



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

**“Aprovechamiento de un Residuo de la Industria Cárnica Mediante el
Uso de Un Proceso Biotecnológico”**

TESIS:

Que para obtener el grado de:

Maestría en alimentos

PRESENTA:

I.A.I. Roberto Villegas Cardenaz

Director de Tesis: Dr. Rafael G. Campos Montiel

Asesores: Dra. Diana Jaqueline Pimentel González

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Tulancingo de Bravo, Hgo. Octubre del 2011



Pegar aquí la hoja de
revisores

DEDICATORIA

Quiero agradecer a dios por permitirme vivir y compartir todo este tiempo con las personas que han dejado una huella en mi vida.

A mis padres por enseñarme el camino al éxito, que aunque está lleno de inconvenientes y obstáculos, lo que hace a un hombre ser exitoso es fijarse metas y cumplirlas.

A mis hermanos por encontrar siempre en ellos un gran apoyo en todos los aspectos.

A la persona que en los últimos años ha representado la más grande motivación para culminar todos los proyectos que se he emprendido, Brís.

A los compañeros de licenciatura: Raúl, Marco Antonio, Fortunato, Juan José, Humberto, y Joel, por ser los mejores amigos.

A los compañeros de Maestría: Marco Antonio Ibarra, Rosalía Moras, Elizabeth Javier García que sin su apoyo y comprensión hicieron más fácil y placentero el paso durante los estudios.

AGRADECIMIENTOS

Al Doc. Rafael G. Campos Montiel por todas las enseñanzas, los valiosos consejos y la guía que me brindó durante la realización del presente trabajo.

Gracias a las doctoras que revisaron este trabajo: Dra. Diana Jaqueline Pimentel González y Dra. Alma Delia Hernández Fuentes por el tiempo y ayuda dedicados a la realización de este trabajo.

A todos los Doctores que nos impartieron clases en el transcurso de la Maestría por compartir sus conocimientos, tiempo y apoyo. Muchas gracias.

A la Granja de Policultivos ubicada en Villa de Tezontepec Aldama, por su valiosa colaboración en la realización del presente trabajo.

Índice

1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1	Residuos sólidos orgánicos.....	3
2.2	Residuos de sólidos rastros	4
2.3	Residuo solido de peces	4
2.4	Digestión anaeróbica.....	5
2.4.1	Bioquímica de digestión anaeróbica	6
2.4.2	Ventajas de la co-digestión.....	9
2.5	Producción de Bio-fertilizantes.....	9
3	ANTECEDENTES	11
4	OBJETIVOS	14
4.1	Objetivo general	14
4.2	Objetivos específicos	14
5	HIPÓTESIS	15
6	MATERIALES Y MÉTODOS	16

6.1	Localización del experimento	16
6.2	Descripción de la materia prima	16
6.2.1	Residuo de la industria cárnica.....	16
6.2.2	Residuos Sólidos Orgánicos de la producción de Tilapia (RESOPT)	16
6.3	Establecimiento del experimento.....	17
6.4	Diseño de tratamiento	17
6.5	Variables de estudio.....	18
6.5.1	Análisis Físico-químicos	18
6.5.2	Análisis microbiológico	27
6.5.3	Bioensayo	29
6.6	Análisis de resultados	30
7	RESULTADOS Y DISCUSIONES	32
7.1	Evaluación de los parámetros físico-químicos	32
7.1.1	Demanda Química de Oxígeno	32
7.1.2	Azúcares totales	33
7.1.3	pH.....	34
7.1.4	Ácidos Grasos Volátiles.....	34

7.1.5	Producción de metano y bióxido de carbono	35
7.1.6	Sólidos Totales, Sólidos Totales Fijos y Sólidos Totales Volátiles.....	36
7.1.7	Nitrógeno y Fosforo	37
7.2	Análisis microbiológico	38
7.3	Bioensayo.....	39
7.3.1	Germinación	39
7.3.2	Crecimiento de la biomasa	40
8	CONCLUSIONES.....	44
9	BLIBLIOGRAFÍA	45
10	Apéndice	51
11	Anexos	53

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de tratamientos de residuos orgánicos de la producción de Tilapia y sangre de cerdo.	17
Tabla 2 Gramos de muestra de biosol aplicados a cada tratamiento.....	30
Tabla 3 Producción de Nitrógeno y Fósforo en diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.	38
Tabla 4 Microorganismos presentes en los tratamientos.	39

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Degradación anaeróbica de la materia orgánica.....	7
Figura 2. Comportamiento de la demanda química de oxígeno (DQO) en diferentes mezclas de residuo sólido orgánico de la producción de Tilapia (RESOPT) y sangre.	32
Figura 3. Comportamiento de los azúcares en diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.	33
Figura 4. Determinación de pH en el proceso de co-digestión de la mezcla de residuos sólidos orgánicos de la producción de Tilapia (RESOPT) con sangre.....	34
Figura 5. Determinación de la producción de ácido acético durante la codigestión de diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.	35

Figura 6. . Producción de metano en diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre..... 35

Figura 7. Producción de dióxido de carbono en diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre. 36

Figura 8. Comportamiento de los sólidos totales de diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre. 37

Figura 9. Comportamiento de los Sólidos Totales Volátiles de diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre..... 37

Figura 10. Porcentaje de germinación por efecto de diferentes concentraciones de un biosol..... 40

Figura 11. Comportamiento del crecimiento del tallo por efecto de un biosol resultado de la mezcla del residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre..... 41

Figura 12. Comportamiento del crecimiento de la raíz por efecto de un biosol resultado de la mezcla del residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre. ... 41

Figura 13. Comportamiento del crecimiento de las hojas por efecto de un biosol resultado de la mezcla del residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre. ... 42

Figura 14. Porcentaje de Sólidos Totales presente en las plantas..... 43

RESUMEN

Se entiende por biocombustible a aquellos combustibles que se obtienen de biomasa, es decir, de organismos recientemente vivos (como plantas) o sus desechos metabólicos (como estiércol). Recientemente ha surgido un gran interés por los biocombustibles, principalmente debido a que gobiernos pretenden disminuir su dependencia de los combustibles fósiles y la generación de bio-fertilizantes menos dañinos con los suelos aprovechando los subproductos de otras industrias evitando o disminuyendo focos de contaminación.

En esta investigación se determinó el efecto de la sangre en la producción de un biocombustible, la generación de un biosol y su efecto en la producción del cultivo de la alfalfa a partir del uso de lodos de acuacultura.

Se realizaron cinco tratamientos con diferente concentración de sangre (0, 12.5, 25, 37.5, y 50%). El lodo de acuacultura se obtuvo de un estanque del cultivo de tilapia ubicado en la granja de policultivos de Villa de Tezontepec de Aldama Hidalgo. La sangre se obtuvo de un rastro ubicado Santiago Tulantepec Hidalgo.

Se midió la Demanda Química de Oxígeno (DQO), Azúcares Totales (AT), pH, Ácidos Grasos Volátiles (AGV's), producción de metano y bióxido de carbono por cromatografía de gases, Sólidos Totales (ST) Sólidos Totales Fijos (STF) y Sólidos Totales Volátiles (STV) durante tres meses. Y se le realizó un análisis microbiológico inicial y final de *Salmonella sp.*, *Coliformes fecales* y Hongos.

La producción de biogás en los diferentes tratamientos fue inversamente proporcional a la concentración de la sangre.

La reducción del DQO fue mayor al 80% en todos los tratamientos y los azúcares redujeron su concentración a menos de 100 mg. El pH obtenido se encuentra cerca del neutro.

El nitrógeno y fósforo se mineralizó no encontrando pérdidas durante el proceso biotecnológico.

Los microorganismos disminuyeron cuando menos el 90% en los tratamientos.

La germinación, el crecimiento de tallo y hojas fue mejor que el testigo.

La co-digestión sangre-lodos de peces es un buen proceso biotecnológico para el aprovechamiento integral de residuos con la producción de biogás y un biosólido.

Encontrando que el mejor tratamiento en la producción de metano fue el 0% sangre y el de menor producción fue el de 50% sangre. Los resultados demuestran que existe una relación inversamente proporcional entre la producción de metano y la concentración de sangre.

Se pudo determinar que la digestión anaerobia después de los tres meses es una buena fuente para la eliminación de los principales organismos patógenos.

1 INTRODUCCIÓN

Recientemente ha surgido un gran interés por la producción de biogás, principalmente debido a que gobiernos pretenden disminuir su dependencia de los combustibles fósiles, por lo que existe un gran interés en la producción de biocombustibles a partir de residuos agropecuarios por la tendencia de escasear el petróleo (Muller 2007). Actualmente es el uso que se le está dando a los residuos orgánicos (RO), junto con otros residuos producto de la agricultura o de los negocios agroindustriales. El beneficio de que dos o más RO al ser mezclados con otros subproductos, es que en la digestión anaerobia si a un organismo le faltan requerimientos necesarios para su reproducción de un sustrato los pueda tomar de otro (Co-digestión). La co-digestión es cuando se utiliza un co-sustrato para que exista un sinergismo al incluir en esta mezcla nutrientes que no tenga el sustrato principal (Mata-Álvarez 2000). Para que sea viable esta co-digestion es necesario utilizar sustratos que se encuentren relativamente cerca y no se incrementen los costos por el traslado.

La generación de los desechos orgánicos es uno de los principales causantes de contaminación ambiental en muchos países, incluido México, ya que se producen en grandes volúmenes y se acumulan en espacios inadecuados. (Sparling *et al.*, 1994). La generación de los desechos orgánicos es una problemática ambiental mundial, y en especial los que se generan en la industria cárnica, ya que al haber una mezcla de los mismos en los efluentes de los rastros la carga orgánica es demasiada y la problemática es mayor, siendo casi nulos el manejo y aprovechamiento (Uicab-Brito L.A. y Sandoval-Castro C.A., 2003). Las concentraciones típicas encontradas en

efluentes del sacrificio del ganado vacuno y porcino alcanzan concentraciones de 3000 mg·L⁻¹ para Sólidos Suspendidos Totales, DBO₅₀ de 7000 mg·L⁻¹, Demanda Química de Oxígeno (DQO) de 12000 mg·L⁻¹ y Nitrógeno Total (NT) de 6000 mg·L⁻¹ (Chaux G. *et al.*, 2009).

El estado de Hidalgo ocupa el decimo lugar en la producción de cerdos, de los cuales la mayoría son sacrificados en el estado en 34 centros de sacrificio, de los cuales 30 están activos y registrados ante la secretaria de salud del estado, pero no se realiza ningún tipo de tratamiento a los subproductos generando grandes cantidades de contaminantes (SAGARPA, 2010).

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Residuos sólidos orgánicos

Los residuos sólidos orgánicos son una parte importante de los desechos sólidos municipales. La mayoría se originan principalmente dentro de los hogares, en los comercios, y de forma secundaria en instituciones y centros industriales.

Los desechos orgánicos son biodegradables y pueden ser procesados en presencia de oxígeno para su compostaje, o en la ausencia de oxígeno mediante la digestión anaeróbica. Ambos métodos producen un efecto acondicionador de suelos, una especie de abono o bio-fertilizante, que si se prepara correctamente también puede ser utilizado como una valiosa fuente de nutrientes en la agricultura urbana. La digestión anaerobia también produce gas metano y por tanto supone una importante fuente de bio-energía (Noyola, 1997).

Los residuos y desechos de origen vegetal suponen el 25% de estos residuos, como por ejemplo los desechos verdes (o de jardín), lodos (20%), residuos de alimentos (18%) y papel y cartón (15%), la transformación de la madera forma otro 18% de los residuos orgánicos. Además de ser un recurso valioso para los suelos pobres en nutrientes, este material genera los más importantes niveles de contaminación cuando se depositan en vertederos. Algunas formas de desechos orgánicos pueden causar problemas de salud pública, tales como enfermedades, malos olores y las plagas (Sosa R., 1999)

2.2 Residuos de sólidos rastros

La composición de los efluentes de los mataderos depende del proceso de producción, de la separación en la descarga de materias como sangre, intestinos y desechos del suelo (Chaux, 2009). En el caso de los rastros municipales, las aguas son altamente contaminantes debido a su carga orgánica, con una Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) de 5000 a 10000 mg·L⁻¹, generando un alto impacto ambiental en los cuerpos receptores de agua y en suelo (López, 2008). Las concentraciones típicas encontradas en efluentes de faena de vacunos y porcinos alcanzan concentraciones de 3000 mg·L⁻¹ para Sólidos Suspendidos Totales, DBO de 7000 mg·L⁻¹, Demanda Química de Oxígeno (DQO) de 12000 mg·L⁻¹ y Nitrógeno Total (NT) de 6000 mg·L⁻¹ (Chaux, 2009). La normatividad mexicana exige un tratamiento de estos desechos antes de ser destinados a cuerpos de agua, a sistemas de alcantarillado y para riego de cultivos (NOM-001-SEMARNAT, 1996).

2.3 Residuo sólido de peces

En la actualidad el estado de Hidalgo ocupa el segundo lugar en la producción de peces de los estados que no cuentan con litoral, la producción de los peces se realiza en 610 granjas piscícolas en las diferentes regiones del estado, generando principalmente tilapia, trucha, bagre y carpa la gran mayoría de ellos en estanques (SAGARPA, 2010).

La producción de peces en estanques generan la acumulación de desechos, tanto sólidos como disueltos provenientes del cultivo que generalmente son tirados en ríos

o terrenos de cultivo sin ningún tratamiento. Los desechos sólidos corresponden principalmente a alimento no consumido que cae directamente al fondo y las eses fecales de los peces (Rodríguez, 1993; Mena, 1997). Se sabe que del 100% del nitrógeno contenido en el alimento de los peces, el 25% se recupera a través de la producción de peces, mientras que el 16% queda en el ambiente como desecho sólido y el 58% en forma disuelta. Con respecto al fósforo, elemento esencial en la dieta de los peces al igual que el nitrógeno, aproximadamente un 30% del contenido de este elemento en el alimento es recuperado en la producción de peces, liberándose al ambiente un 58% como desecho sólido y un 16% como desecho disuelto (Phillips y Beveridge, 1986; Campos *et al.*, 1990).

2.4 Digestión anaeróbica

La digestión anaeróbica de la materia orgánica es la conversión directa de la biomasa en gas, denominado biogás, que es la mezcla de metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) con pequeñas cantidades de otros gases tales como el sulfuro de hidrogeno. La materia orgánica es bio-transfromada por microorganismos (bacterias y archaes) en ambiente anaeróbico (ausencia de oxígeno), produciendo biogás con un contenido de energía entre 20 y 40% del poder calorífico de la materia prima. La digestión anaeróbica es una prueba tecnológica ampliamente usada para el tratamiento de los desechos con alto contenido de materia orgánica (McKendry, 2002).

2.4.1 Bioquímica de digestión anaeróbica

Los procesos anaeróbicos son aquellos donde el oxígeno y el nitrógeno no están presentes. Estos procesos son llevados a cabo por microorganismos que normalmente viven en una relación sintrópica. El sintropismo es el proceso por el cual dos o más microorganismos cooperan a degradar una sustancia que solos no podrían.

La descomposición anaeróbica de materia orgánica compleja en metano y dióxido de carbono es un proceso multi-etapa. Las principales etapas son hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metalogénesis (Figura 1).

2.4.1.1 Primera etapa: hidrólisis o Acidogénesis

Los polímeros orgánicos como lo son las proteínas, carbohidratos y grasas son hidrolizados en unidades más pequeñas tales como azúcares, ácidos grasos de cadenas largas y amino ácidos. Esta hidrólisis es efectuada por medio de enzimas extracelulares como la celulosa, amilasa, lipasa o proteasa. Los microorganismos que producen estas enzimas pueden ser microorganismos aeróbicos obligados o facultativos. (Rene Alvarez A. 2004).

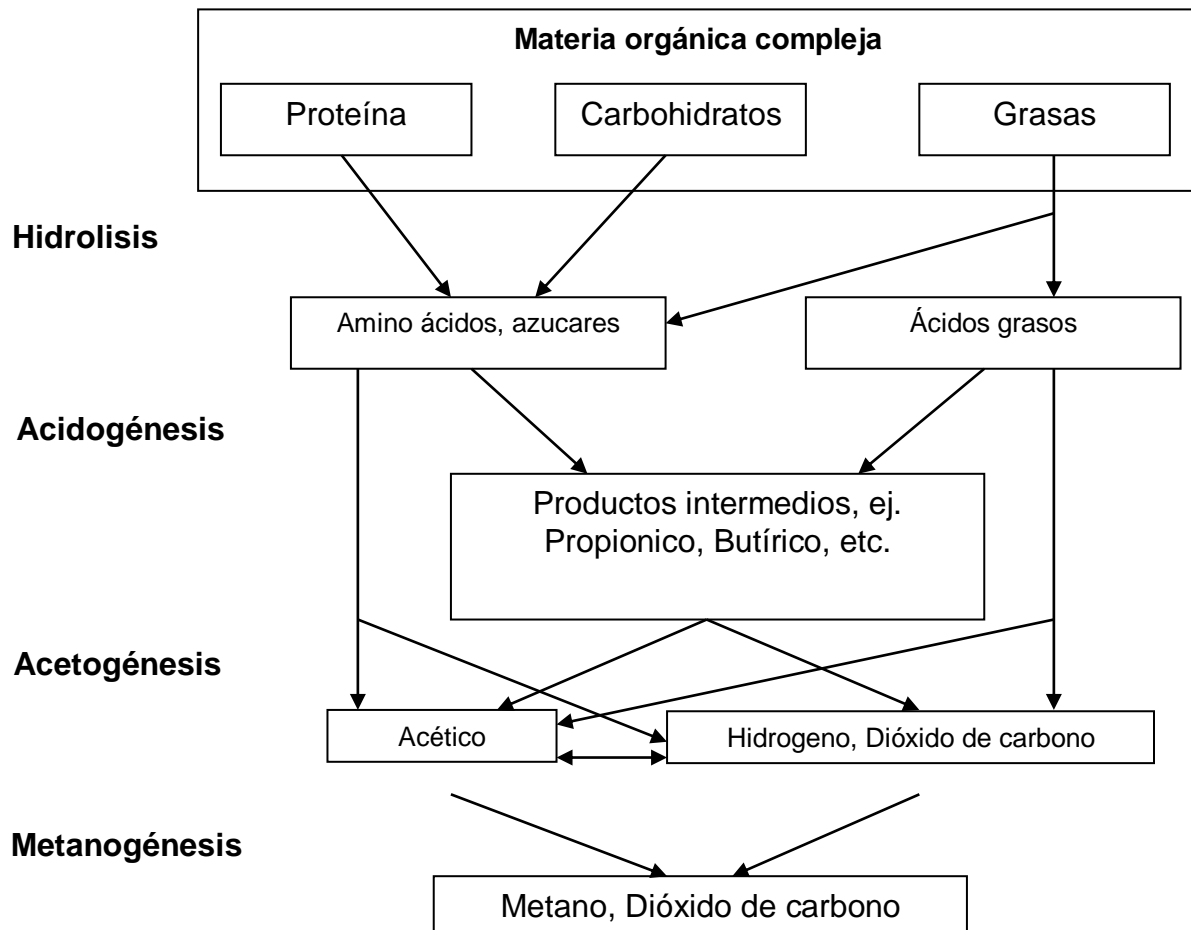


Figura 1. Degradación anaeróbica de la materia orgánica

La acidogénesis empieza cuando los azúcares, ácidos grasos de cadena larga y los aminoácidos resultantes de la hidrólisis son utilizados como sustrato para microorganismos fermentativos o por oxidantes anaeróbicos. La acidogénesis a menudo es la etapa más rápida en la conversión anaeróbica de la materia orgánica compleja en fase líquida. En un proceso estable, la principal ruta de degradación es vía acetato, dióxido de carbono e hidrogeno y los residuos intermedios de la

fermentación que juegan un rol menor. Esta ruta de degradación también da alto rendimiento energético para los microorganismos. La acumulación de ácido láctico, propiónico, butírico, etanol y otros ácidos grasos volátiles es la respuesta de las bacterias al incremento de la concentración de hidrógeno como sustrato. Estos productos pueden no ser utilizados directamente por los microorganismos metanogénicos y deberían ser degradados por las bacterias productoras de hidrógeno en el proceso denominado acetogénesis.

2.4.1.2 Segunda etapa: Acetogénesis

La acetogénesis es llevada a cabo por una sintrópica asociación de las bacterias acetogénicas con microorganismos metanogénicos consumidores de hidrógeno. Termodinámicamente esta relación sintrópica representa el metabolismo basado sobre el concepto de la mínima energía que pueden utilizar las células vivientes,

2.4.1.3 Tercera etapa: Metanogénesis

La Metanogénesis es la producción de metano y dióxido de carbono a partir de un limitado número de compuestos (acético, H_2 , CO_2 , metanol y ácido fórmico) que actúan como sustrato para los microorganismos metanogénicos (*Archaeas*). Alrededor del 70% del metano es obtenido via reacción de ácido acético y el resto de la reacción de H_2 o CO_2 . Los microorganismos metanogénicos consumidores de hidrógeno son los microorganismos de más rápido crecimiento en la digestión aeróbica.

2.4.2 Ventajas de la co-digestión

Una interesante opción para incrementar la digestión anaerobia de los residuos sólidos es la co-digestión. En este proceso se debe utilizar un co-sustrato para que exista un sinergismo al incluir nutrientes que no tenga el sustrato principal (Mata-Álvarez, 2000). Para que sean viables estos procesos, es importante que los componentes de la co-digestión se encuentren en la misma zona para disminuir los costos.

2.5 Producción de Bio-fertilizantes

El uso de los abonos orgánicos para mantener y mejorarla disponibilidad de nutrimentos en el suelo y obtener mayores rendimientos en el cultivo de cosechas, se conoce desde la antigüedad. Entre los abonos orgánicos se incluyen los estiércoles, compostas, abonos verdes, residuos de cosechas, residuos agroindustriales, aguas negras y sedimentos. Los abonos orgánicos son muy variables en sus características físicas y composición química principalmente en el contenido de nutrientes; la aplicación constante de ellos, con el tiempo, mejora las características físicas, químicas, biológicas y sanitarias del suelo.

Antes de que aparecieran los fertilizantes químicos en sus diferentes formas, la única manera de abastecer nutrientes a las plantas reponer aquellos extraídos del suelo por los cultivos, era mediante la utilización de abonos orgánicos. El uso de fertilizantes químicos, favoreció los incrementos en el rendimiento de las cosechas, pero deteriorando al propio suelo.

En todos los municipios del país, uno de los principales problemas es el manejo de los residuos sólidos, por sus costos económicos, sus daños al ambiente y a la salud humana. En este sentido, se han realizado importantes esfuerzos para encontrar una salida y reducir estos impactos negativos, y se han buscado alternativas que sean más rentables e incluso que generen ingresos. Una de estas alternativas es producir abono orgánico a partir de los residuos.

El afluyente obtenido después de una digestión anaeróbica, es un fango rico en nutrientes, este es un abono que contiene una mayor concentración de nitrógeno que el procedente del compostaje tradicional, lográndose un aumento de nitrógeno en un 120% y de fósforo de acción rápida en un 150% (McKendry, 2002; Norberg, 2002).

3 ANTECEDENTES

Desde hace muchos siglos, la producción de biogás se viene realizando en países como China y la India (WERNER, 1983). La producción de biogás, a través de la fermentación anaeróbica, es uno de los procesos biológicos más frecuentes usados por la naturaleza para descomponer los materiales orgánicos. En él se encuentran gases como metano, dióxido de carbono, hidrógeno y trazas de otros gases (pero no amoníaco). La fermentación anaeróbica transcurre con menor desprendimiento calorífico, circunstancia que determina un mayor contenido energético y un incremento en la retención de nitrógeno original de los residuos digeridos (SINGH, 1974). El proceso es sumamente complejo en el que interviene un elevado número de especies bacterianas, productoras o no de metano, que contribuyen de algún modo a la formación de este gas.

Los sistemas anaerobios son procesos fermentativos que liberan productos finales estables y una producción celular muy baja. Van Haandel y Lettinga (1994) argumentan que sólo el 3% de la materia orgánica presente en el agua residual es convertida en masa celular. El 97% restante es convertido vía catabolismo en metano y bióxido de carbono como productos finales estables. En términos generales, la producción de lodos biológicos en los sistemas de tratamiento anaeróbico es baja, reduciendo los costos de tratamiento y disposición final. Adicionalmente el metano producido es una fuente de energía renovable (Noyola, 1997). Los procesos anaerobios tienen bajos requerimientos energéticos, e inclusive

con ciertos desechos orgánicos pueden producir energía por medio del biogás (metano y dióxido de carbono). Producen pocos lodos de purga y estabilizan la materia orgánica que mantienen los nutrientes para fertilizar, lo que la transforma en un mejorador de suelos muy valioso en medios rurales (Noyola, 1997).

La digestión anaerobia se ha aplicado principalmente en el manejo de residuos orgánicos rurales (animales y agrícolas) y más recientemente en el tratamiento de aguas residuales, tanto industriales como domésticas. Se considera un proceso de fermentación y mineralización en el que la materia biodegradable es convertida a compuestos orgánicos e inorgánicos, principalmente a metano y a dióxido de carbono (Noyola, 1997). La principal característica de los procesos anaerobios es la degradación de los compuestos orgánicos por parte de las bacterias que no requieren oxígeno y finalmente con sus reacciones producen el gas metano (Veenstra et al., 1998).

La fermentación es un proceso de producción de energía menos eficiente que la respiración; como consecuencia de ello, los organismos heterótrofos estrictamente fermentativos se caracterizan por tasas de crecimiento y de producción celular menores que las de los organismos heterótrofos respiratorios (Metcalf y Eddy, 1996). Los procesos microbiológicos involucrados en la digestión anaerobia, hacen posible la transformación de la materia orgánica presente en el agua residual (polímeros orgánicos complejos), a una mezcla gaseosa de metano, dióxido de carbono, nitrógeno y ácido sulfhídrico, especialmente (biogás) y a un nuevo material celular, estos se llevan a cabo por medio de reacciones bioquímicas que son realizadas por varios grupos de bacterias.

La facilidad de la co-digestión de los sedimentos de aguas residuales y una simulación de Residuos Sólidos Municipales (por sus siglas en inglés, OFMSW) fueron examinadas por Poggi-Varaldo y Oleszkiewicz (1992) y encontraron que los beneficios de la mezcla de estos residuos se refieren a la dilución de componentes tóxicos potenciales, por mejorar el balance de nutrientes, el sinergismo de los microorganismos y el incremento de la materia orgánica biodegradable.

Otro aspecto importante del uso de la digestión anaeróbica es el hecho de que si se tratan las aguas residuales se puede obtener un bio-fertilizante más apropiado para la agricultura, ya que se disminuye las concentraciones de los microorganismos patógenos, particularmente de los que transmiten enfermedades al hombre y animales por el consumo de productos agrícolas contaminados (Menzies, 1986; Corbitt, 1990; Bitton, 1994).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Determinar el efecto de residuos solidos de peces en una codigestion anaerobia a partir del uso de la sangre.

4.2 Objetivos específicos

- Cuantificar la producción de metano durante la co-digestión anaerobia de los residuos sólidos de peces con sangre.
- Determinar el comportamiento de la Demanda Química de Oxígeno (DQO), azúcares totales, Sólidos Totales (ST), Sólidos Totales Fijos (STF), Sólidos Totales Volátiles (STV), Nitrógeno (N_2), Fosforo, pH y Ácidos Grasos Volátiles (AGV's) durante el proceso de la co-digestión.
- Determinar el efecto del biosol producto del residuo solido de peces en co-digestión anaerobia con la sangre.

5 HIPÓTESIS

El uso de residuos sólidos de peces puede favorecer una digestión anaerobia de la sangre, generando mayor cantidad de metano y un biosol de mejor calidad para el cultivo de alfalfa.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Localización del experimento

El desarrollo experimental del presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Aprovechamiento Agroalimentario Integral del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) y en los laboratorios del Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICyTA) dependientes de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH) campus Tulancingo, Hidalgo.

6.2 Descripción de la materia prima

6.2.1 Residuo de la industria cárnica

Se trabajó con sangre la cual se obtuvo de la matanza de cerdos en un rastro del municipio de Santiago Tulantepec, Hidalgo. La sangre se recolectaba y era transportada al laboratorio de Aprovechamiento Agroalimentario Integral.

6.2.2 Residuos Sólidos Orgánicos de la producción de Tilapia (RESOPT)

El Residuo Sólido Orgánico de la Producción de Tilapia (RESOPT) se obtuvo de la granja de policultivos ubicada en el municipio de Tezontepec de Aldama, Hidalgo, este RESOPT se obtuvo del sedimento en la limpieza de los estanques de los peces.

6.3 Establecimiento del experimento

El trabajo experimental consistió en cuantificar la producción del gas metano durante noventa días, evaluar el comportamiento de los parámetros físico-químicos y realizar un bioensayo de germinación de la alfalfa utilizando como biosol el producto final de la co-digestión del RESOP con la sangre.

6.4 Diseño de tratamiento

Se realizaron cinco tratamientos con seis repeticiones con diferentes concentraciones de sangre (50%, 37.5%, 25%, 12.5% y 0%) (Tabla 1), en co-digestión con RSOPT. Se trabajaron con reactores de 4 litros sin control de pH, ni temperatura simulando las condiciones ambientales del valle de Tulancingo.

Tabla 1. Composición de tratamientos de residuos orgánicos de la producción de Tilapia y sangre de cerdo.

	Tratamientos				
	T1	T2	T3	T4	T5
% RSOPT	50	50	50	50	50
% SANGRE	50	37.5	25	12.5	0
% AGUA	0	12.5	25	37.5	50

Los reactores fueron muestreados cada quince días para cuantificar la producción del gas metano, al mismo tiempo se abrió un reactor de cada tratamiento para monitorear la evolución de la co-digestión. Dichas muestras fueron congeladas para su posterior análisis.

6.5 Variables de estudio

6.5.1 Análisis Físico-químicos

A las muestras obtenidas de los reactores abiertos se les determinó los siguientes parámetros: Demandas Química de Oxígeno (DQO), Azúcares Totales (AT), Potencial de Hidrogeno (pH), Ácidos Grasos Volátiles (AGV's), Producción de metano (PM), Sólidos Totales (ST), Sólidos Totales Fijos (STF), Sólidos Totales Volátiles (STV), concentración de Nitrógeno (N_2) y concentración de Fósforo (P).

6.5.1.1 Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

En este análisis se empleó un agente químico fuertemente oxidante en medio ácido para la determinación del equivalente del oxígeno de la materia orgánica que puede oxidarse. El dicromo de potasio es el agente usado para este propósito.

El ensayo debe hacerse a elevadas temperaturas, además de que es preciso utilizar un catalizador (sulfato de plata) para facilitar la oxidación de determinados tipos de compuestos orgánicos (APHA/AWWAIWPCF, 1989).

Las concentraciones de materia orgánica se determinaron por el método colorimétrico de DQO, para el cual se requirió preparar las siguientes soluciones:

1. Solución digestora. Se disolvieron 10.216 g de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), previamente secado a $1500^\circ C$ durante dos horas en 500 mL de agua destilada, se añadieron lentamente 167 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) y

33.3 g de sulfato de mercurio (HgSO_4) posteriormente se aforó con agua destilada a 1 L.

2. Reactivo de ácido sulfúrico. Se disolvieron 10.29 g de Sulfato de Plata (Ag_2SO_4) en 1 L de ácido sulfúrico.

Se tomaron 2 mL de la muestra y se vertieron en un tubo HACH, se le adicionaron 2 mL de reactivo de ácido sulfúrico y 1 mL de solución digestora, después se calentó durante 2 horas a 500°C en el microprocessor blok heater marca Lab-Line modelo 2006 fabricado en Estados Unidos. Posteriormente se registró la lectura en el espectrofotómetro marca Milton Roy, modelo Spectronic 200 fabricado en Estados Unidos, a 620 nm. Se calculó la DQO tomando como base una curva patrón de diftato de potasio (KHP) de 0, 250, 500, 750 Y 1000 mg/L (APHA/AWWAIWPCF, 1989).

6.5.1.2 Determinación de azúcares totales (Técnica de Antrona)

En la cuantificación de azúcares totales se aprovechan las propiedades químicas de los monosacáridos. Una vía muy general es la deshidratación, en caliente y en medio ácido de los grupos oxidrilo (OH), que conducen a la formación de compuestos intermedios como el furfural para las pentosas y el 5-hidroximetil furfural para las hexosas. Estos compuestos se pueden cuantificar directamente midiendo su absorbancia. En el método con reactivo de antrona (9,1 O-dihidrooxoantraceno) los derivados furfurálicos condensados de esta, dan un color azul verdoso cuya absorbancia se mide a 625 nm (Trevelyan, 1952).

Se diluyeron 200 mg de antrona previamente secados en 100 mL de ácido sulfúrico frío. Para determinar concentraciones de azúcares totales se tomó 1 mL de muestra previamente filtrada y se le adicionaron 2 mL de reactivo de antrona en un tubo de ensayo según la técnica de antrona, después se colocaron en baño María a ebullición durante 10 minutos. Se dejó enfriar y se registró la lectura a 625 nm en el espectrofotómetro marca Milton Roy, modelo Spectronic 20D fabricado en Estados Unidos. Los cálculos de las concentraciones de azúcares totales se realizaron tomando como base una curva patrón de glucosa con concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40 Y 50 mg·L⁻¹.

6.5.1.3 Potencial de Hidrógeno (NMX-FF-109-SCFI-2007)

La evaluación electrométrica del pH se basa en la determinación de la actividad del ion H⁺ mediante el uso de un electrodo cuya membrana es sensitiva al H⁺. La medición del pH es una de las pruebas más importantes y frecuentes.

Para la medición del pH se utilizó un potenciómetro marca Hanna Instruments modelo 211 fabricado en Portugal; calibrado con soluciones tampón con pH de 7 y 4. La muestra se agitó durante varios minutos para obtener una mezcla homogénea, se introdujo el electrodo y se registró la lectura una vez estabilizada.

6.5.1.4 Determinación de Ácidos Grasos Volátiles por Electroforesis Capilar

La electroforesis capilar es un método de separación por carga y tamaño molecular, el cual en general se basa en la separación de los iones: los iones negativos que tienden a migrar hacia el voltaje más alto y los iones positivos hacia el voltaje más

bajo, sin importar que se encuentre en solución o en forma de gas, de ahí que, un cuerpo cargado se coloca sobre un campo eléctrico en el que la velocidad promedio de migración de una especie de analito es proporcional a la carga eléctrica de un ion también es proporcional al voltaje medio que se aplica.

Es necesario amortiguar las soluciones que se separan para asegurar que la carga permanezca igual en cualquier medio ácido o básico, de ahí el empleo de buffers como el imidazol. La electroforesis separa los iones según sus diferentes relaciones de cargas con respecto al tamaño (Rubinson, 2000).

6.5.1.5 Determinación de Ácidos Grasos Volátiles (AGV's)

La determinación de ácidos grasos volátiles (AGV' s) se llevó cabo en un equipo de electroforesis capilar (marca Beckman Coulter modelo P/ACEMDQ Glycoprotein System fabricado en Estados Unidos) con un capilar de silica fundida de 47 cm X 75 μ m D.1.X 375 μ m D.E., con una longitud de inyección a detección de 40 cm., con una presión de nitrógeno en el capilar de 0.5 p.s.i., la separación se realizó a temperatura constante del capilar, la lectura del detector UV se realizó a 214 nm. El amortiguador que se utilizó es una solución de Ácido Benzoico (C₆H₅COOH) 10mM, Histidina 10mM y Bromuro de Tetradecil Trimetil Amonio (TTAB) 1Mm ajustando el pH a 6 con NaoH 1M (Arellano, 2000).

Primero se inyectó un testigo que consistió en una mezcla de ácido acético 50 ppm, propiónico 50 ppm y butírico 50 ppm (1:1:1). Después, se determinaron las concentraciones de AGV's (ácido acético, propiónico y butírico) a muestras previamente filtradas por medio de un filtro de 0.45 μ m. Finalmente con base en los

tiempos de las áreas de los cromatogramas se identificó el tipo de AGV y de acuerdo con las concentraciones de cada uno de los componentes del testigo se realizaron los cálculos.

6.5.1.6 Determinación de la concentración de metano por Cromatografía de gases

Se cuantificó la producción de biogás por 90 días por cromatografía de gases (Perkin Elmer). Se utilizó una columna capilar Elite Plot-Q (columna DVB Plot) de 30 m de longitud. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador. El volumen de inyección fue de 0.5 µL. La temperatura del detector fue de 200° C, la del inyector de 150° C y la de la columna de 50° C. El pH se determinó por medición directa en un potenciómetro.

6.5.1.7 Sólidos Totales (ST), Sólidos Totales Fijos (STF) y Sólidos Totales Volátiles (STV)

El principio de esta determinación es la evaporación de la muestra en una cápsula de porcelana a peso constante en un horno a una temperatura de entre 103 Y 105°C durante 24 horas.

Para determinar los sólidos totales se colocó una cápsula de porcelana a 103-105°C durante 24 horas en un horno para secado y esterilizado marca Craft fabricado en México, y después se colocó en un desecador durante 1 hora, se registró el peso de la cápsula (P1), posteriormente se colocó la muestra en la cápsula para evaporarla a 103-105°C durante 24 horas. El aumento de peso sobre la cápsula (P2) representará los sólidos totales.

Para la determinación de la fracción volátil y fija de la muestra, el residuo que se obtuvo después del secado se incineró en una mufla marca Lunderg Blue, No. De serie BF 51700 fabricada en Estados Unidos a una temperatura de $500^{\circ}\text{C} \pm 50^{\circ}\text{C}$. durante 2 h. El peso de la cápsula después de la incineración (P3) representa los sólidos totales fijos, mientras que la pérdida de peso por la incineración representará a los sólidos volátiles (APHA/AWWAWPCF., 1989).

Los porcentajes de sólidos totales, sólidos totales volátiles y sólidos totales fijos, se determinaran mediante las siguientes ecuaciones:

$$\%ST = \frac{(A - B) * 100}{C - B}$$

$$\%STV = \frac{(A - D) * 100}{A - B}$$

$$\%STF = \frac{(D - B) * 100}{A - B}$$

Donde:

ST: Sólidos Totales

STV: Sólidos Totales Volátiles

STF: Sólidos Totales Fijos

A: Peso de la muestra deshidratada + peso de la cápsula de porcelana

B: Peso de la cápsula de porcelana

C: Peso de la muestra fresca + peso de la cápsula de porcelana

D: Peso de las cenizas + peso de la cápsula de porcelana

6.5.1.8 Determinación de Nitrógeno

La materia nitrogenada total en el estiércol, RSOPT y en la mezcla de ambos residuos se determinó con el método Kjeldahl, para el cual fue necesario preparar las siguientes soluciones:

1. Disolución indicadora de ácido bórico (2%). Se pesaron 20 g de ácido bórico seco y se disolvieron en 500 mL agua y aforó a 1 L.
2. Disolución de ácido sulfúrico (0.1 N). Se pesaron 49.03 g de hidróxido de sodio y se disolvieron en 500 mL de agua, se enfrió a temperatura ambiente y aforó a 1 L. Se calculó la normalidad exacta de la disolución.
3. Reactivo para la digestión. Se pesaron aproximadamente 200 g de sulfato de potasio y 20g de sulfato cúprico penta hidratado, se trituró en un mortero el sulfato cúprico penta hidratado y se mezcló con el sulfato de potasio hasta obtener una mezcla homogénea.
4. Disolución de hidróxido de sodio (30%). Se pesaron 300 g de hidróxido de sodio y se disolvieron con agitación constante dentro de un recipiente con hielos en aproximadamente 800 mL de agua, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se aforó a 1 L.

El análisis se llevó a cabo en 3 etapas, la primera es la digestión en ácido sulfúrico, la segunda consiste en una destilación con hidróxido de sodio (NaOH) y finalmente

una valoración con ácido bórico (H_3BO_3). El estudio se realizó en el equipo Kjeldahl marca Büchi fabricado en Suiza. Se pesaron 0.5 g de la muestra y se agregó al matraz Kjeldahl junto con 5 g de mezcla digestora y 15 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Se calentó el matraz en la Unidad de Digestión marca Büchi modelo B-426 hasta que se produjo un cambio en la coloración (verde transparente) y se terminó la digestión (aproximadamente 2 h). Posteriormente para la destilación, en un matraz Erlenmeyer se agregaron 50 ml de ácido bórico y 3 gotas de rojo de nretilo, mientras que en el matraz Kjeldahl se agregaron 20 mL de agua destilada y la cantidad suficiente de NaOH para neutralizar la muestra en el Destilador marca Büchi modelo K-350 y cuando el destilado tuvo aproximadamente 300 mL se tituló con una solución valorada de ácido sulfúrico (NMX-AA-026-SCFI-2001. 2001).

Para obtener el porcentaje de nitrógeno, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de } N_2 = \frac{(ml \text{ problema} - ml \text{ blanco})(meq N)(normalidad } H_2SO_4) * 100}{\text{peso de la muestra}}$$

6.5.1.9 Determinación de Fosforo

El fósforo es un nutriente esencial para el crecimiento de organismos, por lo que es común encontrarlo en residuos biológicos. Para la determinación de fósforo (P) en el estiércol, en el RSOPT y en la mezcla de ambos residuos, fue necesario preparar las siguientes soluciones:

1. Solución patrón: Se pesaron 219.5 mg de fosfato monobásico de potasio anhidro (KH_2PO_4) previamente secado, se disolvieron en 500 mL de agua destilada y se aforó a 1 L.

2. Disolución A. Se pesaron 25 g de molibdato de amonio y diluyeron en 300 mL de agua destilada.
3. Disolución B. Se pesaron 1.25 g de metavanadio de amonio en calentamiento hasta ebullición en 300 mL de agua destilada. Se enfrió y añadió 330 mL de ácido clorhídrico concentrado (HCl). Se dejó enfriar a temperatura ambiente.
4. Disolución reactivo metavanadio-molibdato: Se adicionó la disolución A a la disolución B, se mezcló y aforó a 1 L.
5. Hidróxido de sodio 6 N (NaOH). Se pesaron 240 g de NaOH y se diluyeron con 500 mL de agua, se agitó y dejó enfriar a temperatura ambiente y se aforó a 1L.

El estudio se realizó en el equipo Kjeldahl marca Büchi fabricado en Suiza. Se pesó aproximadamente 1 g de la muestra y se agregó al matraz Kjeldahl junto con 5 mL de ácido sulfúrico concentrado y 1 mL de ácido perclórico concentrado. Se calentó el matraz e la unidad de digestión marca Büchi modelo B-426 hasta que se produjo un cambio en la coloración (vire a amarillo) y se concluyó la digestión (aproximadamente 2 h). Se dejó enfriar y se adicionó una gota de fenolftaleína y 20 ml de agua destilada. Se neutralizó con NaOH 6 N hasta desvanecer a un color rosa pálido (aproximadamente 25 mL). Posteriormente se aforó a 100 ml con agua destilada y se filtró (utilizando papel filtro de 0.040 mm) hasta obtener 17.5 mL del filtrado y se mezcló perfectamente con 5 mL del reactivo de metavanadio-molibdato. Se dejó reposar 20 min y se registró la lectura a 490 nm en el espectrofotómetro marca Varían modelo Cary fabricado en Australia (NMX-AA-029-SCFI-2001, 2001.)

Los cálculos de las concentraciones de fósforo se realizaron tomando como base una curva de la solución patrón de KH_2PO_4 con concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40 y 50 ppm.

6.5.2 Análisis microbiológico

A las muestras obtenidas de los microcosmos abiertos se les realizaron análisis microbiológicos para la cuantificación de coliformes totales y *Salmonella*.

6.5.2.1 Determinación de Bacterias Coliformes

Las bacterias coliformes son un grupo heterogéneo compuesto por varios géneros. Existe poca evidencia que indique que estas bacterias coliformes pertenezcan a un solo género taxonómico. El número de organismos se establece mediante la cuenta de unidades formadoras de colonias mediante el Método para la Cuenta de Microorganismos Coliformes Totales en Placa. El método se basa en que las bacterias coliformes, fermentan la lactosa incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 a 48 horas, resultando una producción de ácidos y gas el cual se manifiesta en las campanas de fermentación.

El método de coliformes totales en placa permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (Agar Mac Conkey) en el que se desarrollan bacterias a 35°C en aproximadamente 24 h, dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos.

Para la realización de esta prueba se tuvo que preparar previamente el Agar Mac Conkey marca Bioxon fabricado en México; para lo cual, se suspendieron 50 g del

mismo en 1 L de agua destilada. Se mezcló perfectamente hasta que se obtuvo una suspensión uniforme. Se dejó reposar de 10 a 15 minutos. Se calentó suavemente agitando frecuentemente hasta que la solución hirvió durante 1 minuto. Finalmente se esterilizó en autoclave a 1210°C durante 15 minutos.

Una vez preparado el agar, se procedió a la siembra, para lo cual se colocaron en las cajas Petri (previamente esterilizadas al igual que el resto del material que se utilizó durante el procedimiento) por duplicado 1 mL de la muestra en la dilución primaria, utilizando para tal propósito una pipeta estéril. Se repitió el procedimiento tantas veces como diluciones decimales se requería sembrar, utilizando una pipeta estéril diferente para cada dilución. Se adicionaron de 15 a 20 mL del Agar Mac Conkey fundido. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio. Se dejó que la mezcla solidificara dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría. Se invirtieron las placas y se colocaron en la incubadora marca Felisa modelo 133 fabricada en México a 350°C, durante 24 ± 2 horas. Después del periodo especificado para la incubación, se contaron las colonias con el contador de colonias marca Leica modelo 3327 fabricado en Estados Unidos.

6.5.2.2 Determinación de *Salmonella*

La *Salmonella* es un microorganismo patógeno perteneciente al grupo de Enterobacterias, bacilo gram negativo, aerobio, no esporulado que forman colonias típicas en medios selectivos sólidos y que presentan además las características bioquímicas y serológicas. Los miembros del género *Salmonella* han sido muy estudiados como patógenos. Existen diferentes protocolos para el aislamiento de

Salmonella, todos ellos son esencialmente similares en principio y emplean las etapas de preenriquecimiento, enriquecimiento selectivo, aislamiento en medios de cultivos selectivos y diferenciales, identificación bioquímica y confirmación serológica de los microorganismos.

La cuantificación de *Salmonella* se realizó por el método de cuenta en placa a 35°C en aproximadamente 24 h. Para la realización de esta prueba se tuvo que preparar previamente el agar para *Salmonella* y *Shigella* marca Bioxon fabricado en México; para lo cual, se suspendieron 60 g del mismo en 1 L de agua destilada. Una vez preparado el agar, se procedió a la siembra, la cual se realizó de la misma manera que la siembra de coliformes totales, y se colocaron en la incubadora marca Felisa modelo 133 fabricada en México, a 35°C, durante 24 ± 2 horas. Después del periodo especificado para la incubación, se contaron las colonias con el contador de colonias marca Leica modelo 3327 fabricado en Estados Unidos (NOM-114-SSA 1-1994, 1994).

6.5.3 Bioensayo

Para el bioensayo de germinación se utilizó el biosol resultante de la co-digestión del residuo sólido de peces con la sangre de cerdos fermentado por tres meses. La semilla que se germinó fue *Medicago sativa* variedad “El Camino” de cebada que fue proporcionada por la tienda proveedora de insumos agrícolas en la ciudad de Tulancingo, Hidalgo. Se optó por este cultivo debido a que en la región se siembran grandes cantidades de alfalfa que se utiliza como forraje para el ganado y esta

variedad es la más utilizada por su gran resistencia a las bajas temperaturas. La densidad de siembra utilizada fue de 5 Kg·ha⁻¹.

Se utilizaron los 5 tratamientos y un testigo con diez repeticiones adicionando el biosol con base a la exigencia de N₂ de la semilla (635 Kg·ha⁻¹) para obtener 22 ton/ha de forraje según el proveedor.

El bioensayo se realizó en rejillas para germinación que contenían algodón y se les suministró diferentes concentraciones de biosol dependiendo de su contenido de N₂ (Tabla 2), el testigo solo contenía el algodón para dar sustento a la planta, se regaron cada tercer día con agua destilada.

Tabla 2 Gramos de muestra de biosol aplicados a cada tratamiento.

	Tratamientos					Testigo
	T1	T2	T3	T4	T5	
5 de N ₂	1.219	0.945	0.616	0.445	0.110	0
g de muestra aplicados al tratamiento	5.2	6.7	10.3	14.2	55.2	0

El bioensayo se realizó durante quince días monitoreando el tamaño de la raíz, tallo, hojas y sólidos totales, haciendo dos mediciones a los primeros 7 días y a los quince.

6.6 Análisis de resultados

Para el análisis de resultados de los parámetros físico-químicos del proceso de biodigestión y bioensayo se utilizó un diseño de bloques completamente al azar de una sola vía utilizando un análisis por duplicado con el programa NCSS 2007,

utilizando una prueba de Tuckey para determinar si hubo o no diferencias significativas ($P < 0.05$).

7 RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 Evaluación de los parámetros físico-químicos

7.1.1 Demanda Química de Oxígeno

Se cuantificó la DQO soluble encontrándose diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). El T1 con una concentración inicial de más de $110 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de DQO, mientras que en el T5 con solamente el residuo orgánico de la producción de Tilapia (RSOPT) una DQO soluble de $1.4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura 2). La reducción de DQO fue de más del 80% a los 90 días en todos los tratamientos que contenían sangre. Macías-Corral (2008) reportaron resultados similares donde obtuvieron rendimientos de degradación de la DQO del 80% utilizando materia sólida orgánica municipal en co-digestión con estiércol de vaca.

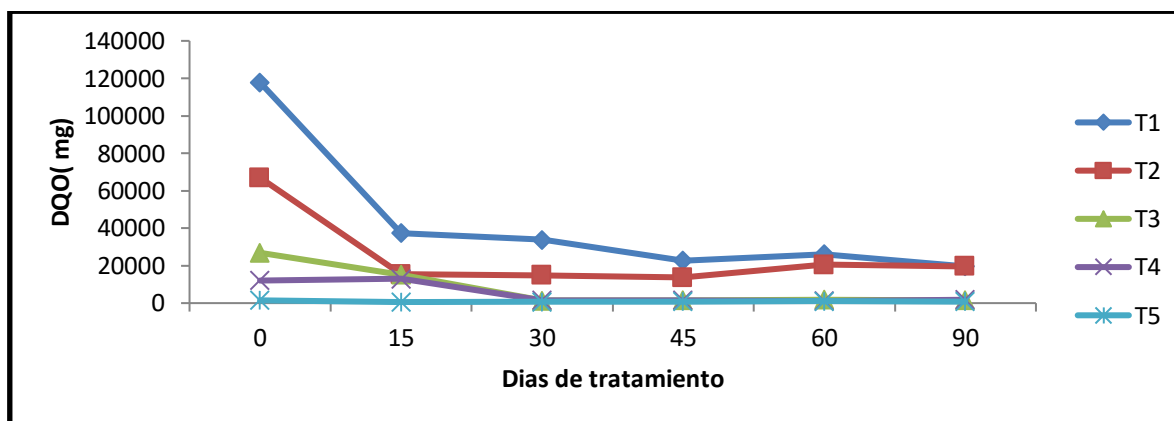


Figura 2. Comportamiento de la demanda química de oxígeno (DQO) en diferentes mezclas de residuo sólido orgánico de la producción de Tilapia (RESOPT) y sangre.

7.1.2 Azúcares totales

La concentración de azúcares iniciales en todos los tratamientos se comportaron de una manera similar encontrándose la mayor en T1 y siendo proporcional a la concentración de sangre para todos los demás tratamientos, presentando diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$). Al finalizar el experimento todos los tratamientos contenían menos 100 mg de azúcar como se puede ver en la Figura 3. Probablemente debido a que se redujeron en la producción de metano y CO_2 .

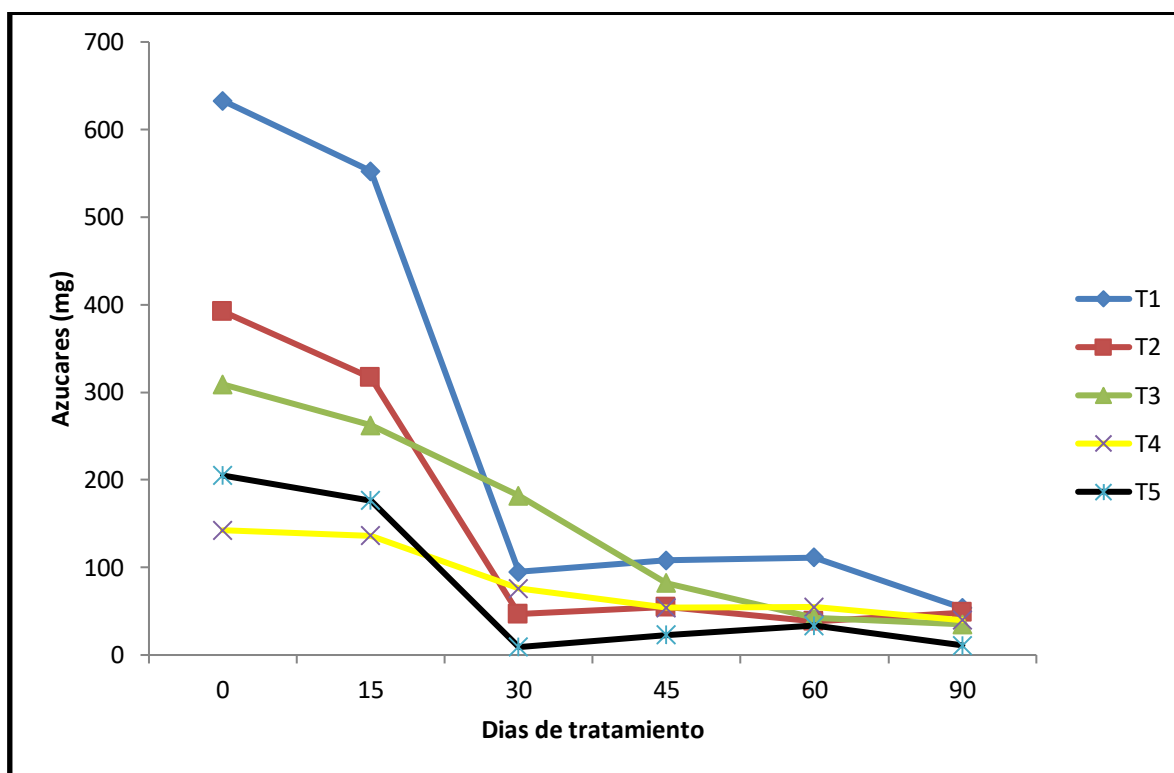


Figura 3. Comportamiento de los azúcares en diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.

7.1.3 pH

En el pH existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) ya que el T1 con 50% de sangre al inicio tuvo un pH de 6.6 mientras que el T5 con 0% de sangre fue de 7.1 (Figura 4). En todos los tratamientos con sangre, el pH final fue superior a 8. El T5 sin sangre no sufrió un aumento tan drástico de pH de 7.1 a 7.8. Estos resultados son similares a los obtenidos Macías-Corral (2008), que trabajaron con un sustrato de residuos sólidos de una planta tratadora de aguas.

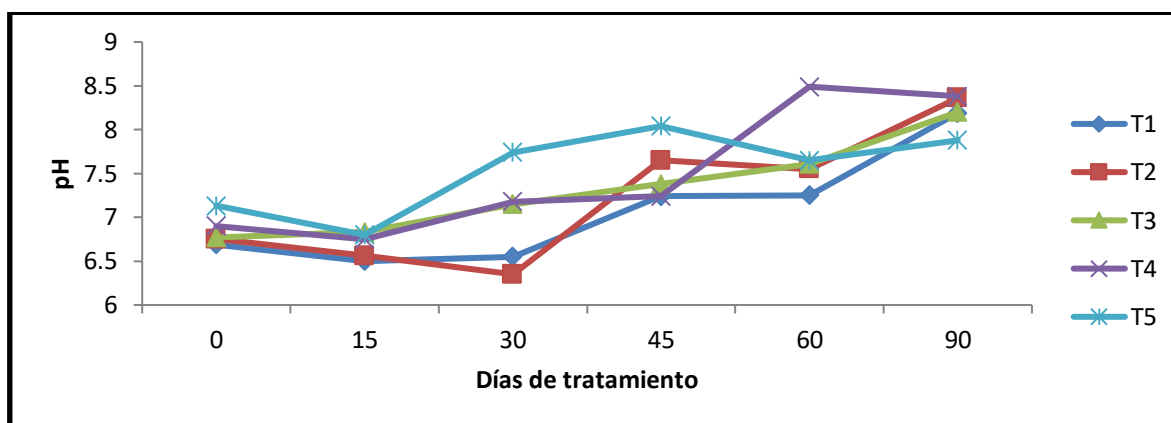


Figura 4. Determinación de pH en el proceso de co-digestión de la mezcla de residuos sólidos orgánicos de la producción de Tilapia (RESOPT) con sangre.

7.1.4 Ácidos Grasos Volátiles

Los ácidos grasos volátiles no fueron detectados en el T1, T2 y T3, el T4 presentó la producción de ácido acético durante los primeros 45 días y el T5 con solo RESOPT presentó la producción de este ácido durante los 90 días (Figura 5).

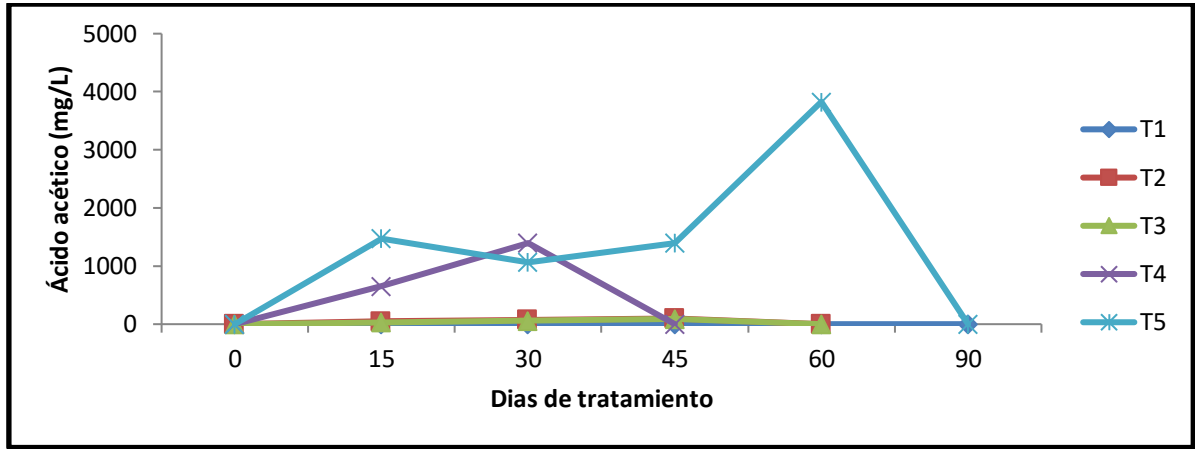


Figura 5. Determinación de la producción de ácido acético durante la codigestión de diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.

7.1.5 Producción de metano y bióxido de carbono

La concentración de sangre influyó en la producción de metano, presentando diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$) y el T5 sin sangre tuvo la máxima producción de metano a los 30 días de tratamiento, el T1 con 50% de sangre no presento producción de metano (Figura 6).

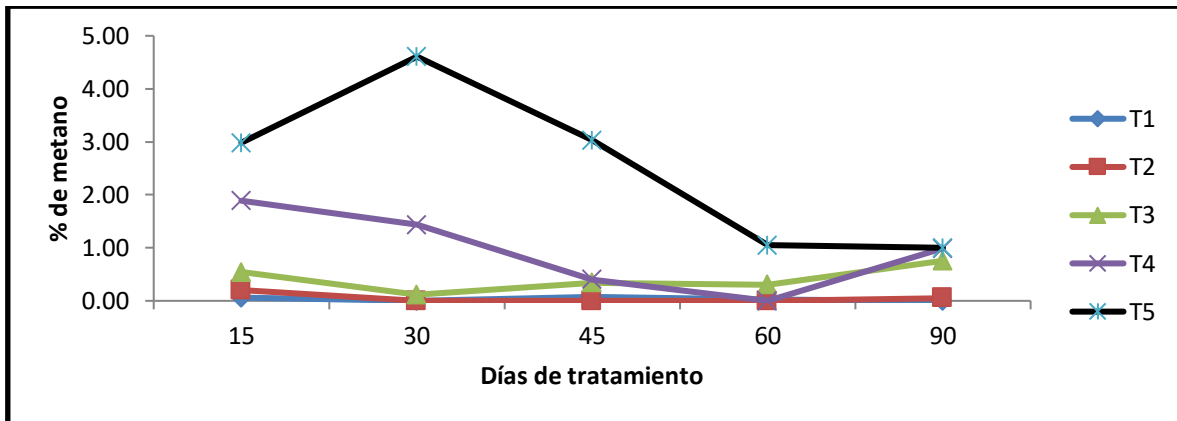


Figura 6. . Producción de metano en diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.

Los tratamientos con sangre no generaron metano debido a la alta concentración de materia orgánica presente en este co-sustrato lo que queda de manifiesto en las altas concentraciones de dióxido de carbono que se presentó durante los 90 días de tratamiento (Figura 7). El T1 con 50% de sangre a los 30 días presenta una producción del 60% de dióxido de carbono, mientras que el T5 sin sangre su mayor producción es a los quince días de iniciado el tratamiento.

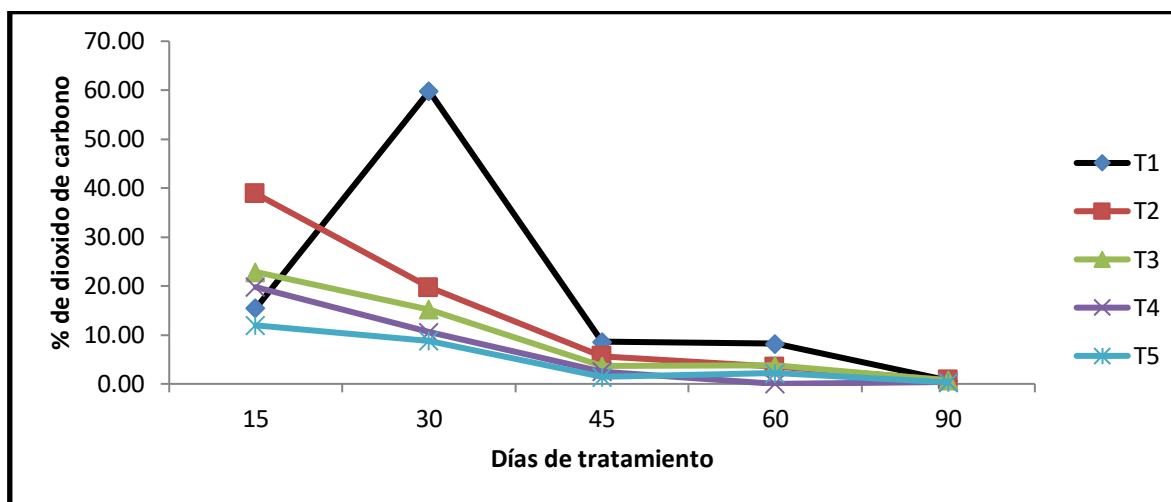


Figura 7. Producción de dióxido de carbono en diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.

7.1.6 Sólidos Totales, Sólidos Totales Fijos y Sólidos Totales Volátiles

La concentración de sólidos totales y volátiles como se esperaba fue proporcional a la concentración de sangre en los tratamientos como se muestra en las Figuras 8 y 9. Encontrando que los tratamientos con mayor cantidad de sangre después de los 90 días redujeron su concentración y los tratamientos sin sangre casi no se vieron afectados. Por lo que T2 fue el que mayores cambios sufrió en la concentración de sólidos totales lo cual probablemente contribuyó a la generación de las altas

cantidades de dióxido de carbono. Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$).

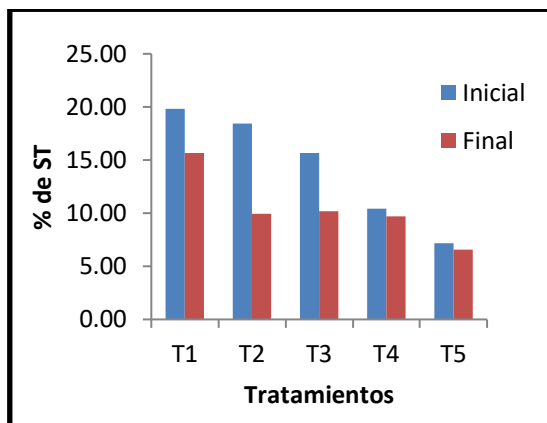


Figura 8. Comportamiento de los sólidos totales de diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.

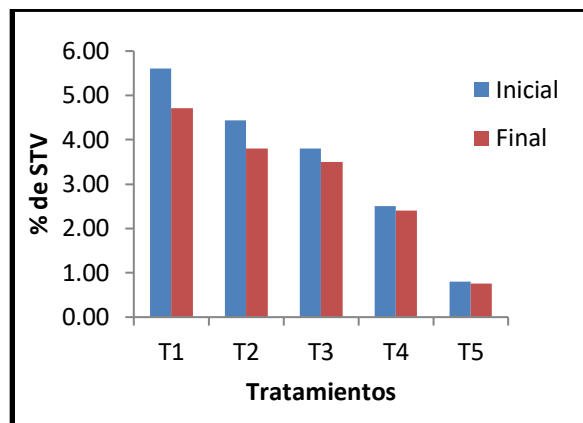


Figura 9. Comportamiento de los Sólidos Totales Volátiles de diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.

7.1.7 Nitrógeno y Fosforo

La producción de N_2 se vio afectada de manera proporcional a la concentración de sangre, encontrándose diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). Así que los tratamientos con menor contenido de N_2 fueron los que contenían mayor cantidad de residuo solido de peces (Tabla 3), estos resultados son menores a los reportados por Dante Pinochet, et al., (2001), quienes trabajaron en el cultivo del salmón y que encontraron que los lodos de este cultivo contenían cerca del 0.7% de nitrógeno.

El fósforo después de los noventa días de tratamiento experimento un incremento de más del 4% en todos los tratamientos, siendo el mejor el que contenía mayor cantidad de sangre al igual que el nitrógeno, encontrándose diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). Los resultados obtenidos son menores a los obtenidos

por Dante Pinochet, et al., (2001), quienes registraron valores superiores de 3.3% al trabajar con lodos provenientes del cultivo de salmones.

Tabla 3 Producción de Nitrógeno y Fósforo en diferentes mezclas residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.

Tratamiento	% de Nitrógeno		% de Fosforo	
	Inicial	Final	Inicial	Final
T1	0.108 ± 0.020	0.110 ± 0.030	0.300 ± 0.018	0.339 ± 0.134
T2	0.319 ± 0.019	0.445 ± 0.018	0.514 ± 0.071	0.551 ± 0.004
T3	0.522 ± 0.040	0.616 ± 0.018	0.580 ± 0.010	0.635 ± 0.009
T4	0.821 ± 0.076	0.945 ± 0.017	0.716 ± 0.009	0.778 ± 0.001
T5	1.087 ± 0.043	1.219 ± 0.016	0.922 ± 0.002	1.037 ± 0.020

7.2 Análisis microbiológico

Los *Coliformes fecales* fueron eliminados en su totalidad para los tratamientos con mayor cantidad de sangre, pero los tratamientos que contenían mayor cantidad de sólidos de peces aun se determinaron después de los 90 días de tratamiento, probablemente con mas días se podrían eliminar en su totalidad como lo reporta M. J. Soria-Fragoso, et al., (2001). que trabajo con excreta liquida de cerdo y reporta que después de cincuenta días de tratamiento se eliminaron todos los *coliformes*.

Se encontró la presencia de *Salmonella sp* en los tratamientos que contenían mayores contenidos de sólidos de peces y en el tratamiento que solo contenía sangre no se detecto como se muestra en la Tabla 4; al finalizar el tratamiento no se detectaron rastros de este microorganismo indicando que la digestión anaeróbica

puede eliminar este organismo patógeno al igual que a los hongos presentes en los tratamientos, datos similares reporto Soria-Fregoso *et al.*, (2001), en su trabajo de producción de fertilizantes mediante el uso de excretas mediante digestión anaerobia.

Los análisis microbiológicos muestran que si se trata el biosol durante 90 días se pueden eliminar la mayoría de los microorganismos patógenos.

Tabla 4 Microorganismos presentes en los tratamientos.

Tratamiento	<i>Salmonella sp</i>		<i>Coliformes fecales</i>		Hongos	
	UFC/gr		Inicial	Final	Inicial	Final
	Inicial	Final				
T1	0	ND	0.18X10 ⁵	ND	.12X10 ⁴	ND
T2	400	ND	1.67 X10 ⁵	ND	13.2 X10 ⁴	ND
T3	2807	ND	23.3 X10 ⁵	ND	18 X10 ⁴	ND
T4	58798	ND	145 X10 ⁵	15700	23.4 X10 ⁴	ND
T5	105603	ND	300 X10 ⁵	97800	30 X10 ⁴	ND

7.3 Bioensayo

7.3.1 Germinación

Como se muestra en la Figura 10 el porcentaje de germinación fue superior al testigo para los tratamientos T5 y T4 con mayor contenido de sólidos de peces que germinaron al 100% mientras que el testigo solo registro un 93.3%. El tratamiento T3

con iguales cantidades de sangre y sólidos de peces tuvo una drástica disminución de la germinación, mientras que los tratamientos con mayores cantidades de residuos de rastro no germinaron, probablemente debido a las altas concentraciones de materia orgánica que no permitió que la semilla encontrara disponible los nutrientes necesarios para germinar.

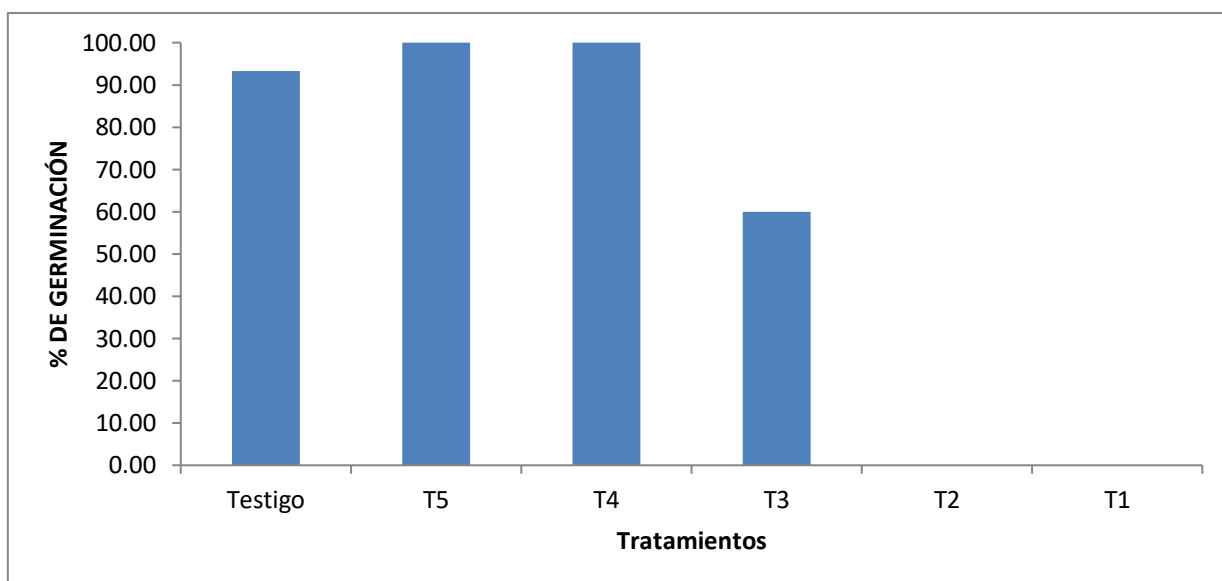


Figura 10. Porcentaje de germinación por efecto de diferentes concentraciones de un biosol.

7.3.2 Crecimiento de la biomasa

Al realizar las mediciones de tallo, raíz y hojas se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$), encontrándose que T4 registró mejores resultados para la variable crecimiento tallo que el testigo en las mediciones de los 7 y 15 días, mientras que T5 solo alcanzó la mitad de la altura del testigo como se muestra en la Figura 11.

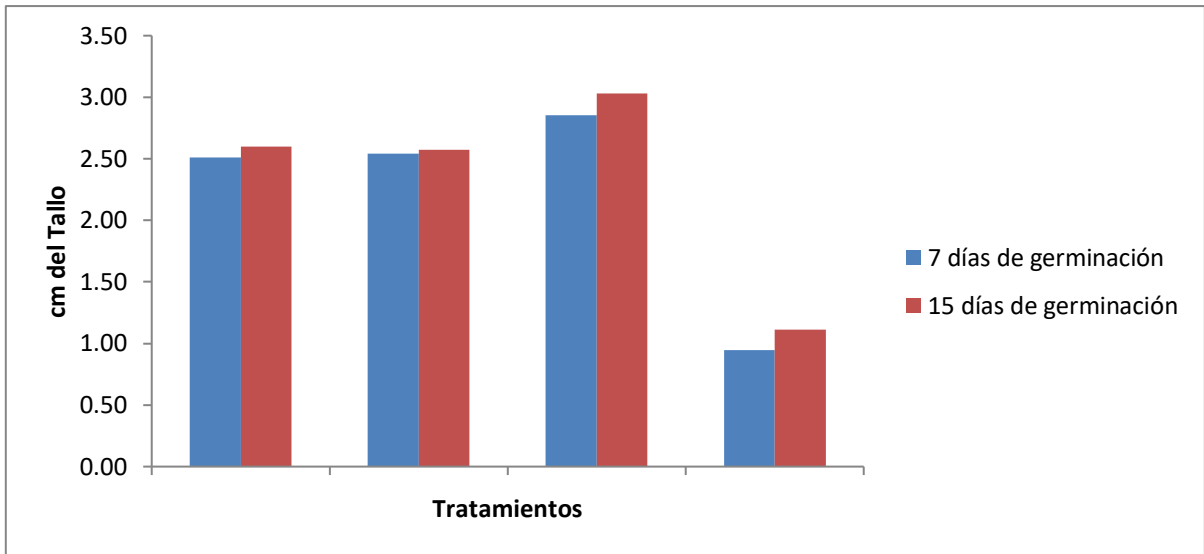


Figura 11. Comportamiento del crecimiento del tallo por efecto de un biosol resultado de la mezcla del residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.

Al evaluar el crecimiento radicular se encontró mejores resultados en el testigo probablemente debido a la propia necesidad de la plántula de buscar nutrientes, mientras que T3 solo registró unos pocos centímetros mientras que T5 registro el mayor aumento entre la medición de 7 y 15 días (Figura 12).

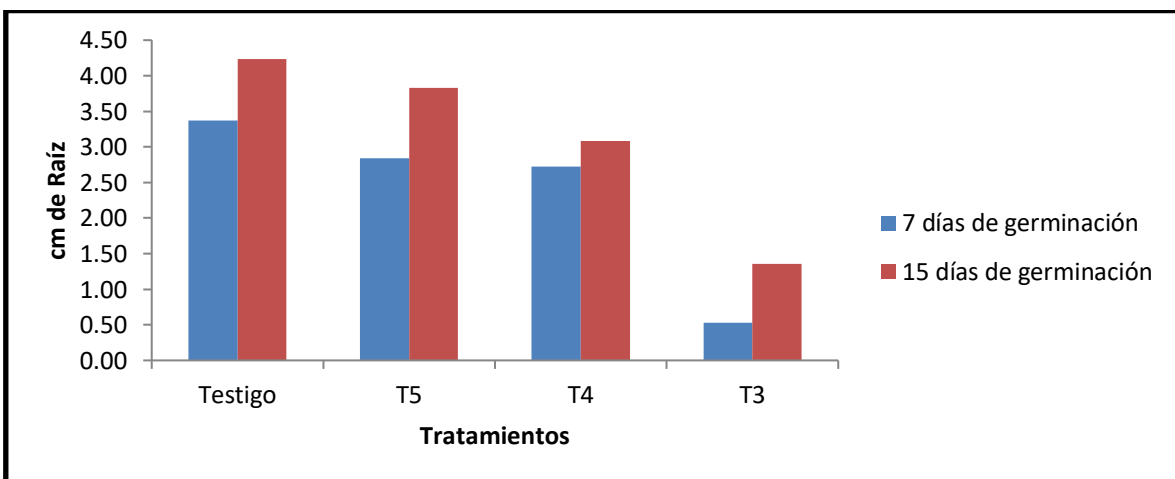


Figura 12. Comportamiento del crecimiento de la raíz por efecto de un biosol resultado de la mezcla del residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.

Al medir el tamaño de las hojas se encontró que T4 y T5 fueron los mejores tratamientos a los 7 días mientras que en la medición de los 15 días solo T4 obtuvo mejores resultados que el testigo (Figura 13).

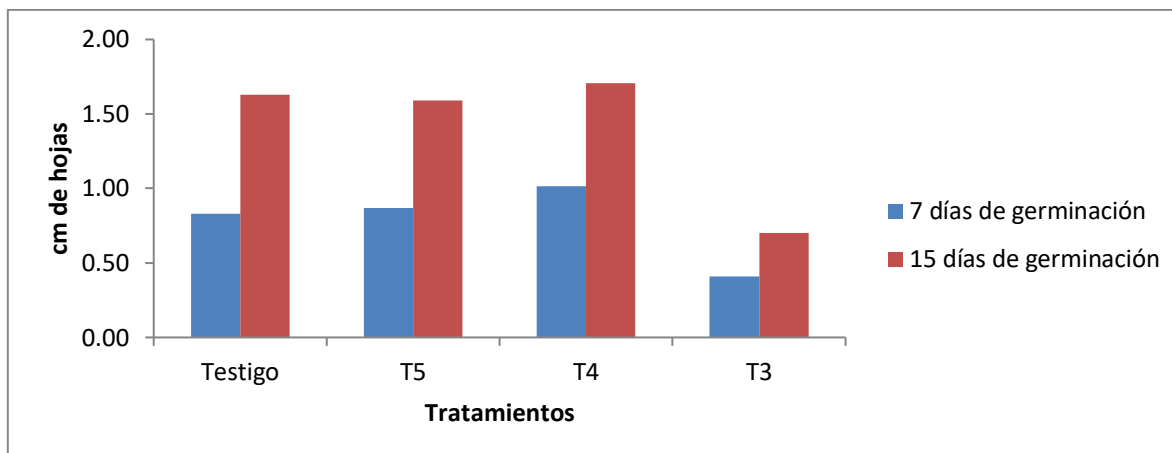


Figura 13. Comportamiento del crecimiento de las hojas por efecto de un biosol resultado de la mezcla del residuo orgánico de la producción de tilapia y sangre.

Al medir el porcentaje de Sólidos Totales presentes en las plantas, se encontró que todos los tratamientos fueron mejores que el testigo, siendo el mejor el que tenía mayor contenido de sangre T3. Pero con un menor número de plantas ya que este tratamiento fue el que registró menor porcentaje de germinación, así que se considera mejor tratamiento T4 que presenta más del 50% de Sólidos Totales que el testigo como se puede ver en la Figura 14.

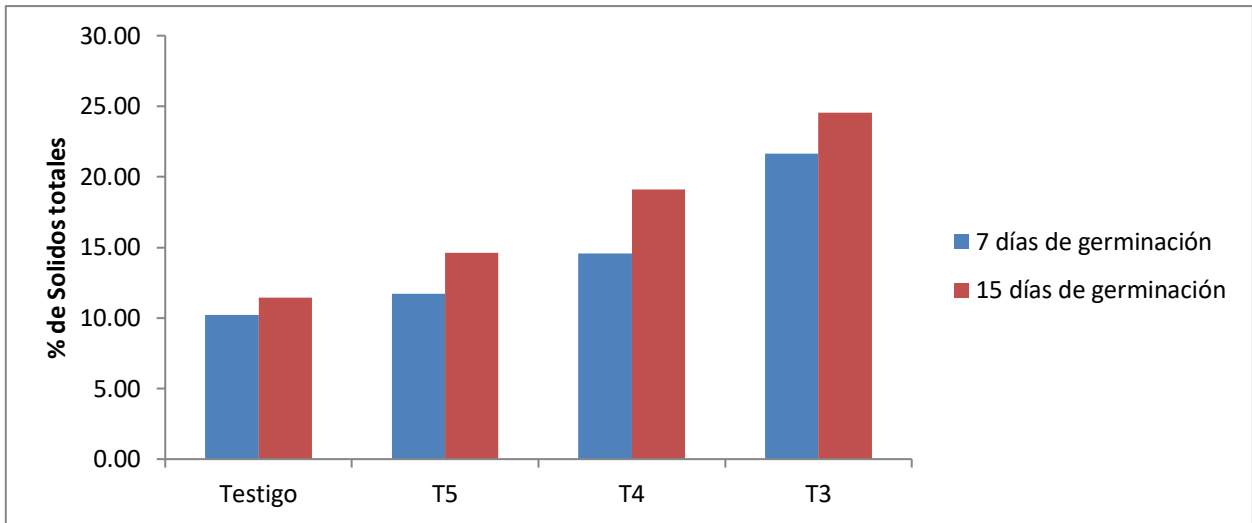


Figura 14. Porcentaje de Sólidos Totales presente en las plantas.

8 CONCLUSIONES

La producción de biogás utilizando la sangre como co-sustrato en la digestión anaerobia de los residuos sólidos de la producción de tilapia es inversamente proporcional a la concentración de sangre debido a la alta concentración de materia orgánica presente en este co-sustrato.

Con el proceso biotecnológico usando sangre como co-sustrato del RSPT se disminuye considerablemente la contaminación con la reducción de DQO y azúcares.

Al utilizar el proceso biotecnológico adecuadamente se obtiene un biosol con nitrógeno y fósforo mineralizado, con una disminución de más del 90% de los microorganismos patógenos.

El biosol obtenido con el proceso biotecnológico tiene efectos benéficos en la germinación, en el crecimiento de tallos y hojas con respecto al testigo.

9 BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez R. A. 2004. Producción anaeróbica de biogás, aprovechamiento de los residuos de matadero y mercado. Proyecto 09 CNI. La Paz-Bolivia Universidad Mayor de San Andres. Instituto de Investigaciones en Procesos Químicos -IIDEPROQ: 100.
- APHA/AWWAIWPCF. 1989. "Standar Methods for Examination of Water and Wastewater " American Public Health Association 20: 2-59,55-17 Y 55-18.
- Arellano, M., Jomard, P., El Kaddouri, S., Roques, C., Nepveua, F., Couderc, F. 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.
- Bitton, G. 1994. Wastewater Microbiology. J. Wiley & Sons Inc. New York, N.Y. 478 p.
- Caldera, ME. 2000. Potencial de la energía eoloeléctrica en México. Greenpeace México. pp. 16-17.
- Chaux, G. R., G; Bolaños, L. 2009. "Producción más limpia y viabilidad de tratamiento biológico para efluentes de mataderos en pequeñas localidades caso: municipio del tambo Colombia." Facultad de Ciencias Agropecuarias 7(No. 1): 102-104.

- Campos, H., Steffen, W., Zimmermann, R., Parra, O., Zuñiga, I., Bertran, C., Agüero, G., Navarro, J y Brown, a. 1990. Estudio del efecto producido en el lago Ranco por el cultivo de especies salmonídeas con el sistema de balsas jaulas. Valdivia, Chile. Instituto de Zoología. Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.
- Corbitt, R. A. 1990. Wastewater disposal. *In*: Standard Handbook of Environmental Engineering. Mc. Graw Hill. Willard, Ohio. Chapter 6. 273 p.
- L. A. Uicab-Brito y C. A. Sandoval Castro. 2003. USO DEL CONTENIDO RUMINAL Y ALGUNOS RESIDUOS DE LA INDUSTRIA CÁRNICA EN LA ELABORACIÓN DE COMPOSTA. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 2 (2003): 45 - 63
- L. Merino. 2003. "Energías renovables para todos" Secretaría General de Energía/IDAE © Naturmedia. Page 12.
- López, A. D. I. B., J; Vallejo, R; Barahona, C. (2008). "Estudio comparativo entre un proceso físico-químico y uno biológico para tratar agua residual de rastro." Interciencia 33 (No.7): 490-496.
- Macias-Corral, M., Samani, Z., Hanson, A., Smith, G., Funk, P., Yu, H., Longworth, J. 2008. "Anaerobic digestion of municipal solid waste and agricultural waste and the effect of co-digestion with dairy cow manure." Bioresource Technology 99: 8288-8293.

- Mata-Álvarez, J., Mace S., Labres, P., (2000). "Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives." Bioresource Technology 74: 3-16.
- McKendry, P. 2002. "Energy production from biomass: conversion technologies." Bioresource Technology: 47-54.
- Mena, G. 1997. Evaluación experimental de la capacidad de *Diplodon chilensis* para procesar los excedentes orgánicos generados por la Salmonicultura. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. 65p.
- Menzies, J. D. 1986. Pathogen consideration for land application of human and domestic animal wastes. In: *Soils for Management of Organic Wastes and Waste Waters*. Published by ASA CSSA SSSA. 2nd Ed. Madison, Wisconsin. 575 pp.
- Metcalf y Eddy 1996 Ingeniería de aguas residuales: Tratamiento; vertido y reutilización. Tercera edición. U.S.A. Mc Graw Hill. Tomo I.
- Muller, M., Yelden, T., Schoonover, H. 2007. "Food versus fuel in the United States: Can both win in an era of ethanol?" Institute for Agriculture and Trade Policy. Environment and Agriculture Program. Minneapolis, MN: Disponible en: www.iatp.org.
- NMX-AA-026-SCFI-2001. 2001. Análisis de aguas - determinación de Nitrógeno total Kjeldahl en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba.

- NMX-AA-029-SCFI-2001. 2001. Análisis de aguas - determinación de fósforo total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba.
- NOM-001-SEMARNAT. 1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
- NOM-114-SSA 1-1994. 1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos. 74 p.
- Norberg A. 2002. "Treatment of animal wastes in co-digestion biogas plants in Sweden." JTI (Sweden).
- Noyola, A. 1997. Tratamiento anaerobio de aguas residuales. Foro Internacional. Comparación de dos tecnologías en Aguas residuales domésticas para municipalidades. Universidad Nacional de Medellín, Colombia: 40 pp.
- Phillips, M. y Beveridge, M. 1986. Cages and the effect on water condition. FishFarmer 9(3): 17-19.
- Poggi-Varaldo, H. M. a. J. O. 1992. "Anaerobic co-composting of municipal solid waste and waste sludge at high total solids levels." Environmental Technology 13: 409-421.
- R. Sosa, R. Chao y J. del Río. ASPECTOS BIOQUIMICOS Y TECNOLOGICOS DEL TRATAMIENTO DE RESIDUALES AGRICOLAS CON PRODUCCION DE BIOGÁS. Revista Computadorizada de Producción Porcina. La Habana, Cuba. Vol:6 No:2 1999

Rodríguez, R. 1993. Determinación cuantitativa de la carga de desechos ingresados al Lago Ranco por efecto del cultivo de especies salmonídeas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Austral de Chile. 156 p.

Rubinson, J., Rubinson, Kenneth., (2000). Química analítica contemporánea.

SAGARPA, Secretaria de Agricultura y Ganaderia del estado de Hidalgo. 2010.

SINGH, R. B. 1974 The biogas plant. Generating methane from organic wastes. Gobar Gas Res. Ajjitmal, Etawah (U.P.) India. 40 pp

Soria Fregoso, M., Ferrera-Cerrato, R., Etchevers Barra, J., Alcántar González, G., Trinidad Santos, J., Borges Gómez, L., y Pereyda Pérez G. 2001. PRODUCCION DE BIOFERTILIZANTES MEDIANTE BIODIGESTION DE EXCRETA LIQUIDA DE CERDO. TERRA Latinoamericana, octubre-diciembre, año/vol.19, número 004 Universidad Autónoma Chapingo. pp. 353-362. (consultado por última vez el 25 de septiembre de 2011, disponible en: www.chapingo.mx/terra/contenido/19/4/art353-362.pdf).

Sparling R., Poggi-Varaldo H. M. y Risbey D. 1994. Producción de Hidrógeno por consorcios metanogénicos inhibidos. Biotecnología. 4 (3 y 6): 99-105.

Trevelyan, W. E., Harrison, J.S. 1952. "Fractionation and microdetermination of cell carbohydrates " Journal of Biochemistry 50: 298.

Van Haandel A C and Lettinga G 1994. Anaerobic sewage treatment.. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, England

Veenstra S., Alaerts G. and Bilsma M. 1998. Technology selection for pollution control. Agua y sostenibilidad. En: Memorias de la Conferencia Internacional Agua 98. CINARA-Universidad del Valle. Cali, Colombia Junio 1-5. 10 p.

Werner, E. 1983. Bioconversión: Producción de Energía Utilizando Desperdicios Agrícolas. In: El reciclaje de materias orgánicas en la agricultura de América Latina. Bol. Suelos No. 51. FAO. 253 pp.

10 Apéndice

Acuicultura: (derivado del francés), *Acuicultura* (derivado del inglés): Cultivo de especies animales o vegetales en el agua.

Archaeas: (Et. del griego *ἀρχαία*, arjaía: las antiguas,) son un grupo de microorganismos unicelulares. Bacterias procariotas que carecen de núcleo celular o cualquier otro orgánulo dentro de las células.

Biocombustibles: se producen orgánicamente y a diferencia de los combustibles fósiles son una fuente de energía renovable. Los biocombustibles provienen de la biomasa: materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía.

Biodegradable: es el producto o sustancia que puede descomponerse en sus elementos químicos que los conforman, debido a la acción de agentes biológicos, como plantas, animales, microorganismos y hongos, bajo condiciones ambientales naturales.

Biofertilizantes: Abono orgánico, es un fertilizante que no está fabricado por medios industriales.

Biomasa: Materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía.

Biosol: Biofertilizante, fase solida resultado de la biodegradación anaeróbica de los residuos orgánicos.

Coliformes: significa *con forma de coli*, refiriéndose a la bacteria principal del grupo, la *Escherichia coli*, descubierta por el bacteriólogo alemán. Las bacterias de este género se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales.

Composta: (a veces también se le llama abono orgánico) es el producto que se obtiene del compostaje, y constituye un "grado medio" de descomposición de la materia orgánica, que ya es en sí un buen abono. Se denomina humus al "grado superior" de descomposición de la materia orgánica. El humus supera al compost en cuanto abono, siendo ambos orgánicos.

Efluentes: Que emana o se desprende de algo. Aguas contaminadas descargadas.

Electroforesis capilar: es una técnica de separación utilizada en distintas áreas (química, bioquímica, etc.) para separar las diferentes moléculas presentes en una disolución de acuerdo con la relación masa/carga de las mismas. La separación se lleva a cabo en un tubo hueco de diámetro muy pequeño, de ahí que reciba el nombre de capilar. Dentro de este capilar se encuentran la disolución que contiene los analitos o las moléculas a separar y el tampón o medio electrolítico que es el encargado de conducir la corriente.

Fango: Lodo blando y viscoso que se forma en el fondo de un río o lago o en un lugar en que hay agua estancada.

Hidrólisis: descomposición de sustancias orgánicas e inorgánicas complejas en otras más sencillas por acción del agua.

Microorganismos anaeróbicos: son los que no utilizan oxígeno (O₂) en su metabolismo, más exactamente que el aceptor final de electrones es otra sustancia diferente del oxígeno.

Microorganismos facultativos: Bacteria que puede vivir bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas.

Organismos heterótrofos: (del griego *hetero*, otro, desigual, diferente y *trofo*, que se alimenta), en contraste con los organismos autótrofos, son aquellos que deben alimentarse con las sustancias orgánicas sintetizadas por otros organismos, bien autótrofos o heterótrofos a su vez.

Residuos orgánicos: son biodegradables (se descomponen naturalmente). Son aquellos que tienen la característica de poder desintegrarse o degradarse rápidamente, transformándose en otro tipo de materia orgánica. Ejemplo: los restos de comida, frutas y verduras, sus cáscaras, carne, huevos.

RESOPT: Residuo solido de la producción de tilapia.

Sinergismo: (del griego συνεργία, «cooperación») es el resultado de la acción conjunta de dos o más causas, pero caracterizado por tener un efecto superior al que resulta de la simple suma de dichas causas.

Sintropismo: Es un proceso por el cual dos o mas microorganismos cooperan a degradar una sustancia que solos no podrían.

11 Anexos

Tabla de ANOVA Azucares

Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0,05)
A: C1	4	258128,9	64532,23	10,02	0,000005*	0,999510
B: C2	5	872833	174566,6	27,10	0,000000*	1,000000
S	50	322088,7	6441,773			
Total (Adjusted)	59	1453051				
Total	60					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

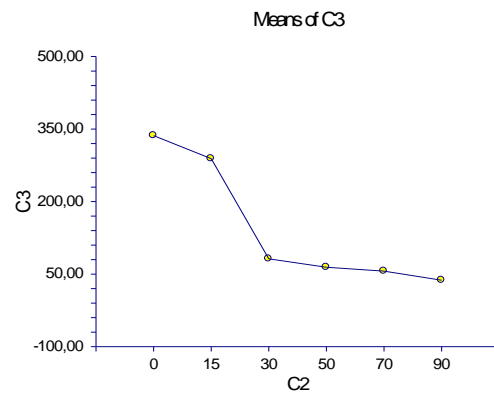
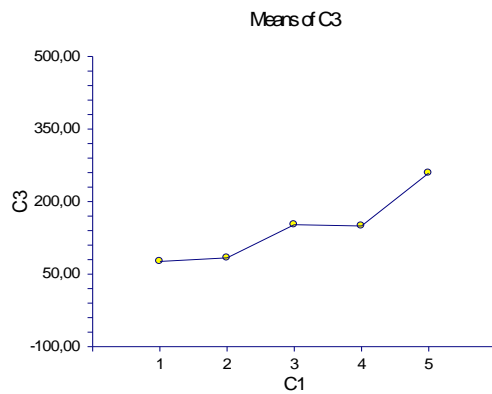


Tabla de ANOVA DQO

Analysis of Variance Table

Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0,05)
A: C1	4	1,455249E+10	3,638123E+09	18,27	0,000000*	1,000000
B: C2	5	1,025215E+10	2,050429E+09	10,30	0,000001*	0,999946
S	50	9,956912E+09	1,991382E+08			
Total (Adjusted)	59	3,476155E+10				
Total	60					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

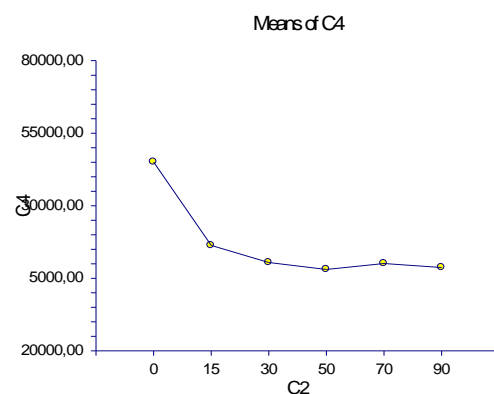
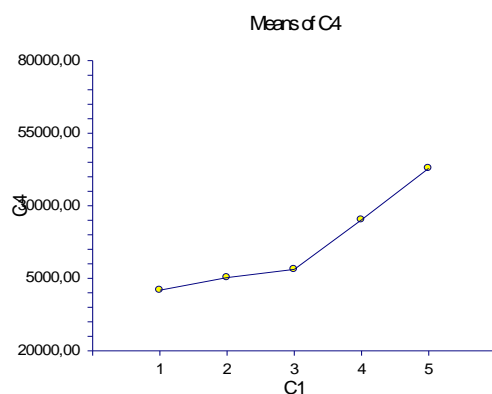


Tabla de ANOVA pH

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C1	4	1,83936	0,45984	5,74	0,000697*	0,970752
B: C2	5	16,94437	3,38875	42,33	0,000000*	1,000000
S	50	4,00336	0,0800672			
Total (Adjusted)	59	22,78709				
Total	60					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

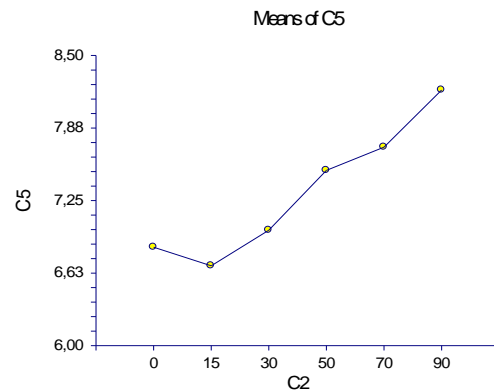
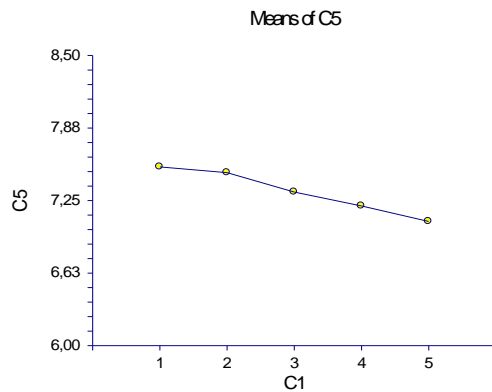


Tabla de ANOVA de Metano

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C1	4	36,05036	9,012589	18,01	0,000000*	1,000000
B: C2	5	11,58123	2,316246	4,63	0,001507*	0,959340
S	50	25,02151	0,5004303			
Total (Adjusted)	59	72,6531				
Total	60					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

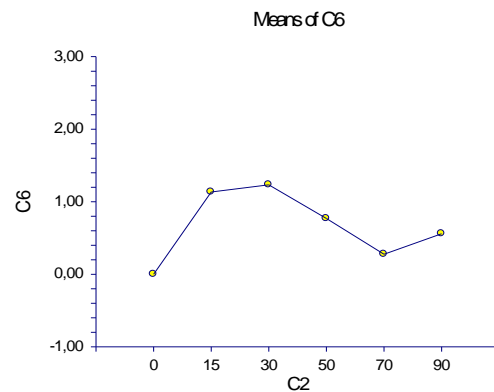
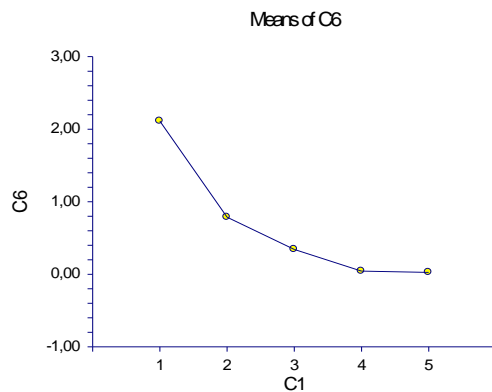


Tabla de ANOVA de CO₂

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C1	4	3,347598E+07	8368996	0,99	0,419732	0,291165
B: C2	5	4,257146E+07	8514293	1,01	0,421181	0,329893
S	50	4,211185E+08	8422369			
Total (Adjusted)	59	4,971659E+08				
Total	60					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

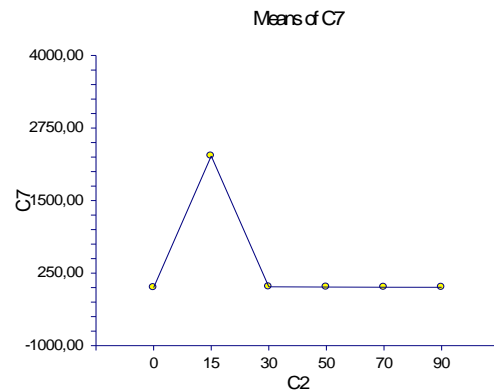
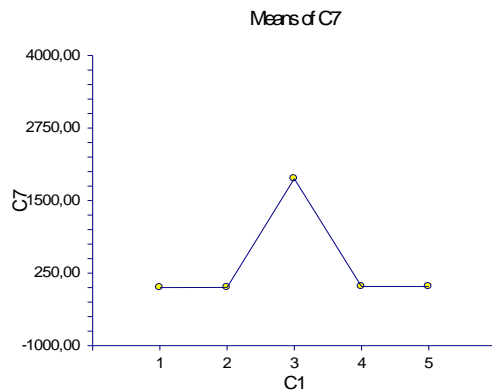


Tabla de ANOVA de Nitrógeno

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C9	4	3,32954	0,8323849	472,07	0,000000*	1,000000
B: C10	1	0,0474338	0,0474338	26,90	0,000138*	0,997786
S	14	0,0246857	1,763264E-03			
Total (Adjusted)	19	3,401659				
Total	20					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

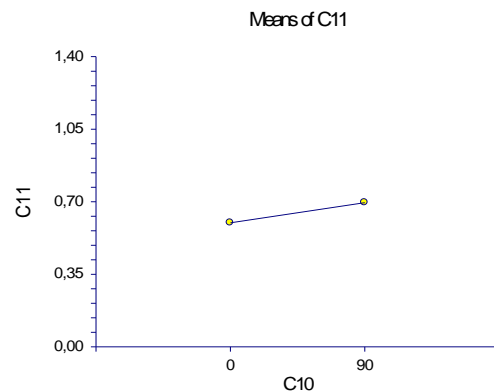
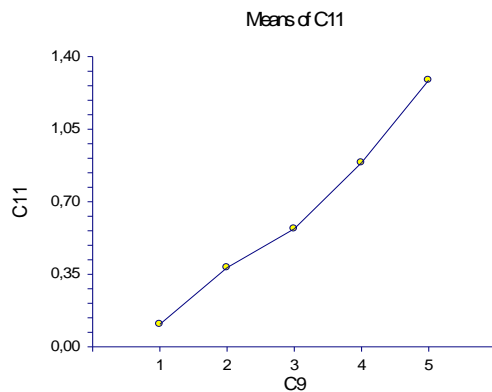


Tabla de ANOVA de Fosforo

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C1	4	0,9078728	0,2269682	112,39	0,000000*	1,000000
B: C2	1	1,099805E-02	1,099805E-02	5,45	0,035034*	0,584016
S	14	0,0282717	2,019407E-03			
Total (Adjusted)	19	0,9471425				
Total	20					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

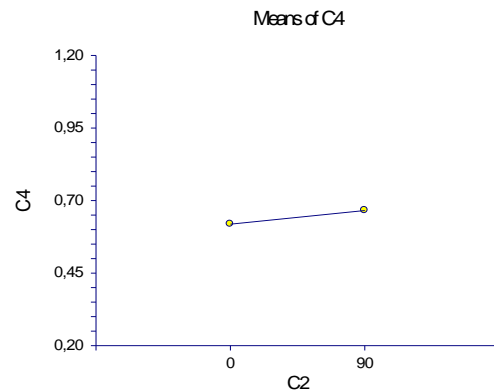
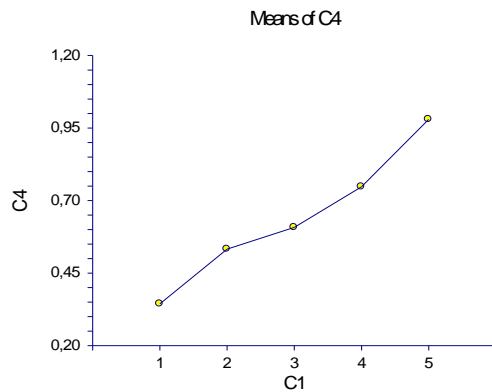


Tabla de ANOVA de Sólidos Totales

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C9	4	328,0923	82,02308	26,40	0,000002*	1,000000
B: C10	1	62,27944	62,27944	20,05	0,000521*	0,985854
S	14	43,49544	3,106817			
Total (Adjusted)	19	433,8672				
Total	20					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

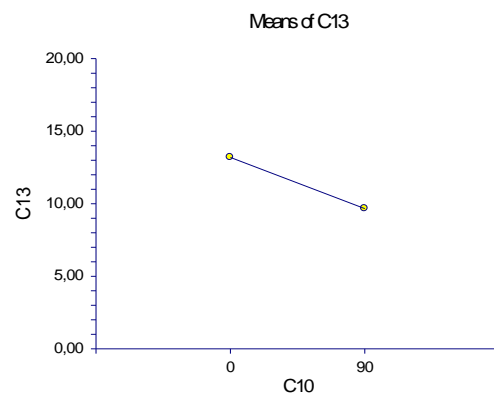
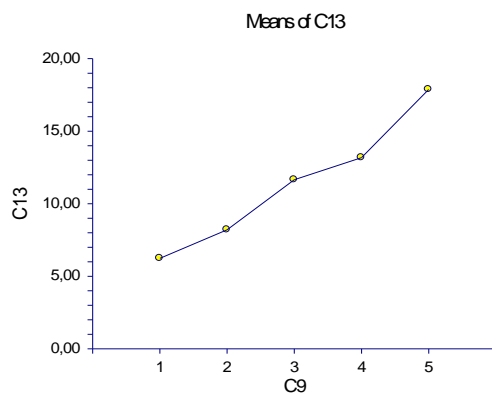


Tabla de ANOVA de Sólidos Totales Volátiles

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C10	4	46,29704	11,57426	51,69	0,000000*	1,000000
B: C11	1	0,9828848	0,9828848	4,39	0,054818	0,496406
S	14	3,134598	0,2238998			
Total (Adjusted)	19	50,41452				
Total	20					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

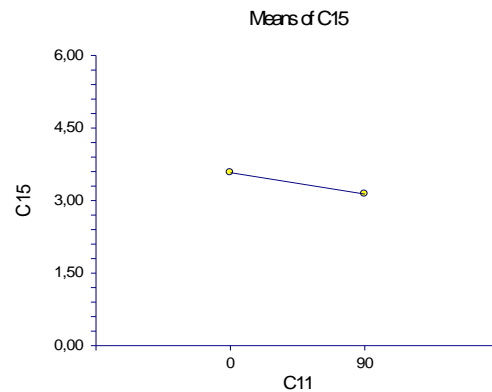
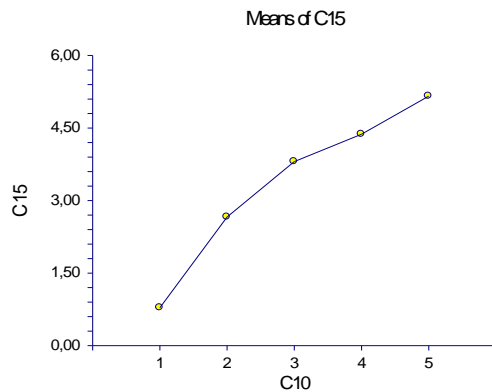


Tabla de ANOVA de Germinación

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C1	3	3290,25	1096,75	129,03	0,000000*	1,000000
S(A)	8	68	8,5			
Total (Adjusted)	11	3358,25				
Total	12					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots of Means Section

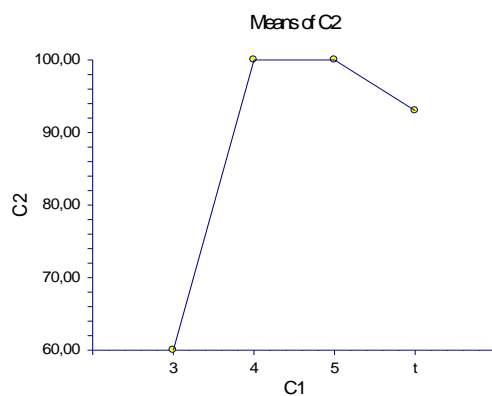


Tabla de ANOVA de Crecimiento de Raíz

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C1	3	19,05187	6,350623	259,82	0,000000*	1,000000
B: C2	1	2,363906	2,363906	96,71	0,000001*	1,000000
S	11	0,2688687	2,444261E-02			
Total (Adjusted)	15	21,68464				
Total	16					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

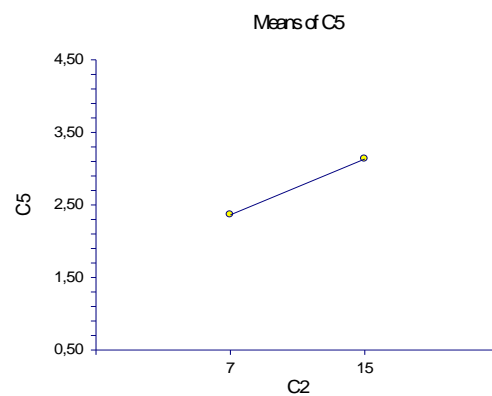
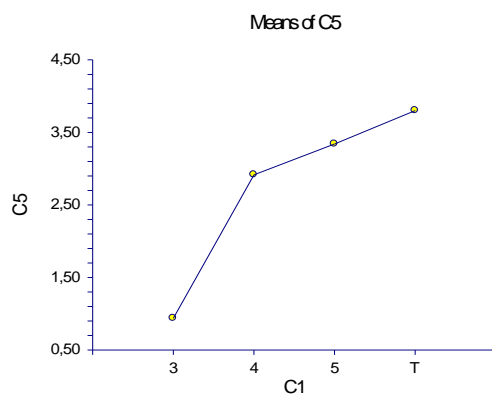


Tabla de ANOVA de Crecimiento de Tallo

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C1	3	8,463275	2,821092	751,84	0,000000*	1,000000
B: C2	1	0,070225	0,070225	18,72	0,001202*	0,975282
S	11	0,041275	3,752273E-03			
Total (Adjusted)	15	8,574775				
Total	16					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

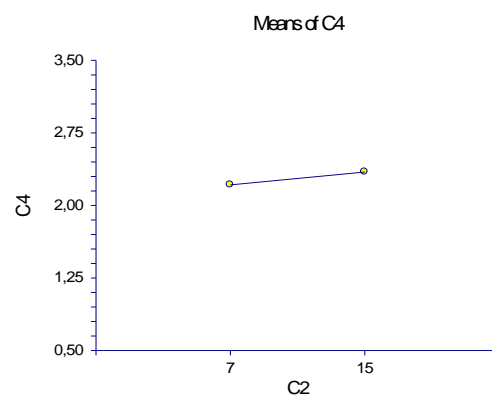
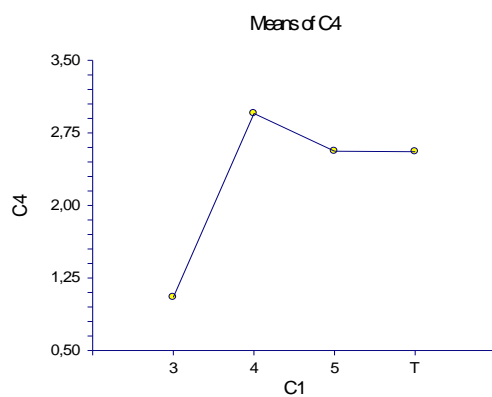


Tabla de ANOVA de Crecimiento de Hojas

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C1	3	1,531869	0,5106229	27,16	0,000022*	0,999999
B: C2	1	1,531406	1,531406	81,47	0,000002*	1,000000
S	11	0,2067688	1,879716E-02			
Total (Adjusted)	15	3,270044				
Total	16					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

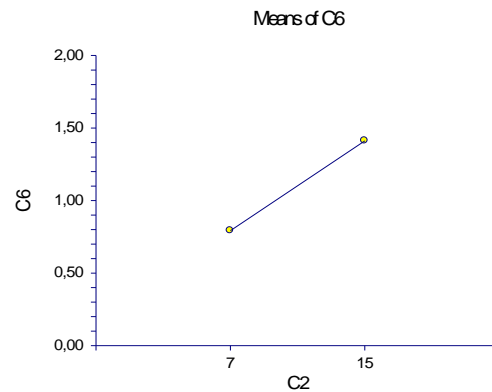
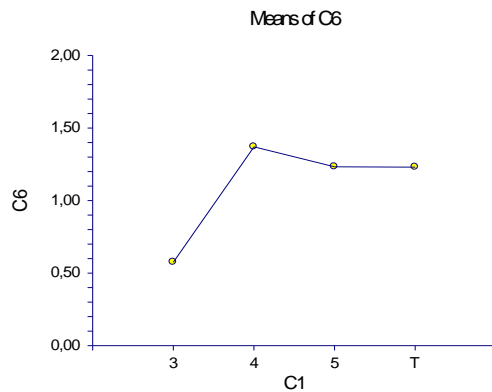


Tabla de ANOVA de Sólidos Totales Presentes en las Plantas

Analysis of Variance Table

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0,05)
A: C1	3	343,2039	114,4013	227,62	0,000000*	1,000000
B: C2	1	33,00502	33,00502	65,67	0,000006*	1,000000
S	11	5,528475	0,5025886			
Total (Adjusted)	15	381,7374				
Total	16					

* Term significant at alpha = 0,05

Plots Section

