



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: OBTENCIÓN DE BIOGÁS MEDIANTE LA APLICACIÓN
DE UN CONSORCIO BACTERIANO CON LA MICROALGA
Chlorella sp. Y RESIDUOS ORGÁNICOS DE LA HACIENDA EL
PRADO**

AUTOR: LÓPEZ FLORES, ANGIE MICHELLE

DIRECTOR: ORTIZ TIRADO, JUAN CRISTÓBAL

SANGOLQUÍ

2017



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, “***OBTENCIÓN DE BIOGÁS MEDIANTE LA APLICACIÓN DE UN CONSORCIO BACTERIANO CON LA MICROALGA *Chlorella* sp. Y RESIDUOS ORGÁNICOS DE LA HACIENDA EL PRADO***”, realizado por la señorita ***ANGIE MICHELLE LÓPEZ FLORES***, ha sido revisado en su totalidad y analizado por el software anti-plagio, el mismo cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por lo tanto, me permito acreditarlo y autorizar a la señorita ***ANGIE MICHELLE LÓPEZ FLORES*** para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 21 de agosto del 2017



JUAN CRISTÓBAL ORTIZ TIRADO Ph.D.
DIRECTOR



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, **ANGIE MICHELLE LÓPEZ FLORES**, con cédula de identidad N° 171450203-4, declaro que este trabajo de titulación “**OBTENCIÓN DE BIOGÁS MEDIANTE LA APLICACIÓN DE UN CONSORCIO BACTERIANO CON LA MICROALGA *Chlorella sp.* Y RESIDUOS ORGÁNICOS DE LA HACIENDA EL PRADO**”, ha sido desarrollado considerando los métodos de investigación existentes, así como también se ha respetado los derechos intelectuales de terceros considerándose en las citas bibliográficas.

Consecuentemente declaro que este trabajo es de mi autoría, en virtud de ello me declaro responsable del contenido, veracidad y alcance de la investigación mencionada.

Sangolquí, 21 de agosto del 2017

A handwritten signature in blue ink, which appears to read 'Angie López', is written over a horizontal line.

ANGIE MICHELLE LÓPEZ FLORES

C.I. 171450203-4



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

AUTORIZACIÓN

Yo, **ANGIE MICHELLE LÓPEZ FLORES**, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, publicar en la biblioteca virtual de la institución, el presente trabajo de titulación, “**OBTENCIÓN DE BIOGÁS MEDIANTE LA APLICACIÓN DE UN CONSORCIO BACTERIANO CON LA MICROALGA *Chlorella* sp. Y RESIDUOS ORGÁNICOS DE LA HACIENDA EL PRADO**”, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi autoría y responsabilidad.

Sangolquí, 21 de agosto del 2017

A handwritten signature in blue ink, reading 'Angie Michelle López Flores', written over a horizontal line.

ANGIE MICHELLE LÓPEZ FLORES

C.I. 171450203-4

DEDICATORIA

A mi Padre Celestial.

A mi mami y hermanas.

Al amor de mi vida, Alex.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por la oportunidad que me dio de poder estar en esta tierra y poder tener cada una de las experiencias que me han ayudado a madurar y a crecer tanto espiritual como física y mentalmente.

A mi mami, la persona más importante de mi vida y a quién le debo todo, por ser la persona que me ha dado su amor y apoyo incondicional y se ha esforzado a diario por darme lo mejor, y sacarnos adelante en los momentos difíciles.

A mis hermanas por ser un gran ejemplo, apoyo y consuelo incondicional en todo momento.

A mi abuelita, mis tías Ximena y Cecilia y mi tío Fernando, por estar pendientes de mi familia en cada momento y ayudarnos en los momentos difíciles.

A Alex, mi apoyo incondicional quien con su amor y paciencia supo ayudarme y aconsejarme en cada momento, pese a todos los obstáculos que se presentaron.

Al Dr. Juanito Ortiz, quien confió en mí desde el principio y me supo apoyar y guiar en todo momento, brindándome sus excelentes conocimientos y amistad.

A la Ing. Daysita Muñoz, por brindarme su amistad y sus conocimientos en el momento indicado y su gran apoyo dentro de todas las actividades.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, en especial a la facultad de Ingeniería Agropecuaria IASA I, por permitirme hacer uso de sus instalaciones y por haberme permitido tener excelentes docentes que me brindaron las mejores enseñanzas.

Angie López

ÍNDICE DE CONTENIDO

CARÁTULA

CERTIFICACIÓN	ii
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD	iii
AUTORIZACIÓN	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN **15**

1.1	Justificación.....	17
1.2	El Problema.....	17
1.2.1	Los Efectos.....	18
1.2.2	Las Causas.....	18
1.3	Objetivos.....	18
1.3.1	Objetivo general.....	18
1.3.2	Objetivos específicos.....	18
1.4	Hipótesis.....	18

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA **20**

2.1	Generalidades.....	20
2.1.1	Contaminación por excretas porcinas.....	20
2.1.2	Consecuencias de la contaminación.....	22
2.2	Alternativas para combatir la contaminación en explotaciones pecuarias....	23
2.2.1	Uso de biodigestores en el tratamiento de residuos orgánicos.....	25
2.2.1.1	Tipos de biodigestores.....	25

2.2.1.2	Etapas del proceso de digestión anaerobia.....	29
2.3	Producción de microalgas	32
2.3.1	Uso de microalgas para la producción de biogás	33
2.3.2	Microalga <i>Chlorella</i> sp.	34
2.4	Uso de <i>Bacillus</i> sp. en el tratamiento de residuos.	35
2.4.1	Consortio bacteriano.....	35
2.4.2	Características de las diferentes cepas de <i>Bacillus</i>	36
2.4.2.1	<i>Bacillus subtilis</i>	36
2.4.2.2	<i>Bacillus licheniformis</i>	36
2.4.2.3	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	36
2.4.2.4	<i>Bacillus megaterium</i>	37
2.4.2.5	<i>Bacillus pumilus</i>	37

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS	38	
3.1	Ubicación del lugar de investigación	38
3.1.1	Ubicación ecológica	38
3.2	Materiales	39
3.2.1	Laboratorio	39
3.2.2	Equipos.....	39
3.2.3	Reactivos	40
3.3	Métodos	40
3.3.1	Primera fase de investigación.....	41
3.3.1.1	Masificación de la microalga <i>Chlorella</i> sp. biotipo 1.....	41
3.3.1.1.1	Determinación de la densidad celular del inóculo	42
3.3.1.2	Recolección de excretas porcinas.....	44
3.3.1.3	Análisis proximal de la biomasa algal y excretas porcinas	44
3.3.1.4	Activación del consorcio bacteriano	44
3.3.2	Segunda fase de investigación.....	44
3.3.2.1	Diseño experimental.....	45
3.3.3	Análisis económico	50

3.3.4	Productos obtenidos y beneficiarios.....	50
-------	--	----

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN **51**

4.1	Resultados	51
4.1.1	Análisis bromatológicos de la biomasa algal y excretas porcinas	51
4.1.2	Producción de biogás	51
4.1.3	Características químicas de los productos.....	55
4.1.4	Análisis de regresión	64
4.1.5	Análisis económico	66
4.2	Discusión.....	68
4.2.1	Análisis proximal de la biomasa algal y excretas porcinas	68
4.2.2	Producción de biogás	69
4.2.3	Características químicas del biol.....	70
4.2.4	Características químicas de biosol	71

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES **73**

5.1	Conclusiones	73
5.2	Recomendaciones.....	74
5.3	Bibliografía.....	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce	23
Tabla 2	Composición bioquímica del Biol	23
Tabla 3	Características Generales del biosol fresco de estiércol animal	24
Tabla 4	Sustratos, productos y enzimas de la hidrólisis	30
Tabla 5	Valores de producción de biogás de diferentes tipos de microalgas.....	34
Tabla 6	Descripción de los niveles de los factores evaluados en la investigación	45
Tabla 7	Tratamientos para determinar el efecto de consorcios bacterianos.....	45
Tabla 8	Análisis de varianza para el diseño experimental del estudio.....	49
Tabla 9	Composición Química de la biomasa algal y excretas porcinas	51
Tabla 10	Promedio \pm erro estándar de la producción de biogás por tratamiento.....	52
Tabla 11	Promedio \pm erro estándar de la producción de biogás según la dosis de consorcio.....	52
Tabla 12	Promedio \pm erro estándar de la producción de biogás por sustrato	52
Tabla 13	Promedio \pm error estándar de la composición química del biol según el tratamiento	55
Tabla 14	Promedio \pm error estándar de la composición química del biol por dosis de consorcio bacteriano	56
Tabla 15	Promedio \pm error estándar de la composición química del biol resultante según el tipo de sustrato	56
Tabla 16	Promedio \pm error estándar de la composición química del biosol resultante según el tratamiento.....	57
Tabla 17	Promedio \pm error estándar de la composición química del biosol resultante según la dosis de consorcio bacteriano.....	57
Tabla 18	Promedio \pm error estándar de la composición química del biosol resultante según el tipo de sustrato	58
Tabla 19	Promedio \pm error estándar de la demanda química de oxígeno inicial y final.....	62
Tabla 20	Promedio \pm error estándar de la demanda bioquímica de oxígeno	63
Tabla 21	Coeficientes de correlación de Pearson para las características químicas	

del biol y biosol	66
Tabla 22 Inversiones de activos fijos para la producción de biogás, biol y biosol	66
Tabla 23 Costos operativos de cada tratamiento, para la producción de biogás, biol y biosol durante 30 días	67
Tabla 24 Ingresos de cada tratamiento, para la producción de biogás, biol y biosol durante 30 días	67
Tabla 25 Flujo de caja de cada tratamiento, para la producción de biogás, biol y biosol durante 30 días	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Biodigestor tipo Chino.....	26
Figura 2	Biodigestor tipo indiano.	27
Figura 3	Biodigestor tipo Batch	27
Figura 4	Reactor anaerobio de contacto.....	28
Figura 5	Reactor de lecho expandido.....	28
Figura 6	Biorreactor de membrana anaeróbica.	29
Figura 7	Reacciones fermentativas para carbohidratos, aminoácidos y ácidos grasos ..	30
Figura 8	Reacciones acetogénicas.....	31
Figura 9	Fases del proceso de digestión anaerobia.	31
Figura 10	Microorganismos involucrados en cada fase de la digestión anaerobia.	32
Figura 11	Lugar de la investigación (IASA I)	38
Figura 12	Metodología del proyecto de investigación.....	41
Figura 13	Determinación de la densidad celular mediante la cámara de Neubauer	43
Figura 14	Croquis del diseño del proyecto	46
Figura 15	Disposición in situ del experimento	47
Figura 16	Promedio diario de producción de biogás para el sustrato microalga	53
Figura 17	Promedio diario de producción de biogás para el sustrato mezcla.....	53
Figura 18	Promedio diario de producción de biogás para el sustrato excretas	54
Figura 19	Promedio diario de producción de biogás según el tratamiento	54
Figura 20	Promedio \pm error estándar del contenido de nitrógeno por tratamiento	59
Figura 21	Promedio \pm error estándar del contenido de carbono por tratamiento.....	59
Figura 22	Promedio \pm error estándar del contenido de grasa presente por tratamiento...	60
Figura 23	Promedio \pm error estándar del contenido de ceniza presente por tratamiento.	60
Figura 24	Promedio \pm error estándar de la demanda química de oxígeno.....	62
Figura 25	Promedio \pm error estándar de la demanda bioquímica de oxígeno.....	64
Figura 26	Regresión del contenido de sólidos volátiles sobre la producción de biogás ..	65

RESUMEN

En la última década, se han desarrollado varios estudios en cuanto a la producción de biocombustibles de tercera generación empleando macro y microalgas. El alto consumo de CO₂ y materia orgánica que las microalgas poseen, hace que sean excelentes alternativas para ser empleadas en la producción de biogás. Los procesos de digestión anaerobia han constituido la mejor opción para el tratamiento de residuos orgánicos de producciones pecuarias. Sin embargo, las características de estos residuos disminuyen la productividad del biogás resultante, debido a que la etapa de hidrólisis constituye la principal limitante de dichos procesos. El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Recursos Acuáticos y Acuicultura, IASA I. El experimento contó con 27 unidades experimentales dispuestas en un DCA con 3 repeticiones y una duración de 30 días. Se midieron los rendimientos de biogás y las características químicas del bioabono resultante, de 3 tipos de sustratos (*Chlorella* sp., excretas porcinas+ *Chlorella* sp. y excretas porcinas) con tres dosis de consorcio bacteriano (0, 0.025 y 0.05 mg/L). El ensayo detectó diferencias significativas entre tratamientos a un nivel de confiabilidad del 95%, obteniendo una producción de biogás de 319.17ml/gSV, con la microalga *Chlorella* sp. y una dosis de consorcio de 0.05 mg/L (R² = 0.97; p= 0.0001). Lo cual indica el alto potencial de *Chlorella* sp. para la producción de biogás y la acción favorable de consorcios bacterianos para mejorar la hidrólisis en procesos de digestión anaerobia. Además, se determinó la capacidad del sistema para generar biol y biosol estables.

PALABRAS CLAVE

- MICROALGA
- CONSORCIO BACTERIANO
- BIOGÁS
- BIOABONOS
- BIODIGESTOR

ABSTRACT

In the last decade, several studies have been developed regarding the production of third generation biofuels, using macro and microalgae. The high consumption of CO₂ and organic matter that microalgae possess makes them excellent alternatives for use in the production of biogas. The processes of anaerobic digestion have been one of the most favorable actions for the treatment of organic waste from livestock production. However, the structural characteristics of these substrates reduce the productive yields of the resulting biogas, because the hydrolysis stage constitutes the main limitation of these processes. The study was carried out in Rumiñahui, at the Aquatic Resources and Aquaculture Laboratory, IASA I. The experiment consisted of 27 experimental units arranged in a completely randomized design with 3 replicates, with duration of 30 days. The biogas production capacity and the chemical characteristics of the resulting fertilizers of 3 types of substrates (*Chlorella* sp., Porcine stools + *Chlorella* sp. And Porcine stools) were measured with three doses of bacterial consortium (0.025 and 0.05 mg / L). Significant differences were found between treatments with a 95% reliability level. A biogas production of 319.17ml / gVS, were obtained with *Chlorella* sp. and a dose of microbial consortium of 0.05 mg / L (R² = 0.97, p = 0.0001). This indicates the high potential of *Chlorella* sp. to produce biogas and the favorable action of the addition of bacterial consortium to improve the stage of hydrolysis in anaerobic digestion processes. In addition, the system's ability to generate stable fertilizers was determined.

KEYWORDS

- MICROALGAE
- BACTERIAL CONSORTIUM
- BIOGAS
- FERTILIZERS
- BIODIGESTER

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En un intento por satisfacer la creciente demanda de alimentos de la población mundial, las producciones agropecuarias han tenido un gran crecimiento en los últimos años. Pero todas estas actividades traen consigo graves efectos para el medio ambiente. Esto se debe principalmente al uso descontrolado de diferentes sustancias y productos ricos en nitratos, fosfatos y una serie de nutrientes, para favorecer el desarrollo tanto de cultivos como la producción de proteína animal (FAO, 2002).

De acuerdo con la (FAO, 2002), todos estos componentes son causantes de diferentes procesos de contaminación del agua, del aumento de las concentraciones de gases tipo invernadero y pérdidas de la biodiversidad en ecosistemas terrestres y acuáticos.

Tanto la porcicultura como la acuicultura son importantes dentro del desarrollo económico del país y durante los últimos años se han establecido varias producciones a lo largo del territorio.

El aumento de producciones porcinas de traspatio o a pequeña escala, dificulta el control del manejo de sus residuos (ASPE, 2010). Generalmente este tipo de explotaciones no cuenta con un sistema de control de desechos y estos acaban contaminando fuentes de agua y suelos.

Buschmann (2001), menciona que es indispensable la implementación de tecnologías amigables con el ambiente en todas las actividades humanas, brindando de esta manera diferentes beneficios como la producción de energías renovables a partir de desechos orgánicos.

En la actualidad el consumo de energía aumenta cada vez más rápido, pero los daños ambientales que conlleva su producción también son cada vez mayores. Todo esto ha provocado que se busquen alternativas sostenibles que reemplacen el uso de recursos fósiles por fuentes renovables. Una de las opciones que más impulso ha tomado es la producción de biocombustibles obtenidos a partir de residuos orgánicos (FAO, 1997).

En la última década, se han desarrollado varios estudios en cuanto a la producción de biocombustibles de tercera generación, empleando macro y microalgas. El uso de microorganismos brinda solución a la controversial producción de cultivos de tipo alimenticio, para la generación de biocombustibles de origen fósil (Fernández, Montoya, Oropeza, & Badillo, 2012).

Las microalgas han sido empleadas últimamente en varios procesos de remediación ambiental y uno de ellos es el tratamiento de aguas residuales. Su alto consumo de CO₂ y materia orgánica, hace que sean excelentes candidatas para ser empleadas en procesos de digestión anaerobia para la producción de biogás (Ramos, 2014).

Fermoso *et al.* (2016), realizó un estudio en el cual obtuvo los máximos rendimientos de metano empleando cepas de *Chlorella* sp., sin embargo, menciona que su degradación fue lenta debido a la presencia de carbohidratos complejos en su pared celular.

Otro de los residuos más empleados para la generación de biogás son los desechos de producciones porcinas. Sin embargo, al igual que las microalgas, presentan problemas durante los procesos de degradación por su alto contenido de material lignocelulósico (Tuerson, y otros, 2013).

Tuerson *et al.* (2013), reportan que varias investigaciones han demostrado un bajo rendimiento en la producción de biogás en tratamientos anaerobios con heces de cerdo, llegando a valores de entre 130-150 l de CH₄/Kg SV añadidos, debido a su composición.

La etapa de hidrólisis es la limitante de los procesos de digestión anaerobia, debido a que durante este periodo se descomponen los compuestos más complejos para dar paso a la acción de los microorganismos en las siguientes etapas (FAO, 2002). Por esta razón, y debido a la importancia de mejorar el manejo de los residuos, sobre todo de pequeñas explotaciones pecuarias familiares, en esta investigación se buscó emplear un consorcio microbiano con patente Bayer, para mejorar la eficiencia de la producción de biogás a partir de procesos de codigestión anaerobia de *Chlorella* sp. y desechos porcinos obtenidos de la Hacienda El Prado.

Esto permitió obtener buenos rendimientos productivos de biogás, además de la generación de bioabonos estables con características adecuadas para su uso en diferentes cultivos. Lo que constituye una excelente alternativa para la disminución de la contaminación de suelos y fuentes de agua aledañas a producciones porcinas y proporcionando el acceso a bioenergía de calidad y de bajo costo, para ser usada en diferentes actividades de sus sistemas productivos.

1.1 Justificación

El aumento de producciones porcinas de traspatio o a pequeña escala, dificulta el control y manejo de sus residuos (ASPE, 2010). Generalmente este tipo de explotaciones no cuenta con un sistema de control de desechos y acaban contaminando fuentes de agua y suelos.

Pachacama (2016), menciona que el uso de la microalga *Chlorella* sp. ha permitido obtener altos porcentajes de remoción de contaminantes en aguas residuales de producciones porcinas. Proporcionando así una fuente de biomasa rica en nutrientes, que puede ser empleada en diferentes procesos, principalmente la producción de biogás.

Buschmann, A. (2001), menciona que el uso de biodigestores es una alternativa para el manejo sustentable de residuos orgánicos de diversas explotaciones. Sin embargo, la eficiencia de estos sistemas se ve afectada por la composición de los sustratos empleados que no llegan a tener una adecuada digestión. Con este estudio se buscó mejorar la eficiencia de un proceso de codigestión anaerobia de *Chlorella* sp. y residuos porcinos mediante la aplicación de un consorcio microbiano, para mitigar los procesos de contaminación provocados por explotaciones porcinas y generar una fuente sostenible de energía renovable.

1.2 El Problema

El desconocimiento de tecnologías para el tratamiento sostenible de desechos orgánicos provenientes de explotaciones porcinas, constituye una de las principales causas de contaminación de suelos de cultivo y fuentes de agua aledañas. Poniendo en riesgo el equilibrio de los diferentes ecosistemas tanto acuáticos como terrestres de dichas zonas.

1.2.1 Los Efectos

Por lo mencionado anteriormente, se puede determinar que los principales efectos producidos son los bajos rendimientos en la producción de biogás, en biodigestores empleados para el tratamiento de desechos; la producción de bioabonos con altos porcentajes de fibra no degradada, aumento de procesos de eutrofización y por ende pérdida o desplazamiento de la biodiversidad acuática de la zona afectada; y el aumento de la carga microbiana en agua de riego y para consumo humano, provocando bajos rendimientos de cultivos y problemas de salud de tipo entérico.

1.2.2 Las Causas

Las principales causas para la presencia de este problema son la carencia de técnicas adecuadas para el tratamiento de residuos orgánicos y el alto contenido de sólidos y materiales lignocelulósicos en los desechos, que retardan los procesos de degradación anaerobia, debido al mal manejo de procesos productivos y al suministro de alimento balanceado difícilmente digerible

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto de los consorcios bacterianos del género *Bacillus* sp., en procesos de codigestión anaerobia de *Chlorella* sp. y residuos porcinos, para la producción de biogás.

1.3.2 Objetivos específicos.

Evaluar tres tipos de sustratos (*Chlorella* sp., *Chlorella* sp.+excretas porcinas y excretas porcinas) con tres dosis de consorcio bacteriano (0, 0.025 y 0.05 mg/L) en procesos de digestión anaerobia y obtención de biogás.

Estimar las características químicas del bioabono resultante, acorde a procesos de codigestión en función de la dosis de consorcio bacteriano y tipo de sustrato empleado.

1.4 Hipótesis

H1: La aplicación de una dosis de consorcio bacteriano de 0.05 mg/L en procesos de codigestión anaerobia de *Chlorella* sp. y residuos porcinos, aumenta la producción de biogás y mejora las características químicas del bioabono resultante.

H0: La aplicación de una dosis de consorcio bacteriano de 0.05 mg/L en procesos de codigestión anaerobia de *Chlorella* sp. y residuos porcinos, no aumenta la producción de biogás ni mejora las características químicas del bioabono resultante.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades

La demanda creciente de alimentos a nivel mundial, ha provocado el desarrollo de sistemas productivos agropecuarios intensivos. No obstante, esto ha traído varios problemas de contaminación y desgaste de recursos naturales, por la falta de manejo integrado de desechos.

La contaminación ambiental afecta a varios recursos; entre los más importantes el recurso hídrico. De acuerdo con la FAO (1997), la contaminación de este recurso es resultado de varias actividades humanas, entre las que están las actividades agrícolas y operaciones de manejo y crianza de animales.

Uno de los principales fenómenos que se puede evidenciar es la eutrofización que afecta gravemente a los ecosistemas acuáticos, produciendo la aparición de algunos organismos y la desaparición de otros (Buschmann, 2001).

2.1.1 Contaminación por excretas porcinas

La producción porcina es una de las explotaciones pecuarias con mayor desarrollo en los últimos años, debido a la creciente demanda de carne en el mercado (Mariscal, 2002).

Sin embargo, este crecimiento ha traído consigo también el aumento de la contaminación tanto de diferentes fuentes de agua, así como del aire y tierras de cultivo (FAO, 2002).

La producción porcina en el Ecuador se caracteriza por ser de tipo familiar, ya que, en su mayoría dichas producciones no se encuentran registradas en organismos oficiales.

Según el MAGAP (2013), los últimos resultados de la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC), muestran que en el país existían alrededor de 1.8 millones de cabezas de ganado porcino, lo que representó un 22.9% más en comparación con el 2010.

De acuerdo con el ASPE (2010), existen 1737 granjas porcinas en el Ecuador y 100 mil productores de traspatio, de los cuales la mayor parte se encuentran ubicados en las

regiones Sierra y Costa, y una pequeña cantidad en la Amazonía y Galápagos. La gran preocupación recae en que solamente el 12% de dichas producciones se encuentran registradas en Agrocalidad y apenas el 2% tiene un registro del Ministerio de Ambiente (MAGAP, 2013).

En base a estos datos se puede determinar que no se han tomado medidas de protección en cuanto a la contaminación que las producciones de tipo familiar o de traspatio conllevan, a pesar de que estas constituyen el 85% de la producción nacional. Es así que la mayoría de los desechos provenientes de esta actividad no tienen un tratamiento adecuado y terminan contaminando aguas superficiales y del subsuelo, deteriorando la calidad del aire de la zona, y además provocando una contaminación microbiológica por la aplicación de excretas sin tratar en terrenos agrícolas (MAGAP, 2013).

Principales fuentes contaminantes

Las principales fuentes de contaminación del agua, aire y tierras de cultivo son los productos o agroquímicos empleados en la agricultura. Pero también existen otro tipo de desechos como productos de excreción, materias fecales, parásitos, químicos, microorganismos y nutrientes no asimilados de la alimentación de animales (FAO, 2002).

Buschmann (2001), menciona que un 75-80% de los nutrientes suministrados mediante alimentación en producciones pecuarias, son excretados. Al no realizar un manejo de estos desechos, se producen procesos de contaminación, que son causantes de la disminución de oxígeno disponible en fuentes de agua. Además, el alimento altamente proteico que no ha sido consumido, aumenta los niveles de nitrógeno y fósforo de dichos sistemas acuáticos.

Mariscal (2002), por otro lado, menciona que la producción promedio de excretas porcinas por día, desde el destete hasta que el animal alcance el peso al sacrificio, es de 1.36 kg de heces y 4.73 L de orina. Lo que constituye una gran fuente de contaminación ambiental, tanto por la descarga de materia orgánica a fuentes acuáticas, como por los gases emitidos al ambiente (CO₂, NH₃, H₂S y CH₄).

2.1.2 Consecuencias de la contaminación

Como ya se ha mencionado las explotaciones pecuarias constituyen una gran fuente de contaminación ambiental y esto trae consigo graves consecuencias.

El Ministerio del Ambiente posee una normativa para calidad ambiental y la descarga de efluentes a fuentes de agua (tabla 1), en la que se establecen los principios básicos para el control de la contaminación de los recursos hídricos. Esta normativa establece, en el Anexo 2 del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS, 2015), lo siguiente:

- a) Los desechos pecuarios generados en establecimientos de faenamiento, engorde o crianza, deben recibir tratamiento técnico adecuado y evitar de esta forma la contaminación por microorganismos y cambio en sus características naturales.
- b) Los desechos pecuarios no deben ser dispuestos en cuerpos hídricos receptores.

Pese a la existencia de esta normativa, varios de los desechos de explotaciones pecuarias son vertidos diariamente a distintas fuentes de agua como ríos, lagos, lagunas, etc., provocando altos niveles de contaminación.

La presencia de material fecal, proveniente de explotaciones pecuarias, en fuentes de agua es un problema de salud pública. Esto ha ocasionado el aumento de casos de muertes por enfermedades transmitidas por el consumo de agua contaminada, causando una alta incidencia de enfermedades de tipo entéricas, que llevan a graves problemas como diarreas crónicas e infecciones intestinales (FAO, 1997).

Además de los problemas de salud, también está la presencia de altos contenidos de microorganismos y sales disueltas en suelos de cultivo que han sido regados con agua contaminada (FAO, 1997).

La contaminación del aire es otro problema causado por el mal manejo de los residuos. La liberación de gases como amoníaco, proveniente en un 85% de la orina y un 15% de heces de cerdos y la emanación de dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄) al ambiente contribuyen al aumento del efecto invernadero y por ende a las consecuencias del cambio climático (Mariscal, 2002).

Tabla 1
Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O5.	mg/l	100
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	250
Nitratos + Nitritos	Expresado como Nitrógeno (N)	mg/l	10
Fósforo Total	P	mg/l	10

Fuente: (TULAS, 2015)

2.2 Alternativas para combatir la contaminación provocada por explotaciones pecuarias.

Existen varias alternativas para disminuir la contaminación provocada por actividades agropecuarias. Pero las que más han llamado la atención son las que implican la producción de energías renovables.

El uso de residuos para la generación de bioabonos, bioles e incluso diferentes formas de energía ecológica, han tomado importancia en los últimos años. Es así que algunos autores han analizado las características de algunos de ellos, encontrando los resultados que se muestran en las tablas 2 y 3.

Tabla 2
Composición bioquímica del Biol de diferentes fuentes orgánicas

Componente	Estiércol vacuno	Estiércol vacuno + restos de comida	Restos de banano
pH	7.96	8.1	-
Materia Seca	4.18%	4.2%	-
Nitrógeno	2.63 g/kg	2.4 g/kg	0.2 g/Kg
NH ₄	1.27 g/kg	1.08 g/kg	-
Fósforo	0.43 g/kg	1.01 g/kg	0.076 g/kg
Potásio	2.66 g/kg	2.94 g/kg	4.2 g/kg
Calcio	1.05 g/kg	0.5 g/kg	0.056 g/kg
Magnesio	0.38 g/kg	-	0.131 g/kg
Azufre	-	-	6.4 g/kg
Carbono	-	-	1.1 g/kg

Fuente: (Aparcana, 2008)

Tabla 3
Características generales del
biosol fresco de estiércol animal

Componentes	%
Agua	15.7
Sustancia orgánica seca	60.3
pH	7.6
Nitrógeno total	2.7
Fósforo	1.6
Potasio	2.8
Calcio	3.5
Magnesio	2.3
Azufre	0.3

Fuente: (Aparcana, 2008)

De acuerdo con Fernández (2012), las energías renovables son denominadas así debido a que poseen una fuente inagotable de elementos para su producción.

Entre los tipos de energías renovables están la eólica, solar, geotérmica, hidráulica, oceánica y biomasa. Esta última ha tenido un desarrollo sorprendente debido a que mediante el uso de materia orgánica se puede dar paso a la obtención de biocombustibles (Fernández, Montoya, Oropeza, & Badillo, 2012).

De acuerdo con el Departamento de energía de los Estados Unidos (2011), la demanda de combustibles derivados de petróleo aumenta anualmente en 1.4%, lo que implica que para mediados de este siglo las reservas de petróleo se habrán agotado. Esto ocasionará una crisis energética, aumentando así la demanda de fuentes de energía alterna al uso de combustibles fósiles (Fernández, Montoya, Oropeza, & Badillo, 2012).

Existen algunas alternativas que ya se han implementado para la generación de fuentes energéticas independientes del uso de recursos fósiles. Una de ellas es el uso de combustibles líquidos o gaseosos renovables, generados a partir de fuentes biológicas (Stephanopoulos, Fischer, & Marcguschamer, 2008).

El uso de biodigestores es una de estas opciones, ya que, mediante procesos de digestión anaerobia se pueden obtener beneficios, como la disminución de materia orgánica contaminante, producción de bioabonos estables y generación de energía calórica por producción de metano (FAO, 2011).

2.2.1 Uso de biodigestores en el tratamiento de residuos orgánicos

Alessandro Volta fue un físico italiano que, a finales del siglo XVIII, hizo el gran descubrimiento de que el gas inflamable que surgía de las burbujas producidas en los pantanos era metano (FAO, 2011).

De ahí en adelante el metano tuvo gran importancia, sobre todo durante la segunda guerra mundial, en donde se lo utilizó como combustible debido a la escasez. Sin embargo, su uso fue disminuyendo conforme aumentaba el fácil acceso a combustibles fósiles (FAO, 2011).

Por otro lado, el uso de esta alternativa se impulsó notablemente en la India a partir de los años 60, en donde se empezó a aprovechar el estiércol de vacas para la producción de energía y fertilizantes a bajo costo.

En la actualidad se han realizado varias investigaciones en cuanto al uso de estos sistemas de fermentación, para el tratamiento de residuos y la generación de energía a bajo costo, llegando así a la producción de sistemas de tipo industrial para el tratamiento de desechos orgánicos.

2.2.1.1 Tipos de biodigestores

Un biodigestor está compuesto por un sistema cerrado, en el cual se introducen residuos orgánicos disueltos en agua, los cuales son digeridos por la acción de diferentes microorganismos para obtener biogás como producto final (FAO, 2002).

Existen varios tipos de biodigestores que se han diseñado de acuerdo al tipo de manejo que se quiera dar a los residuos. Por esta razón según su modo de operación la FAO (2011) los ha clasificado así:

- a) **Continuos:** este tipo de biodigestores funcionan mediante un proceso ininterrumpido, en el cual se realiza una descarga de efluente en la misma proporción en que se carga con material fresco. Generalmente estos son usados en sistemas industriales donde se genera una gran cantidad de material degradable.
- b) **Semi continuos:** en este tipo de biodigestor se agregan cargas en función del tiempo de retención hidráulico de las materias primas empleadas. Este método se emplea más en medios rurales y entre los diseños más conocidos de este tipo de reactores están los modelos Indiano y Chino.

- c) **Discontinuos:** este tipo de biodigestores son cargados una sola vez y cuando ha transcurrido el período necesario de fermentación se realiza un vaciado total del sistema, para dar paso a un nuevo proceso. Dentro de este tipo el modelo más conocido es el digestor Batch.

A continuación, se describen algunos de los diseños de reactores anaerobios más empleados:

- **Biodigestor tipo Chino:** este diseño está formado por tanques cilíndricos enterrados en el suelo, con el techo y el piso en forma de domo. Este es llenado con la materia prima hasta cierto nivel y el biogás producido es almacenado dentro del mismo sistema, generando la presión necesaria para la salida del efluente digerido.

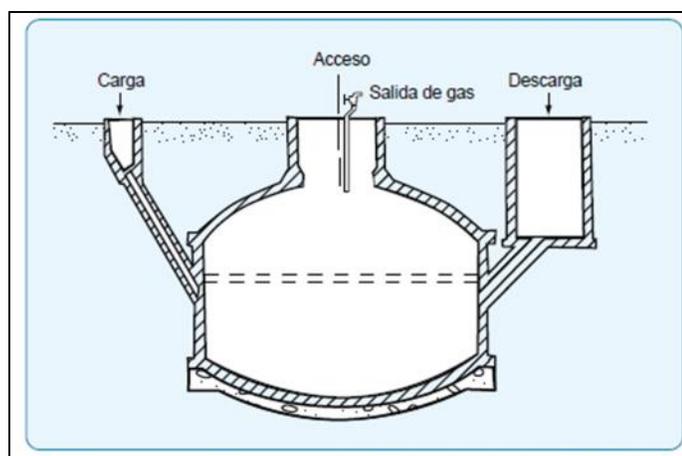


Figura 1 Biodigestor tipo Chino

Fuente: (FAO, 2002)

- **Biodigestor Indiano:** estos son biodigestores tipo pozo, que se encuentran enterrados de forma vertical. La carga de materia prima se realiza por gravedad y el biogás generado es almacenado en una campana flotante, lo que mantiene una presión constante.

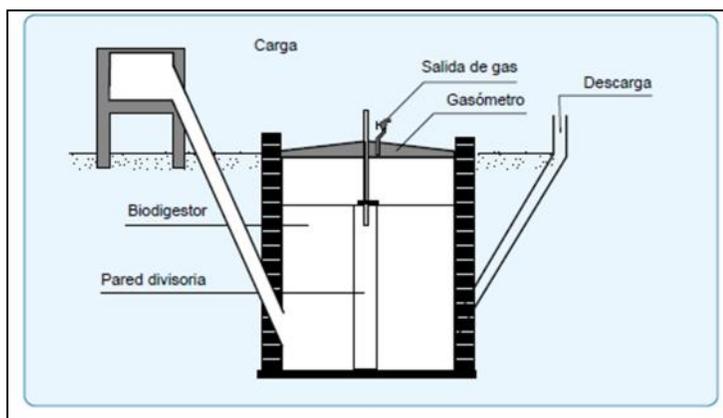


Figura 2 Biodigestor tipo indiano

Fuente: (FAO, 2002)

- **Biodigestor Batch:** este tipo de reactor tiene un funcionamiento en ciclos, en donde se realiza la alimentación del sistema, para luego dar paso a los procesos de degradación. Finalmente, luego de un periodo de tiempo se descarga el efluente depurado. Este es uno de los reactores más empleados, debido a su fácil manejo y operación.

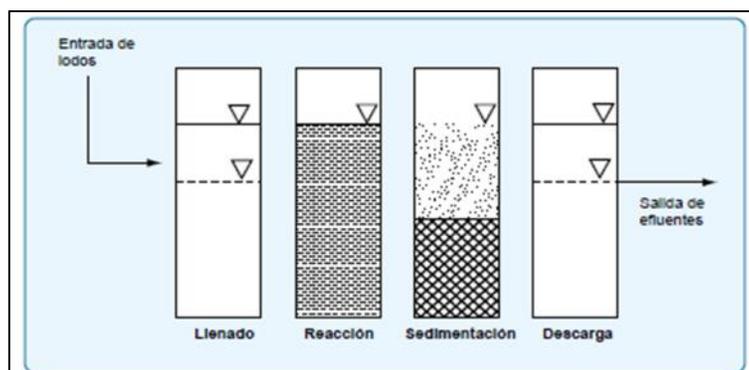


Figura 3 Biodigestor tipo Batch

(FAO, 2011)

- **Reactor anaerobio de alta velocidad:** estos son reactores de tipo continuo, que trabajan bajo condiciones termofílicas o mesofílicas. Para su implementación se deben tomar en cuenta algunos parámetros entre los que están: el tiempo de

retención de sólidos y la reducción de sólidos volátiles, para determinar la cantidad de materia orgánica que debe ser cargada (FAO, 2002).

- **Reactor anaerobio de contacto:** es un reactor convencional, en el cual la biomasa anaeróbica está en contacto con el efluente que alimenta al biorreactor. Lo que este tipo de reactor busca es que se sedimenten todos los sólidos y que el lodo obtenido recircule nuevamente en el reactor (FAO, 2011).

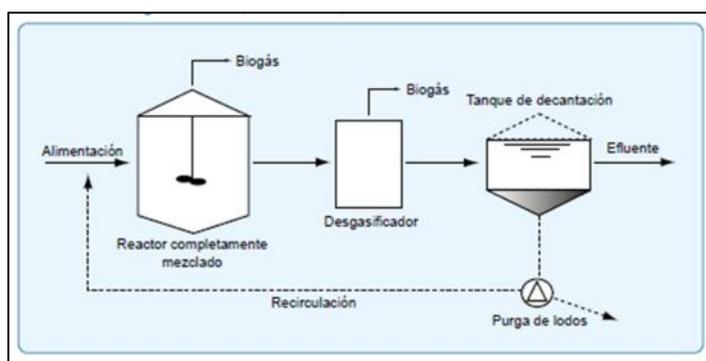


Figura 4 Reactor anaerobio de contacto

Fuente: (FAO, 2011)

- **Reactor de lecho expandido:** está formado por una estructura cilíndrica que posee un soporte para la acumulación de grandes concentraciones de biomasa. Los soportes pueden ser de arena, carbón activado o plásticos sintéticos, lo que permite la degradación de la materia orgánica (FAO, 2002).

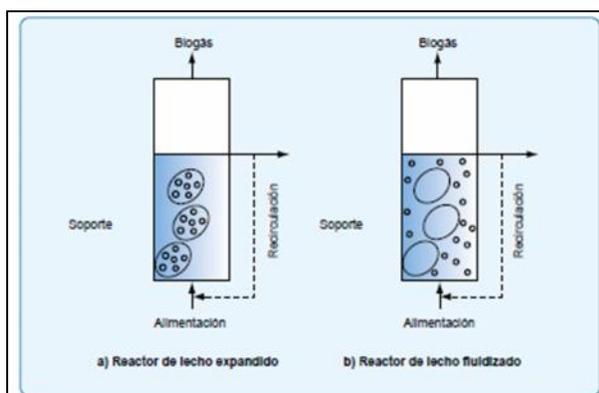


Figura 5 Reactor de lecho expandido

Fuente: (FAO, 2011)

- **Biorreactor de membrana anaeróbica:** este sistema consta de una membrana interna, que facilita la separación de la parte sólida y líquida. Este sistema es empleado cuando la materia tiene un alto contenido de partículas sólidas (FAO, 2002).

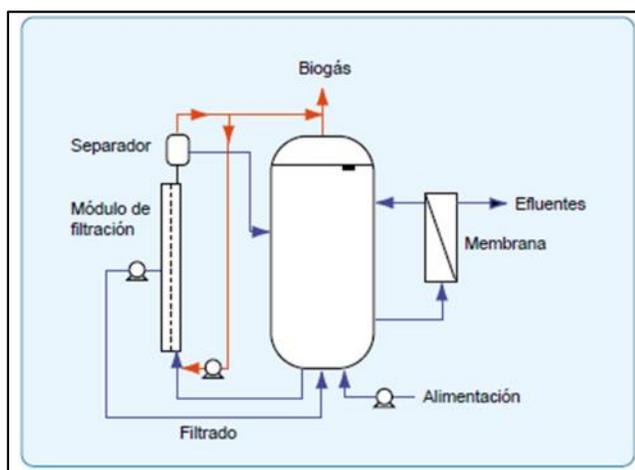


Figura 6 Biorreactor de membrana anaeróbica

Fuente: (FAO, 2011)

2.2.1.2 Etapas del proceso de digestión anaerobia

De acuerdo con la FAO (2011), más del 90% de la energía de los procesos de digestión anaerobia, se transforma en metano. Esto se produce mediante una serie de reacciones que están divididas en 4 etapas (figura 9), en donde actúan diferentes clases de microorganismos con funciones específicas.

- Hidrólisis:** durante esta etapa las moléculas complejas, provenientes de la materia orgánica polimérica, sufren una degradación mediante procesos de hidrólisis (tabla 4). Esto se lleva a cabo gracias a la acción de enzimas extracelulares producidas por microorganismos como: *Bacillus*, *Sporobacterium*, *Megasphaera*, *Bacteroides*, *Propioni-bacterium*, entre otros (Figura 10).

Tabla 4
Sustratos, productos y enzimas de la hidrólisis

Macromolécula	Producto de la hidrólisis	Enzimas
Proteínas	Péptidos Aminoácidos	Proteasa
Lípidos	Ácidos grasos Glicerol Alcoholes	Lipasa Fosfolipasa
Carbohidratos	Glucosa Polisacáridos Pentosas Oligosacáridos	Xylanasa Amilasa Celulasa Hemicelulasa

Fuente: (Ramos, 2014)

b) Etapa acidogénica: en esta etapa se produce la fermentación de las moléculas orgánicas solubles producidas en la etapa anterior, dando origen a compuestos orgánicos más reducidos, que serán utilizados por las bacterias metanogénicas posteriormente. Entre estos compuestos están el ácido acético, fórmico, propionico, butírico, valérico, láctico y etanol. Las reacciones fermentativas que se dan durante esta etapa se detallan a continuación en la figura 7.

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{ADP} + 4\text{P} \longrightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 + 4\text{ATP}$
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 3\text{ADP} + \text{P} \longrightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} + \text{CO}_2 + \text{H}_2 + 3\text{ATP}$
$\text{C}_4\text{H}_6\text{ON} + 0.114\text{HCO}_3^- + 1.478\text{H}_2\text{O} \longrightarrow 0.247\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 0.3\text{CH}_3\text{COO}^-$ $+ 0.28\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 0.286\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COO}^- + 0.753\text{NH}_4^+ + 0.298\text{CO}_2$ $\Delta G^0 = -37.1\text{kJ/mol}$
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COO}^- + 14\text{H}_2\text{O} \longrightarrow 8\text{CH}_3\text{COO}^- + 7\text{H}^+ + 14\text{H}_2 \quad \Delta G^0 = 345.6\text{kJ/mol}$

Figura 7 Reacciones fermentativas para carbohidratos, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga

Fuente: (Cendales, 2011)

c) Etapa acetogénica: durante esta etapa se transforman todos los productos de la fermentación que no pueden ser metabolizados directamente por las bacterias metanogénicas. Produciendo así productos más sencillos que serán aprovechados por

organismos homoacetogénicos, los cuales ayudarán a mantener presiones parciales bajas de hidrógeno (figura 8).

Reacción de ácidos grasos	$\Delta G(\text{kJ})$
$\text{Propionato} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato} + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 3\text{H}_2$	+76.1
$\text{Butirato} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{Acetato} + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+48.1
$\text{Valerato} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{Acetato} + 2\text{H}^+ + 4\text{H}_2$	+48.1

Figura 8 Reacciones acetogénicas

Fuente: (Cendales, 2011)

- d) Etapa metanogénica:** esta es la última etapa del proceso de digestión anaerobia y en ella se da paso a la producción de metano a partir de sustratos monocarbonados.

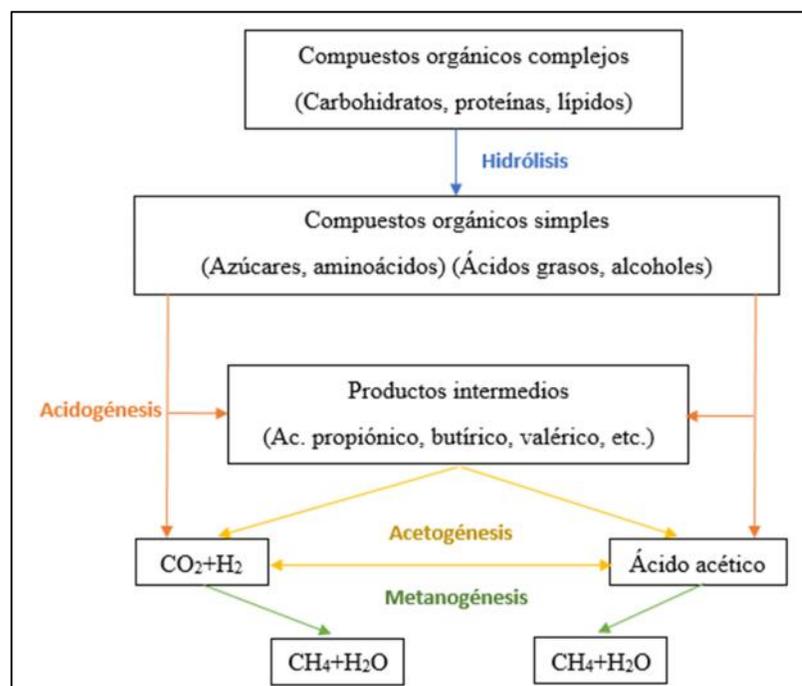


Figura 9 Fases del proceso de digestión anaerobia

Fuente: (Ramos, 2014)

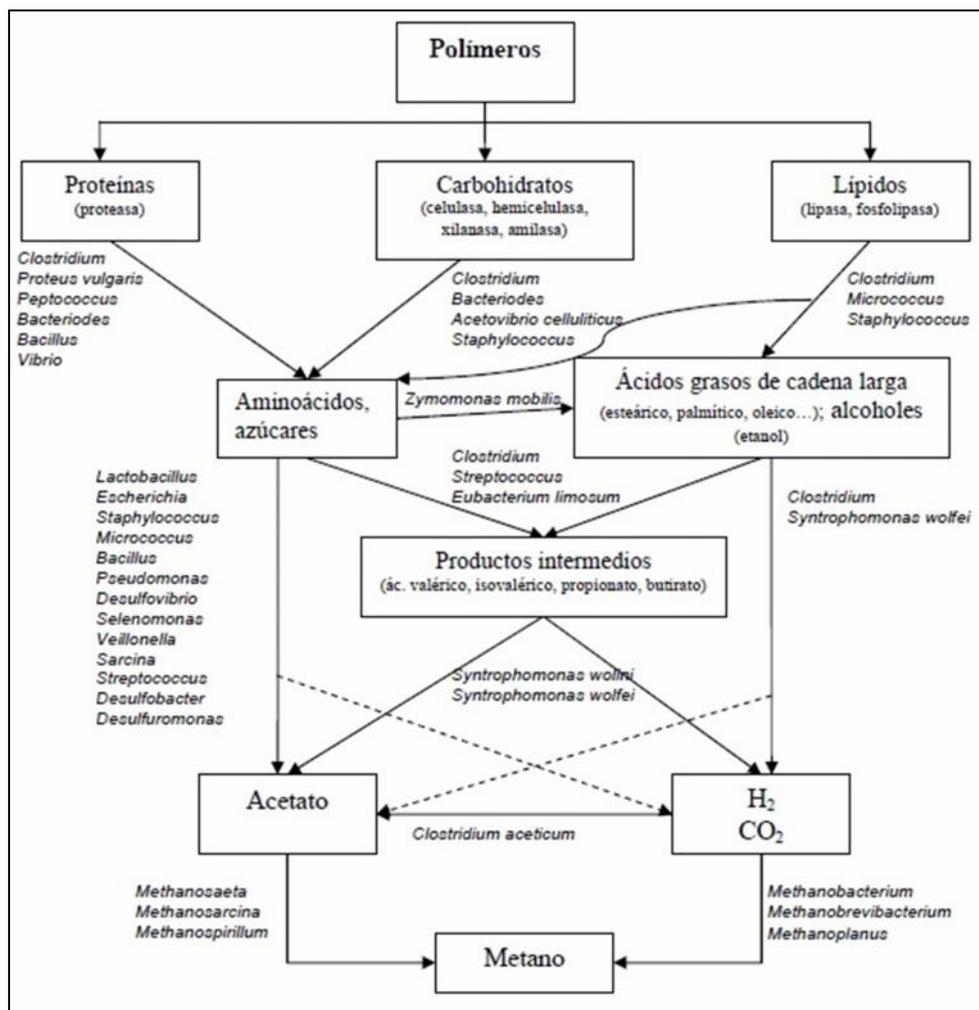


Figura 10 Microorganismos involucrados en cada fase de la digestión anaerobia

Fuente: (Ramos, 2014)

2.3 Producción de microalgas

Las microalgas son un grupo de microorganismos unicelulares que tienen la capacidad de realizar fotosíntesis y desarrollarse en diferentes hábitats (Ramos, 2014). Estas generalmente son organismos eucariontes, sin embargo, también se incluyen en su grupo a cianobacterias procariontes (Fernández, Montoya, Oropeza, & Badillo, 2012).

Las microalgas pueden tener dos tipos de metabolismo, pero de acuerdo a ello se presentan algunos problemas en su producción. Los cultivos heterótrofos, pueden desarrollarse sin fuente de luz, pero requieren de la suministración constante de fuentes

de carbono, lo que representa un costo elevado, además son susceptibles a la insaturación de ácidos grasos y contaminación de medios de cultivo (Amaro, Guedes, & Malcata, 2011). Por otro lado, los cultivos autótrofos, presentan menos problemas, requieren de luz para el funcionamiento de su metabolismo y se alimentan de compuestos inorgánicos como CO₂ y sales (Fernández, Montoya, Oropeza, & Badillo, 2012).

Uno de los puntos de mayor interés dentro de la producción de microalgas son sus tasas de crecimiento, ya que, de ello depende la obtención de biomasa. De acuerdo con Williams y Laurens (2010), algunas algas pueden dividirse cada 3 o 4 horas, mientras que otras se dividen entre uno y dos días.

Las tasas de crecimiento de las microalgas están dadas por la eficiencia fotosintética de las mismas y debido a que estas poseen una estructura unicelular sencilla, su eficiencia es mayor a la de cualquier otro cultivo vegetal (Brennan & Owende, 2010).

Fernandez *et al.* (2012), menciona que las microalgas constituyen una opción muy importante para la producción de biocombustibles, debido a su eficiencia fotosintética, a su asimilación de CO₂ y a su facilidad de cultivo. De allí el interés de emplear biomasa algal para la obtención de biogás.

2.3.1 Uso de microalgas para la producción de biogás

En la última década el uso de microalgas para la producción de biocombustible se ha desarrollado ampliamente. Es así que a partir de ella se han logrado obtener varios productos como biodiesel, bioetanol, biohidrógeno y biogás (Ramos, 2014). Como ya se mencionó anteriormente, el desarrollo que este tipo de cultivos ha tenido, se debe principalmente por las ventajas de producción sobre otro tipo de cultivos vegetales, llegando a generar incluso veinte veces más combustible por hectárea que la soja (Sheehan, Dunahay, Benemann, & Roessler, 1998).

Se han llevado a cabo algunas investigaciones, en las cuales se han empleado diferentes cepas de microalgas para comparar sus niveles de producción de biogás bajo diferentes condiciones. Pero en todos estos estudios se presentan algunos problemas. Rey (2014), menciona que la principal limitante en la digestión de las microalgas es la

difícil degradación de su pared celular, provocando por ende bajos rendimientos de metano.

En un estudio realizado por Ramos (2014), se probaron diferentes cepas de microalgas para la obtención de metano, siendo *Scenedesmus* y *Chlorella*, las que mayor producción presentaron (tabla 5). Esto a pesar de poseer paredes celulares compuestas por carbohidratos complejos de tipo hemicelulósicos.

Tabla 5
Valores de producción de biogás de diferentes tipos de microalgas

Familia	Género	Especie	Producción biogás (ml/gSV*)
Chlorophyta	<i>Chlorella</i>	<i>Chlorella kessleri</i>	218
		<i>Chlorella sorokiniana</i>	212
		<i>Chlorella vulgaris</i>	361
		<i>Chlorella sorokiniana</i>	283
	<i>Scenedesmus</i>	<i>Scenedesmus</i> sp.-PN2	258
		<i>Scenedesmus obliquus</i>	178
		<i>Scenedesmus dimorphus</i>	397
Ochrophyta	<i>Nannochloropsis</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i>	204
		<i>Nannochloropsis gaditana</i>	228
Cyanobacteria	<i>Spirulina</i>	<i>Spirulina máxima</i>	353
	<i>Arthrospira</i>	<i>Arthrospira máxima</i>	173
		<i>Arthrospira platensis</i>	293

Fuente: (Frigon, y otros, 2013)

Para superar todos estos problemas en el uso de microalgas, se han desarrollado diferentes métodos para favorecer la producción de biogás. Una de las alternativas que se ha empleado es la codigestión anaerobia, en la cual se realiza una mezcla de sustratos de diferente origen, para favorecer los procesos de digestión (Rey, 2014).

Ensayos realizados en codigestión de diferentes sustratos con microalgas, han mostrado varias ventajas, entre las que están el aprovechamiento de diferentes compuestos para producir reacciones más eficaces, reducción de costos de inversión para la producción de energía renovable y disminución de las variaciones en la composición de cada residuo por separado (Rey, 2014).

2.3.2 Microalga *Chlorella* sp.

Chlorella sp. es un alga verde elipsoidal, que pertenece a la división Chlorophyta y a la clase *Chlorophyceae* (Infante, y otros, 2012).

Este es un género de alga que, debido a su capacidad de remoción de nitrógeno, fósforo, DQO y metales, ha sido empleada en varios procesos de biorremediación, siendo la principal herramienta para el tratamiento de aguas residuales (Garza, Almaguer, Rivera, & Loredó, 2010).

Su facilidad de cultivo, abundancia y capacidad de crecer en medios autótrofos y mixótrofos, han hecho de esta alga una de las mejores opciones para la obtención de biomasa con diferentes fines (Infante, y otros, 2012).

Pachacama (2016), realizó un estudio en el cual empleó el alga *Chlorella* sp. biotipo 1, una especie endémica del Ecuador colectada en el sector de Papallacta; para la remoción de contaminantes del efluente porcino en las instalaciones del IASA I, obteniendo como resultados una alta eficiencia en la remoción de contaminantes. Por esta razón en el presente estudio se empleó *Chlorella* sp. biotipo 1 para la obtención de biogás en codigestión, para aprovechar la producción de biomasa resultante del tratamiento de purines de cerdo.

2.4 Uso de *Bacillus* sp. en el tratamiento de residuos.

Robalino (2011), menciona que en varios estudios de digestión anaerobia se han encontrado colonias bacterianas, entre las cuales estaba el género *Bacillus*.

A demás en estudios realizados por Jinn-Chyi & Hsi-Hua (2002), se emplearon cepas de *Bacillus cereus* en procesos anaerobios, dando como resultado una mayor cantidad de etanol, ácido láctico, fórmico, succínico y glicerol. Lo que demostraría el papel que cumple el género *Bacillus* durante las reacciones que tienen lugar en la etapa de hidrólisis, que es una de las etapas limitantes de la velocidad del proceso de producción de metano en general. Debido a que se forman compuestos solubles que pueden ser aprovechados por los microorganismos de las siguientes etapas y así se mejorarían los procesos de digestión de materiales hemicelulósicos y lignocelulósicos.

2.4.1 Consorcio bacteriano

El producto Pond Plus de Bayer, es una mezcla de bacterias que tienen la capacidad de consumir compuestos orgánicos (Bayer, 2016).

Su presentación es un polvo liofilizado que contiene 1 billón de ufc/g, la dosis recomendada de uso es de 1-3g/kg. Su fórmula está compuesta por: 1 cepa de *Bacillus*

subtilis, 2 cepas de *Bacillus licheniformis*, 2 cepas de *Bacillus amyloliquefaciens*, 1 cepa de *Bacillus megaterium* y 1 cepa de *Bacillus pumilus*.

2.4.2 Características de las diferentes cepas de *Bacillus* presentes en el consorcio bacteriano de Bayer

2.4.2.1 *Bacillus subtilis*

- División: Firmicutes
- Familia: *Bacilliaceae*
- Género: *Bacillus*
- Especie: *Bacillus subtilis*

Esta es una bacteria Gram positiva, resistente a condiciones adversas, es termorresistente y además produce enzimas hidrofílicas extracelulares, importantes para descomposición de polisacáridos. Es empleado como controlador biológico y previene enfermedades del suelo (Cuervo, 2010).

2.4.2.2 *Bacillus licheniformis*

- División: Firmicutes
- Familia: *Bacilliaceae*
- Género: *Bacillus*
- Especie: *Bacillus licheniformis*

Es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa y altamente resistente. Es conocida por participar en procesos de degradación de materia orgánica. Funciona mejor en condiciones alcalinas y es un organismo productor de proteasas y amilasas (Pastrana, 2012).

2.4.2.3 *Bacillus amyloliquefaciens*

- División: Firmicutes
- Familia: *Bacilliaceae*
- Género: *Bacillus*
- Especie: *Bacillus amyloliquefaciens*

Esta bacteria es muy utilizada en la agricultura, se usa a menudo en la hidrólisis del almidón. Es considerada una fuente de subtilisina, que cataliza procesos de descomposición de proteínas al igual que la tripsina (Fukumoto, 1943) (Khan, 2011).

2.4.2.4 *Bacillus megaterium*

- División: Firmicutes
- Familia: *Bacilliaceae*
- Género: *Bacillus*
- Especie: *Bacillus megaterium*

Es una bacteria Gram positiva, utilizada para diferentes procesos como la producción de piruvato y enzimas para la modificación de corticoesteroides y deshidrogenasas de aminoácidos (Khan, 2011).

2.4.2.5 *Bacillus pumilus*

- División: Firmicutes
- Familia: *Bacilliaceae*
- Género: *Bacillus*
- Especie: *Bacillus pumilus*.

Es un bacilo Gram positivo, formador de esporas. Presenta alta resistencia a condiciones ambientales extremas, resiste la exposición a luz UV y a agentes oxidantes. Es el ingrediente activo de varios fungicidas empleados en la agricultura (Priest, 1993).

CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del lugar de investigación

El presente estudio se realizó en la provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui, parroquia San Fernando, en las instalaciones del invernadero cuarentenario y del laboratorio de Acuicultura y Recursos acuáticos de la Carrera de ingeniería Agropecuaria IASA I, Hacienda el Prado, localizada geográficamente en las coordenadas UTM WGS 84 ZONA 17 SUR M 787833.19 m E, 99957478.26 m S.

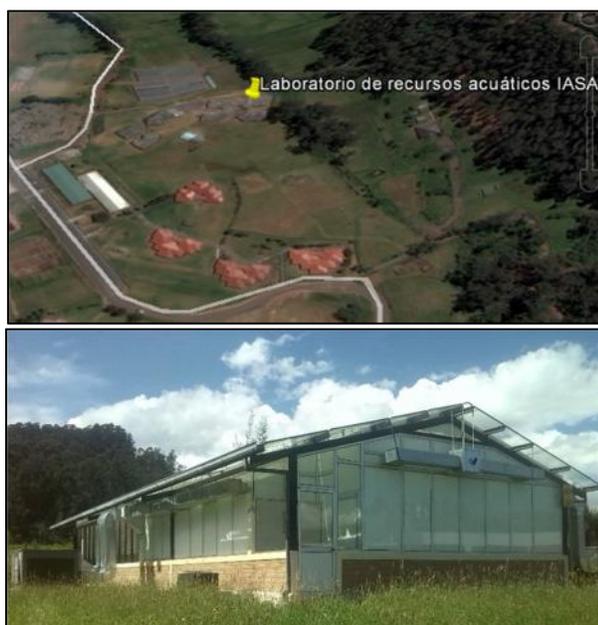


Figura 11 Lugar de la investigación (IASA I)

3.1.1 Ubicación ecológica

La Hacienda el Prado está ubicada en la zona de vida de Bosque Húmedo Montano; a una altitud de 2748 m.s.n.m., con una temperatura promedio anual de 13.89°C, una precipitación de 1285 mm/año y una humedad relativa de 69.03%. Cabe mencionar que el estudio se realizó bajo condiciones controladas dentro del invernadero cuarentenario, donde se registró una temperatura promedio de 30-35°C.

3.2 Materiales

3.2.1 Laboratorio

- Tubos de ensayo de 10 ml
- Matraces Erlenmeyer
- Bureta de cero automático
- Pipetas de 5 cm³
- Pipetas de 25 cm³
- Probetas de 50 cm³
- Probetas de 100 cm³
- Cápsulas de porcelana
- Crisoles de porcelana
- Morteros
- Tubos Kjeldahl
- Refrigerantes de serpentín
- Sifón Soxhlet
- Perlas de vidrio
- Pinzas
- Soportes
- Termómetro
- pH metro
- Papel de parafina
- Biodigestores experimentales de plástico con capacidad de 4 L.

3.2.2 Equipos

- Desecador
- Placas calentadoras
- Estufa eléctrica
- Balanza analítica
- Termo Reactor WTW
- Centrifuga DYNAC

- Mufla
- Horno de secado
- Cámara de flujo
- Digestor InKjel
- Destilador VELP
- Espectrofotómetro
- Oxitop DBO₅.

3.2.3 Reactivos

- Reactivos para DQO (ácido sulfúrico, dicromato de potasio, F-talato monopotásico, sulfato de mercurio y sulfato de plata)
- Kits Palintest para nitratos, amonio, fósforo, calcio, magnesio, azufre, cobre y hierro
- Kits Spectroquant para potasio y zinc.
- Fertilizante foliar Nitrofoska
- Agua peptonada
- Reactivos para bromatológicos (Kjeltabs, Ácido sulfúrico, Solución de hidróxido de sodio al 40%, Solución de ácido bórico al 4%, Solución de ácido clorhídrico 0.1 N, Solución de ácido clorhídrico 1 N, Acetona pura)

3.3 Métodos

EL presente estudio se realizó en dos fases, la primera contempló la producción de la microalga *Chlorella* sp. biotipo 1, la recolección de las excretas porcinas y los análisis bromatológicos de cada uno de los sustratos a emplearse en el proceso de biodigestión, además de la activación del consorcio bacteriano previo al inicio de la segunda fase.

La segunda fase consistió en la instalación del ensayo, con el llenado de los tanques digestores de acuerdo a los datos obtenidos en los análisis de la primera fase, para evaluar el efecto de las dosis del consorcio bacteriano sobre la producción de biogás y las características químicas de los productos resultantes del proceso de digestión, que para el caso fueron biol y biosol.

Cada una de las fases y procedimientos de la investigación se muestran en forma sintetizada en la Figura 12.

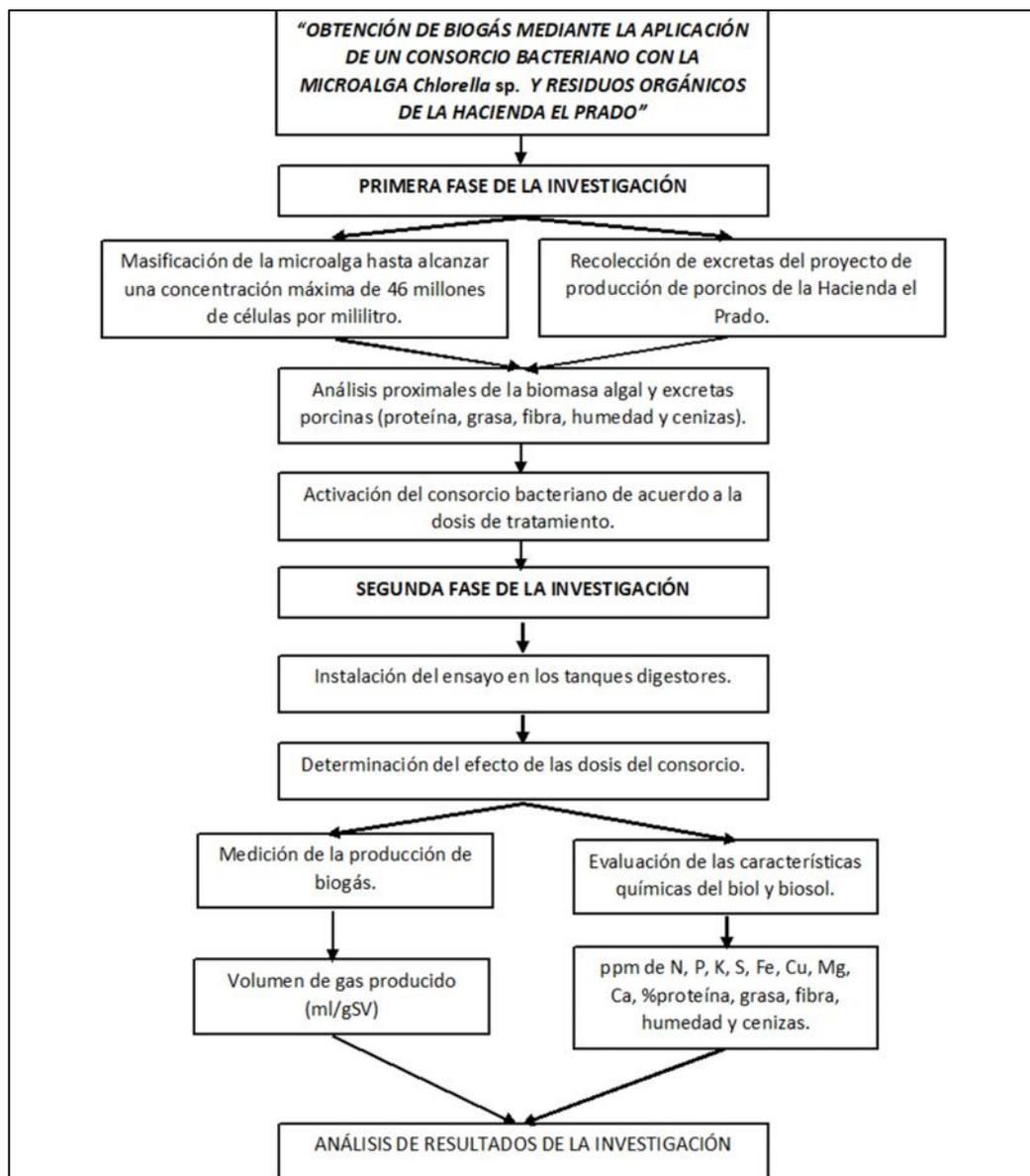


Figura 12 Metodología del proyecto de investigación

3.3.1 Primera fase de investigación

3.3.1.1 Masificación de la microalga *Chlorella* sp. biotipo 1

Para la realización del estudio se empleó una cepa de la microalga *Chlorella* sp. correspondiente al biotipo 1, la cual se obtuvo del cepario del laboratorio de recursos acuáticos y acuicultura del IASA I, en donde ya se encontraba aislada y purificada previamente.

El proceso de masificación se llevó a cabo mediante la siembra de una muestra de la cepa en tubos de ensayo estéril que contenía 10 ml de medio nutritivo, compuesto por Nitrofoska foliar en una dosificación de 0.57 g/L.

Cada tubo se inoculó con 1×10^6 células/ml y se mantuvo con iluminación artificial con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, mediante lámparas fluorescentes (Infante, y otros, 2012).

Luego de diez días de la siembra se procedió a colocar el inóculo en un matraz Erlenmeyer estéril, con 200 ml de medio nutritivo y aireación ininterrumpida, manteniendo la iluminación artificial mencionada anteriormente. Cada 5 días se realizaban observaciones en el microscopio para hacer conteos celulares y verificar que no haya contaminación y se adicionaban 200 ml de medio nutritivo para mantener el inóculo.

Una vez que el inóculo alcanzó un volumen de 1 litro y una concentración celular de 5×10^6 células/ml, se traspasó su contenido a envases plásticos estériles de 20 litros de capacidad, manteniendo aireación e iluminación. Progresivamente se añadió medio nutritivo para favorecer el crecimiento celular del inóculo hasta alcanzar una concentración máxima de 46×10^6 células/ml.

3.3.1.1.1 Determinación de la densidad celular del inóculo

Para determinar la densidad celular del inóculo, tanto al inicio de la masificación como al final, se realizaron conteos en la cámara de Neubauer cada cinco días (figura 13). Obteniendo el número de células/ml (Ecuación 1).

Ecuación 1 fórmula para determinar la densidad celular del inóculo algal

$$DC_{inoculo} = N \times 10^4 \times FD$$

$DC_{inoculo}$ = Densidad celular del inóculo (células/mL)

N = Promedio de células presentes. De acuerdo al número de cuadrantes contados en la cámara de Neubauer.

10^4 = Factor de conversión de 0.1 μ L a 1 ml.

FD : Factor de dilución

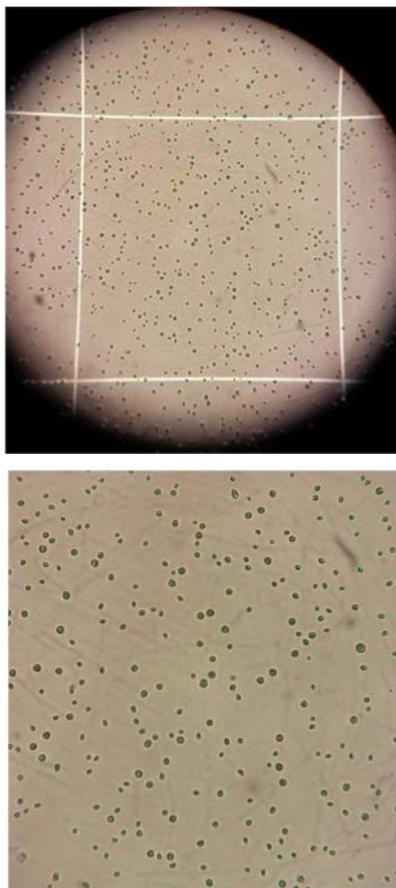


Figura 13 Determinación de la densidad celular mediante la cámara de Neubauer

Cosecha de la biomasa de *Chlorella* sp.

Una vez que se alcanzó la concentración máxima de células por mililitro, se realizó la cosecha de una muestra representativa de la biomasa algal para su análisis. Para ello se retiró la aireación de uno de los tanques y se lo mantuvo en oscuridad durante tres días para que la biomasa sedimente.

Finalmente se recolectó todo el sedimento y se lo centrifugó a 2500 rpm durante 5 minutos. El residuo se colocó en la estufa durante 24 horas a 40°C para su secado y posterior análisis químico.

3.3.1.2 Recolección de excretas porcinas

Las excretas porcinas, se obtuvieron del proyecto de producción de porcinos de la Hacienda el Prado en el IASA I. Las mismas fueron colectadas de un lote homogéneo de cerdos machos alimentados con balanceado a base de maíz.

Una vez que se tomaron las muestras se las llevó al laboratorio para su procesamiento y análisis.

3.3.1.3 Análisis proximal de la biomasa algal y excretas porcinas

Se realizaron los análisis proximales para cada una de las muestras, empleando diferentes protocolos establecidos por las normas técnicas ecuatorianas para la determinación del contenido nutricional de alimentos INEN (1981) y las recomendaciones del manual de técnicas analíticas para nutrición acuícola del Proyecto JICA-CENAIM (1997).

En base a lo mencionado se realizaron pruebas para la determinación del contenido proteico mediante método Kjledahl, grasa mediante método Soxhlet, fibra cruda por método químico gravimétrico, cenizas y humedad por técnicas de calcinación y secado. Adicionalmente, se determinó el contenido de carbono por calcinación.

Las metodologías empleadas para cada prueba se encuentran detalladas en el anexo1.

3.3.1.4 Activación del consorcio bacteriano

Para la activación del consorcio bacteriano se pesaron las diferentes dosis a ser aplicadas, de acuerdo al tratamiento y se inocularon en 50 ml de agua peptonada estéril.

Cada dosis fue colocada en frascos de vidrio e incubada durante 24 horas a 28°C, previo a la instalación del ensayo.

3.3.2 Segunda fase de investigación

En esta fase se realizó la instalación del experimento, procediendo a hacer el llenado de los tanques digestores, de acuerdo con los resultados obtenidos en los análisis químicos.

Cabe recalcar que para asegurar el control de la temperatura, el ensayo se instaló en el invernadero cuarentenario del IASA I y su disposición se detalla a continuación.

3.3.2.1 Diseño experimental.

3.3.2.2 Factores

En el estudio se evaluaron dos factores con tres niveles cada uno, los cuales se detallan a continuación (tabla 6).

Tabla 6
Descripción de los niveles de los factores evaluados en la investigación

Factores	Niveles
Sustrato	Microalga
	Microalga+ Excretas
	Excretas
Dosis de consorcio	0 mg/L
	0.025 mg/L
	0.05 mg/L

Los niveles se determinaron de acuerdo a lo mencionado por Tuesorn (2013), en donde se obtuvieron los mejores resultados al duplicar la dosis comercial del consorcio bacteriano aplicado.

3.3.2.3 Tratamientos a comparar

En la investigación se evaluaron 9 tratamientos, los cuales se pueden observar de manera detallada en la tabla 7.

Tabla 7
Tratamientos evaluados en procesos de codigestión anaerobia de la microalga *Chlorella* sp. y residuos orgánicos (porcinos), para la producción de biogás

Tratamiento	Descripción
T1 (control)	<i>Chlorella</i> sp. + 0 mg de consorcio bacteriano/L
T2	<i>Chlorella</i> sp. + 0.025 mg de consorcio bacteriano/L
T3	<i>Chlorella</i> sp. + 0.05 mg de consorcio bacteriano/L
T4 (control)	<i>Chlorella</i> sp. + Excretas porcinas + 0 mg de consorcio bacteriano/L
T5	<i>Chlorella</i> sp. + Excretas porcinas + 0.025 mg de consorcio bacteriano/L
T6	<i>Chlorella</i> sp. + Excretas porcinas + 0.05 mg de consorcio bacteriano/L
T7 (control)	Excretas porcinas + 0 mg de consorcio bacteriano/L
T8	Excretas porcinas + 0.025 mg de consorcio bacteriano/L
T9	Excretas porcinas + 0.05 mg de consorcio bacteriano/L

3.3.2.4 Tipo de diseño.

Debido a que el ensayo se llevó a cabo bajo condiciones controladas, este presentó un diseño completamente al azar (DCA) bifactorial 3x3.

3.3.2.5 Repeticiones

Se realizaron 3 repeticiones para cada tratamiento, dando un total de 27 unidades experimentales.

3.3.2.6 Características de las Unidades Experimentales.

El estudio estuvo conformado por 27 unidades experimentales. Cada una constituida por un biodigestor de 4 litros de capacidad, sellado herméticamente para impedir la salida y entrada de aire; y con un medidor de gas basado en el desplazamiento de agua, el cual se encontraba conectado a cada biodigestor.

La construcción de los biodigestores experimentales se basó en las recomendaciones del Manual de Biogás publicado por la FAO (2011).

3.3.2.7 Croquis del diseño

Las 27 unidades experimentales se colocaron de forma aleatoria sobre estanterías metálicas, como se muestra en el croquis (figuras 14 y 15).

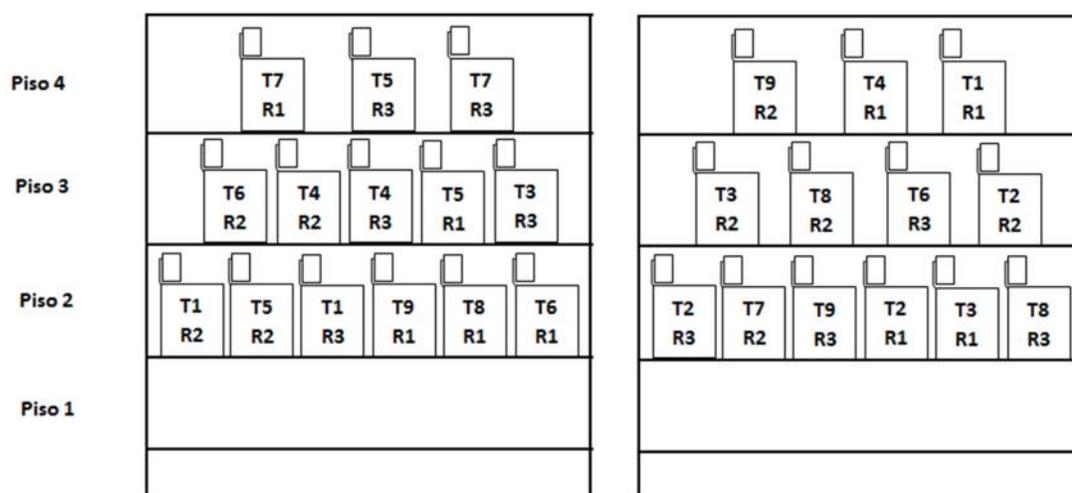


Figura 14 Croquis del diseño del proyecto



Figura 15 Disposición in situ del experimento

3.3.2.8 Métodos específicos de manejo del experimento

Para el llenado de los biodigestores se tomó en cuenta lo mencionado por Botero & Preston (1987), quienes indican que para realizar la carga del biodigestor se debe tomar en cuenta como volumen útil al 75% de la capacidad total del digestor. Es decir, que cada biodigestor tendrá un volumen útil de 3 litros, dejando libre un volumen correspondiente a 1 litro.

Previo al análisis bromatológico de los residuos de cerdo y microalga *Chlorella* sp. se determinó la cantidad de C y N presentes en cada muestra (anexo 1). En base a los resultados obtenidos se calculó el porcentaje de inclusión de cada muestra hasta alcanzar una relación C/N de 25:1, recomendada como óptima para este tipo de procesos (FAO, 2011). Sin embargo, fue necesaria la aplicación de melaza como fuente de C para los ajustes requeridos de acuerdo al tratamiento.

Debido a que todos los materiales debían incorporarse en los biodigestores diluidos en agua, se tomó en cuenta lo mencionado por la FAO (2011), en donde se menciona que para biodigestores en donde se incluyen excretas porcinas se debe emplear mezclas con relaciones de 1:3 de estiércol:agua.

Cabe recalcar que las microalgas se aplicaron una vez que alcanzaron una concentración de 46 millones de células/ml y se incorporaron en los biodigestores en

forma líquida, por lo tanto, este volumen se descontó del volumen total de agua a ser aplicado en cada biodigestor para mantener la relación 1:3 mencionada anteriormente.

Para comprobar el efecto de la aplicación de *Bacillus* sp. en los procesos de degradación anaerobia, se realizaron diferentes mediciones de las características de los residuos colocados en el biodigestor.

Las mediciones de pH se realizaron diariamente durante los primeros 5 días y posteriormente cada 5 días, extrayendo una pequeña muestra del material de cada tratamiento.

También se realizaron dos análisis bromatológicos, análisis de DQO y DBO5; uno al inicio del estudio y otro al final, para identificar los cambios producidos en los residuos después del tratamiento de fermentación anaerobia.

La producción de biogás se midió diariamente en cada unidad experimental, de acuerdo a los tratamientos.

3.3.2.9 Variables evaluadas

a) Producción de biogás

La producción de biogás se registró diariamente, midiendo el volumen producido en mililitros por gramo de sólidos volátiles (ml/gSV), empleando el método de desplazamiento de agua. Las mediciones se realizaron hasta el día 30, tiempo en el cual se dio por terminado el proceso de digestión debido a que se evidenció el cese de la producción de gas.

b) Características químicas de los productos

- Biol:

Una vez terminado el proceso de digestión se realizó el vaciado de los biodigestores, extrayendo el biol producido. El mismo que fue evaluado mediante el uso de Kits Palintest (anexo 3) para determinar la concentración de nitrógeno en forma de amonio y nitratos, fósforo, potasio, hierro, cobre, calcio, sulfatos, magnesio y amonio, importantes en la formulación de fertilizantes líquidos. Adicional se midieron pH y % de sólidos totales, de acuerdo a lo recomendado por Aparcana (2008).

- **Biosol:**

Para la evaluación química del biosol resultante se realizó un Análisis bromatológicos para determinar % Nitrógeno, % Proteína Cruda, % Fibra, %Sólidos volátiles, %Ceniza, % Grasa y % Humedad, de acuerdo a los protocolos mencionados previamente. Adicionalmente, se midió la Demanda Química de Oxígeno por el método de oxidación del dicromato de potasio y la Demanda Bioquímica de Oxígeno empleando los valores de DQO obtenidos y el uso del equipo Oxitop5 (anexo 2).

3.3.2.10 Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se empleó estadística descriptiva (promedio, error estándar y gráficos). Para comparar la producción de biogás de acuerdo a las diferentes dosis de consorcio bacteriano, se hizo un análisis de varianza previo a la validación de supuestos (normalidad, homocedasticidad) con una significancia $p < 0.05$. Detectando diferencias estadísticas se realizó una comparación de medias empleando la prueba Tukey, con un intervalo de confianza del 95% (tabla 8).

Tabla 8
Análisis de varianza para un DCA con 9 tratamientos y 3 repeticiones

Fuentes de variación	Grados de libertad	
Tratamientos	t-1	(8)
Dosis de consorcio		2
Sustrato		2
Interacción DXS		4
Error experimental	(n-1)-(t-1)	18
Total	n-1	26

El modelo matemático fue:

$$Y_{ijk} = \mu + S_i + D_j + ij + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Producción de biogás

μ = Promedio de producción de biogás en los digestores

O_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor Sustrato

D_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor Dosis de consorcio bacteriano.

ij = Efecto de la interacción Sustrato x Dosis

e_{ijk} = Error experimental

3.3.2.11 Correlaciones

Mediante el programa estadístico InfoStat se analizaron las correlaciones existentes (coeficiente de Pearson) a un nivel de significancia del 95%.

3.3.2.12 Coeficiente de variación

Para calcular el coeficiente de variación se utilizó la siguiente fórmula:

$$CV = \frac{\delta}{\mu} * 100$$

Donde:

CV = coeficiente de variación

δ = desviación estándar

μ = media aritmética de la población

Tomando en cuenta que un valor de hasta el 20% es aceptable, siendo los valores menores a diez los mejores.

3.3.3 Análisis económico

El análisis económico se realizó según los trabajos de análisis financiero en piscicultura de García (1995), analizando los costos de inversión, ingresos y costos operativos, para la realización del flujo de caja.

3.3.4 Productos obtenidos y beneficiarios

Este proyecto fue compartido mediante la presentación en el XII Congreso de Ciencia y Tecnología ESPE 2017, y un póster científico en la Feria de proyectos de vinculación con la comunidad de la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE, en donde se socializó el tema con diferentes estudiantes, productores y profesionales relacionados con el área.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Análisis bromatológicos de la biomasa algal y excretas porcinas

Una de las principales actividades que se llevó a cabo para la realización de esta investigación, fue el análisis de los sustratos, mediante los cuales se pudo evidenciar los altos contenidos de nutrientes de cada uno (Tabla 9).

Estos datos fueron empleados para la realización de los cálculos correspondientes de llenado de los biodigestores experimentales, de acuerdo a cada tratamiento. Obteniendo así relaciones de C/N para las excretas y la microalga *Chlorella* sp. de 4.64 ± 0.20 y 2.09 ± 0.02 respectivamente. Sin embargo, fue necesario ajustar dicha relación añadiendo melaza de acuerdo a cada tratamiento hasta alcanzar una relación de 25:1.

Tabla 9
Composición Química de la biomasa algal (*Chlorella* sp. biotipo 1) y excretas porcinas

Componente	Sustratos	
	Excretas	<i>Chlorella</i> sp.
Proteína (%)	23.26 ± 1.14	64.95 ± 0.50
Grasa (%)	5.54 ± 0.11	39.35 ± 0.14
Humedad (%)	43.68 ± 0.32	87.23 ± 0.28
Ceniza (%)	22.23 ± 0.08	7.02 ± 2.63
Fibra Cruda(%)	16.74 ± 0.10	-
Nitrógeno (%)	3.72 ± 0.18	10.39 ± 0.08
Carbono (%)	16.99 ± 0.24	21.67 ± 0.13
C/N	4.64 ± 0.20	2.09 ± 0.02
g SV/Kg	777.66 ± 0.82	929.84 ± 26.36

4.1.2 Producción de biogás

Una vez que se establecieron las unidades experimentales, se midió la producción de biogás diaria y acumulada de acuerdo a cada tratamiento, obteniendo diferencias significativas según los tratamientos ($p < 0.0001$), la dosis de consorcio ($p = 0.0003$) y el tipo de sustrato ($p = 0.0255$); encontrando la mayor producción de biogás con el tratamiento número 3 (319.17 ± 33.63 ml/gSV), correspondiente a la dosis de consorcio

bacteriano de 0.05mg/L y al sustrato de microalga *Chlorella* sp, como se observa de la tabla 10 a la 12.

Tabla 10
Promedio \pm error estándar de la producción acumulada de biogás según el tratamiento

Tratamientos	Media \pm ee
	Volumen de biogás (ml/gSV)
1(control)	3.2 \pm 0.36 a
2	10.88 \pm 0.91 a
3	319.17 \pm 33.63 d
4(control)	100.53 \pm 4.87 bc
5	48.72 \pm 1.8 ab
6	128.91 \pm 7.14 c
7(control)	5.09 \pm 0.52 a
8	7.26 \pm 0.47 a
9	50.09 \pm 10.48 ab
p-valor	<0.0001

Tabla 11
Promedio \pm error estándar de la producción acumulada de biogás según la dosis de consorcio

Dosis de consorcio (mg/L)	Media \pm ee
	Volumen de biogás (ml/gSV)
0	36.27 \pm 16.13 a
0.025	22.29 \pm 6.66 a
0.05	166.06 \pm 41.26 b
p-valor	0.0003

Tabla 12
Promedio \pm error estándar de la producción acumulada de biogás según el tipo de sustrato

Dosis de consorcio (mg/L)	Media \pm ee
	Volumen de biogás (ml/gSV)
Microalga	111.08 \pm 52.93 b
Microalga+Excretas	92.72 \pm 7.93 ab
Excretas	20.81 \pm 12.01 a
p-valor	0.0255

La dosis de consorcio bacteriano de 0.05 mg/L fue la que mayor producción de biogás presentó ($p=0.0003$) en cada uno de los tratamientos evaluados, con valores de 319.17 \pm 33.63 ml/gSV, 128.91 \pm 7.14 ml/gSV y 50.09 \pm 10.48 ml/gSV, para los

sustratos microalga, microalga + excretas y excretas respectivamente, como se puede observar en las figuras 16 a la 19.

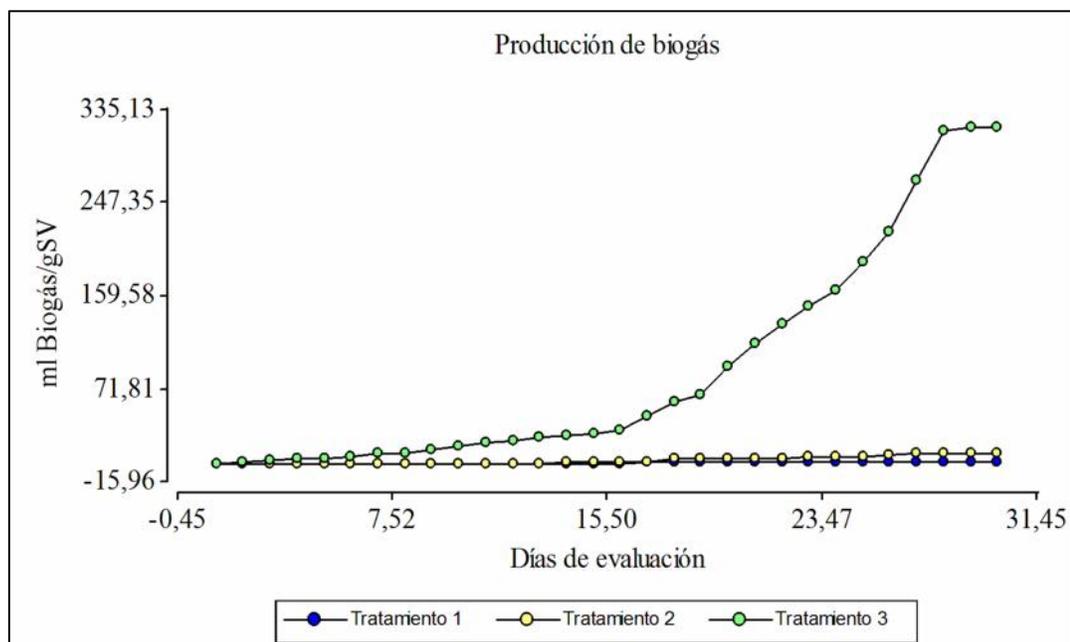


Figura 16 Promedio diario de producción de biogás para el sustrato microalga

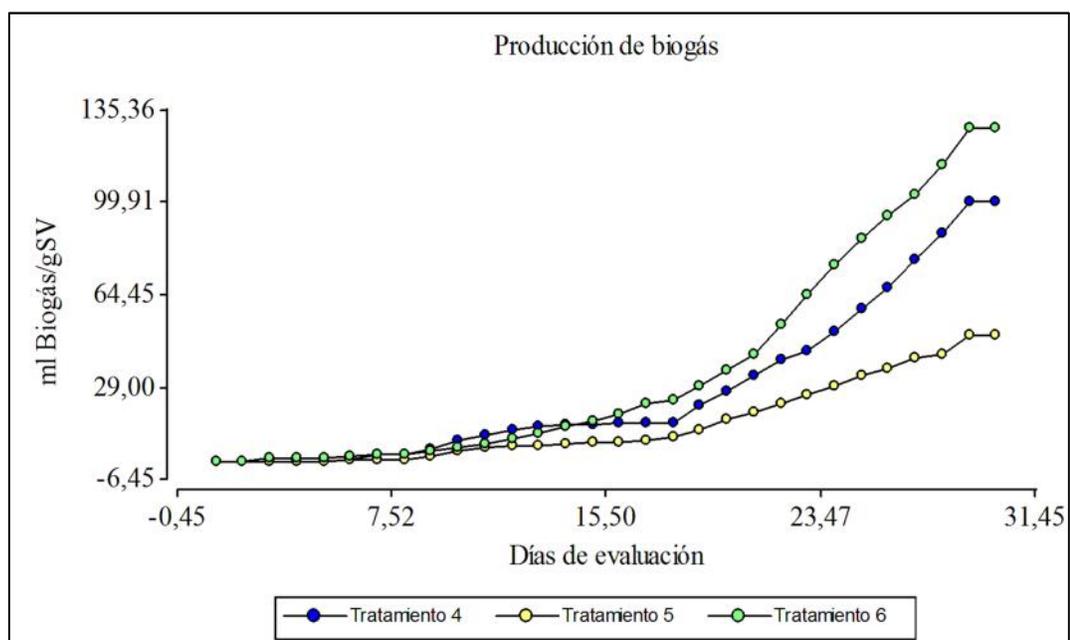


Figura 17 Promedio diario de producción de biogás para el sustrato mezcla (microalgas + excretas)

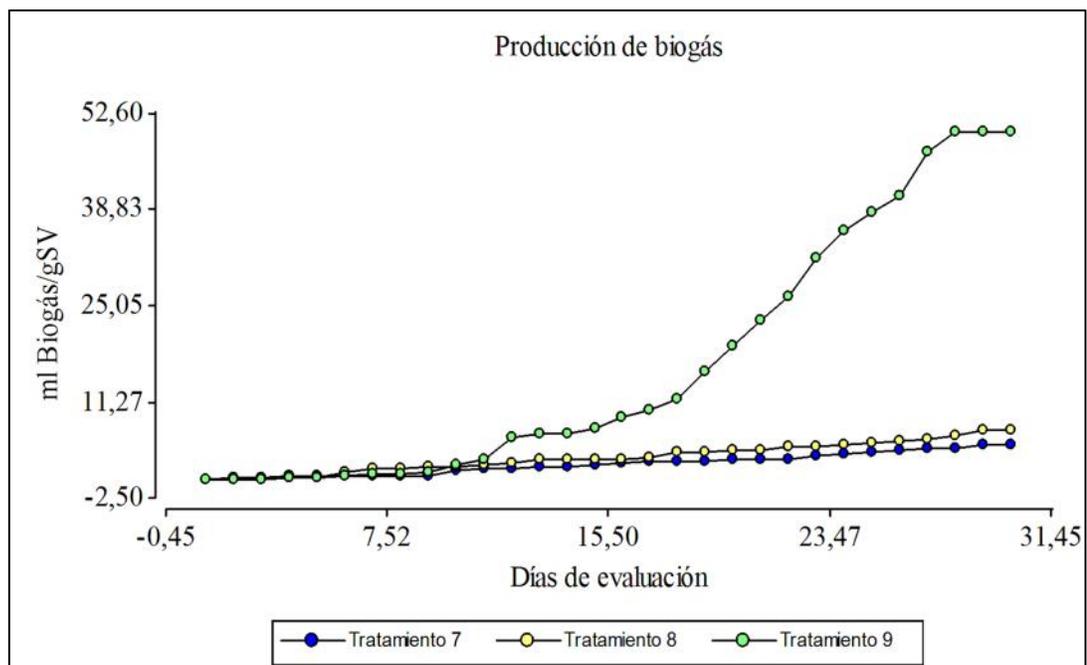


Figura 18 Promedio diario de producción de biogás para el sustrato excretas

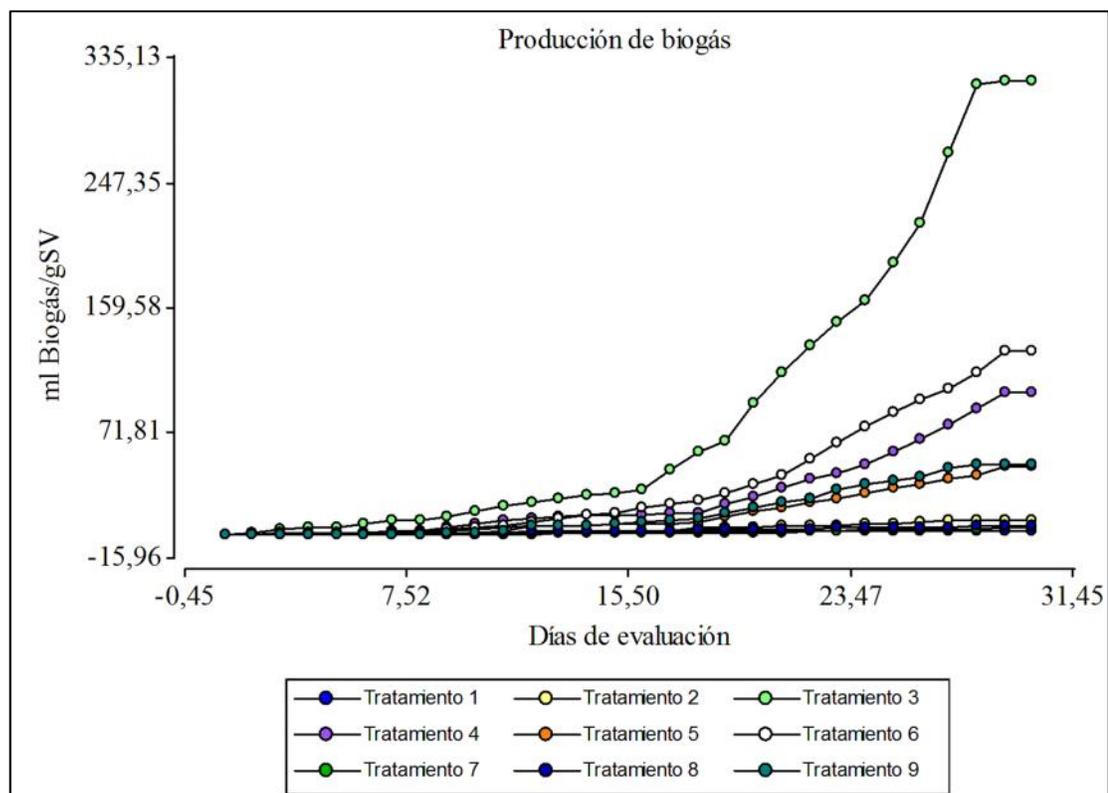


Figura 19 Promedio diario de producción de biogás según el tratamiento

4.1.3 Características químicas de los productos

Análisis de las características químicas del biol: Uno de los productos finales que se obtienen de un proceso de biodigestión es el biol, el cual es empleado como fertilizante debido a que por sus características químicas constituye una buena fuente nutrientes para diferentes plantas. Las características químicas presentes en el biol resultante de esta investigación, según el tratamiento, la dosis de consorcio bacteriano y el tipo de sustrato, se muestran en la tabla 13, 14 y 15 respectivamente.

Tabla 13

Promedio \pm error estándar de la composición química del biol resultante según el tratamiento

Tratamientos	pH	Nitratos (ppm)	Potasio (ppm)	Amonio (ppm)	Fosfato (ppm)
1(control)	8.07 \pm 0.07b	32.85 \pm 0.59e	52.43 \pm 1.22b	96.2 \pm 0.01e	56.67 \pm 0.67e
2	8.10 \pm 0.10b	25.96 \pm 0.01c	43.97 \pm 0.74c	106.6 \pm 1.30f	52 \pm 1.00c
3	7.80 \pm 0.01b	24.2 \pm 0.01b	40.00 \pm 2.05c	96.2 \pm 0.01e	89.67 \pm 0.67b
4(control)	6.13 \pm 0.07a	20.68 \pm 0.01a	60.70 \pm 1.25a	128.27 \pm 1.73g	315 \pm 5.00a
5	6.2 \pm 0.10a	27.72 \pm 0.01d	60.81 \pm 1.02a	87.53 \pm 0.87d	320 \pm 0.01d
6	6.27 \pm 0.03a	27.72 \pm 0.01d	62.99 \pm 1.33a	74.1 \pm 0.01c	275.33 \pm 3.67d
7(control)	6.3 \pm 0.01a	32.27 \pm 0.59e	18.77 \pm 0.91d	85.8 \pm 0.01d	252 \pm 3.00e
8	6.43 \pm 0.03a	25.96 \pm 0.01c	24.46 \pm 0.68d	59.37 \pm 0.87a	159.33 \pm 1.33c
9	6.1 \pm 0.10a	31.68 \pm 0.01e	20.47 \pm 0.59d	66.3 \pm 0.01b	275.33 \pm 3.67e
p-valor	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Tratamientos	Calcio (ppm)	Zinc (ppm)	Magnesio (ppm)	Sulfato (ppm)
1(control)	60 \pm 0.01f	0.06 \pm 0.0024e	12.5 \pm 0.01e	16.33 \pm 0.33d
2	53.33 \pm 1.33e	0.09 \pm 0.0023d	10.5 \pm 0.01d	25.67 \pm 0.33f
3	42 \pm 0.01d	0.05 \pm 0.0015f	10 \pm 0.01c	20.67 \pm 0.33e
4(control)	38 \pm 0.01c	0.13 \pm 0.0026c	9.5 \pm 0.01b	17 \pm 0.01d
5	38 \pm 0.01c	0.77 \pm 0.0015a	12.67 \pm 0.17e	21 \pm 0.01e
6	16.67 \pm 1.33b	0.13 \pm 0.002c	10 \pm 0.01c	9 \pm 0.01b
7(control)	6 \pm 0.01a	0.03 \pm 0.0029g	8.83 \pm 0.17a	9 \pm 0.01b
8	6 \pm 0.01a	0.32 \pm 0.0029b	10 \pm 0.01c	5 \pm 0.01a
9	18 \pm 0.01b	0.04 \pm 0.008g	10 \pm 0.01c	13 \pm 0.01c
p-valor	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Tabla 14
Promedio \pm error estándar de la composición química del biol resultante según la dosis de consorcio bacteriano

Dosis consorcio (mg/L)	pH	Potasio (ppm)	Nitratos (ppm)	Amonio (ppm)	Fosfato (ppm)
0	6.83 \pm 0.31ab	43.97 \pm 6.44a	28.60 \pm 2.00a	103.42 \pm 6.41b	207.89 \pm 38.92a
0.025	6.91 \pm 0.30b	43.08 \pm 5.27a	26.55 \pm 0.29a	84.50 \pm 6.88a	177.11 \pm 38.94a
0.05	6.72 \pm 0.27a	41.15 \pm 6.19a	27.87 \pm 1.08a	78.87 \pm 4.48a	213.44 \pm 30.98a
p-valor	0.0321	0.3182	0.4796	0.0007	0.0511
Dosis consorcio (mg/L)	Calcio (ppm)	Zinc (ppm)	Magnesio (ppm)	Sulfato (ppm)	
0	34.67 \pm 7.84a	0.07 \pm 0.01b	10.28 \pm 0.57a	14.11 \pm 1.29a	
0.025	32.44 \pm 6.98a	0.39 \pm 0.10a	11.06 \pm 0.41a	17.22 \pm 3.13a	
0.05	25.56 \pm 4.13a	0.07 \pm 0.01b	10 \pm 0.01a	14.22 \pm 1.71a	
p-valor	0.0513	<0.0001	0.1219	0.2336	

Tabla 15
Promedio \pm error estándar de la composición química del biol resultante según el tipo de sustrato

Sustrato	pH	Potasio (ppm)	Nitratos (ppm)	Amonio (ppm)	Fosfato (ppm)
Microalga	7.99 \pm 0.06a	45.47 \pm 1.97b	27.67 \pm 1.33ab	99.67 \pm 1.7b	66.11 \pm 5.94a
Microalga + Excretas	6.28 \pm 0.06a	61.50 \pm 0.71a	25.37 \pm 1.17a	96.63 \pm 8.1b	303.44 \pm 7.29c
Excretas	6.20 \pm 0.04b	21.23 \pm 0.92c	29.97 \pm 1.02b	70.49 \pm 3.96a	228.89 \pm 17.77b
p-valor	<0.0001	<0.0001	0.0410	0.0001	<0.0001
Sustrato	Calcio (ppm)	Zinc (ppm)	Magnesio (ppm)	Sulfato (ppm)	
Microalga	51.78 \pm 2.66c	0.07 \pm 0.01b	11.00 \pm 0.38b	20.89 \pm 1.36c	
Microalga + Excretas	30.89 \pm 3.58b	0.34 \pm 0.11a	10.72 \pm 0.49ab	15.67 \pm 1.76b	
Excretas	10.00 \pm 2.00a	0.13 \pm 0.05b	9.61 \pm 0.20a	9.00 \pm 1.15a	
p-valor	<0.0001	0.0005	0.0288	<0.0001	

Análisis de las características químicas del biosol: una vez que se ha realizado un proceso de digestión se presentan cambios en la composición química de la materia orgánica empleada. Es así que en este estudio se pudo evidenciar reducciones

significativas de las características químicas de los sustratos empleados, las cuales se muestran en las tablas 16, 17 y 18.

Tabla 16
Promedio \pm error estándar de la composición química del biosol resultante según el tratamiento

Tratamientos	%Nitrógeno	%Proteína	%Carbono	%Grasa
1(control)	0.86 \pm 0.04a	5.38 \pm 0.25a	12.12 \pm 0.47abcd	16.37 \pm 0.64ab
2	1.83 \pm 0.44bc	11.42 \pm 2.76bc	14.38 \pm 0.64bcd	9.89 \pm 6.08a
3	1.85 \pm 0.07bc	11.56 \pm 0.44bc	15.45 \pm 0.22d	15.51 \pm 1.37ab
4(control)	0.82 \pm 0.06a	5.10 \pm 0.37a	15.44 \pm 1.27cd	33.78 \pm 1.43c
5	0.90 \pm 0.06ab	5.62 \pm 0.38ab	12.41 \pm 0.32abcd	30.20 \pm 2.34c
6	2.52 \pm 0.26ab	7.47 \pm 0.48ab	10.61 \pm 1.15abc	27.07 \pm 1.87c
7(control)	2.52 \pm 0.26c	15.75 \pm 1.65c	9.10 \pm 2.16a	11.41 \pm 3.14a
8	2.53 \pm 0.21c	15.79 \pm .34c	9.63 \pm 0.30ab	14.66 \pm 1.81ab
9	2.23 \pm 0.05c	13.95 \pm 0.35c	10.53 \pm 0.34ab	12.62 \pm 1.99a
p-valor	<0.0001	<0.0001	0.0006	<0.0001
Tratamientos	%Ceniza	%Fibra	gSV/Kg	%Humedad
1(control)	20.89 \pm 0.81abcd	0.00 \pm 0.00c	791.07 \pm 8.05abcd	77.91 \pm 3.15cd
2	24.80 \pm 1.10bcd	0.00 \pm 0.00c	752.05 \pm 11.03abc	85.50 \pm 8.00d
3	26.64 \pm 0.38d	0.00 \pm 0.00c	733.66 \pm 3.84a	84.02 \pm 5.22d
4(control)	26.61 \pm 2.20cd	6.23 \pm 1.07b	733.87 \pm 21.96ab	51.96 \pm 3.58b
5	21.40 \pm 0.55abcd	8.78 \pm 0.43ab	785.98 \pm 5.47abcd	50.23 \pm 0.88b
6	18.29 \pm .98abc	6.10 \pm 1.06b	817.15 \pm 19.79bcd	58.82 \pm 2.37bc
7(control)	15.68 \pm 3.72a	11.79 \pm 2.31a	843.16 \pm 37.21d	42.86 \pm 3.89ab
8	16.60 \pm 0.52ab	9.21 \pm 0.38ab	834.05 \pm 5.24cd	29.94 \pm 1.01a
9	18.15 \pm 0.60ab	6.80 \pm 0.73b	818.48 \pm 5.94cd	27.59 \pm 1.12a
p-valor	0.0006	<0.0001	0.0006	<0.0001

Tabla 17
Promedio \pm error estándar de la composición química del biosol resultante según la dosis de consorcio bacteriano

Dosis consorcio (mg/L)	%Nitrógeno	%Proteína	%Carbono	%Grasa
0	1.40 \pm 0.29a	8.74 \pm 1.82a	12.22 \pm 1.17a	20.52 \pm 3.54a
0.025	1.75 \pm 0.28a	10.94 \pm 1.72a	12.14 \pm 0.72b	18.25 \pm 3.63a
0.05	1.76 \pm 0.15a	10.99 \pm 0.97a	12.19 \pm 0.89b	18.40 \pm 2.38a
p-valor	0.1197	0.1183	0.9970	0.5581

CONTINÚA



Dosis consorcio (mg/L)	%Ceniza	%Fibra	gSV/Kg	%Humedad
0	21.06±2.03a	6.01±1.85a	789.37±20.25a	57.58±5.54a
0.025	20.93±1.25a	6.00±1.51a	790.69±12.51a	55.22±8.45a
0.05	21.02±1.53a	4.30±1.14a	789.76±15.28a	56.81±8.33a
p-valor	0.9972	0.1281	0.9971	0.8199

Tabla 18
Promedio ± error estándar de la composición química del biosol resultante según el tipo sustrato

Sustrato	%Nitrógeno	%Proteína	%Carbono	%Grasa
Microalga	1.51±0.21b	9.45±1.30b	13.98±0.54b	13.92±2.07a
Microalga+ Excretas	0.97± 0.07a	6.06±0.41a	12.82± 0.87b	30.35±1.36b
Excretas	2.43± 0.11c	15.16±0.69c	9.75±0.67a	12.90±1.28a
p-valor	<0.0001	<0.0001	0.0016	<0.0001

Sustrato	%Ceniza	%Fibra	gSV/Kg	%Humedad
Microalga	24.11±0.94b	0.00±0.00b	758.93±9.40a	82.48±3.13c
Microalg+ Excretas	22.10±1.49b	9.27±1.01a	779.00±14.93a	53.67±1.82b
Excretas	16.81±1.16a	7.04±0.63a	831.89±11.56b	33.46±2.66a
p-valor	0.0016	<0.0001	0.0016	<0.0001

Porcentaje de reducción de los componentes químicos: todos los tratamientos presentaron porcentajes de reducción significativos ($p < 0.05$), para cada una de las características químicas evaluadas, con excepción del contenido de grasa, en cual se evidenció un aumento para los tratamientos 7, 8 y 9 (figura 22); y para el contenido de ceniza, que resultó ser mayor para los tratamientos 1, 2 y 3 (figura 23).

Por el contrario, para el caso del nitrógeno el menor porcentaje de reducción se observó en el tratamiento 8, con una media de 24.76 ± 2.98 %, seguido de los tratamientos 7 y 9 con medias de 40.52 ± 3.89 %, 37.60 ± 1.71 %, respectivamente (figura 20). Y en el caso del carbono y la fibra, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, todos los tratamientos presentaron reducción, siendo el

mayor valor el del tratamiento 6, en ambos casos, con una media de 72.66 ± 2.71 % para carbono (figura 21) y 63.93 ± 6.35 % para fibra (figura 24).

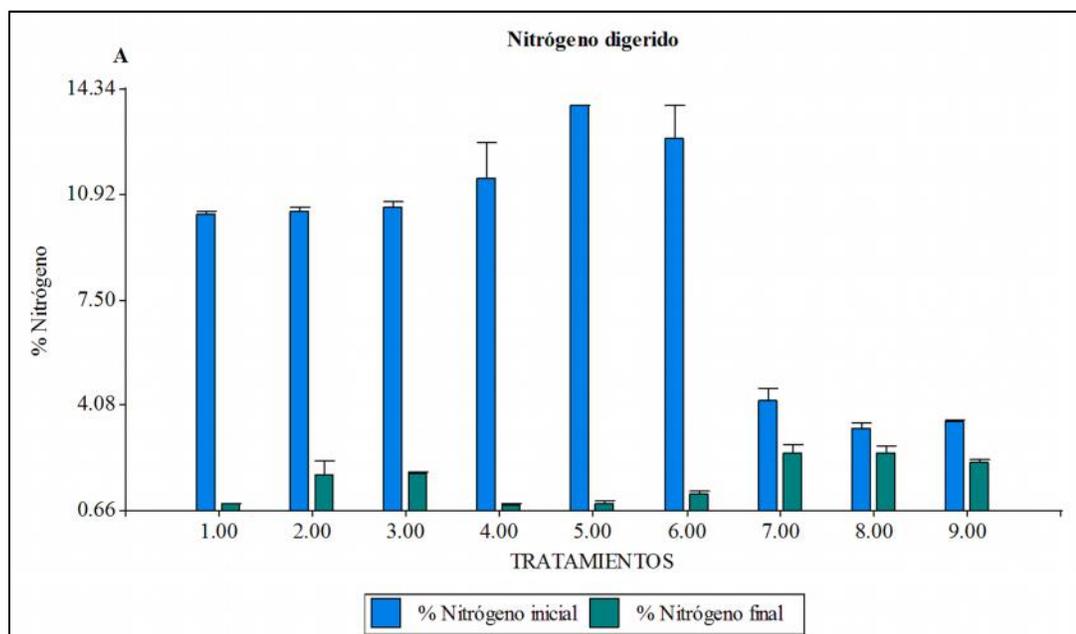


Figura 20 Promedio \pm error estándar del contenido de nitrógeno presente por tratamiento

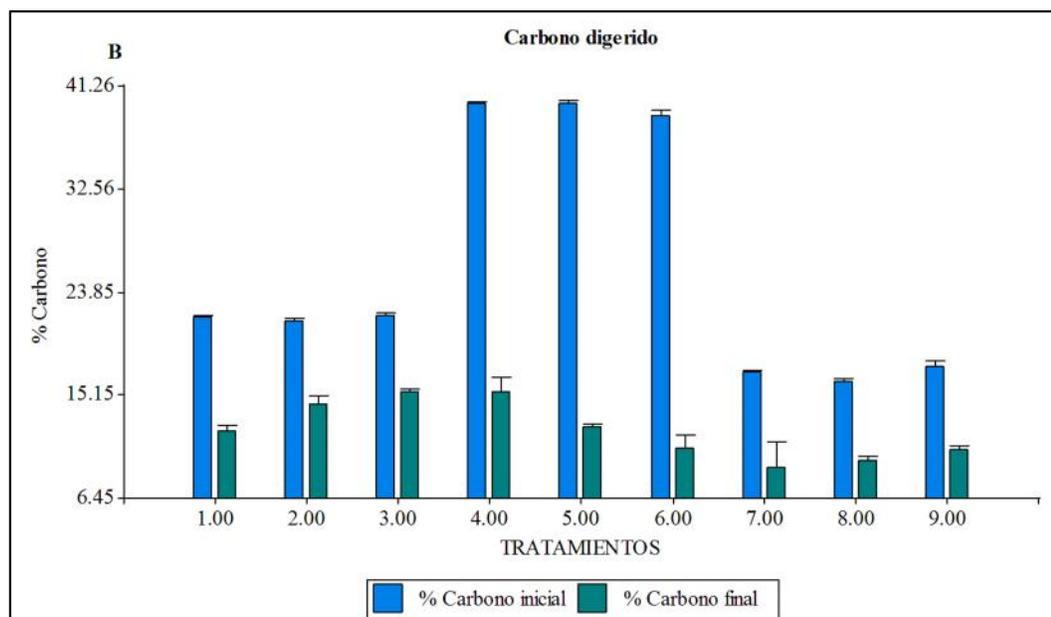


Figura 21 Promedio \pm error estándar del contenido de carbono presente por tratamiento

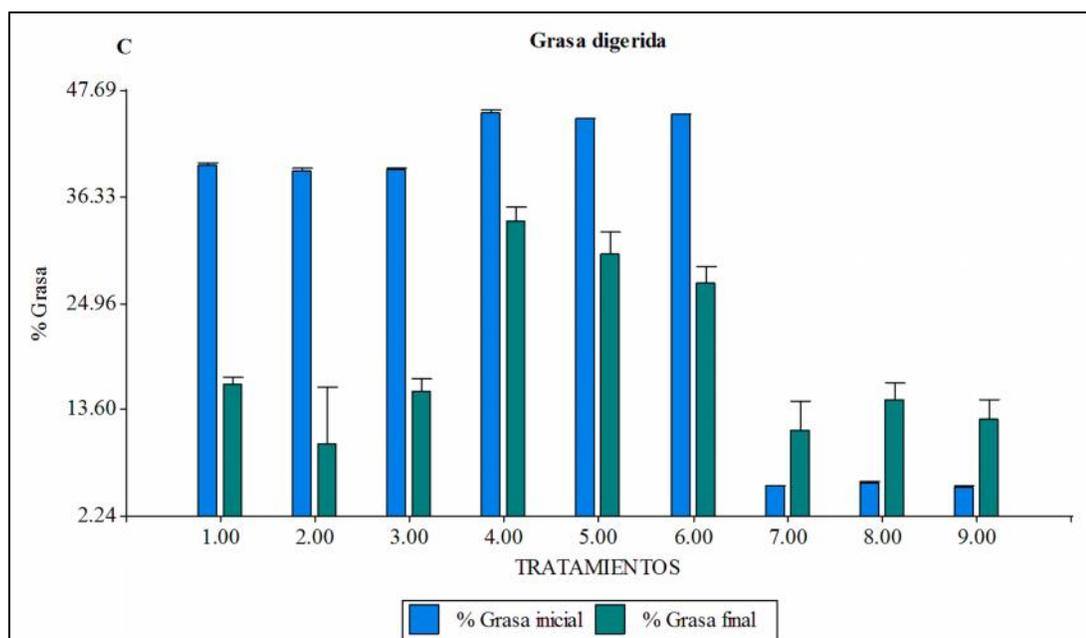


Figura 22 Promedio \pm error estándar del contenido de grasa presente por tratamiento

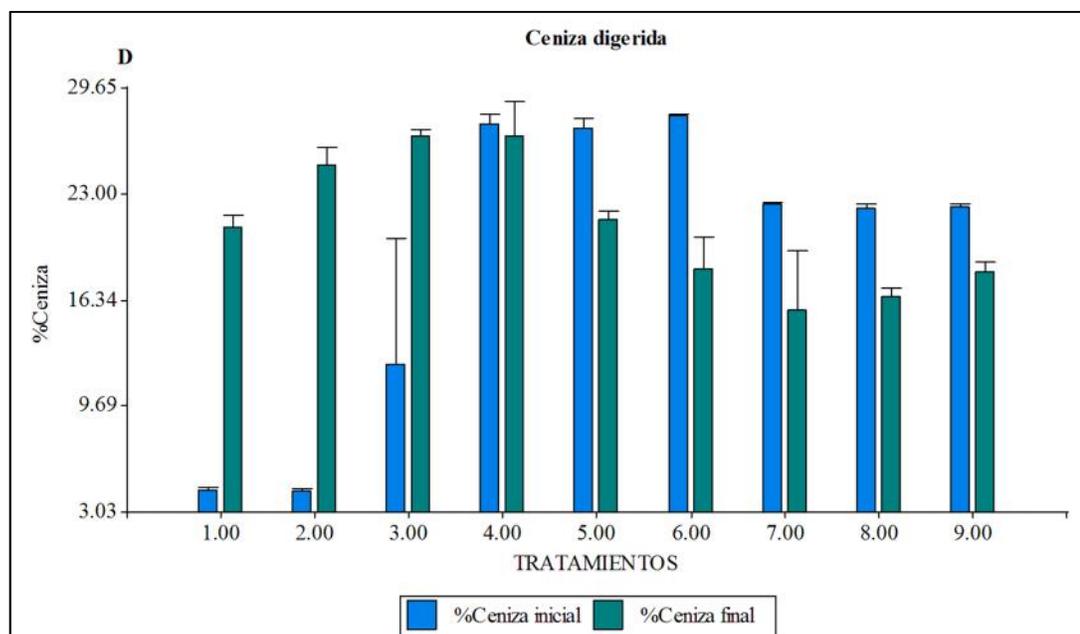


Figura 23 Promedio \pm error estándar del contenido de ceniza presente por tratamiento.

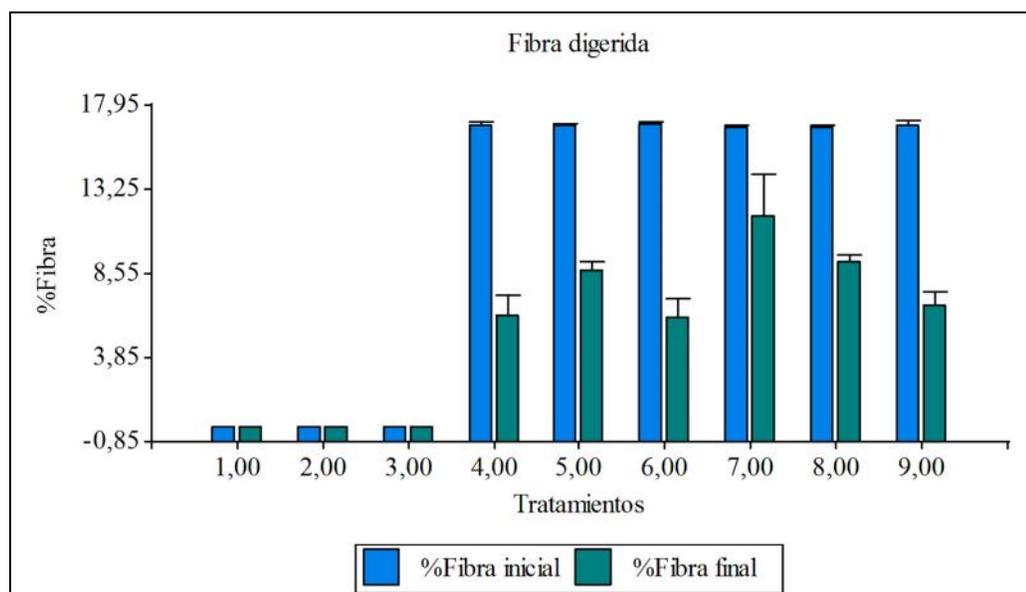


Figura 24 Promedio \pm error estándar del contenido de fibra presente por tratamiento

Demanda Química de Oxígeno: (DQO), esta variable permite analizar la susceptibilidad de la materia orgánica, para ser oxidada por una sustancia química, en mililitros de oxígeno por litro (De la Torre Chauvin, 2009).

En base a esto, mediante el método de dicromato de potasio, se determinaron las concentraciones de DQO para cada uno de los tratamientos, encontrándose diferencias significativas en los valores iniciales ($p < 0.0001$) y finales ($p < 0.0001$), como se puede evidenciar en la tabla 19.

Para los tratamientos 7, 8 y 9, correspondientes al sustrato heces, no se encontraron diferencias significativas, sin embargo, presentaron un menor DQO inicial en comparación con los otros tratamientos, con una media de 4047 ± 177.91 ppm. Contrario a ello en el DQO final el tratamiento 7 fue el que presentó la menor concentración en comparación con los otros tratamientos, con un valor de 2067.00 ± 194.01 ppm.

Tabla 19
Promedio \pm error estándar de la demanda química de oxígeno inicial y final
Media \pm ee

Tratamientos	DQO inicial (ml _{oxígeno} /L)	DQO final (ml _{oxígeno} /L)
1(control)	12463.50 \pm 466.27 c	4378.17 \pm 293.80 b
2	11851.83 \pm 180.84 c	4936.83 \pm 56.30 b
3	12733.50 \pm 481.43 c	4970.17 \pm 4.41 b
4(control)	9420.17 \pm 190.99 b	9143.50 \pm 208.11 d
5	11850.17 \pm 496.68 c	4180.17 \pm 136.94 b
6	11966.83 \pm 671.02 c	6913.50 \pm 410.01 c
7(control)	3635.17 \pm 329.20 a	2067.00 \pm 194.01 a
8	4055.17 \pm 273.87 a	3911.83 \pm 277.40 b
9	4453.50 \pm 170.22 a	4306.83 \pm 188.89 b
p-valor	<0.0001	<0.0001

Porcentaje de reducción del DQO: se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.0001$). Sin embargo, los tratamientos 8, 9 y 4 fueron estadísticamente similares, con una media de $3.29 \pm 0.23\%$, que representó el menor porcentaje de reducción de DQO, como se muestra en la figura 25.

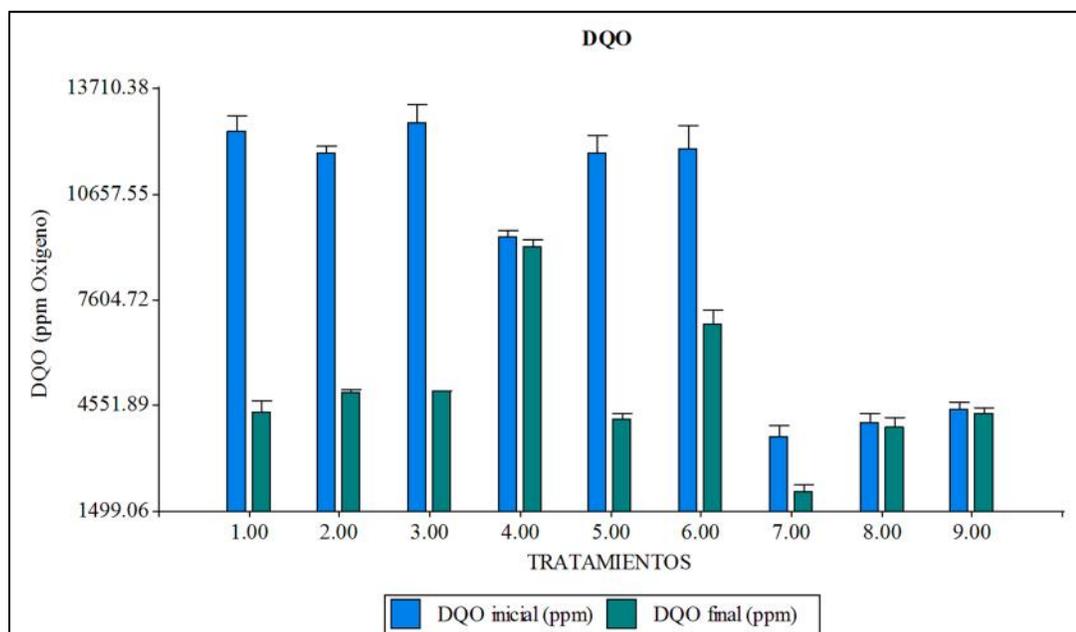


Figura 25 Promedio \pm error estándar de la demanda química de oxígeno por tratamiento

Demanda Bioquímica de Oxígeno: (DBO₅), esta variable se interpreta como la cantidad de oxígeno necesario para que la materia orgánica sea oxidada por los microorganismos presentes (De la Torre Chauvin, 2009).

En base a esto se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos tanto para DBO₅ inicial ($p < 0.0001$) como final ($p < 0.0001$), siendo los tratamientos 7 y 8 los que menor concentración inicial y final presentaron (tabla 20).

Tabla 20
Promedio \pm error estándar de la demanda bioquímica de oxígeno inicial y final

Tratamientos	Media \pm ee	
	DBO ₅ inicial (ml _{oxígeno} /L)	DBO ₅ final (ml _{oxígeno} /L)
1	1166.67 \pm 33.33 e	616.67 \pm 16.67 b
2	1716.67 \pm 16.67 c	950.00 \pm 0.00 a
3	2850.00 \pm 0.00 a	950.00 \pm 0.00 a
4	1933.33 \pm 16.67 b	1066.67 \pm 33.33 a
5	2750.00 \pm 0.00 a	1050.00 \pm 0.00 a
6	1433.33 \pm 16.67 d	666.67 \pm 33.33 b
7	716.67 \pm 33.33 g	400.00 \pm 50.00 c
8	900.00 \pm 50.00 f	50.00 \pm 28.87 d
9	1600.00 \pm 76.38 cd	550.00 \pm 0.00 b
p-valor	<0.0001	<0.0001

Porcentaje de reducción del DBO₅: todos los tratamientos fueron estadísticamente similares con respecto al porcentaje de reducción del DBO₅, con una media de 53.53 ± 2.03 %; con excepción del tratamiento 8, que fue el que mayor porcentaje presentó (94.41 ± 3.06), como se muestra en la figura 26.

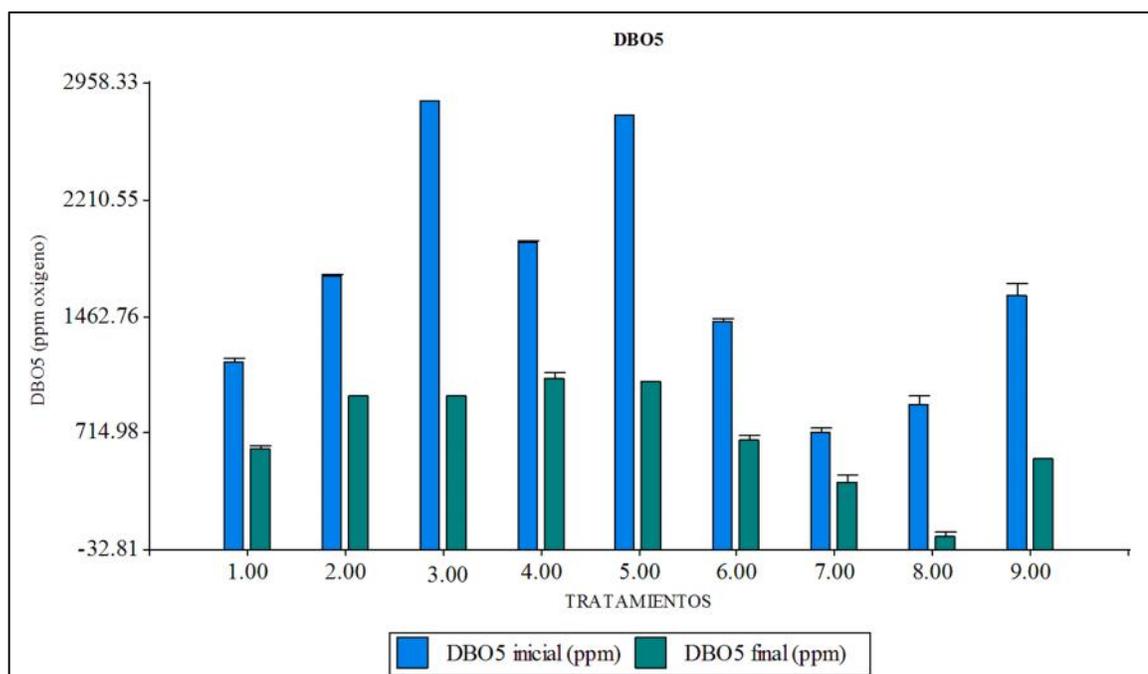


Figura 26 Promedio \pm error estándar de la demanda bioquímica de oxígeno por tratamiento

4.1.4 Análisis de regresión

A continuación, se detallan las correlaciones encontradas entre las variables, de acuerdo al coeficiente de Pearson ($p < 0.005$).

Producción de biogás: para la producción de biogás se encontró una correlación negativa con el contenido de sólidos volátiles del biosol, es decir, a menor concentración de sólidos volátiles en el biosol resultante, mayor va a ser el volumen de biogás producido (figura 27).

Para los tratamientos con las dosis de consorcio bacteriano de 0.00 mg/L y 0.025 mg/L el estadístico R^2 indica que únicamente 49% y 5% de los datos se ajustan al modelo de regresión, con un coeficiente de correlación de 0.56 y 0.09 respectivamente. Mientras que para los tratamientos con la dosis de 0.05 mg/L, el 74% de los datos se ajustaron al modelo de regresión, con un coeficiente de correlación de 0.97.

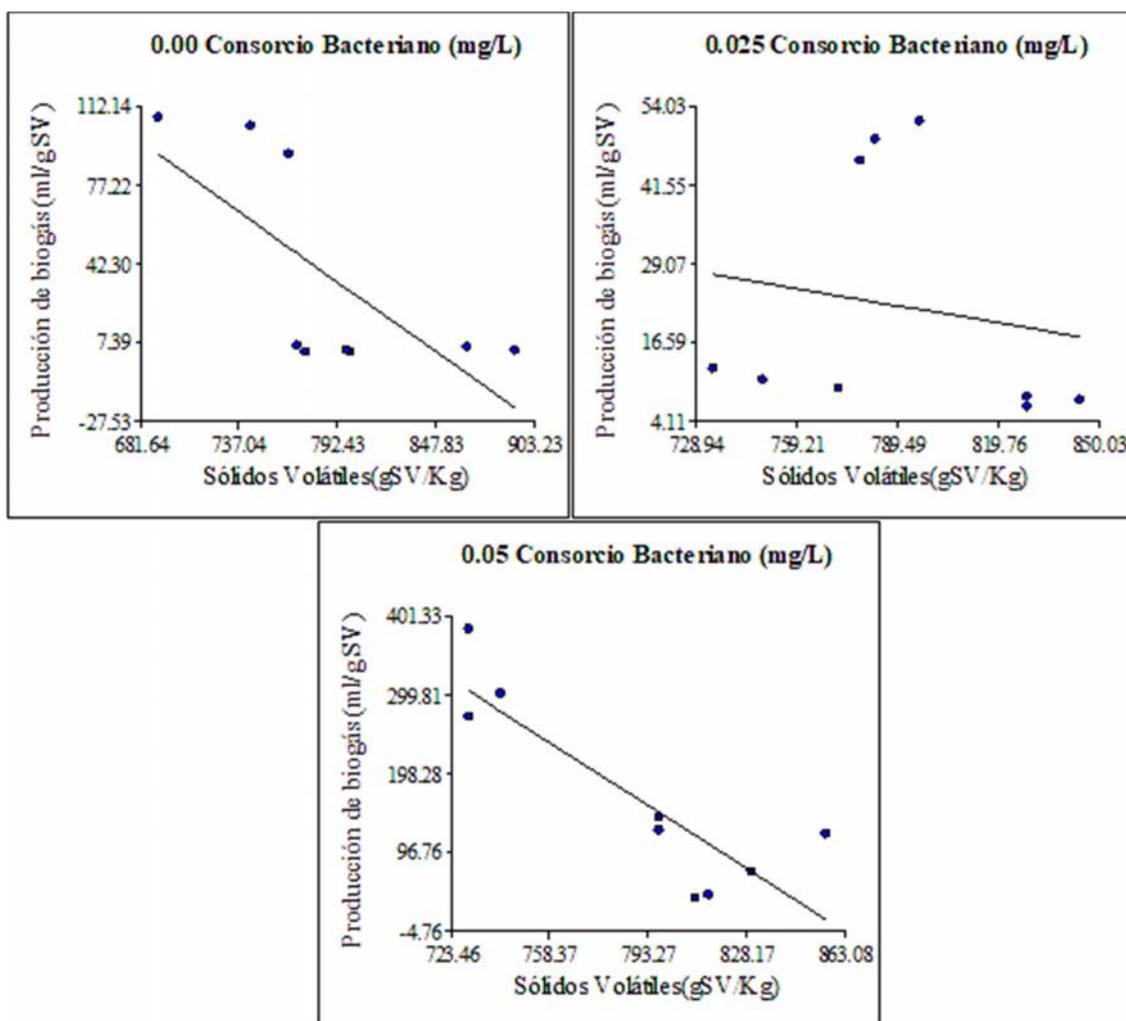


Figura 27 Regresión del contenido de sólidos volátiles sobre la producción de biogás, de acuerdo a la dosis de consorcio bacteriano.

Características químicas del biol y biosol: las correlaciones existentes entre las características químicas de los productos resultantes del proceso de biodigestión se detallan en la tabla 21. Siendo las más importantes, las correlaciones positivas entre el volumen de biogás y el porcentaje de ceniza, DBO y DQO, ya que, estas indican que a mayor cantidad de estas variables mayor será la producción de biogás debido a la presencia de materia orgánica. Además, las correlaciones positivas del pH con las concentraciones de amonio, calcio, azufre y cenizas, muestran que los mismos afectan directamente a los valores de pH y por ende a la actividad de los microorganismos que participan en el proceso de digestión.

Tabla 21
Coefficientes de correlación de Pearson para las características químicas del biol y biosol

	NH ₄	P	Ca	Mg	S	N	C	Grs	Cen	SV	DBO	DQO
V	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.47*	-0.47*	0.42*	0.33*
pH	0.16*	-0.93*	0.75*	ns	0.57*	ns	ns	-0.42*	0.41*	-0.41*	ns	ns
NH₄		ns	0.67*	ns	0.66*	-0.51*	0.7*	ns	0.7*	-0.7*	0.75*	0.54*
P			-0.53*	ns	ns	ns	ns	0.59*	ns	ns	ns	ns
Ca				0.62*	0.84*	-0.6*	0.64*	ns	0.64*	-0.64*	0.68	ns
Mg					0.43*	-0.57*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S						-0.4*	0.69*	ns	0.69	-0.69*	0.84*	ns
N							-0.47*	-0.7*	-0.47*	0.47*	-0.62*	-0.58*
C								ns	1*	-1*	0.71*	0.48*
Grs									ns	ns	0.45*	0.64*
Cen										-1*	0.71*	0.48*
SV											-0.71*	-0.48*
DBO												0.51*

V, volumen de biogás; pH, potencial de hidrógeno; NH₄, amonio; P, fosfatos; Ca, calcio; Mg, magnesio; S, azufre, N, nitrógeno; C, carbono; Grs, grasa; Cen, ceniza; SV, sólidos volátiles; DBO, demanda biológica de oxígeno; DQO, demanda química de oxígeno.

*Significativo (p<0.005)

ns no significativo

4.1.5 Análisis económico

A continuación, se presenta un análisis de los costos presentes en el estudio para cada tratamiento, proyectado para una producción de biogás de 40 m³/día, planteados para un tiempo de retención de 30 días.

Tabla 22
Inversiones de activos fijos para la producción de biogás, biol y biosol

Inversión de activos fijos			
Descripción	Precio (\$)	Vida útil (años)	Depreciación
Infraestructura	3.200	25	128
Equipos	2.500	20	125
TOTAL			253

En la tabla 23 se muestran los costos operativos para cada tratamiento para una producción de 30 días.

Tabla 23
Costos operativos de cada tratamiento, para la producción de biogás, bio y biosol durante 30 días

Tratamientos	Costos operativos								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
COSTOS FIJOS									
Depreciación	253	253	253	253	253	253	253	253	253
Mano de obra	600	600	600	600	600	600	600	600	600
Arriendo	180	180	180	180	180	180	180	180	180
Luz	15.50	15.50	15.50	15.50	15.50	15.50	15.50	15.50	15.50
COSTOS VARIABLES									
Insumos	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Reactivos	55.80	55.80	55.80	55.80	55.80	55.80	55.80	55.80	55.80
Inóculo	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	0.00	0.00	0.00
Heces	0.00	0.00	0.00	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
Consortio	0.00	1.60	3.20	0.00	1.60	3.20	0.00	1.60	3.20
Frascos	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Transporte	200	200	200	200	200	200	200	200	200
Varios	250	250	250	250	250	250	250	250	250
TOTAL	1696.8	1698.4	1700	1698	1699.6	1701.2	1695.5	1697.1	1698.7

Los ingresos percibidos luego de 30 días de producción se muestran en la tabla 24, realizando la venta del biogás y los fertilizantes en forma de biol y biosol.

Tabla 24
Ingresos de cada tratamiento, para la producción de biogás, biol y biosol durante 30 días

T	Ingresos									Total
	Producción			Precio unitario			Ingresos			
	Biogás (m3)	Biol (m3)	Biosol (Kg)	Biogás (\$)	Biol (\$)	Biosol (\$)	Biogás (\$)	Biol (\$)	Biosol (\$)	
1	1.2	60.20	0.82	0.10	0.64	0.12	0.12	38.53	0.10	38.74
2	4.09	204.47	2.79	0.10	0.64	0.12	0.41	130.86	0.34	131.61
3	120	6000	82	0.10	0.64	0.12	12.00	3840	9.84	3861.84
4	68.43	3421.37	46.76	0.10	0.64	0.12	6.84	2189.68	5.61	2202.13
5	33.17	1658.34	22.66	0.10	0.64	0.12	3.32	1061.34	2.72	1067.38
6	87.75	4387.46	59.96	0.10	0.64	0.12	8.78	2807.97	7.20	2823.94
7	1.55	77.54	1.06	0.10	0.64	0.12	0.16	49.62	0.13	49.90
8	2.21	110.58	1.51	0.10	0.64	0.12	0.22	70.77	0.18	71.17
9	15.26	763.25	10.43	0.10	0.64	0.12	1.53	488.48	1.25	491.26

A continuación, se muestra el flujo de caja en donde se puede observar los beneficios netos obtenidos en cada tratamiento. Se determinó que el mayor beneficio se obtiene con

los tratamientos 3,4 y 6 con valores de \$2161.84, \$504.13 y \$122.74 respectivamente, como se muestra en la tabla 25.

Tabla 25
Flujo de caja de cada tratamiento, para la producción de biogás, biol y biosol durante 30 días

Tratamiento	Flujo de caja		
	Ingresos	Costos operativos	Beneficio neto (\$)
1	38.74	1696.8	-1658.06
2	131.61	1698.4	-1566.79
3	3861.84	1700	2161.84
4	2202.13	1698	504.13
5	1067.38	1699.6	-632.22
6	2823.94	1701.2	1122.74
7	49.90	1695.5	-1645.60
8	71.17	1697.1	-1625.93
9	491.26	1698.7	-1207.44

4.2 Discusión

4.2.1 Análisis proximal de la biomasa algal y excretas porcinas

El uso de biodigestores es una tecnología que se ha usado desde hace varios años, sin embargo, sus procesos han tenido diferentes problemas principalmente por la composición de los materiales empleados para alimentar los digestores. Por esta razón se han desarrollado algunos estudios similares en los últimos años, en donde se ha buscado mejorar los niveles de productividad de dichos sistemas mediante la aplicación de consorcios bacterianos y el uso de materiales orgánicos alternativos.

Uno de los principales pasos que se deben realizar para la implementación de un sistema de digestión anaerobia es el análisis de los sustratos a ser empleados, ya que, de acuerdo con la FAO (2011), las características bioquímicas de dichos materiales deben presentar fuentes de nutrientes en proporciones adecuadas para garantizar un buen desarrollo de los microorganismos dentro del sistema.

Varnero y Arellano (1990), reportan que los contenidos de grasa, proteína, ceniza y humedad en excretas porcinas pueden variar según el tipo de alimentación de los animales, pudiendo ser 11.5%, 10.95%, 23.67% y 50% respectivamente; valores similares a los encontrados en este estudio (5.54 %grasa, 23.26 %proteína, 22.23%ceniza y

43.68% humedad), con algunas variaciones que pueden deberse como ya se mencionó al tipo de alimentación.

Por otro lado, Becker (2004) menciona en cuanto a la composición de la microalga *Chlorella vulgaris*, que esta posee porcentajes de proteína y grasa de 51-58% y 14-22% respectivamente, los cuales son levemente inferiores a los valores obtenidos en este estudio para *Chlorella* sp. biotipo 1 que fueron de 64.95% de proteína y 39.35% de grasa.

Según Fermoso *et al.* (2016), el contenido de sólidos volátiles está relacionado directamente con la producción de biogás, reportando valores de 898 gSV/Kg y una relación C/N de 4.78 para la microalga *Chlorella Sorokiniana*, los cual se confirma con este estudio, en donde se encontró un contenido de sólidos volátiles para *Chlorella* sp. de 929.84 gSV/Kg y una relación C/N de 2.09, características que favorecieron la producción de biogás para los tratamientos con microalga.

4.2.2 Producción de biogás

Varios estudios realizados han demostrado que la codigestión de desechos de origen animal y vegetal favorece la producción de biogás, ya que, al realizar una mezcla balanceada de los mismos, se mejora la relación carbono/nitrógeno y se disminuyen las cantidades de oligoelementos en los productos resultantes de la digestión (Rivas, Faith, & Guillén, 2010).

En este estudio se pudo evidenciar lo mencionado anteriormente, ya que, al realizar una mezcla de la microalga con las excretas los rendimientos de biogás mejoraron en relación con los biodigestores que solo contenían excretas. Estos resultados se corroboran también con lo mencionado por Rodríguez *et al.* (1997), quienes realizaron una investigación en la cual se analizó la productividad de una mezcla de estiércol con material vegetal, encontrando que los digestores cargados con la mezcla presentaron mayores rendimientos de biogás que los que contenían estiércol.

Por otro lado, autores como Frigon, *et al.* (2013) y Mussgnug *et al.* (2010), mencionan que las microalgas del género *Chlorella* presentan rendimientos de biogás de entre 218 a 361 ml/gSV, resultados similares a los obtenidos en este estudio para los tratamientos que solo estuvieron constituidos por *Chlorella* sp. Biotipo 1, como es el caso del tratamiento 3 que tuvo una media de 319.17 ± 33.63 ml/gSV.

De acuerdo con Demirel y Scherer (2008), la naturaleza de los materiales empleados influye en el desarrollo del proceso fermentativo, razón por la cual es muy importante tomar en cuenta las características químicas de los mismos.

Además del tipo de sustrato que se emplee para la obtención de biogás, la inoculación de microorganismos para mejorar la eficiencia de estos sistemas ha sido una de las alternativas que más se ha estudiado en los últimos años, ya que, se ha determinado que la aplicación de pequeñas cantidades de bacterias acelera el proceso de digestión, por su influencia durante la etapa de hidrólisis (Miah, Tada, Yang, & Sawayama, 2005).

Es así que algunos investigadores como Tuerson *et al.* (2013), han evaluado el efecto de la aplicación de consorcios bacterianos en procesos de digestión anaerobia para mejorar la producción de biogás, obteniendo incrementos de entre el 16 y el 77% del biogás total en comparación con el control.

Lo mencionado anteriormente apoya los resultados de este estudio, tras el incremento significativo de la producción de biogás de un 78% en los tratamientos donde se inoculó el consorcio bacteriano del género *Bacillus*, en dosis de 0.05 mg/L.

4.2.3 Características químicas del biol

Una vez que se da por terminado el proceso de fermentación anaerobio, se obtienen como resultado productos orgánicos que pueden ser empleados como fertilizantes debido a sus características químicas. Estos productos se dividen principalmente en dos componentes, uno líquido conocido como biol y otro sólido denominado biosol (Aparcana, 2008).

Como ya se mencionó anteriormente el biol constituye la parte líquida resultante del proceso fermentativo y se estima que constituye aproximadamente el 90% del material con el que se alimentan los biodigestores, variando de acuerdo al tipo de sustrato empleado (Aparcana, 2008).

El principal uso que se le da a este efluente líquido denominado biol es el de fertilizante, razón por la cual es muy importante conocer la composición química del mismo.

En cuanto a esto, autores como Ruiz (1966) y Trinidad (2007), mencionan que un buen biol debe tener un pH óptimo de 6.6 a 7.6, debido a que dentro de este rango se favorece la absorción de nutrientes para las plantas, principalmente el nitrógeno en forma de amonio o nitratos. Todo esto muestra que dichos rangos se ajustan perfectamente a los valores

medidos en el biol resultante de este estudio, para casi todos los tratamientos, haciéndolo apto para ser aplicado como fertilizante.

Además Rey (2014), menciona que los niveles de amonio presentes en bioles resultantes de procesos de digestión en donde se emplearon microalgas, por lo general son altos debido a que estas captan el nitrógeno del medio en el que se desarrollan y una vez que entran en un proceso de digestión, este se libera aumentando así su concentración en el producto final. Razón por la cual se explicarían las altas concentraciones de amonio en el biol procedente de los tratamientos en los que se inoculó la microalga *Chlorella* sp.

Por otro lado Pontón (2010), compara en su investigación la concentración de algunos nutrientes como potasio, fósforo, calcio, magnesio y zinc, presentes en el biol resultante de un proceso de biodigestión con las concentraciones de los mismos nutrientes en excretas de origen animal sin tratar. En donde es evidente el gran aporte nutricional que constituye el biol en comparación con la aplicación directa de las excretas, reportándose valores de 3141.88 ppm K, 130 ppm P, 173.94 ppm Ca, 361.69 ppm Mg y 4.29 ppm de Zn. Valores que no difieren demasiado de los obtenidos en esta investigación y que demuestran que el biol obtenido posee un gran potencial fertilizante.

4.2.4 Características químicas de biosol

El biosol se considera como la parte sólida resultante del proceso de biodigestión y constituye alrededor del 10% del material inicial (Aparcana, 2008).

La composición química del biosol varía de acuerdo al origen del sustrato y existen varias investigaciones en donde se han analizado los cambios de cada una de ellas. Es así que Rivas (2010), menciona que al adicionar en el proceso de digestión, materiales ricos en grasas vegetales, la productividad del biogás aumenta en un 2400%, razón por la cual se podría evidenciar que en este estudio los tratamientos con *Chlorella* sp. Presentaron un mayor volumen de gas y en los análisis finales, los porcentajes de grasa se redujeron notablemente en comparación con los tratamientos que contenían grasas de origen animal (excretas).

Según Rey (2014), las concentraciones de DQO y DBO₅ de los efluentes de biodigestores con microalgas, son significativamente menores a los de los afluentes, debido a la eliminación de la carga orgánica de los materiales empleados, obteniéndose porcentajes de remoción de entre 33 y 41% para sistemas simples y en codigestión

respectivamente. Porcentajes que se asimilan a los obtenidos en esta investigación en donde los tratamientos que no contenían microalgas presentaron los menores porcentajes de remoción de DQO ($3.29 \pm 0.23\%$).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

La producción de biogás obtenida al aplicar una dosis de consorcio bacteriano de 0.05 g/L en codigestión con la microalga *Chlorella* sp. y excretas porcinas (T6: 128.91 ± 7.14 ml/gSV), no fue la mejor, sin embargo, superó a los tratamientos en los cuales se empleó solamente excretas porcinas (T7, 8 y 9: 20.81 ± 12.01 ml/gSV).

El uso de la microalga *Chlorella* sp. y la inoculación de una dosis de 0.05 mg/L (T3) en procesos de digestión anaerobia, aumentó la producción de biogás, llegando a obtener 319.17 ± 33.63 ml de biogás/g SV, en un período de 30 días.

La inoculación de consorcios bacterianos del género *Bacillus*, demostró mejorar la eficiencia de la producción de biogás a partir de materiales con altos contenidos lignocelulósicos y hemicelulósicos, como son las microalgas y el estiércol porcino.

El tipo de sustrato empleado, en procesos de fermentación anaerobia, influyó directamente sobre las características químicas del biol y biosol resultante, proporcionando en todos los casos, una fuente estable y adecuada de nutrientes para su uso como fertilizante.

Los procesos de digestión anaerobia disminuyen la demanda química y biológica de oxígeno (DQO y DBO), de residuos con altos contenidos de materia orgánica, como *Chlorella* sp. y excretas porcinas, disminuyendo de esta manera su potencial contaminante.

En base al análisis económico, se determinó que los procesos de degradación anaerobia con *Chlorella* sp. y codigestión de *Chlorella* sp. con excretas porcinas, constituyen una alternativa útil para el tratamiento de residuos orgánicos y la generación de energía y fertilizantes a bajo costo; siempre y cuando se inocule una dosis de consorcio bacteriano de 0.05 mg/L.

5.2 Recomendaciones

Para garantizar el buen funcionamiento de un sistema de digestión anaerobia, se recomienda tener en cuenta la relación C/N, ya que, de ello dependerá la actividad bacteriana dentro del proceso.

Se recomienda controlar constantemente los niveles de temperatura del sistema, ya que, temperaturas por debajo de los 12°C podrían detener el proceso, disminuyendo la producción de biogás; y temperaturas por encima de los 45 °C podrían provocar una descomposición acelerada dando como resultado bioabonos inestables.

Se recomienda realizar un proceso previo de desproteinización de los sustratos para aumentar el contenido de metano en el biogás resultante.

Es recomendable el uso de cultivos algales con su máxima concentración celular, para aumentar la cantidad de nutrientes disponibles para las bacterias del sistema.

5.3 Bibliografía

- Amaro, H., Guedes, A., & Malcata, F. (2011). Advances and perspectives un using microalgae to produce biodiesel. *Applied Energy*, 88(10): 3402-3410.
- Aparcana, S. (2008). Estudio sobre el Valor Fertilizante de los Productos del Proceso "Fermentación Anaeróbica" para Producción de Biogás. Lima, Perú.
- ASPE. (2010). *Primer censo Porcino*. Obtenido de Asociación de porcicultores del Ecuador: <http://www.aspe.org.ec/index.php/informacion/estadisticas/censo>
- Bayer. (2016). *Pond Plus*. Obtenido de Bayer: <http://www.sanidadanimal.bayer.com.mx/es/abc-productos/acuicultura/pond-plus/index.php>
- Becker, E. (2004). Microalgae in human and animal nutrition. En A. Richmond, *Handbook of microalgal culture* (págs. 312-351).
- Botero, R., & Preston, T. (1987). Biodigestor de bajo costo para la producción de combustible y fertilizante a partir de excretas.
- Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sust. Energ*, 14(2): 557-577.
- Buschmann, A. (2001). Impacto Ambiental de la acuicultura, el estado de la investigación en Chile y el mundo. Osorno, Osorno, Chile.
- Cendales, E. (2011). Producción de biogás mediante la codigestión anaeróbica de la mezcla de residuos cítricos y estiércol bovino para su utilización como fuente de energía renovable. Bogotá, Colombia.
- Cuervo, J. (2010). Aislamiento y caracterización de *Bacillus* sp. como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. Bogotá, Colombia.
- De la Torre Chauvin, E. (2009). Índices de calidad de agua. En E. De la Torre Chauvin, *Contaminación Hídrica y su control* (págs. 1-22). Quito.
- Demirel, B., & Scherer, P. (2008). The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: A review. *Revista Environ*, 7: 173-190.

- Departamento de Energía de los Estados Unidos. (2011). World crude oil prices. Whashington, Estados Unidos.
- FAO. (1997). *Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los recursos Hídricos*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación: <http://www.fao.org/docrep/W2598S/w2598s00.htm#Contents>
- FAO. (2002). *Agricultura mundial hacia los años 2015/2030*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación: <http://www.fao.org/docrep/004/y3557s/y3557s00.htm#TopPfPage>
- FAO. (2011). Manual de biogás. Santiago de Chile, Chile.
- Fermoso, F., Beltran, C., Jimenez, A., Fernández, M. J., Rincón, B., Borja, R., & Jeison, D. (2016). Screening of biomethane production potential from dominant microalgae. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 1-6.
- Fernández, L., Montoya, J., Oropeza, A., & Badillo, A. (2012). Producción de biocombustibles a partir de microalgas. *Ra Ximhai, Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, 101-115.
- Frigon, J., Matteau-Lebrun, F., Hamani, R., McGinn, P., O'Leary, S., & Guiot, S. (2013). Screening microalgae strains for their productivity in methane following anaerobic digestion. *Appl. Energy*, 108: 100-107.
- Fukumoto, J. (1943). "Studies on the production of bacterial amylase. I. Isolation of bacteria secreting potent amylases and their distribution". *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan (in Japanese)*, 19: 487-503.
- Garza, M., Almaguer, V., Rivera, J., & Loredó, J. (2010). Bioingeniería aplicada a una columna empacada con *Chlorella* sp. Inmovilizada para la remoción de metales pesados. *Ciencia UNAL*, 13(2): 174-177.
- INEN. (1981). *Norma INEN 543. Determinación de proteína cruda para alimentos de animales*. Obtenido de <http://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0543.1981.pdf>
- Infante, C., Angulo, E., Zárate, A., Florez, J., Barrios, F., & Zapata, C. (2012). Propagación de la microalga *Chlorella* sp., en cultivo por lote: cinética del crecimiento celular. Cartagena, Colombia.

- Jinn-Chyi, W., & His-Hua, W. (2002). Fermentation products and carbon balance of spoilage *Bacillus cereus*. *Journal of food and drug analysis*, 10(1): 5.
- Khan, J. (2011). Biodegradation of Azo Dye by Moderately Halotolerant *Bacillus megaterium* and Study of Enzyme Azoreductase Involved in Degradation. *Advanced Biotech*, 10: 21-27.
- MAGAP. (2013). Estudio de cadenas pecuarias de Ecuador. Quito, Pichincha, Ecuador.
- Mariscal, G. (2002). *Efecto del programa de alimentación sobre el contenido de nutrimentos en las excretas porcinas*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura:
<http://www.fao.org/wairdocs/lead/c6372s08.htm>
- Miah, M., Tada, C., Yang, Y., & Sawayama, S. (2005). Aerobic thermophilic bacteria enhance biogas production. *Mater Cycles Waste Manag*, 7: 48-54.
- Mussnug, J., Klassen, V., SchÜter, A., & Kruse, O. (2010). Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. *Journal Biotechnol*, 150: 51-56.
- Pachacama, L. (2016). Evaluación de la remoción de contaminantes de un efluente porcino mediante la utilización de las microalgas *Chlorella sp.* y *Synechocystis salina*, a nivel de laboratorio. Sangolquí, Pichincha, Ecuador.
- Pastrana, Y. (2012). *Aislamiento de la bacteria (B. licheniformis)*. Obtenido de Universidad de Córdoba: <http://es.scribd.com/doc/00266773/Aislamiento-de-Bacillus-Licheniformis-Revision-Bibliografica>
- Pontón, R. (2010). Diseño de un sistema para la obtención de biol mediante los residuos sólidos orgánicos generados en el cantón Joya de los Sachas. Riobamba, Chimborazo, Ecuador.
- Priest, F. (1993). Systematics and Ecology of *Bacillus*. In: Sonenshein AL, Hoch JA, Losick R, editors. *Bacillus subtilis and Other Gram-Positive Bacteria: Biochemistry, Physiology, and Molecular Genetics*. Washington D.C., Estados Unidos.
- PROYECTO JICA-CENAIM. (1997). *Manual de Técnicas para Nutrición Acuícola*. Fundación CENAIM-ESPOL.

- Ramos, L. (2014). Producción de Biogás a partir de biomasa de la microalga *Scenedesmus* sp. procedente de diferentes procesos. Madrid, España.
- Rey, L. (2014). Obtención de biogás a partir de codigestión anaerobia de microalgas y fangos de EDAR. Barcelona, España.
- Rivas, O., Faith, M., & Guillén, R. (2010). Biodigestores: factores químicos, físicos y biológicos relacionados con su productividad. *Tecnología en Marcha*, 39-46.
- Robalino, H. (2011). Evaluación de la actividad biológica y nutricional del Biol en diferentes formulaciones y la respuesta a su aplicación en cultivo de arroz (*Oryza sativa*) y maíz (*Zea mays*), en Guayas. Guayaquil, Guayas, Ecuador.
- Rodríguez, J., El Atrach, K., Rumbos, E., & Delepiani, A. (1997). Resultados experimentales sobre la producción de biogas a través de la bora y el estiércol de ganado. *Agronomía Trop*, 47(4): 441-455.
- Ruiz, J. (1966). Agricultura orgánica: una opción sustentable para el agro mexicano. Chapingo, México.
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., & Roessler, P. (1998). A look back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae.
- Stephanopoulos, G., Fischer, C., & Marcguschamer, K. (2008). Selection and optimization of microbial hosts for biofuels production. *Metabolic Engineering*, 10(6): 295-304.
- Trinidad, A. (2007). Aboons orgánicos. Texcoco, México.
- Tuerson, S., Wongwilaiwalin, S., Verawat, C., Leethochawalit, M., Nopharatana, A., Techkarnjanaruk, S., & Chaiprasert, P. (2013). Enhancement of biogas production from swine manure by lignocellulolytic microbial consortium. *Bioresource Technology*, 579-586.
- TULAS. (2015). Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce. Quito, Pichincha, Ecuador.
- Varnero, M., & Arellano, J. (1990). *Aprovechamiento racional de desechos orgánicos*. Chile: Ministerio de Agricultura (FIA).

Williams, P., & Laurens, L. (2010). Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: Review & analysis of biochemistry, energetics & economics. *Energy Environ*, 3: 554-590.