a cabo por diferentes grupos de bacterias relacionados entre ellos. De hecho, muchas de estas reacciones ocurren simultáneamente sin una separación clara de fases. En la figura 7 se

muestra el esquema de las diferentes fases de la digestión anaerobia y los compuestos intermediarios.

La primera fase es la hidrólisis y acidogénesis de partículas, moléculas complejas que son hidrolizadas por enzimas extracelulares, la segunda fase es acetogénica y finalmente ocurre la fase metanogénica, que se describen en los siguientes párrafos.

Los principales nutrientes del sistema anaerobio son: nitrógeno, sulfuro, fósforo, hierro, cobalto, níquel, molibdeno, selenio, riboflavina y vitamina B<sub>12</sub> (Speece, 1987).



**Figura 7.** Esquema de reacciones de la digestión anaerobia (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).

#### 4.4.2 Primera fase: Hidrólisis

La materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos a menos que se hidrolicen en compuestos solubles, que puedan atravesar la membrana celular. La hidrólisis es, por lo tanto, el primer paso necesario para la degradación anaerobia de substratos orgánicos complejos. La hidrólisis de estas partículas orgánicas es llevada a cabo por enzimas extracelulares excretadas por las bacterias fermentativas. El grado de hidrólisis y la velocidad del proceso depende de muchos factores, entre otros del pH, de la temperatura, el tipo de materia orgánica y del tamaño de partícula (Hills y Nakano, 1984). Cualquier sustrato se compone de los tres tipos básicos de macromoléculas: hidratos de carbono, proteínas y lípidos. La hidrólisis de cada tipo de compuesto se realiza por diferentes grupos enzimáticos.

Uno de los principales componentes de la materia orgánica, sobre todo en residuos ganaderos, son los materiales lignocelulósicos, compuestos principalmente por lignina, celulosa y hemicelulosa. La lignina es un material altamente refractario a la degradación anaerobia, afectando también a la biodegradabilidad de la celulosa, de la hemicelulosa y de otros polímeros, convirtiéndose su degradación en el proceso limitante de la velocidad de la hidrólisis y por tanto, de la degradación anaerobia de determinados substratos (Sleat y Mah, 1987; Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991; Veeken y Hamelers, 1999). Si se logra salvar este obstáculo; los celulósicos son degradados fácilmente, generando los siguientes productos; celobiosa y glucosa a partir de celulosa y pentosas, hexosas y ácidos urónicos provenientes de hemicelulosa.

Por otra parte, las proteínas son hidrolizadas por proteasas en peptonas, péptidos y aminoácidos. Los aminoácidos producidos son degradados a ácidos grasos volátiles, dióxido de carbono, hidrógeno, amonio y sulfuro reducido. Generalmente la tasa de hidrólisis de proteínas es menor que la de los carbohidratos (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). Y la degradación de lípidos en ambientes anaerobios consiste en una ruptura inicial de las grasas por un grupo de enzimas hidrolíticas (lipasas) en los correspondientes ácidos grasos de cadena larga y moléculas de glicerol. Una molécula de



fosfolípidos produce un equivalente de ácido fosfórico, uno de glicerol y dos de ácidos grasos (Pavlostathis y Giraldo- Gómez, 1991).

### ***Etapas fermentativa o acidogénica***

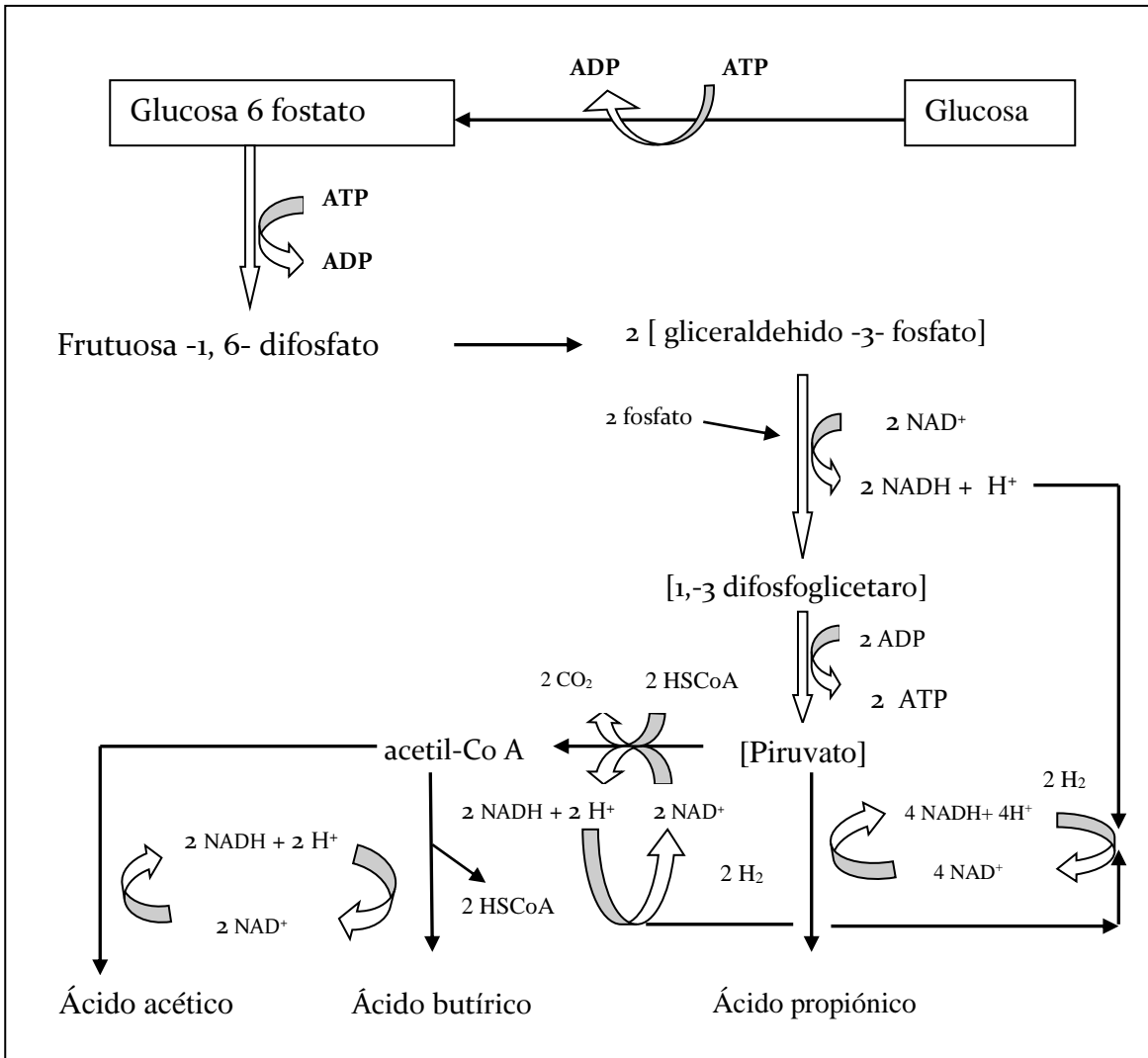
Las moléculas orgánicas solubles son fermentadas por varios organismos fermentativos formando compuestos que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas (acético, fórmico, H<sub>2</sub>) y compuestos orgánicos más reducidos (láctico, etanol, propiónico y butírico principalmente) que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas a substratos que puedan utilizar las metanogénicas (Stams, 1994).

### ***Fermentación de carbohidratos***

La ruta de degradación de la glucosa en los sistemas anaerobios proporciona como principales productos ácidos grasos volátiles, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. La principal ruta metabólica de degradación de glucosa para formar ácidos orgánicos es la de Embden-Meyerhof, (Figura 8), que tiene como principal intermediario el piruvato, se desdobra a Acetil-CoA y CO<sub>2</sub> (Nelson y Cox, 2001). La fermentación de azúcares se realiza por diversos tipos de microorganismos, siguiendo diferentes rutas metabólicas, en función del organismo responsable, y obteniendo productos finales diferentes. Los principales microorganismos son los que producen butírico o butanol, básicamente del género *Clostridium*, que convierten la glucosa y algunos aminoácidos en ácido butírico, acético, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> (Madigan *et al.*, 1998).

### ***Fermentación de aminoácidos***

Los principales productos de la fermentación de aminoácidos y de otras moléculas nitrogenadas son ácido graso de cadena corta, succínico, aminoaléico y H<sub>2</sub>. La fermentación de aminoácidos se considera un proceso rápido y que en general, no limita la velocidad de la degradación de compuestos proteicos (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). Algunos organismos del género *Clostridium* pueden fermentar aminoácidos. Los productos finales de la oxidación son NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> (Madigan *et al.*, 1998).



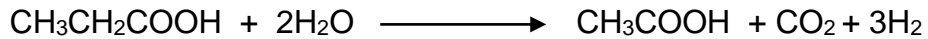
**Figura 8.** Simplificación de las rutas metabólicas de degradación de la glucosa por las bacterias acidogénicas (Mosey, 1993).

### Oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga (Acetogénesis de AGCL).

La ruta principal de degradación de AGCL es la  $\beta$ -oxidación. Los ácidos grasos libres son introducidos en la célula a través de la pared celular. Este proceso puede ser desarrollado por un gran número de microorganismos, la  $\beta$ -oxidación es un ciclo en espiral que va liberando un acetil-CoA, produciendo principalmente, ácido acético.

#### 4.4.3 Segunda fase: Acetogénica.

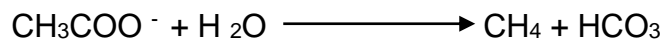
Durante la acetogénesis, etapa que se puede describir como una deshidrogenación acetogénica, los productos generados en la primera etapa hidrolítica son fermentados a acetato, bióxido de carbono e hidrógeno, productos precursores del metano de la siguiente forma;



Los principales sustratos utilizados son los alcoholes y los ácidos grasos volátiles como el propionato y butirato. La acetogénesis es una etapa crítica, puesto que con ella se evita la acumulación de ácidos grasos volátiles, los cuales en concentraciones altas, pueden inhibir la metanogénesis. Los procesos acetogénicos son energéticamente difíciles, por lo que necesitan ser "ayudados" por los organismos metanogénicos u otros organismos consumidores de hidrógeno, un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados *homoacetogénicos*, que consumen  $\text{H}_2$  y  $\text{CO}_2$ , y producen acetato, los principales exponentes son *Acetobacterium woodii* o *Clostridium aceticum*.

#### 4.4.4 Tercera Fase: Metanogénica.

La metanogénesis corresponde a la parte final de la digestión anaerobia de la materia orgánica, los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano, bióxido de carbono con trazas de otros gases (sulfuros de hidrógeno, amonio, nitrógeno, y aminos) como se muestra en la siguiente ecuación:



En ésta última etapa las bacterias metanogénicas (anaerobias estrictas) son esenciales para este tipo de digestión, por ser los únicos microorganismos que pueden catabolizar anaerobiamente al ácido acético e hidrógeno para dar productos gaseosos en ausencia de energía lumínica y oxígeno (Zehnder *et al.*, 1998; Mosey, 1983; Cuervo, 1995). Los organismos metanogénicos se clasifican dentro del dominio *Archaea*, y, morfológicamente,

pueden ser bacilos cortos y largos, cocos en forma de Y, células en forma de placas y metanógenos filamentosos, existiendo tanto Gram positivos como Gram negativos (Madigan *et al.*, 1998). Para una óptima reacción, el pH del medio debe estar entre 6.6 y 7.6.

#### **4.4.5 Digestión anaerobia del lactosuero.**

De acuerdo con Metcalf y Heddy (1996), la digestión anaerobia es aplicable a toda materia orgánica que esté disuelta o suspendida en un medio líquido; siendo el lactosuero un residuo en cuya composición encontramos concentraciones de lactosa (que es un disacárido constituido por una molécula de glucosa y otra de galactosa unidas entre sí mediante un enlace  $\beta$  - 1,4), proteínas y grasas principalmente. En la fase de hidrólisis, los enlaces covalentes glucosídicos de la lactosa del suero se rompen mediante la disociación de una molécula de agua (Bernal y Jelen, 1989). El hidrógeno del agua se une al oxígeno del extremo de un carbono anomérico de la molécula de glucosa liberando un grupo OH<sup>-</sup> del aldehído; el OH<sup>-</sup> se une al carbono libre del residuo de galactosa, el resultado de ésta reacción es la liberación de la D-glucosa y D- galactosa (Yang y Silva, 1995). En éste proceso biológico intervienen microorganismos quienes logran degradar la lactosa en presencia del NADH siguiendo la ruta metabólica de Embden Meyerhoff convirtiéndola en piruvato. Por medio de la glucólisis anaerobia se obtienen ácidos como el acético, propiónico, butírico y finalmente metano y bióxido de carbono (Cuervo, 1995).

En las fermentaciones ácido lácticas se pueden distinguir cuatro tipos principales de enzimas (Cuadro 3), éstas actúan en las diferentes fases en las bacterias para degradar en su totalidad a la lactosa por vía anaerobia (Bernal y Jelen, 1989) y (Torres, 1999).

**Cuadro 3.** Enzimas que intervienen en la digestión anaerobia de la lactosa.

| <b>Enzimas Hidrolasas</b>  | <b>Producto generado</b>               |
|----------------------------|--|
| 1. Lactasa                 | D-glucosa + D-galactosa ( $\beta$ 1-4) |
| 2. $\beta$ -galactoquinasa | Galactosa 1-P                          |
| 3. Hexoquinasa             | Glucosa 6-P                            |
| 4. Fosfoglutamasa          | Glucosa 6-P                            |

Fuente: Cuervo, 1995; Nelson y Cox, 2001.

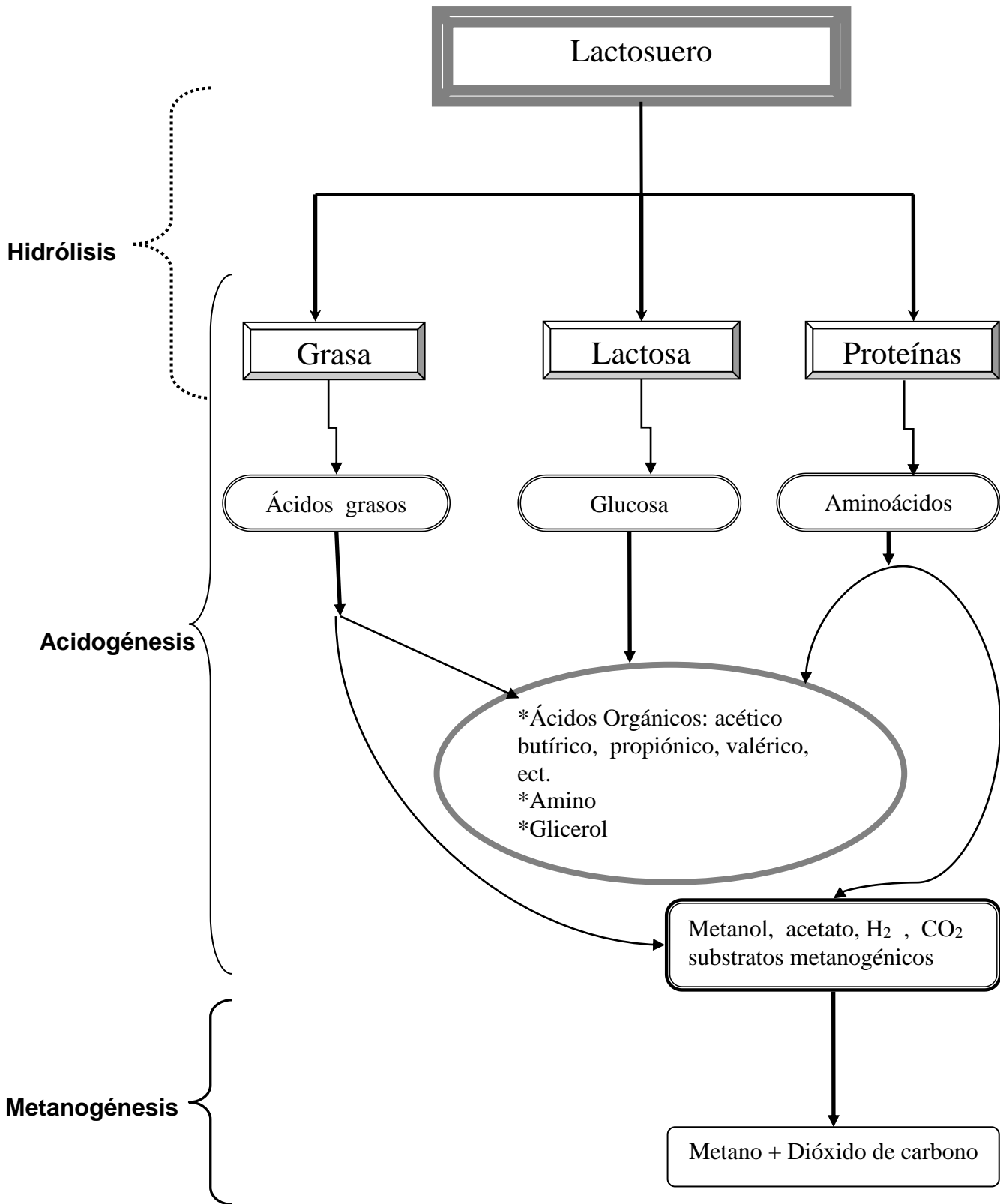
De los microorganismos responsables de la degradación de lactosa, se ha encontrado específicamente que la microflora bacteriana asociada a biometanación (Chartrain y Zeikus, 1986; Cuervo, 1995) son las que aparecen en el cuadro 4.

**Cuadro 4.** Grupo de bacterias implicadas en la digestión anaerobia de lactosa.

| <b>Grupo Bacteriano</b> | <b>Especie</b>                   | <b>Producto Generado</b>   |
|-------------------------|----------------------------------|--|
| Hidrolíticas            | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> | Lactato, acetato, etanol, hidrógeno, bióxido de carbono                    |
|                         | <i>Clostridium butyricum</i>     | Lactato, acetato, etanol, hidrógeno, butirato, bióxido de carbono          |
|                         | <i>Klebsiella oxitoca</i>        | Lactato, acetato, etanol, hidrógeno, formiato, acetoina bióxido de carbono |
|                         |                                  |  |
| Acetogénicas            | <i>Clostridium propionicum</i>   | Acetato, propionato, hidrógeno bióxido de carbono                          |
|                         | <i>Desulfovibrio vulgaris</i>    | Acetato, etanol, hidrógeno, bióxido de carbono, ácido sulfhídrico          |
| Metanogénicas           | <i>Methanobacterium Formicum</i> | Metano   |
|                         | <i>Methanosarcina barkeri</i>    |  |
|                         | <i>Mathanothrix soehngenii</i>   |  |
|                         |                                  |  |

Fuente: Chartrain y Zeikus, 1986; Cuervo, 1995.

La degradación de los componentes orgánicos del lactosuero como proteínas, carbohidratos, grasas son sintetizados como se muestra en la figura 9; sin embargo, los microorganismos tienden a consumir en primera instancia las fuentes de carbono (lactosa).



**Figura 9.** Digestión anaerobia por fases del Lactosuero (Harper y Blaisdell 1971).

Una vez consumido los hidratos de carbono las bacterias presentes degradan las proteínas solubles y finalmente las grasas que en la mayoría de los procesos anaerobios son los últimos en degradar (Méndez *et al.*, 1989).

#### **4.5 Antecedentes**

La aplicación tradicional del proceso anaerobio en el campo de los residuos sólidos ha sido la digestión de los fangos producidos en las plantas de tratamiento de aguas residuales. En los últimos años el sector de la digestión en la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) con objetivo energético de producción de biogás, o ambiental de minimización y valorización del residuo final, está experimentando un crecimiento espectacular (Gervin 2005). Como ya se ha mencionado que la digestión anaeróbica es el proceso por el cual la materia orgánica, en ausencia de oxígeno, se convierte en metano y bióxido de carbono. Como resultado se obtiene biogás y un biosólido estable de bajo contenido de materia orgánica y patógenos (Metcalf y Eddy, 1996). Por lo que diversos autores han investigado y experimentando la co-digestión de diversos residuos bajo condiciones anaerobias.

#### **Tipo de residuos**

Capela *et al.* (2008), en su investigación “Impact of industrial sludge and cattle manure on anaerobic digestion of the OFMSW under mesophilic conditions” utilizó fracciones de desechos orgánicos provenientes del municipio Aveiro, Portugal en co-digestión con estiércol de vaca y lodos industriales a diferentes concentraciones teniendo 14 tratamientos en biorreactores por lote durante 65 días de operación.

Panyue *et al.*, (2007), en su experimento utilizó biosólidos estables, tomados de una planta de tratamiento de aguas residuales del municipio de Changsha, China en co-digestión anaerobia con fracciones orgánicas de residuos de arroz y residuos de vegetales. Se utilizaron tres reactores, uno que consistió en el testigo que fue solo del biosólido estable y los dos reactores restantes que fueron suministrados a diferentes concentraciones de los

tres residuos haciendo uso de biorreactores por lotes. Dicho experimento tuvo una duración de 40 días.

Maritza *et al.*, (2008), determinó el efecto de la co-digestión anaerobia de estiércol de vaca con residuos de las fracciones orgánicas municipales y residuos de algodón usando un sistema de digestión anaerobia a escala piloto de dos fases.

Se mezcló el estiércol con residuos de fracción orgánica municipales y estiércol con residuos de algodón. El tiempo de digestión duro 150 días. Lehtomäki *et al.*, (2007), en su investigación sobre la co-digestión del estiércol con diferentes residuos de cultivos (melaza de azúcar, avena y ensilaje de pasto) y estiércol solo utilizándolo como testigo para comparar a los demás tratamientos.

Utilizó 4 reactores de tanques agitados continuamente. El tiempo de la digestión duró 190 días.

### **Ácidos orgánicos y pH**

Capela *et a.*, (2008), obtuvieron en los primeros 10 días de digestión, la mayor concentración de ácidos orgánicos en todos los tratamientos como acético, propiónico, n-butírico. La concentración más elevada fue de 8,500 a 10,500 mg/L de ácido acético, con un pH más bajo que fue de 6.5. Al término de la digestión anaerobia el nivel de pH aumentó en todos los tratamientos en promedio 8.2 y la reducción gradual de los ácidos orgánicos en todos los tratamientos fue del 65 %.

Panyue *et al.*, (2007), al inicio de la digestión los biorreactores mostraron un pH promedio de 5 y una concentración de ácidos orgánicos de 3,000 a 4,000 mg/L en los primeros 10 días de la digestión y éstos mismos se fueron degradando paulatinamente a lo largo de la digestión. Para el reactor 1 (biosólido) su concentración fue de 500 mg/L y para los reactores 2 y 3 (estiércol, desechos arroz y residuos vegetales) fue de 1500 mg/L y el pH final de los tres reactores fue de 8.1 los 40 días de la digestión.

Maritza *et al.*, (2008), el pH inicial de el reactor 1 (estiércol y residuos orgánicos municipales) fue de 6.3 y el pH del reactor 2 (estiércol con residuos de algodón) fue de 5.7, presentando los dos reactores pH ácidos. La concentración inicial de ácidos



orgánicos en el reactor 1 fue de 5,100 mg/L y en el reactor 2 se presentó de 13,500 mg/L al inicio de la digestión anaerobia. Al final del proceso el reactor 1 disminuyó su pH a 6, en cambio, el del reactor 2 fue de 7.

Lehtomäki *et al.*, (2007) al final de la digestión de los 4 tratamientos obtuvo una concentración de nitrógeno total ( $N_T$ ) para el testigo (estiércol) 2.0  $N_T$  con un pH de 7.5, en el reactor dos (estiércol con melaza de azúcar) 1.7  $N_T$  y un pH de 7.3, en el reactor tres (estiércol con ensilaje de pasto) 2.3  $N_T$  y un pH final de 7.6 y por último el reactor cuarto (estiércol con residuos de avena) 7.6 de pH y 2.0 de nitrógeno total.

### **Sólidos totales y volátiles**

Capela *et al.*, (2008), al inicio de la co-digestión cada biorreactor contenía el 5 % de de sólidos totales y la eliminación de los sólidos volátiles en los reactores varió de un 45% a un 58% de sólidos volátiles. Panyue *et al* (2007), muestra que al final de la digestión anaerobia el 30% de los sólidos totales fue eliminado y el 65% de los sólidos volátiles se redujeron en los 3 tratamientos por igual. Mientras que Maritza *et al.*, (2008), al inicio de la digestión determinó que la concentración inicial de los sólidos volátiles en el reactor que contenía estiércol y residuos orgánicos municipales fue de 81% y en el reactor 2 que era de estiércol con residuo de algodón obtuvo el 87%.

## **4.6 Fundamentos de los métodos analíticos para la medición de variables**

### ***Carbohidratos totales (método antrona)***

La cuantificación de azúcares totales, se puede efectuar a través del método colorimétrico conocido como Antrona, el cual se basa en la condensación de Antronol que este reacciona con el ácido sulfúrico creando un derivado heterocíclico de los azúcares solubles, como el furfural para las pentosas y 5-hidroximetil furfural para las hexosas. Estos compuestos de coloración azul verdosa se pueden cuantificar directamente midiendo su absorbancia entre 580 y 625 nm (Trevelyan y Harrison, 1952).

### **Ácidos orgánicos (electroforesis capilar)**

El fundamento de la electroforesis capilar es un método de separación de los iones; que se realiza en el equipo de electroforesis capilar, consta de un capilar de sílice fundida, que se encuentra dentro de un cartucho a temperatura controlada, con una longitud de inyección a detección de 40 cm, con una presión de nitrógeno en el capilar. La lectura del detector UV se realizó a 214 nm. La muestra se inyecta en el capilar por medio de presión, vacío o voltaje. La aplicación de voltaje durante la separación hace que los componentes de la muestra emigren por el capilar a distintas velocidades (manual de usuario Beckman Coulter).

Los iones negativos tienden a migrar hacia el voltaje más alto y los iones positivos hacia el más bajo, sin importar que se encuentren en solución o en forma de gas. Las zonas de componentes de muestra separados pasan de este modo en distintos momentos por la ventanilla de detección del capilar. La señal es entonces proyectada gráficamente en forma de electroferograma. La electroforesis capilar separa los iones según sus diferentes relaciones de carga con respecto al tamaño para la determinación de ácidos orgánicos láctico, butírico, acético (Arellano, *et al.*, 2000).

### **Proteína por el método de lowry**

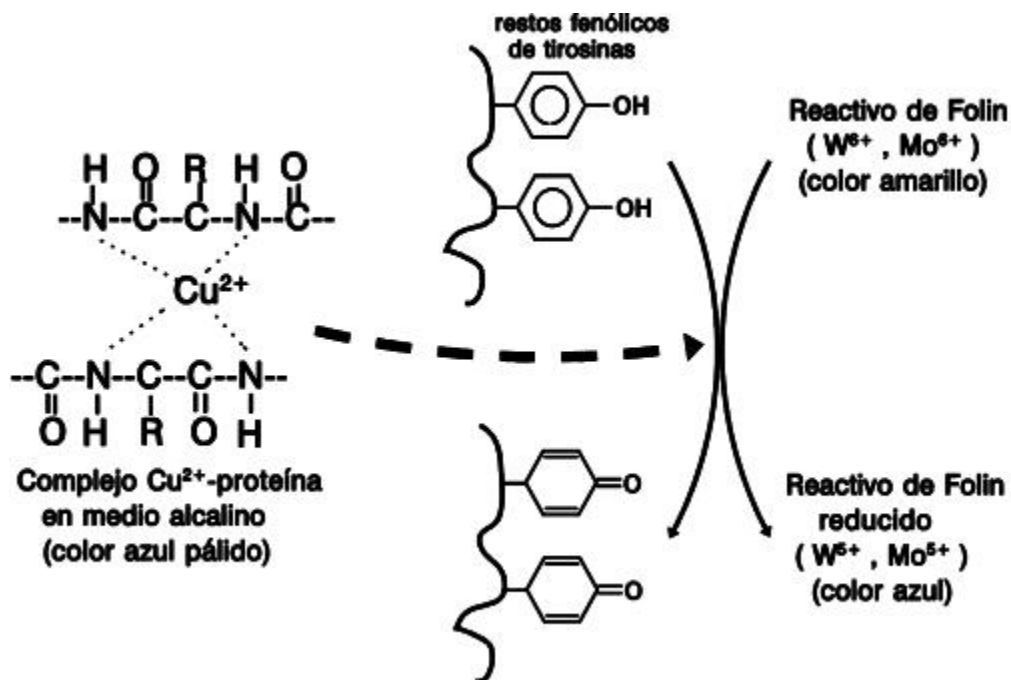
El método de Lowry es un método colorímetro de valoración cuantitativa de las proteínas. A las muestras se añade un reactivo que forma un complejo coloreado con las proteínas, siendo la intensidad de color de la disolución resultante proporcional a la concentración de proteínas, según la ley de Lambert-Beer.

Este método consta de dos etapas:

- 1) Los iones  $\text{Cu}^{2+}$ , en medio alcalino, se unen a las proteínas formando complejos con los átomos de nitrógeno de los enlaces peptídicos. Estos complejos  $\text{Cu}^{2+}$ -proteína tienen un color azul claro. Además, provocan el desdoblamiento de la estructura tridimensional

de la proteína, exponiéndose los residuos de tirosina que van a participar en la segunda etapa de la reacción. El  $\text{Cu}^{2+}$  se mantiene en solución alcalina en forma de su complejo con tartrato.

- 2) La reducción, también en medio básico, del reactivo de Folin-Ciocalteu por los grupos fenólicos de los residuos de tirosina presentes en la mayoría de las proteínas, actuando el cobre como catalizador. El principal constituyente del reactivo de Folin-Ciocalteu es el ácido fosfomolibdotúngstico, de color amarillo, que al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso.



**Figura 10.** Reducción del reactivo de Folin en presencia de proteína en medio alcalino

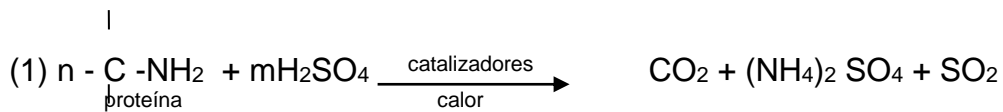
### ***Nitrógeno total por el método de Kjeldahl***

En 1883 el investigador danés Johann Kjeldahl desarrolló el proceso básico del conocido método actual de análisis de proteínas por el método Kjeldahl, más propiamente, para analizar nitrógeno orgánico. En esta técnica se basa en la descomposición de los compuestos de nitrógeno orgánico por ebullición con ácido sulfúrico. El hidrógeno y el

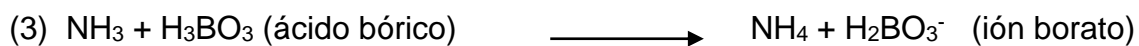
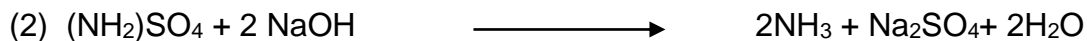
carbono de la materia orgánica se oxida para formar agua y bióxido de carbono. El ácido sulfúrico se transforma en sulfato, el cual reduce el material nitrogenado a sulfato de amonio. El amoníaco se libera después de la adición de hidróxido de sodio y se destila recibiendo en una solución al 2 % de ácido bórico. Se titula el nitrógeno amoniacal con una solución valorada de ácido, cuya normalidad depende de la cantidad de nitrógeno que contenga la muestra.

Reacciones llevadas a cabo en el método de Kjeldahl

### DIGESTIÓN



### NEUTRALIZACIÓN Y DESTILACIÓN



### TITULACIÓN

El anión borato (proporcional a la cantidad de nitrógeno) es titulado con HCl estandarizado:



## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Lugar de estudio

La fase experimental se realizó en el Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICyTA) del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

### 5.2 Materiales

Los residuos que se utilizaron para la realización de esta investigación fueron lactosuero ácido derivado de la producción de queso tipo Oaxaca, y estiércol de bovino que fueron proporcionados por la empresa de Lácteos PROUNILAC (Tulancingo, Hgo.).

### 5.3 Diseño del experimento

Cada tratamiento se realizó en frascos de vidrio de aproximadamente 5 kg de capacidad con tapa metálica, la cual estaba provista de una manguera de hule (Figura 11). A los 5 biorreactores se le agregó 1 Kg de estiércol fresco de bovino, pero diferentes cantidades de lactosuero y agua para obtener la concentración deseada (Cuadro 5). Y se mezcló perfectamente cada tratamiento para tener una mezcla totalmente homogénea. Cada biorreactor se cerró herméticamente para evitar una fermentación aerobia. Cada 3 meses se tomaron muestras representativas de cada tratamiento y se les determinó el pH, carbohidratos totales, ácidos orgánicos, proteína soluble, fósforo, nitrógeno, sólidos totales y volátiles, las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado.

**Cuadro 5.** Tratamientos a diferentes concentraciones de lactosuero

| Tratamiento<br>% lactosuero | Estiércol<br>Kg | Lactosuero ácido<br>ml | Agua<br>ml |
|-----------------------------|-----------------|------------------------|------------|
| 0 %                         | 1               | 0                      | 1000       |
| 6.25%                       | 1               | 125                    | 875        |
| 12.5%                       | 1               | 250                    | 750        |
| 25%                         | 1               | 500                    | 500        |



**Figura 11.** Tipo de biorreactores utilizados

## 5.4 Análisis Estadístico

Se realizó un experimento, donde se probaron 5 tratamientos a diferentes concentraciones de lactosuero, con tres repeticiones cada uno a cuatro tiempos diferentes (0, 3, 6, 9 meses). Los resultados obtenidos fueron analizados, utilizando antes el anova y posteriormente la prueba Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para comparar las medias de los 5 tratamientos, con ayuda del paquete estadístico NCSS versión 6.03 (NCSS, 1997).

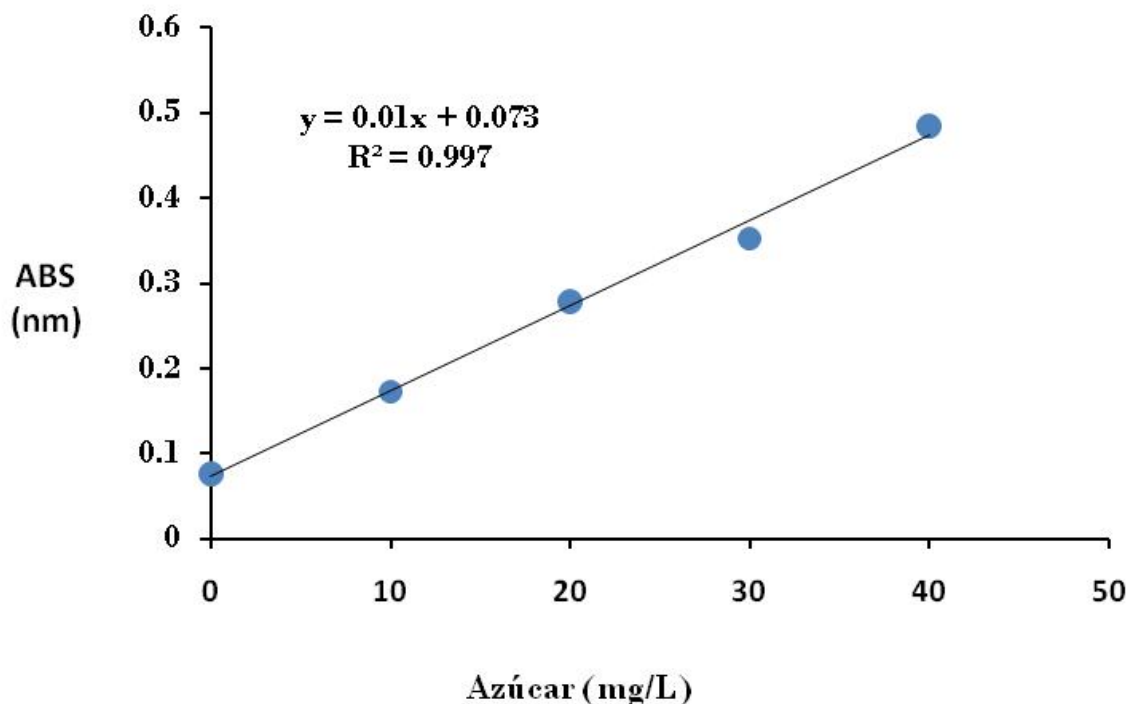
## 5.5 Parámetros fisicoquímicos

### 5.5.1 Determinación de carbohidratos totales

La cuantificación de azúcares totales, se llevo a cabo mediante el método colorimétrico conocido como Antrona. Se preparo la curva patrón con una solución madre de glucosa con concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L; y la solución de Antrona (0.2 g de antrona en 100 mL de ácido sulfúrico concentrado).

Se tomó 1 mL de la muestra, se colocaron en los tubos de ensaye adicionando 2 mL del reactivo de antrona cada muestra, después se pusieron a baño María por 10 minutos, se dejaron enfriar y se colocó la muestra en celdas de cuarzo para leer a 625 nm en el

espectrofotómetro (Spectronic Genesys 5) y se interpolaron los resultados en la curva patrón (Figura, 12)



**Figura 12.** Curva patrón de carbohidratos totales

### 5.5.2 Determinación de ácidos orgánicos

La determinación de los ácidos grasos se llevo acabo por electroforesis capilar (Figura 13) el buffer que se utilizó para la determinación de los ácidos; en 30 mL de agua destilada disolver 0.122 g de ácido benzoico, una vez se agrego 0.209 g de histidina y por último 0.336 g de TTAB ajustando el pH a 6 con una solución de 2N de hidróxido de sodio aforando 100 mL

Preparación de 3 soluciones para cada uno de los siguientes ácidos

- ❖ Ácido Acético (241 ppm)
- ❖ Ácido Butírico (191 ppm)
- ❖ Ácido Láctico (209 ppm)



**Figura 13.** Equipo de Electroforesis Capilar

### 5.5.3 Determinación de pH

De acuerdo a la metodología de la APHA/AWWA/WPCF (1998) calibrar el potenciómetro que usa un electrodo patrón de hidrógeno con las soluciones tampón 4 y 7.

Para medir el pH se tomó una alícuota de 20 mL de mezcla y se introdujo el electrodo sobre la muestra homogénea registrando la lectura obtenida.



**Figura 14.** Potenciómetro



#### 5.5.4 Determinación de sólidos totales y volátiles

La determinación del contenido de sólidos totales (ST) y de sólidos volátiles (SV) se realizó de acuerdo con el método 2540 E de *Standard methods for examination of water and wastewater* (APHA, 1998).

Se pusieron los crisoles de porcelana a peso constante. Se colocó la muestra aproximadamente a mitad de la capacidad de cada crisol y se pesó, se metieron a la estufa a 100 °C durante 24 horas, y se tomó el peso.

Para el cálculo se utiliza la siguiente expresión:

$$\text{Sólidos Totales (\%)} = \text{ST (\%)} = \frac{\text{Peso}_{100^{\circ}\text{C}} - \text{Tara}}{\text{Peso muestra}} * 100$$

La determinación de los sólidos volátiles (SV) se realizó sobre la misma muestra, mediante calcinación, en una mufla (Mufla 97835 Lundberg/Blue) a 550°C durante 1 hora. El contenido en sólidos volátiles se determina por diferencia entre el residuo seco y el residuo de las cenizas entre el residuo seco \*100

$$\text{Sólidos Volátiles (\%)} = \text{SV (\%)} = \frac{\text{Peso}_{100^{\circ}\text{C}} - \text{Peso}_{550^{\circ}\text{C}}}{\text{Peso}_{100^{\circ}\text{C}}} * 100$$

La determinación de sólidos totales fijos (STF) se utilizó la relación de

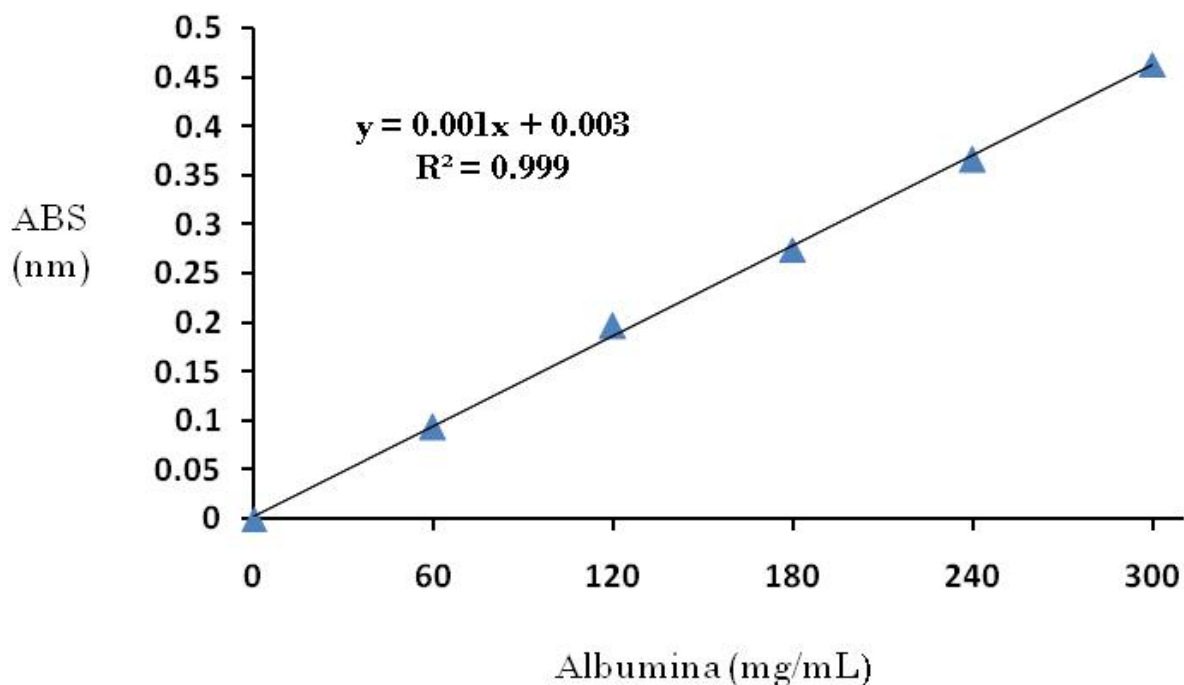
$$\text{STF} = \frac{\text{Peso}_{550^{\circ}\text{C}}}{\text{Peso}_{100^{\circ}\text{C}}} * 100$$

#### 5.5.5 Determinación de proteína por método Lowry

Para la determinación la concentración de proteínas de las muestras a analizar se construyó una curva patrón (Figura 15) a partir de la solución de seroalbumina.

La concentración que tienen las muestras se determinan por la interpolación de los valores de absorbancia de la curva patrón en concentraciones 0, 60, 120, 180, 240, 300 mg/L. El

tubo testigo que solo contiene agua destilada y los reactivos, sirve de blanco para el ajuste a 0 absorbancia.



**Figura 15.** Curva patrón de proteínas

### 5.5.6 Determinación de Nitrógeno Kjendhal

Para la determinación de nitrógeno total se adaptó al método 4500 de *Standard methods for examination of water and wastewater* (APHA, 1998). Se basa en digerir la muestra (0.5 g) con temperatura, en medio ácido (ácido sulfúrico 15 mL) y 5 g de mezcla digestora (200 g de sulfato de potasio, 20 g de sulfato de cobre y dióxido de selenio como catalizador). Posteriormente se analizó el contenido total de sales amoniacales mediante la destilación de la muestra digerida, con un destilador (Buchi Distillation Unit K-350).

Se añadió una base fuerte (NaOH 40%) para subir el pH y desplazar el equilibrio hacia la formación de amoníaco libre. El destilado se recogió en 50 mL de ácido bórico con indicador (rojo de metilo) procurando que la punta de la salida de la manguera este bajo la superficie de la solución receptora. Obteniéndose por lo menos 200 mL del destilado e inmediatamente titular la muestra destilada con ácido clorhídrico valorado al 0.1N

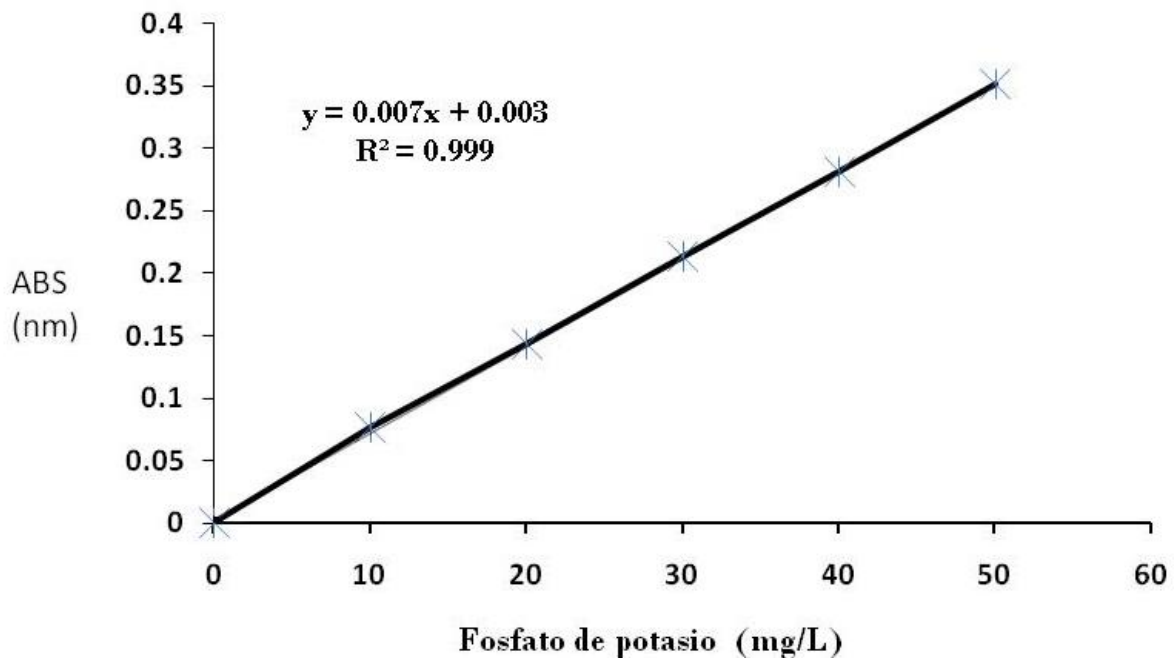
Se determina mediante la siguiente relación;

$$\% \text{ Nitrógeno total} = \frac{(\text{mL ácido gastado}) * (\text{N}) * (1.4)}{\text{Peso de la muestra}}$$

### 5.5.7 Determinación de fósforo total (P<sub>T</sub>)

Utilizando un método colorimétrico, adaptado del método 4500-P C de *Standard methods for examination of water and wastewater* (APHA, 1998), se determinó el contenido de P<sub>T</sub> de las muestras. Se puso a digestión 1g de muestra, 5mL de ácido sulfúrico y 1mL de ácido perclórico durante 2 horas aproximadamente. Después se les agregó una gota de fenolftaleína y NaOH 6N hasta que vire a color rosa, y se aforo a 100mL. Se midió 17.5 mL de muestra y se agregó 5mL del reactivo Vanadio-molibdato. La lectura de absorción se realizó a 490 nm mediante el espectrofotómetro (Spectronic Genesys ).

Todo el material que se utilizó, se lavó con una solución de ácido clorhídrico caliente y agua destilada. Se preparo la curva patrón para el fosfato disolviendo 219.5mg de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> anhidro y diluir hasta 1000 mL agua destilada (Figura 16). Y reactivo vanadio-molibdato.



**Figura 16.** Curva patrón de fosfato de potas

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Parámetros físico- químicos

#### *Carbohidratos totales*

En el cuadro 6 se muestra la degradación de los carbohidratos expresada como concentración de azúcares totales durante el bioproceso en el sistema estudiado. Los resultados muestran que hay diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ). Cabe mencionar que el estiércol contiene una concentración inicial de 1,370 mg/L de azúcares totales, dicha concentración se incrementa con la adición de lactosuero. Durante los tres primeros meses del proceso, se observa una drástica disminución en la concentración de azúcares, mayor al 97%, gracias a que los carbohidratos, son las primeras macromoléculas que se degradan, debido a que su estructura es fácil de hidrolizar por las diferentes bacterias presentes en el consorcio microbiano de la mezcla lactosuero-estiércol (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). La principal ruta metabólica de degradación de la glucosa para formar ácidos orgánicos es la de Embden-Meyerhof que tiene como principal intermediario el piruvato (Mosey, 1983).

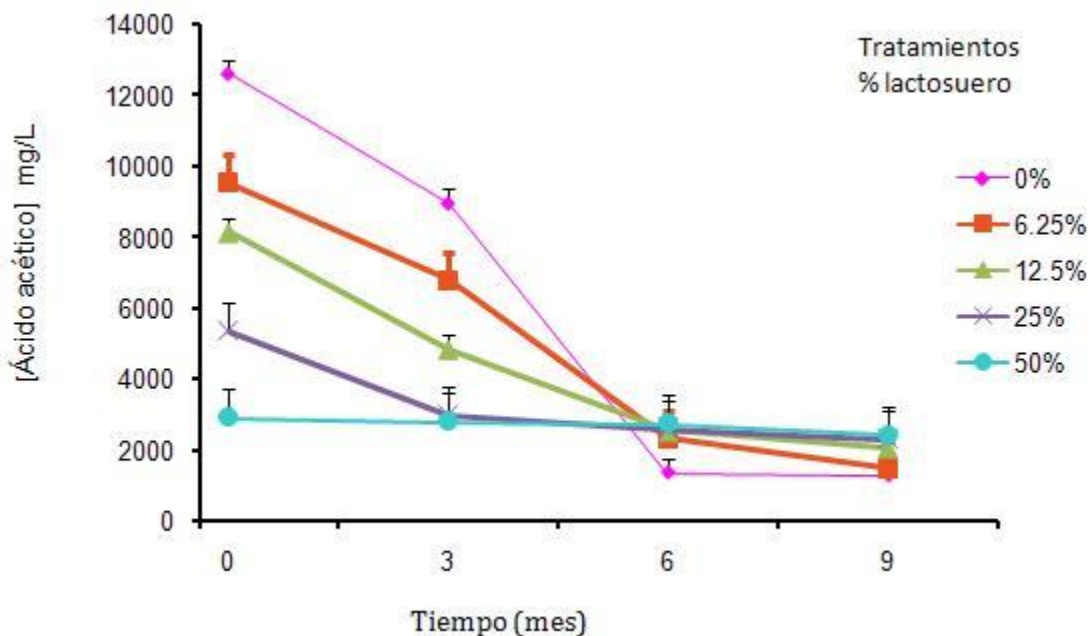
Después del tercer mes, todos tratamientos registraron una concentración baja (a nivel de trazas) de azúcares totales, por lo que su cuantificación fue despreciable.

**Cuadro 6.** Concentración de azúcares totales (mg/L) durante el bioproceso de la mezcla lactosuero- estiércol

| Tratamientos<br>(% lactosuero) | Duración del bioproceso (mes) |               |            |             |
|--------------------------------|-------------------------------|---------------|------------|-------------|
|                                | 0                             | 3             | 6          | 9           |
| 0 %                            | 1,370 ± 17.67                 | 459 ± 24.04   | 172 ± 2.82 | 34.9 ± 0.63 |
| 6.25 %                         | 1,796 ± 68.58                 | 746 ± 6.36    | 176 ± 9.19 | 40 ± 1.4    |
| 12.5 %                         | 4,939 ± 58.68                 | 667 ± 26.16   | 193 ± 4.24 | 36.4 ± .42  |
| 25 %                           | 6,207 ± 59.68                 | 677 ± 3.53    | 227 ± 4.94 | 78.8 ± 4.38 |
| 50 %                           | 13,709 ± 115.25               | 1,082 ± 22.62 | 277 ± 9.19 | 93 ± 3.53   |

## Ácidos orgánicos

Durante el proceso de la digestión anaerobia se obtuvieron diferentes compuestos entre los cuales cabe mencionar los ácidos orgánicos (ácido acético, ácido láctico y ácido butírico). En la figura 17 se ilustra la evolución de la concentración total del ácido acético, se observa una acumulación inicial, más acentuada en el tratamiento 0% lactosuero en comparación con el tratamiento 50% de lactosuero., siendo esta última la que presentó una menor concentración de ácido acético. Los cambios más importantes en cuanto a la concentración de ácido se observaron después del tercer y sexto mes de iniciado el proceso. Observando una disminución drástica en el tratamiento sin lactosuero al sexto mes de la digestión anaerobia.

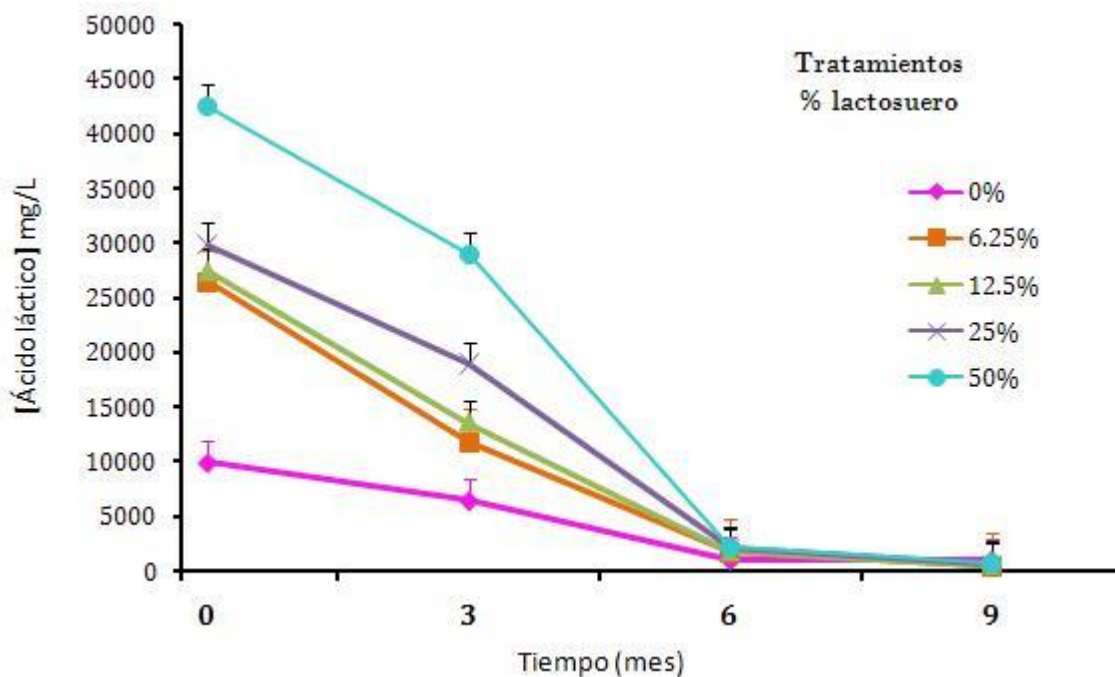


**Figura 17.** Evolución de la concentración del ácido acético.

La concentración inicial del ácido acético en el tratamiento sin lactosuero (13,000 mg/L) fue 3 veces mayor al obtenido por Uresti *et al.*, (2002) con lodos de una depuradora. Maritza *et al.*, (2008), reportaron que en el estiércol fresco, predominan la bacterias acetogénicas por lo cual se explica la alta concentración inicial de ácido acético en el tratamiento sin lactosuero. Además, el tratamiento 50% de lactosuero, su concentración inicial de 2,819 mg/L, de ácido acético, es similar a lo reportado por Barrios *et al.*, (2000),

estos autores encuentran una concentración de (3,000 mg/L) en un biodigestor con las mismas condiciones de este experimento. Así mismo, la cantidad de ácido acético (13,000 mg/L) encontrado en este trabajo de investigación en el tratamiento de 0% de lactosuero es semejante a lo reportado por otros autores entre 10,500 y 13,500 mg/L Capela *et al.*, (2008) y Maritza *et al.*, (2008), quienes realizaron una digestión anaerobia con estiércol, fracciones sólidas orgánicas municipales y lodos industriales en co-digestión anaerobia de estiércol con residuos de algodón, respectivamente. Finalmente, comparando los resultados del tratamiento de 25% de lactosuero con los obtenidos por Panyue *et al.*, (2007), quienes evaluaron una co-digestión con biosólidos a base de residuos de arroz y vegetales, las concentraciones de ácido acético fueron similares, aproximadamente 5,500 mg/L al inicio de la fermentación y 2,000 mg/L al final. La concentración de ácido acético fue disminuyendo rápidamente en todos los tratamientos como se ha reportado por otros autores (Maritza *et al.*, 2008; Panyue *et al.*, 2007 y Capela *et al.*, 2008).

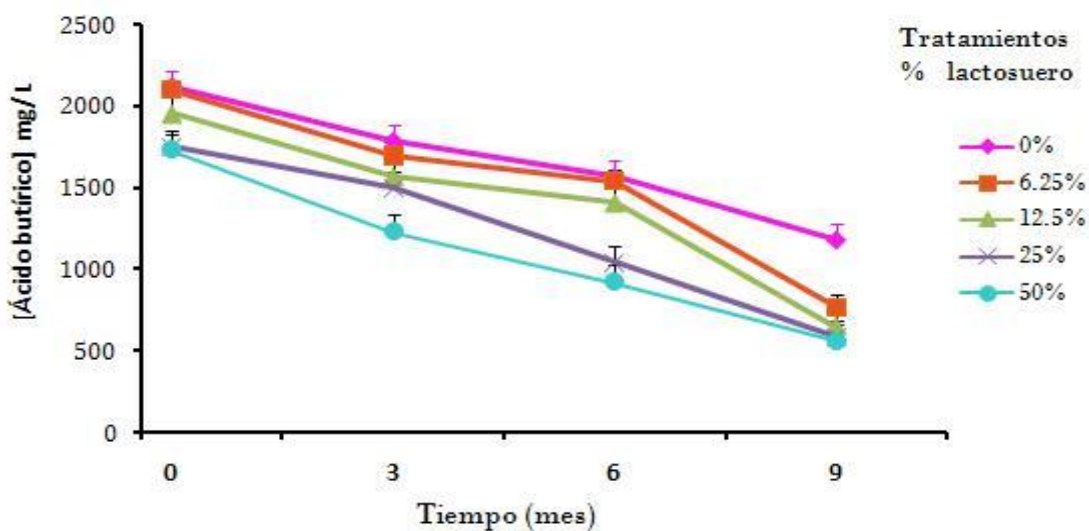
Con respecto a la concentración de ácido láctico esta fue superior en el tratamiento 50% de lactosuero es mayor en comparación con los demás tratamientos que contenían en menor concentración, encontrándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos con 0 % y 50% lactosuero (Figura 18).



**Figura 18.** Disminución de la concentración de ácido láctico en los 5 tratamientos

La concentración de ácido láctico en cada tratamiento fue proporcional a la cantidad de lactosuero presente en la mezcla, como era de esperarse debido a que éste ácido orgánico es un componente del lactosuero. Alcanzado una concentración máxima de 42,545 mg/L en el tratamiento de 50% de lactosuero y una concentración mínima de 9,927 mg/L en el tratamiento sin él. Aunque la alta concentración ácido provoco que el pH de sistema disminuyera 3.6, esto no impidió el desarrollo de la digestión anaerobia dicho tratamiento. El comportamiento de la concentración del ácido láctico fue semejante al observado para el ácido acético, que disminuyo sustancialmente de 6 meses de la digestión; en todos los tratamientos (Figura 18).

En la figura 19 se puede observar la concentración ácido butírico en los tratamientos estudiados durante todo el bioproceso. Al inicio, todos los tratamientos presentaron una concentración similar de ese ácido, sin embargo, ésta fue disminuyendo gradualmente hasta alcanzar 574 mg/L en los tratamientos con 50% y 25% de lactosuero, encontrándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre éstos y el tratamiento sin lactosuero. Estos valores, especialmente para el tratamiento con 50% de lactosuero inicio de 1,728 mg/L y final 546 mg/L, fueron similares a los encontrados por Barragán (2002) quién obtuvo una concentración inicial de 1,550 mg/L y una final 520 mg/L de ácido butírico, en un biodigestor de aguas residuales. Por lo que se entiende que en ambos estudios, hubo un consumo de este ácido por las bacterias presentes en el consorcio de cada experimento.



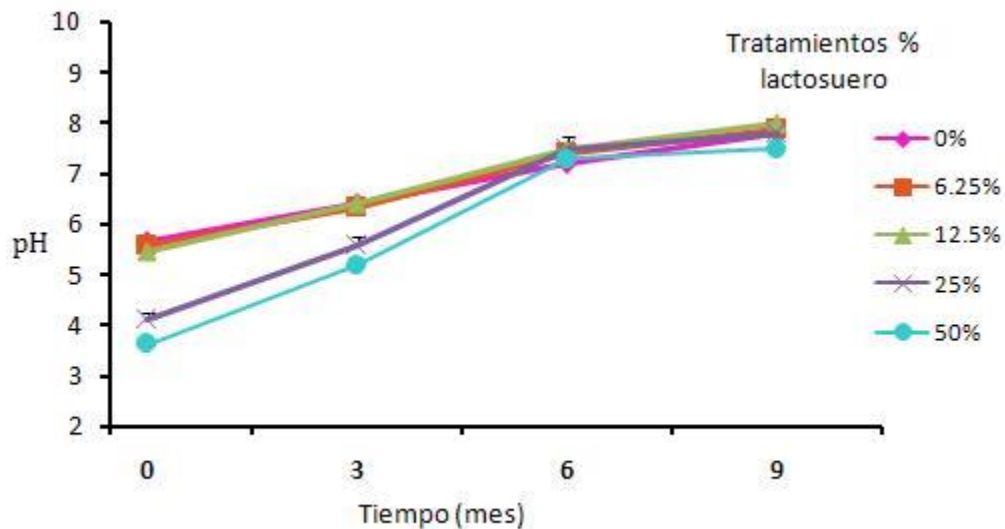
**Figura 19.** Evolución de la concentración de ácido butírico

## **pH**

En la figura 20 se aprecian los cambios del pH durante el bioproceso para los 5 tratamientos. Todos mostraron un pH ácido, como era de esperar, el tratamiento que contenía el 50 % de lactosuero fue el que obtuvo el pH más ácido (3.6), ya que contenía una concentración de 42,545 mg/L de ácido láctico al inicio de la digestión anaerobia. Los pH's encontrados en este estudio en los tratamientos con 0, 6.25 y 12.5 % fueron similares a los reportados por Maritza *et al.*, 2008, que fueron de entre 3 y 4 unidades de pH, al inicio de un bioproceso con estiércol y otros sustratos, como son residuos de algodón y residuos orgánicos municipales, pero fueron diferentes a los resultados obtenidos por Panyue *et al.*, (2007) y Capela *et al.*, (2008) quienes obtuvieron pH's de alrededor de 6, en bioprocesos con residuos vegetales, desechos de arroz y estiércol. Sin embargo, el pH final para todos los tratamientos evaluados en este estudio, oscilo 7.5 y 8.0, y fue semejante a los valores reportados por diversos autores (Maritza *et al.*, 2008; Panyue *et al.*, 2007; Capela *et al.*, 2008). Además, podemos indicar que el pH inicial del bioproceso depende de los tipos sustratos utilizados, sin embargo, el pH final no depende del sustrato, si no de la eficiencia de la hidrólisis de los ácidos orgánicos.

El pH es una importante variable de diagnóstico de los sistemas anaerobios, pues muchos fenómenos tienen influencia sobre él (Angelidaki y Ahring, 1997). Diversos autores han establecido, independientemente de los sustratos utilizados, que un biosólido de buena calidad tiene un pH entre 6.9-8.2 (Vélez, 2007; Uribe et al., 2000; Monroy y Viniegra 1986). Por lo tanto, los biosólidos producidos en los distintos tratamientos de este trabajo de investigación con y sin lactosuero pueden considerarse de buena calidad.



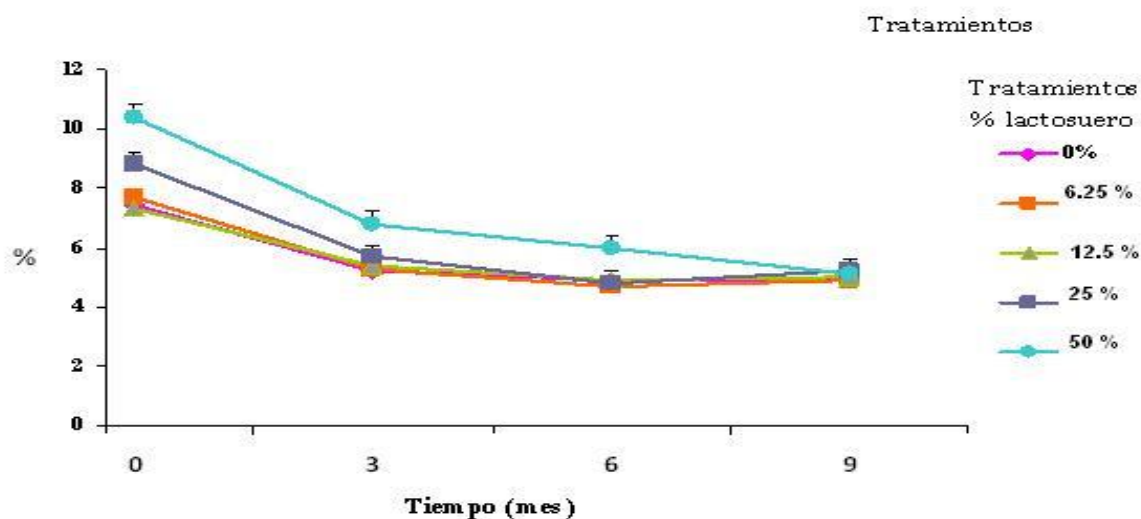


**Figura 20.** Valores de pH de los 5 tratamientos a lo largo del bioproceso

Aunque algunos autores recomiendan que el pH inicial para que los microorganismos anaerobios lleven a cabo una buena digestión sea cercano a 8 (Clark y Speece, 1989; Monroy y Viniegra, 1986), en este estudio el pH inicial de 3.6-5.6 no fue un impedimento para que se obtuviera un biosólido estable. Posiblemente esto, pueda deberse al tipo de microorganismos que prevalecen en este intervalo de pH, que nuestro son las bacterias ácido lácticas. Por otra parte, el incremento de pH se relaciona con el consumo de los ácidos orgánicos (láctico, acético, butírico) por parte de los microorganismos acetogénicos y metanogénicos (Campos, 2001).

### **Sólidos totales y volátiles**

El porcentaje de sólidos totales osciló entre 7 y 10 % para todos los tratamientos al inicio del bioproceso como se muestra en la (Figura 21). Monroy y Viniegra, (1986) recomiendan valores de 7 y 10 %, para que se lleve a cabo una buena digestión anaerobia, pero Capela *et al.*, (2008) señalan que un 5 % de sólidos totales al inicio del bioproceso es suficiente. Por tanto, los porcentajes de sólidos totales obtenidos en este estudio se encuentran dentro de los intervalos adecuados para alcanzar un adecuado bioproceso.

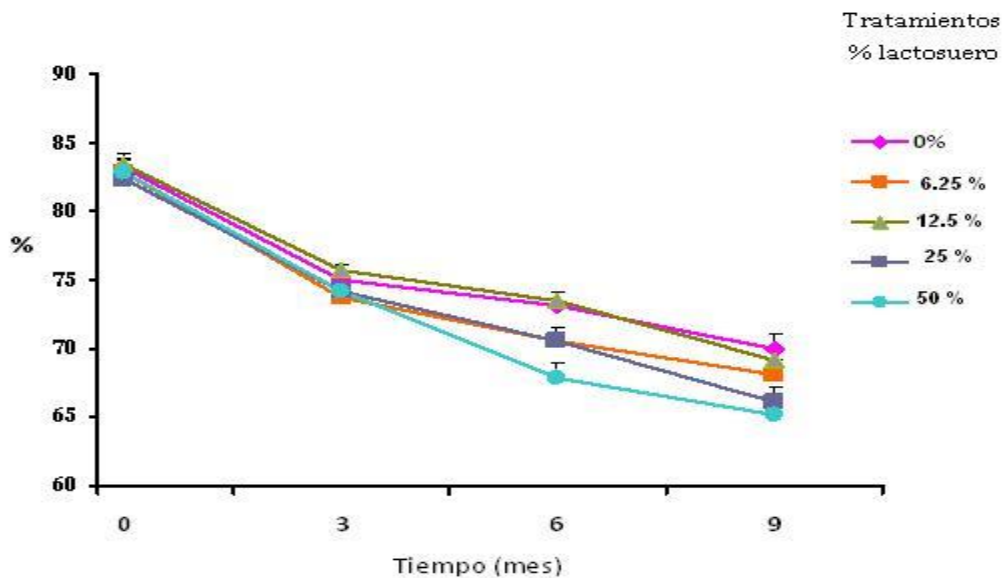


**Figura 21.** Concentración de los sólidos totales

Como se esperaba el lactosuero incrementó el contenido de sólidos encontrando la mayor cantidad en el tratamiento de 50% de lactosuero, observándose diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ). Así, al adicionar mayor cantidad de lactosuero se incrementó la cantidad de materia orgánica disponible para ser degradada por las diferentes bacterias presentes en el consorcio microbiano. En los primeros 3 meses del bioproceso, la concentración de los sólidos totales disminuyó en todos los tratamientos, hasta que llegó a estabilizarse al final de la digestión anaerobia a un 5 % en promedio, como se muestra en la figura 21. Lo antes mencionado sugiere que el principal efecto observado al añadir lactosuero como co-sustrato al estiércol fue el aumento en la concentración de materia orgánica, tanto en porcentaje de sólidos totales como sólidos volátiles.

Como se observa en la figura 22 el contenido de sólidos volátiles en promedio fue de 83 % para los cinco tratamientos y no se observó diferencias significativas entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ). Estos valores fueron similares a los encontrados por Maritza *et al.*, (2008) quienes reportaron una concentración inicial del 81% para la co-digestión de estiércol y

residuos orgánicos municipales y el 87 % para la co-digestión de estiércol y residuos de algodón. Sin embargo, los resultados de este trabajo fueron inferiores a lo encontrado por Uribe, (2000) quién reportó una concentración de sólidos volátiles entre 50-60 % para un biosólido. Además, podemos observar una disminución de la concentración de sólidos volátiles en todos los tratamientos (Figura 22). Esta disminución puede deberse a la descomposición de la materia orgánica presente en sistema.



**Figura 22.** Concentración de los sólidos volátiles en los sistemas estudiados durante la digestión anaerobia.

### ***Proteína soluble***

En el cuadro 7 se muestra la cantidad de proteína soluble (mg/L) para cada tratamiento a lo largo del bioproceso, notándose en el tratamiento con 50% de lactosuero una mayor concentración de proteína en comparación con el tratamiento 0% de lactosuero, esta diferencia es debida a la cantidad de proteína presente en el lactosuero 0.6-1.1% Spreer (1991). También podemos observar como se van degradando las proteínas conforme avanza el bioproceso hasta alcanzar cantidades trazas de estos compuestos. Cabe recordar que la fermentación de aminoácidos, que forma parte de la fase de hidrólisis, se

considera un proceso rápido, en general no limita la velocidad de degradación de las proteínas (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).

**Cuadro 7.** Resultados de proteína soluble en la mezcla lactosuero-estiércol

| Tratamientos | (0 mes )     | (3 <sup>er</sup> mes) | (6 <sup>to</sup> mes) | (9 <sup>no</sup> mes) |
|--------------|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Tratamientos | (0 mes)      | (3 <sup>er</sup> mes) | (6 <sup>to</sup> mes) | (9 <sup>no</sup> mes) |
| % lactosuero | mg /L        | mg /L                 | mg/L                  | mg/ L                 |
| 0%           | 1556 ± 9.89  | 1007 ± 6.36           | 698 ±33.94            | 186 ±11.31            |
| 6.25%        | 1606 ± 32.52 | 1247 ±33.3            | 836 ±25.45            | 208 ±6.36             |
| 12.5%        | 1748 ±34.64  | 1273 ±16.26           | 905 ±14.14            | 215 ±10.60            |
| 25%          | 2236 ±18.38  | 1299 ±41.71           | 964 ±9.89             | 243 ±16.26            |
| 50%          | 3310 ± 7.77  | 1307 ±5.65            | 1089 ±70.71           | 295 ±10.60            |

### ***Nitrógeno Total***

Como se muestra en el 8 el contenido de nitrógeno en promedio fue de 1.2% al final del bioproceso en los 5 tratameintos, notándose el tratamiento de 50% de lactosuero fue el que mantuvo la mayor cantidad de N 1.34 % a diferencia del tratamiento de 0 % de lactosuero que contenia un 1.17%. Esta cantidad es inferior a lo recomendado por Monroy y Viniegra (1986) que indican que un bisólido de buena calidad debe contener 1.7 % de N. Uno de los efectos más importantes de los biosólidos, es el suministro de nitrógeno aprovechable para las plantas. Los residuos ganaderos son fuentes suministradoras de N ya que tienen una gran cantidad de materia orgánica (Uribe, 2000). Según Serrato, (2002) y Castellanos (1984) el estiércol de bovino contiene entre 1 a 1.6 % de N, debido a esto puede aceptarse como un biosólido. Durante el proceso de digestión anaerobia se produce la mineralización del nitrógeno orgánico mediante la hidrólisis enzimática de las proteínas.

El objetivo principal de la digestión anaerobia es convertir todo el carbono posible en CH<sub>4</sub>, con la menor pérdida posible de N, para evitar una saturación del mismo y por lo

consiguiente la inhibición del bioproceso. Además el contenido de N es uno de los factores más importantes que le da valor al biosólido.

**Cuadro 8.** Concentración de nitrógeno total en % de base seca de los 5 tratamientos a lo largo del análisis experimental.

| Tratamientos %<br>lactosuero | (0 mes)<br>% | (3 <sup>er</sup> mes)<br>% | (6 <sup>to</sup> mes)<br>% | (9 <sup>no</sup> mes)<br>% |
|------------------------------|--------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 0 %                          | 1.72         | 2.00                       | 2.09                       | 1.17                       |
| 6.25%                        | 1.99         | 1.91                       | 1.85                       | 1.13                       |
| 12.5%                        | 1.95         | 2.24                       | 1.56                       | 1.18                       |
| 25%                          | 1.64         | 2.00                       | 1.51                       | 1.30                       |
| 50%                          | 1.57         | 2.12                       | 1.58                       | 1.34                       |

Sin embargo en base a las características que señala Veléz (2007), los niveles del contenido de N deben estar entre 1.6-3.3 %. para que se considere un biosólido. Por lo que el tratamiento de 50 % de lactosuero es el más cercano al porcentaje de N señalado (1.34 %) para su aplicación como biosólido.

### ***Fósforo total***

En el cuadro 9 se encuentran la concentración de fósforo total de los 5 tratamientos al inicio y al final del bioproceso. El tratamiento que contiene el 50% de lactosuero tuvo una cantidad mayor de fósforo (0.84%) en comparación con el resto de tratamientos (0.71%). Además, como podemos apreciar no existió alteración en el contenido de éste elemento, durante el bioproceso (0 y 9 meses). Estos resultados tanto al inicio como al final de la digestión anaerobia fueron superiores a lo encontrado por Uribe, (2000) quién reportó una cantidad de 0.42 % de fósforo disponible en los biosólidos, mientras que otros autores (Veléz, 2007; Castellanos,1984) establecen intervalos comprendidos entre 0.04 a 2.3 % de fósforo. Lo cual indica que nuestro resultado se encuentra dentro de los límites señalados como adecuados para el contenido de fósforo en un biosólido.

Por otra parte, cabe destacar que el fósforo es un nutrimento importante en el suelo, se transforma en ion fosfato y queda disponible para ser absorbido por los vegetales. Por medio de las plantas, el fósforo pasa a los animales, volviendo de nuevo al medio tras la muerte de ambos, así como por la eliminación continua de fosfatos en los excrementos.

**Cuadro 9.** Contenido inicial y final del % fósforo en la mezcla lactosuero- estiércol

| Tratamiento | (Mes) 0     | (Mes) 9      |
|-------------|-------------|--------------|
| 0%          | 0.72 ± .028 | 0.8 ± .070   |
| 6.25%       | 0.71 ± .098 | 0.72 ± .0282 |
| 12.5%       | 0.73 ± .070 | 0.75 ± .212  |
| 25%         | 0.75 ± .042 | 0.78 ± .141  |
| 50%         | 0.84 ± .240 | 0.86 ± .282  |

En general se observa un incremento de fósforo al final del bioproceso, para todos los tratamientos esto coincide con lo señalado por diferentes autores (Vitosh *et al.*, 2003; Afif *et al.*, 1995) quienes han reportado incrementos en la disponibilidad de fósforo mediante la digestión anaerobia y además mencionan que la materia orgánica ayuda a mejorar la disponibilidad de fósforo.

## 7. CONCLUSIONES

Al inicio del bioproceso por la adición de lactosuero bajó el pH de todos los tratamientos e incrementó a su vez los ácidos orgánicos, que es una condición no recomendable para la digestión anaerobia, encontrándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos.

Al final del proceso (90 días) todos los tratamientos alcanzaron un pH mayor de 7.5 por el consumo de los ácidos orgánicos. La adición de lactosuero al 50% no afectó la digestión anaerobia del estiércol para la producción de un biosólido; no obstante, sí incrementó su contenido de nitrógeno- fósforo a comparación del estiércol solo.

La co-digestión de estiércol de bovino con lactosuero ácido es una opción interesante para la producción de biosólidos, posibilitando, a su vez, el tratamiento de dichos residuos agroalimentarios para disminuir la contaminación ambiental que están cada vez más latente en la región de Tulancingo Hgo.

## 8. RECOMENDACIONES

- ❖ Realizar pruebas piloto para posteriormente transferir esta tecnología de co-digestión a los productores.
- ❖ Por las características del proceso se recomienda su uso para la recuperación de suelos y cultivos que no estén en contacto directo en la tierra como maíz, cebada, trigo ect.
- ❖ Realizar pruebas microbiológicas, para determinar su posible uso dentro de los biosólidos tipo A.



## 9. REFERENCIAS

Afif, E., V. Barón, and J. Torrent. (1995). Organic matter delays but does not prevent phosphate sorption By Cerrado Soils From Brazil. *Soil Science* 3: 207-211.

Albin, R. C. (1971). Handling and disposal of cattle feed lotwaste *J. Animal Sci.*32:803

Angelidaki, I., Ahring, B.K. (1997). Anaerobic digestion in Denmark. Past, present and future. III curso de Ingeniería Ambiental, pag., 336-342. Universidad Lleida, octubre de 1997.

APHA/AWWA/WPCF. (1998). *Standar Methods for Examination of Water and Wasteware*, 20 th Ed. American Public Health Association.

Arellano, M., Jomard, P., Kaddouri, S., (2000). Routine analysis of short-chain fatty acids for anaerobic bacteria identification using capillary electrophoresis and indirect ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B*, 741: 89-100.

Barrios, J.A., Jiménez, B., González, O., Salgado G., Sanabria, L., e Iturbide, R. (2000). Destrucción de coliformes fecales y huevos de helmintos en lodos fisicoquímicos por vía acida. XII Congreso Nacional Ciencia y Conciencia. "Compromiso nacional con el medio ambiente. Vol I 683-692.

Barragán, E.J., Noyola A., Cabirol N., (2002). Efectos del aluminio y sulfato sobre la digestión anaerobia de lodos provenientes de tratamiento primario avanzado de aguas residuales. Instituto de Ingeniería UNAM. Coordinación de Bioproceso Ambientales. Ciudad universitaria. México D.F.

Bernal V.Y., Jelen P. (1989). Effectiveness of lactose hydrolysis in Cottage cheese whey for the development of whey drinks. *Milchwissensh.* 44(4); 222-225.

Brinkman, J. (1999). Anaerobic digestion of mixed waste slurries from kitchens, slaughterhouses and meat processing industries. Proceedings of the II International symposium on Anaerobic Digestion of Solid Waste. Barcelona, Junio de 1999, pag 190-191.

Campos A., (2001). Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante co-digestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria. Tesis de doctorado. Universidad de Lleida. España

Campos-Montiel, R. (2007). Alternativas para el tratamiento de lactosuero para un desarrollo sostenible en el valle de Tulancingo, Hidalgo. México. Capitulo II p. 24- 35.

Capela I., Arroja L., Duarete A.C. (2008). Impact of industrial sludge and cattle manure on anaerobic digestion of the OFMSW under mesophilic conditions. Biomass and Bioenergy:32: 245-251.

Capulín, J.G, Núñez, R.E., Etchevers, J.B. y Baca, A. (2001). Evaluación del extracto líquido de estiércol bovino como insumo de nutrición vegetal en hidroponía. Especialidad de Postgrado en Edafología. IRENAT. Colegio de Postgraduados. 56230, Montecillo, Estado de México.

Castellanos R., J. (1984). El estiércol para su uso agrícola en la región Lagunera. CAELALA-CIAN-INIA. Torreón, Coahuila, México. 18 p.

Chartrain, M. and Zeikus, J.G. (1986). Microbial ecophysiology of why biomethanation; Characterization of bacterial tropic populations and prevalent species in continuous culture. Appl. Environ. Microbiol. 51:188-1996

Clark, R.H., Speece, R.E. (1989). The pH tolerance of anaerobic digestion. Advanced water pollution research. Int. Conf. 5th, pag. 27/1-27/14.

Cuervo, F.M. (1995). Digestión anaerobia de lactosa: efecto del potencial de amortiguamiento y comparación con un modelo cinético. Tesis de Maestría Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.

Figuroa, V.U., Flores, O.M.A, Palomo, R.M. (2002). Uso de biosólidos en suelos agrícolas. SAGARPA-INIFAP-CIRNOC-Campo. Expo Valle de Juárez. Folleto técnico No.3.

García, G.M. (1999). alternativas de utilización del suero de leche. Información Científica y Tecnológica 6:35-39.

Gervin, S. (2005). Lo que usted necesita saber sobre biosólidos: Washington Suburban Sanitary Comisión, s.f. [Citado en Diciembre de 2005]

González, M.I. (1996). The Biotechnological Utilization of Cheese Whey: A Review Bioresource Technology. 57:1-11.

Harper, W.J., Blaisdell, J. L. and Grosshopf J. (1971). Dairy Food Plant Wastes and Waste Treatment Practices. Environmental Protection Agency, U.S. Washington DC.

Hayaski, K.J. (1990). Effects of the color and thickness of polyethylene film on ensiling conditions and silage quality of chopped maíz, as investigated under ambient conditions and mini-silos. Dairy Sci. 73:579-583.

Hills, D.J., Nakano, K. (1984). Effects of particle size on anaerobic digestion of tomato solid wastes. Agricultural Wastes. Vol. 10, pag. 285-295.

Hobson, P.N. (1990). "The treatment of agricultural wastes", En Anaerobic digestion: a waste treatment technology. Editado por Wheatley, A. Critical reports on applied chemistry. Vol. 31, pag. 93-138. Elsevier applied science LTD.

Joly, C. (1993). Plant nutrient management and the environmental, En: Prevention of water pollution by agriculture and related activities. Water Report I. FAO, Roma pag. 223-245.

Laird, R.J., R. Núñez, F. Puente y J. Del Toro. (1986). Folleto técnico No.37 O.E.E., S.A.G. México.

Lehtomäki, A. Huttunen, S. Rintala, J.A. (2007). Laboratory investigations on co-digestion of energy crops and crop residues with cow manure for methane production: effect of crop to manure ratio. Resources Conservation and Recycling: 591-609.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. (1998). *Brock* Biología de los microorganismos. Edit. Prentice Hall International (UK) Ltd. 8ª ed.

Maritza, M. Adrian, H. Zohrab, S. (2008). Anaerobic digestion of municipal solid waste and agricultural waste and the effect co-digestion with dairy cow manure. Bioresource Technology: 8288-8293.

Medina, M. C. y P. Cano R. (2001). Contaminación por nitratos en agua, suelo y cultivos de la Comarca Lagunera. Revista Chapingo Serie Zonas Áridas. 2(1): 9-14

Méndez, R., Blazquez, R., Lorenzo, F., Lema, J.M. (1989). Anaerobic Treatment of cheese whey: Start-Up and Operation. Wat. Sci. Tech. 21:1857-1860.

Metcalf and Eddy. (1996). Ingeniería de aguas residuales tratamiento, Vertido y Reutilización, Tomo I, II y III. Mc GRAW-HILL, México, D.F.

Monroy, H.O y Viniegra, G.G. (1986). Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos. AG.T. Editor S.A., México D.F

Mosey, F.E. (1983). Anaerobic Treatment of Wastewater in fixed- film reactors. Wat. Sci. Technol. 15: 206-301.

Muñoz Valero, J.A., Ortiz Cañavate, J., Vázquez Minguela, J. (1987). Técnica y aplicaciones agrícolas de la biometanización. Serie Técnica- Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid. No. 174

Nelson, L. D. y Cox, M.M (2001). Lehninger Principios de bioquímica. Ed. Omega. Pág. 315-366.

Panyue, Z. Guangming Z. (2007). Anaerobic co-digestion of biosolids and organic fraction of municipal solid waste by sequencing batch process. Fuel processing technology; 485-489.

Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gómez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment. Wat Sci. Technol. 24:35-59.

Pérez, G.P. (2002). Potencial del uso del estiércol en la alimentación de los bovinos. Laboratorio de Biotecnología. Instituto de Investigaciones Biomédicas Universidad Autónoma de México.

Pomares, F. (1998). Los residuos orgánicos utilizables en la agricultura: origen, composición y características. 4º Curso de Ing. Ambiental. Universidad de Lleida. España.

Schmitt, M., and G. Rehm. (1998). Fertilizing cropland with beef manure. Extension Service, University of Minnesota, USA. 7 p.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Delegación en el Estado.(2006) Subdelegación Agropecuaria.

Serrato, R. S. ( 2002). Aplicación de lavado y estiércol para recuperar suelos salinos en la comarca lagunera, México. Facultad de agricultura y Zootecnia, Universidad Juárez del estado de Durango.

Simpson, K. (1998). Abonos y estiércoles. Traducido por R. Campa. Ed. Acribia S.A., Zaragoza, España. p 329.

Sleat, R., Mah, R. (1987). "Hydrolytic bacteria", en Anaerobic digestion of biomass. Editado por Chynoweth, D. Y y Isaacson, R. Elsevier applied science LTD.

Smith, S.R. (1996). Agricultural Recycling of Sewage Sludge and the environment. London : CAB International.

Speece, R.E. (1987). "Nutrient Requirements", en Anaerobic Digestion of biomass. Editado por Chynoweth D. Y y Isaacson, R. Elsevier applied science LTD. Pago. 124

Spreer, E. (1991). El lactosuero y su aprovechamiento en la lactología industrial Ed. Acribia, España. Pag. 527-549.

Stams, A.J.M. (1994). Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. Antonie van Leeuwenhoek. Vol. 66, pag. 271-294.

Torres, B.A. (1999). Definición del suero de queso tipo Oaxaca en la región de Tulancingo y establecimiento del proceso optimo para obtención de proteínas. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Trevelyan, W.E. and Harrison, J.S. (1952). Fraction and microdetermination of cell carbohydrates. J. Biochem. Pago 298.

United State Environmental Protection Agency (USEPA). (1995). A guide to the biosolids risk assessments for the EPA Part 503 rule. EPA/832-B-93-005. September 1995. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Wastewater Management. Washington, D.C. 99 p.

United State Environmental Protection Agency (USEPA). (2000). Biosolids Generation, Use, and Disposal in the United States. National Biosolids Partnership. National Manual of good practice for biosolids.

Uresti, A., Rojas O., Duran A. (2002). Evaluación del efecto de la temperatura y de los ácidos grasos volátiles sobre huevos de helminto en condiciones anaerobias. XII congreso nacional ciencia y conciencia "compromiso nacional con el medio ambiente. Vol I 279-282.

Uribe, R. (2000). Uso de biosólidos para incrementar la producción de alfalfa. Campo experimental Delicias- INIFAP, México.

Veléz, J.A. (2007). Los Biosólidos ¿Una solución o un problema? Universidad Nacional de Colombia, Medellín y Fondo de Fomento a la Investigación de la Corporación Universitaria Lasallista. 73 (4):394- 403.

Veeken, A., Hamelers, B. (1999) Effect of temperature on hydrolysis rates of selectes biowaste components. Bioresource technology. Vol. 29, pag. 249-25.

Vitosh, M.L, J. F. Davis y B.D. Knezek. (2003). Long Term. Effects of Manure, Fertilizer and Plow Depth on Chemical Properties of Soil and Nutrient Movement in a Monoculture Corn System J. Environ-Qual 2: 269-299.

Yang, S.T., Silva, E.M. (1995). Novel Products and new Technologies for use of a Similar carbohydrate, Milk Lactose. J.Dairy Sci. 78(11):255541-25562.

Young M., M. J. Rangel S., B. Beristain B. y G. Mercado B. (1985). Tecnología para el manejo, tratamiento y utilización de residuos porsícolas en México. *In*: Memorias del taller regional PNUMA (CEPAL). Sobre la utilización de los residuos agrícolas y agroindustriales en América Latina y el Caribe. Hurtubia, J. y O. Monroy H. (eds.). México, D. F. pp: 171-199.

Zehnder, A.J.B., B.A., Brock, T.D. and Wihrman, K.(1998). Characterization of an acetate-decarboxylating non-hydrogen oxidizing methane bacterium. Arch microbial. 124:1-11.