

Escuela de Posgrado

**MAESTRÍA EN CIENCIAS SOCIALES
CON MENCIÓN EN GESTIÓN AMBIENTAL Y
DESARROLLO SOSTENIBLE**

Tesis

**Aplicación de microorganismos catalíticos (MEc) y su
efecto en la generación de biogás utilizando excretas
porcinas en la Comunidad Campesina de
Lamblaspata - El Tambo - 2019**

David Ruso Giraldo Valentin

Para optar el Título Profesional de
Maestro en Ciencias Sociales con Mención en
Gestión Ambiental y Desarrollo Sostenible

Huancayo, 2019

Repositorio Institucional Continental
Tesis digital



Esta obra está bajo una Licencia "Creative Commons Atribución 4.0 Internacional" .

Asesor

Mg. Henry R. Ochoa León

Dedicatoria

Este trabajo de investigación va dedicado a la incesante búsqueda de las respuestas primigenias de la ciencia y la filosofía, y a todo aquel que se empeña en encontrarlo.

Agradecimiento

Al emprender el presente proyecto, el enfoque fue fundamentada en la solución de la contaminación de las fuentes hídricas, del suelo y del aire.

A la Comunidad de Lamblaspata – El Tambo – Huancayo, por permitirnos llevar adelante el presente proyecto.

A los catedráticos y personal administrativo de la Escuela de Posgrado de la Universidad Continental, que hicieron posible mi realización en mis metas y objetivos como profesional.

A mis parientes y colegas que son parte de mi desarrollo como profesional y persona.

A las personas que están detrás de este proyecto escondidos en el anonimato y en la penumbra del no reconocimiento que contribuyen de forma afiebrada, y con el talento de buscar los cambios de paradigmas en favor de la ciencia y la investigación.

Índice

Asesor	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimiento	v
Índice.....	vi
Índice de tablas	xi
Índice de figuras	xii
Resumen	xiv
Abstract	xv
Introducción.....	xvi
Capítulo I Planteamiento del Estudio	10
1.1. Formulación del problema y justificación del estudio.....	10
1.1.1. Problema general	11
1.1.2. Problemas específicos.....	11
1.1.3. Justificación	12
1.2. Antecedentes.....	13
1.2.1. Nacionales	13
1.2.2. Internacionales	16
1.3. Objetivos.....	25
1.3.1. Objetivo general.....	25
1.3.2. Objetivos específicos	25
1.4. Limitaciones del estudio	25
Capítulo II Marco Teórico	26
2.1. Marco teórico.....	26
2.1.1. Digestión anaerobia y biogás.....	26
2.1.2. Fases de la digestión anaerobia	27
A. Hidrolisis.....	27
B. Acidogénesis	29
C. Acetogénesis.....	29
D. Metanogénesis	30

2.1.3.	Microorganismos presentes en las fases de digestión anaerobia	31
	
A.	Bacterias en la fase de hidrolisis	31
B.	Bacterias en la fase de acidogénesis	32
C.	Bacterias en la fase de Acetogénesis	33
D.	Bacterias presentes en la fase de la metanogénesis	34
E.	Bacterias presentes en la fase de la metanogénesis	36
F.	Bacterias metanotróficas	37
2.1.4.	Tipos de fermentación	38
A.	Fermentación alcohólica	38
B.	Fermentación heteroláctica	39
C.	Fermentación acetona-butanol	40
D.	Fermentación propiónica	41
E.	Fermentación del ácido butírico	42
2.1.5.	Microorganismos eficientes	42
2.1.6.	Microorganismos eficientes y sus cinco grupos	43
A.	Bacterias fototróficas o fotosintéticas	43
B.	Bacterias acidolacticas (<i>Lactobacillus plantarum</i>)	44
C.	Actinomicetos o actinobacterias	45
D.	Levaduras	45
E.	Hongos de fermentación	46
2.1.7.	Procedimiento para el aislamiento de la bacteria <i>Lactobacillus plantarum</i> LPBM10	46
2.1.8.	Características de intervención de la bacteria <i>Lactobacillus plantarum</i> LPBM10	48
2.1.9.	Características de la fijación de Bacteriocina en <i>Lactobacillus plantarum</i> LPBM10	48
2.1.10.	Capacidad catalítica del <i>Lactobacillus plantarum</i> LPBM10	49
2.1.11.	Biodigestión anaeróbica	49
2.1.12.	Desarrollo y aplicación de la digestión anaerobia	50
2.1.13.	Respiración anaerobia	51
2.1.14.	Factores determinantes en la producción de biogás	52
2.1.15.	Naturaleza y composición de la materia prima	53

2.1.16.	Relación carbono/nitrógeno de las materias primas	55
2.1.17.	Niveles de solidos totales y solidos volátiles.....	56
2.1.18.	Condiciones de temperatura.....	57
2.1.19.	Nivel de acidez – pH.....	58
2.1.20.	Tiempo de retención hidráulica y velocidad de carga orgánica	
	59	
2.1.21.	Tóxicos e inhibidores del proceso metanogénico	60
2.1.22.	Nutrientes en el proceso.....	61
2.1.23.	Ácidos grasos volátiles	62
2.1.24.	Nitrógeno amoniacal	62
2.1.25.	Sulfuros y sulfatos.....	63
2.1.26.	Cationes y metales pesados.....	64
2.1.27.	Potencial redox	65
2.2.	Marco conceptual	65
2.2.1.	Biodigestores	65
2.2.2.	Hidrolisis	66
2.2.3.	Acidogénesis	66
2.2.4.	Acetogénesis	66
2.2.5.	Metanogénesis	66
2.2.6.	Agentes de inhibición.....	67
2.2.7.	Biomasa orgánica residual (BOR)	67
2.2.8.	Biogás.....	67
2.2.9.	Bioabono.....	67
2.2.10.	Biol	67
2.2.11.	Biosol.....	68
2.2.12.	Digestión aeróbica.....	68
2.2.13.	Metabolismo	68
2.2.14.	Catabolismo.....	68
2.2.15.	Anabolismo	69
2.2.16.	Reactor	69
2.3.	Hipótesis.....	69
2.3.1.	Planteamiento del problema	69
2.3.2.	Variables.....	70

A. Independiente:.....	70
B. Dependiente:.....	70
2.3.3. Contrastación de hipótesis.....	70
Capítulo III Metodología	71
3.1. Diseño de investigación.....	71
3.2. Población y muestra	71
3.2.1. Población.....	71
3.2.2. Muestra.....	71
3.3. Técnicas e instrumentos.....	72
3.4. Recolección de datos	72
3.4.1. Ubicación geográfica del lugar de estudio	72
3.4.2. Procedimiento para la toma de muestra	72
3.4.3. Preparación de los Lactobacillus Plantarum LPBM10 (LPBM10).....	73
A. M.R.S. Agar (proveído por GenLab del Perú S.A.C.)	73
B. Preparación del Lactobacillus Plantarum LPBM10 (proveído por GenLab del Perú S.A.C.).....	74
C. Cultivo bacteriano.....	74
D. Conteo de colonias.....	74
3.4.4. Preparación del medio de cultivo y la cepa de LP – LPBM10 en un reactor tipo Batch.....	76
A. Consideraciones.....	77
3.4.5. Características del biodigestor.....	78
3.4.6. Procedimiento de digestión anaerobia del lactobacillus Plantarum LPBM10 en un biodigestor tubular.	78
Capítulo IV Resultados.....	80
4.1. Resultados del análisis de estiércol de cerdo y el suero de leche.....	80
4.2. Balance de materia.....	82
4.3. Costos	87
4.4. Análisis de los resultados	88
4.4.1. Monitoreo de los componentes del bio gas.....	88
4.4.2. Análisis microbiológicos y de nutrientes del biol	98
4.4.3. Efectos de la temperatura y el pH.....	100

4.4.4. Análisis estadístico	104
A. Análisis de la probabilidad normal	104
B. Modelo lineal general: % de metano vs. Tratamientos ..	106
Conclusiones.....	108
Recomendaciones.....	109
Referencias Bibliográficas	110
Anexos	115
Diseño de reactor y diseño de bio digestor (manual)	118

Índice de tablas

Tabla 1 Componentes del Biogás (análisis promedio).....	26
Tabla 2 Parámetros de control y funcionamiento en la digestión anaerobia	52
Tabla 3 Residuos orgánicos de diversos orígenes	53
Tabla 4 Composición química (valores promedios – base seca).....	54
Tabla 5 Rango de niveles de nutrientes.....	54
Tabla 6 Producción de biogás por tipo de residuo animal (valores promedios)...	54
Tabla 7 Valores promedios aproximados de la relación carbono/nitrógeno de algunos residuos disponibles en el medio rural.	55
Tabla 8 Datos promedios sobre el contenido de sólidos totales de diversos residuos.....	56
Tabla 9 Comparación de Rendimiento de gas con materiales a diferente temperatura respecto BOR distintos.....	57
Tabla 10 Potencial de producción de metano.....	61
Tabla 11 Concentración de amoníaco y su efecto en el proceso de digestión anaeróbica.....	63
Tabla 12. Recuento de placas petri.	75
Tabla 13 Características del reactor Batch	76
Tabla 14 Preparación del caldo de cultivo del <i>Lactobacillus Plantarum</i> LPBM10 en el reactor tipo Batch.....	77
Tabla 15 Componentes de ingreso al biodigestor tubular.....	79
Tabla 16 Relación de C/N.....	80
Tabla 17 Resultados del análisis de agua.....	81
Tabla 18 Análisis de nutrientes del biol en los tratamientos.....	99
Tabla 19 Parámetros microbiológicos del biol en los tratamientos	99
Tabla 20 Información del factor.....	106
Tabla 21 Análisis de Varianza.....	107

Índice de figuras

Figura 1. Metabolismo microbiano del metano.	35
Figura 2. Vía de Interacción de las bacterias Sulfatoredutoras.....	37
Figura 3. Fermentación Láctica	40
Figura 4. Fermentación Acetona - Butanol	41
Figura 5. Fermentación propiónica, género Propionibacterium	42
Figura 6. Microscopia electrónica de barrido de Lactobacillus plantarum LPBM10	47
Figura 7. Esquema del uso de la digestión anaerobia.....	51
Figura 8. Composición del biogás en función del pH de la mezcla de materias primas.....	59
Figura 9. Localización de la comunidad campesina de “Lamblaspata”.....	72
Figura 10. Método de recuento de placas.	75
Figura 11. Diseño del reactor	76
Figura 12. Diseño del Biodigestor tubular.....	79
Figura 13. % de metano en el tratamiento en blanco	89
Figura 14. % de metano en el tratamiento en blanco	90
Figura 15. % de metano en el tratamiento 2.....	91
Figura 16. % de metano en el tratamiento 3.....	91
Figura 17. % de metano en los tratamientos	92
Figura 18. % de dióxido de carbonó de los tratamientos	93
Figura 19. % de dióxido de carbonó de los tratamientos	94
Figura 20. % de dióxido de carbonó de los tratamientos.....	95
Figura 21. Promedio del % de metano	96
Figura 22. Promedio del % de dióxido de carbono	96
Figura 23. Promedio del % de Oxigeno.....	97
Figura 24. Promedio de las concentraciones del monóxido de carbono.....	98
Figura 25. Valores de la temperatura y pH en el tratamiento en blanco	100
Figura 26. Valores de la temperatura y pH en el tratamiento 1	101
Figura 27. Valores de la temperatura y pH en el tratamiento 2	102

Figura 28. Promedio de las concentraciones del monóxido de carbono.....	103
Figura 29. Probabilidad normal del tratamiento en blanco.....	104
Figura 30. Probabilidad normal del tratamiento 1	105
Figura 31. Probabilidad normal del tratamiento 2	105
Figura 32. Probabilidad normal del tratamiento 3	106

Resumen

En el presente trabajo de investigación aplicada en la sostenibilidad y conciencia ambiental, se busca determinar el efecto de la aplicación de microorganismos catalíticos en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata. Cuyo problema se abordó con una investigación experimental de tipo explicativa. El cual duro aproximadamente un año, se empleó un biodigestor tubular, marca SIDElsa, operado de modo Batch. La capacidad del biodigestor fue de 159 L. Se realizaron cuatro tratamientos contenían una mezcla de agua con excretas de cerdo, cepas del *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 y suero de leche, el primer tratamiento fue un blanco donde solo se utilizaron excretas de cerdo y aguas mientras que en los otros tratamientos se inocularon cepas del *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 y suero de leche. La dosificación de los microorganismos catalíticos en los tratamientos fueron de cepas de *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 con un valor de 0,5 (154×10^5 UFC/mL)/L; 1,0 (154×10^5 UFC/mL)/L y 2,0 (154×10^5 UFC/mL)/L conjuntamente se adicione 1L, 2L y 4L de suero de leche aumentando la producción de biogás, siendo de esta la mejor dosis de 1,0 (154×10^5 UFC/mL)/L y 2L de suero de leche obteniendo el mayor porcentaje de metano del 78,58 %.

Se evaluaron los valores del pH obtenido del biodigestor por un periodo de tres meses para cada uno de los tratamientos encontrándose entre los rangos de 5,22 y 7,24 siendo optimas las condiciones para el crecimiento de los microorganismos, de igual manera se monitorio la temperatura en todos los tratamientos que fue aumentando al transcurrir los días y por las condiciones donde se encuentra ubicado el biodigestor tuvo variaciones significativas el rango donde se encontró los tratamientos en blanco, 1, 2 y 3 en la cual se encontrarían en condiciones mesofílicas donde se incluyen: una mayor estabilidad del sistema, balance energético, y mejor calidad del efluente, además, los costos energéticos son significativamente menores en comparación con sistemas termofílicos.

Palabras clave: biodigestor, *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 y suero de leche

Abstract

In this applied research work on sustainability and environmental awareness, we seek to determine the effect of the application of catalytic microorganisms in the production of biogas using pig excreta in the Lamblaspata Peasant Community. Whose problem was addressed with an explanatory experimental investigation. Which lasted about a year, a tubular biodigester, SIDElsa brand, operated in Batch mode was used. The capacity of the biodigester was 159 L. Four treatments were used with a mixture of water with pig excreta, strains of *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 and whey, the first treatment was a target where only pig excreta and water will be used while in the other treatments strains of *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 and whey were inoculated. The dosage of the catalytic microorganisms in the treatments were from *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 strains with a value of 0,5 (154×10^5 CFU / mL) / L; 1,0 (154×10^5 CFU / mL) / L and 2,0 (154×10^5 CFU / mL) / L complications are added 1L, 2L and 4L of whey increase the production of biogas, making it the best dose of 1, 0 (154×10^5 CFU / mL) / L and 2L of whey obtaining the highest percentage of methane of 78,58%

The pH values obtained from the biodigester were evaluated for a period of three months for each of the treatments found between the ranges of 5,22 and 7,24, the conditions for the growth of microorganisms being optimal, in the same way the monitoring was monitored. Temperature in all treatments was variable at the end of the days and due to the conditions where the biodigester is located, the range where the blank treatments were found varied, 1, 2 and 3 are found in mesophilic conditions including: greater stability of the system, energy balance, and better effluent quality, in addition, energy costs are significantly lower compared to thermophilic systems.

Keywords: biodigester, *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 and whey

Introducción

Desde la antigüedad los seres humanos empleamos los recursos energéticos como fuente de múltiples actividades, y una de ellas es el uso del metano. El metano alcanzó una especial importancia durante la segunda guerra mundial debido a la escasez de combustibles (Moreno M. , Manual de Biogás, 2011). Con el fin de la guerra y la fácil disponibilidad de combustibles fósiles, la mayoría de las instalaciones fueron cesando en su funcionamiento. Sin embargo, en la India, a comienzos de la década de los 60, se impulsó notablemente la tecnología de producción de biogás a partir de estiércol bovino con el doble propósito del aprovechamiento energético y la obtención de un biofertilizante. A partir de ahí en adelante se estudia las bondades de los procesos anaerobios en biorreactores usando biomasa orgánica residual (BOR) de animales domésticos como materia prima dentro de los usos alternativos de energía renovable. Para (Muños, 2012) la energía renovable se caracteriza porque en sus procesos de transformación y aprovechamiento en energía útil no se consumen ni se agotan en escala humana. Entendiéndose que a partir de la BOR (excretas) como materia prima para generar componentes energéticos.

Las excretas contienen nutrimentos que los cultivos pueden utilizar, pero también poseen altas concentraciones de coliformes fecales que producen enfermedades infecciosas, capaces de causar hasta la muerte de los humanos, por ello, para utilizar como fertilizante, es necesario un tratamiento que elimine estos agentes infecciosos. Una forma de hacerlo es mediante la biodigestión. Al usar un biodigestor se utilizan los nutrimentos contenidos en las excretas y, además, se reduce la contaminación ambiental, ya que convierte las excretas que contienen microorganismos patógenos como bacterias, protozoos, larvas, huevos, pupas de insectos, etc., en residuos útiles y sin riesgo de transmisión de enfermedades (Fregoso, 2001). Durante la digestión anaeróbica de la biomasa, mediante una serie de reacciones bioquímicas, se genera el biogás, el cual, está constituido principalmente por metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2), este biogás puede

ser capturado y usado como combustible y/o electricidad. De esta forma, la digestión anaeróbica, como método de tratamiento de residuos, permite disminuir la cantidad de materia orgánica contaminante, estabilizándola (bioabono) y al mismo tiempo, producir energía gaseosa (biogás) (Martinez, 2011).

Sin embargo, la complejidad de realizar el proceso de biodigestión anaeróbica acarrea dificultades para alcanzar la eficiencia esperada, aun así, con la intervención de microorganismos catalíticos. No obstante, el objetivo del presente trabajo es básicamente optimizar el proceso de digestión anaerobia logrando una eficiencia en la producción de bioabono y biogás alcanzando resultados significativos en su utilidad agropecuaria, de esta manera reducir el impacto ambiental al recurso hídrico del Rio Mantaro y a la capa de ozono ya que la BOR Porcina son vertidos directamente al cuerpo de agua receptor a cielo abierto generando gases de efecto invernadero.

Detallamos el presente trabajo de investigación en cuatro capítulos importantes: El capítulo I se basa en enfocar el planteamiento del problema, las causas y razones por las cuales me motivaron a realizar este trabajo de investigación.

El capítulo II enfoca los fundamentos teóricos de la investigación como los antecedentes, referencias históricas, marco legal, marco conceptual y marco teórico con respecto a la aplicación de Microorganismos Catalíticos.

El capítulo III da a conocer el planteamiento metodológico de la investigación abarcando la metodología aplicada, el tipo y nivel de investigación a la cual corresponde, diseño e hipótesis, variables, la cobertura de estudio, técnicas de instrumentos que se utilizaron.

El capítulo IV muestra la organización, presentación y los análisis de los resultados obtenidos en todo el proceso.

El autor

Capítulo I

Planteamiento del Estudio

1.1. Formulación del problema y justificación del estudio

Hoy en día el planeta Tierra atraviesa diferentes cambios y problemas ambientales como: el conocido efecto invernadero producido por las actividades antrópicas a nivel internacional, los gases que causan este fenómeno son principalmente el óxido nitroso, metano y dióxido de carbono; quienes emiten este tipo de contaminantes son: “El sector energético que representan 26 % de las emisiones, seguido del sector industrial (19 %), forestal (17 %), agrícola (14 %), residencial y comercial (8 %) y de manejo de desechos (3 %)” (Santillán, 2016).

Muchos de los gases de efecto invernadero se generan por la descomposición de residuos orgánicos; el metano se genera principalmente por la fermentación intestinal de los animales rumiantes que es considerable a nivel global, se llegó a estimar que el 37 % de metano en la atmosfera es producida por los rumiantes (Henry, 2007).

Ballesteros,2007 manifiesta que: una vaca puede llegar a producir hasta 90 kg de metano anualmente, lo que equivale en unidades de energía a 120 litros de gasolina, entonces considerando las excretas por cada bovino en 365 días conjuntamente con la energía de los gases, se puede llegar a propulsar un automóvil hasta 1000 kilómetros aproximadamente (Henry, 2007).

Como también se conoce que, “los productos excedentes de la alimentación de los cerdos mezclados con excretas y orinas constituyen casi en su totalidad en los residuos orgánicos generados a diario por cada granja, la cual la valorización de estos residuos orgánicos mediante la digestión anaerobia del estiércol de cerdo produce gases que en su mayoría son metano (60 %), dióxido de carbono (39 %), y trazas (0,2 %) de óxido nitroso” (Soria & Ferrera, 2001). Por lo tanto, “una de las actividades antropogénicas que el hombre

viene generando, es el sector agropecuario acarreando diversas modalidades de contaminación, y una de ellas es la emisión de metano por la biomasa orgánica residual en cantidades importantes, producto de la crianza de animales domésticos para consumo” (Soria & Ferrera, 2001).

La Comunidad Campesina de Lamblaspata en el Distrito Metropolitano de El Tambo no es ajena a esta realidad ya que en el mencionado lugar se realizan actividades de crianza de cerdos para consumo, de forma inadecuada, al mismo tiempo la Biomasa Orgánica Residual (BOR) conocido comúnmente como estiércol es acumulado a cielo abierto haciéndose que se libere en forma gaseosa el metano lo cual es liberado en cantidades importantes y otros gases en menor cantidad y en forma semilíquida, la BOR es vertido al cuerpo receptor natural (Rio Mantaro), la contaminación generada por una granja porcina afecta al microambiente (la granja misma) y al ambiente en general. En lo que respecta al microambiente, se ha visto que la exposición a los gases producidos (amoníaco, sulfuro de hidrógeno, metano y bióxido de carbono) representa riesgos directos a la salud de los trabajadores (Landin, 2007). “Para la producción de la BOR, se menciona que, por cada 70 kg de peso vivo en granja, se producen entre 4 kg y 5 kg de excreta” (Landin, 2007).

1.1.1. Problema general.

¿Qué efecto tiene la aplicación de microorganismos catalíticos en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata - El Tambo 2018?

1.1.2. Problemas específicos.

- ¿Qué porcentaje de dosificación de los microorganismos catalíticos en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata?
- ¿Qué porcentaje de metano (CH_4) en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata?

- ¿Cuánto varía el pH en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata?
- ¿Cuánto varía la temperatura en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata?

1.1.3. Justificación.

Los digestores anaerobios vienen siendo una solución en el manejo de residuos orgánicos biológicos, su procesamiento lleva a tiempos prolongados, los que incrementan su costo de operación y mantenimiento, “la velocidad de degradación de los materiales lignocelulósicos compuestos principalmente por lignina, celulosa y hemicelulosa, es tan lenta que suele ser la etapa limitante del proceso de hidrólisis, esto es debido a que la lignina es muy resistente a la degradación por parte de los microorganismos anaeróbicos afectando también a la biodegradabilidad de la celulosa, de la hemicelulosa y de otros hidratos de carbono” (Moreno, 2011). Teniendo en cuenta que la hidrólisis es el primer proceso de las rutas metabólicas y anabólicas de los microorganismos de los digestores anaerobios en razón de ello garantizar que los microorganismos eficientes realicen catálisis en el proceso hidrolítico, es la piedra angular del presente proyecto, que tiene como objetivo optimizar los tiempos en el proceso de degradación de la BOR porcina, haciendo viable el aprovechamiento adecuado de la materia residual (bioabono) para el uso como fertilizante natural en los sembríos y el aprovechamiento del gas metano (biogás) así reduciendo los gases de efecto invernadero.

La actividad de la porcicultura contribuye a la emanación de gases de efecto invernadero de esa manera contribuyen a la contaminación ambiental. La aplicación de microorganismos eficientes hace la función de catalizadores que influyen, de forma benéfica en la producción de biogás acortando el tiempo de la obtención de biogás

para ser empleado de manera sostenible en las instalaciones de la crianza de cerdos y el manejo de la biomasa orgánica residual BOR (estiércol) de los cerdos de la Comunidad Campesina de Lamblaspata, eliminando los focos infecciosos, olores hediondos y evitando la contaminación de los suelos y a la napa freática por el vertido de BOR en forma de lixiviados, producto de un mal manejo de los residuos biológicos en mención. Producir biogás y bioabono, hallando su optimización en cuanto a los tiempos de procesamiento, se garantiza desarrollo económico y tecnológico en tiempos suprimidos con resguardo a la salubridad de los comuneros y de sus piaras, con el uso eficiente de los derivados de este proceso planteado, se generará un polo de desarrollo para todos los actores de la Comunidad Campesina de Lamblaspata.

1.2. Antecedentes

1.2.1. Nacionales.

Según el plan del programa nacional de biodigestores en Perú trabajo realizado por Bedoya & Herrero (2013) señala que:

Los biodigestores, en la etapa doméstica, están tratando de encontrar la creación del uso de biogás en las regiones rurales, como una fuente alternativa y fácil para cocinar comidas en lugar de leña, mejorando la salud y la higiene de la familia mientras se cocina sin humo, reduciendo la presión sobre los recursos naturales dentro de la región rural, o mediante el uso de reducir el consumo de GLP respaldado en áreas periurbanas, mientras que el uso del fertilizante producido, conocido como biol, sirve para aumentar la productividad agrícola de manera sostenible, desplazando los productos químicos, aumentando el ganancias de pequeños agricultores rurales. Existe una capacidad técnica para la creación de biodigestores familiares propios, esto se establece en 330,000 dispositivos, así como un análisis económico que ofrece efectos positivos en la tarifa interna de retorno que considera el desplazamiento del gasto de gas y leña. (p.8)

En Perú se valora fuertemente el uso del biogás, así como el del Biol, por lo que será clave para el éxito del PNB desarrollar un producto complementario, lo que implica un esfuerzo adicional en asistencia técnica al usuario e investigación y desarrollo.

Según la guía de principales experiencias desarrolladas en el país biodigestores en el Perú trabajo realizado por MINAGRI & S.P.(2011):

Un biodigestor es un dispositivo en el que se genera un entorno lo suficientemente bueno para que el número de materia orgánica se descomponga en ausencia de oxígeno, este fenómeno se denomina digestión anaeróbica. Esta descomposición es producida por bacterias que habitan en el interior del digestor y provienen especialmente del estiércol fresco, que se alimenta del recuento natural que genera biogás y subproductos de fertilizantes llamados biol y biosol. Su funcionamiento podría ser muy similar al del vientre de una persona o un animal. El biodigestor consiste en un reservorio donde el estiércol recolectado se encuentra dentro del corral anteriormente combinado con agua. También puede agregar cualquier otro tipo de desecho (de vegetación o biomasa diferente) siempre que hayan recibido un tratamiento previo. Esto está hecho de un estanque de entrada, en el que se depositan los residuos de estiércol y biomasa; el biodigestor, que podría ser el equipaje donde se termina el sistema y la abertura que está conectada al tanque biol; La salida de biogás, colocada en la parte superior, está conectada a un depósito en el que se guarda el biogás para su uso posterior en cocinas o pequeñas lámparas de combustible. Además tiene otros aditivos junto con la válvula de protección, lo que evita problemas debido a la falta de gas y al filtro de sulfuro de hidrógeno. (H_2S) (p.5)

Según el manual técnico instalación y uso de gas trabajo realizado por Tapia (2016) una de las alternativas funcionales es la adopción del Biodigestor:

Su importancia radica en el uso de residuos de ganado (estiércol) para producir electricidad renovable y bajo costo. El biodigestor utiliza técnicas de desechos naturales para producir biogás, biol y biosol; energía y fertilizantes naturales que impulsan la agricultura y la ganadería. Por otro lado, los biodigestores ayudan a disminuir la emisión de gases de efecto invernadero de los animales de granja, aliviando la contaminación de nuestro medio ambiente. En el que la digestión anaerobia es una forma orgánica en la que la dependencia natural del estiércol se degrada a través de la acción de las bacterias presentes en el estiércol fresco del ganado, en condiciones anaeróbicas, es decir, sin la presencia de oxígeno. (p.5)

En el plan nacional de biodigestores: acceso a energía en comunidades aisladas, a partir de la producción local de biogás en Cajamarca Perú trabajo realizado por OCED (2016) se señala que:

La fórmula de esta empresa se convirtió en base a la revisión del Balance Energético Nacional de 2010, que mostró que el 57 % de la zona residencial y comercial en las zonas rurales del Perú usaban leña, carbón y otras fuentes comparables de energía. Con base en el deleite de que el Servicio Holandés de Cooperación para el Desarrollo (SNV) ha tenido biodigestores en Asia y África, se realizó una observación de factibilidad en Perú, y particularmente dentro de la vecindad de Cajamarca para suministrar rasgos climáticos adecuados para la época y para ser una granja eminentemente ganadera. El análisis demostró la oportunidad de instalar 330,000 biodigestores, por esa razón, buscó una oportunidad para el uso de estiércol animal para generar biogás, biol, disminuir el consumo de leña y las enfermedades relacionadas con su combustión, de manera similar a la disminución de la deforestación y la emisión de gases de efecto invernadero. (p.1)

1.2.2. Internacionales.

Según la producción de biofertilizantes mediante biodigestión de excreta líquida de cerdo trabajo realizado por Soria Fregos (2001). Debido al auge dentro del costo de los fertilizantes químicos y la contaminación que algunos propician en los alrededores cuando se usan irracionalmente, es muy importante descubrir nuevas opciones para la fertilización, económica y extra ecológica. En México, el estado de Yucatán ocupa la quinta vecindad en la crianza de cerdos; En 1997, una población de 1 114 135 cabezas se convirtió en dicho, generando alrededor de 3 600 toneladas de excretas todos los días que básicamente se arrojan a los pozos o al mismo tiempo al suelo, causando graves problemas de contaminantes. Para presentar el objetivo a las excretas líquidas y transformarlas de aguas contaminantes a biofertilizantes, se realizó dicho trabajo. Para esto, se utilizó un biodigestor de tipo FAO, que consiste en un campo de entrada, un campo de salida y un polietileno tubular de calibre 800. Las dimensiones del tubular eran de 1,25 m de diámetro y 12 m de largo con una válvula de salida de biogás y una pila de protección fabricada a partir de bloques, se cargó con excreta líquida, que contenía 1672 mg / L de sólidos sedimentables (SSed), 9x10 UFC de coliformes ml de muestra, pH 7,6; Conductividad eléctrica (CE) de cinco.8 dSm, demanda química de oxígeno (DQO) 2640. Ocho mg / L y oxígeno bioquímico requieren (DBO) 543 mg / L. El prototipo del digestor examinado funcionó adecuadamente, considerando, cuatro días después al llenarse, la cantidad comenzó a crecer hasta que se infló absolutamente con biogás (metano), lo anterior indicó que la forma de digestión estaba funcionando ya que hubo un aumento de temperatura de hasta cincuenta y seis °C dentro de la etapa termofílica, el tiempo de maduración cambió en 50 días, al cesar la concentración del efluente se convirtió en 210 mg / L de SSed, 0 coliformes, pH de siete.4 dSm de EC, 1399 mg / L de DQO y 172 mg / L de DBO (p.2).

Según los estudios realizados los biodigestores como componentes de sistemas agropecuarios integrados por los tratamientos biológicos aerobios ofrecen una manera rápida y efectiva de degradar los sustratos de los residuos de una manera inofensiva, al respecto Domínguez & Ly (2005) señalan:

El tratamiento se logra teóricamente en tres niveles: la oxidación de la materia orgánica, la nitrificación y, finalmente, la desnitrificación, con la intención de eliminar el nitrógeno amoniacal. Las excretas de cerdo contienen un porcentaje masivo de sólidos en suspensión que resisten la degradación biológica. La tasa de biodegradación aumentará cuando se eliminen esos sólidos (p.2). Los componentes microbiológicos del tratamiento aeróbico mesofílico de las excretas de cerdo fueron muy bien estudiados. Se entiende que el microorganismo dominante es un *Acinetobacter sp.*, Y que su prevalencia se correlaciona con duraciones de descuento rápido en la demanda química de oxígeno (DQO), de acuerdo con Santillán (2016)

El tratamiento termofílico aeróbico también se ha aplicado a los residuos. Se ha pensado que los importantes beneficios de la digestión aeróbica termofílica consisten en un auge en la tasa de oxidación, que se traduce en una disminución de los requisitos de volumen en el digestor, la destrucción de la máxima cantidad de bacterias, virus y parásitos patógenos, y también la destrucción de semillas de malezas. (p.34)

También se considera una ventaja la facilidad para que se separen la fase líquida de la sólida.

Según las investigaciones realizadas en la eficiencia de remoción de materia orgánica de agua residuales porcinas con biodigestores en el estado de Yucatán, MEXICO realizado por Lizama & González (2014)

En la crianza intensiva de cerdos en la nación de Yucatán, 62 biodigestores se han conectado en los 10 años restantes. Sin embargo, la complejidad del procedimiento de biodigestion anaeróbica implica problemas para lograr la eficiencia anticipada. Los valores de eliminación observados en este documento son factores del 7 por ciento debajo de los valores de referencia de los sólidos volátiles en general, lo que representa la fracción de recuento natural de los sólidos tratados dentro del biodigestor. Más del 50 % de las granjas evaluadas tenían valores similares o mayores que los parámetros de referencia. La eficiencia de la eliminación de productos naturales depende de las descargas de aguas residuales porcinas a través de biodigestores dentro del estado de Yucatán, está cerca de los valores de referencia. (p.321)

En la investigación inhibidores del proceso anaerobio: compuestos utilizados en porcicultura realizado por Fernandez, Vasquez, & Martinez (2002)

Afirma que la utilización de la tecnología anaerobia para el tratamiento de las aguas residuales porcícolas tiene amplias perspectivas de ser utilizada, en especial en climas templados, el ahorro de energía eléctrica necesaria para el funcionamiento de los compresores de una estación aerobia, es una de las principales razones. Sin embargo, hay varias sustancias que tienen un efecto tóxico dentro de la degradación anaeróbica, especialmente antibióticos y metales; Antibióticos (amoxicilina, etc.) por su uso extensivo en granjas porcinas y algunos componentes que pueden incorporarse a las comidas de los cerdos. La importancia de estos resultados depende de la concentración del material dentro de la digestión, pudiendo tener en algunos casos un efecto útil mientras las concentraciones son bajas. Los desechos de cerdo incluyen aditivos: los sólidos (heces) y los líquidos (orina). Un aumento en los compuestos venenosos en el biodigestor puede aumentar la inacción de los microorganismos anaerobios, esto se detecta rápidamente a través del descuento en la fabricación de

biogás y por medio de un auge de ácidos peligrosos dentro del sistema. Si el aumento de compuestos tóxicos es lento y se maneja adecuadamente, el sistema se puede adaptar a concentraciones tremendamente excesivas de materiales tóxicos. Solo la fracción soluble de los materiales causa efectos venenosos. El impacto de las sustancias tóxicas o inhibitorias en el sistema anaeróbico altera la cinética de degradación de la materia orgánica. El valor del impacto depende de la naturaleza y la concentración de la sustancia inhibidora. Las sustancias tóxicas pueden obtenerse todo el tiempo dentro de los desechos alimentados o alcanzar el sistema de forma intermitente, en cada caso se altera la cinética de degradación a base natural. El impacto de estos compuestos tóxicos se medita dentro de la reacción del reactor, las concentraciones de DBO dentro del efluente pueden duplicarse y la proporción de metano dentro del biogás producido puede reducirse a la mitad. El efecto perjudicial de los compuestos venenosos se puede minimizar con un control del tiempo de retención de sólidos (TRS) del reactor. Los compuestos tóxicos más importantes de la técnica anaeróbica son: metales pesados, metales alcalinos y alcalinotérreos, sulfatos y amonio. (p.67)

De acuerdo al trabajo de investigación el biodigestor se construyó mediante un procedimiento sencillo y económico. el espacio que ocupa es reducido mostrándose como una alternativa viable para instalar este tipo de sistemas en casas habitación realizado por Martinez (2011). el diseño de un Biodigestor, con la finalidad de obtener una producción de biogás que pueda cubrir al menos el 35 % el consumo mensual de energía como electricidad y gas (GLP) para cocinar, y con el efluente se podría reducir hasta un 40 % la utilización anual de fertilizantes químicos aplicados a la finca, el mismo que funcionará con recursos propios y/o externos de la finca (p.2). El diseño del digestor tiene en cuenta factores distintivos de la granja, como la ingesta mensual de energía y gas (GLP), la disponibilidad de la materia prima (estiércol de animales de granja), el área corporal, la

temperatura del área y la disposición de la ayuda económica para cubrir los gastos de construcción, operación y preservación del biodigestor. En la creencia del desafío, se hace referencia a varias alternativas de modelos de biodigestores, junto con los modelos de china, hindú y de bolsas flexibles. (Martinez, 2011, p.2)

Según la investigación producción de biogás y bioabonos a partir de efluentes de biodigestores realizado por Cepero, y otros (2012)

Las tecnologías decididas para la construcción de biodigestores anaeróbicos en el marco de BIOMAS-CUBA habían sido: 1) la cúpula fija (versión china), 2) el tubular de plástico o polietileno con flujo continuo (tipo Taiwán), y 3) la laguna anaerobia incluida con una geomembrana de polietileno de alta densidad (PAD), de Vietnam. La forma del biodigestor de cúpula constante, de origen chino, se asemeja a una esfera y el combustible se almacena dentro de la campana constante a presión variable, que se obtiene mediante la transferencia del líquido en la digestión a una cámara conocida como hidropresión; Las sustancias de construcción son bloques y/o ladrillos, cemento y metal. Estos digestores se cargan de forma semicontinua: se realiza una tasa primaria con material celulósico y estiércol, además del inóculo correspondiente, hasta el 70 % de la capacidad (Chávez, 2007) aún se carga como un digestor continuo; después de 120 - 180 días está completamente descargado y el ciclo se reinicia. El biodigestor tubular de plástico incluye una especie de bolsa de polietileno alargada, con una relación duración-ancho de aproximadamente 5:1, a pesar de que, por razones de creación eficiente, el tamaño puede variar (Muños, 2012); Dicha bolsa se coloca en un pozo. Este biodigestor tiene un costo mucho menor que el anterior, pero tiene una disminución en los estilos de vida útil (mucho menos del 25 % de la existencia del biodigestor de domo constante). La laguna anaeróbica protegida con polietileno de alta densidad es una era desarrollada a través del Centro Tecnológico de Biogás de Hanoi para grandes volúmenes de desechos y una cantidad

de sólidos de alrededor del 3 %, con bajos costos de construcción y operación. Esto resuelve las limitaciones de las lagunas anaerobias ubicadas, que emiten metano en los alrededores y olores desagradables, y le ahorran la recuperación del biogás. Su parte trasera y paredes pueden ser producto de arcilla, bloques, ladrillos u hormigón armado a prueba de agua; incluso cuando la plataforma PAD flota en la superficie de la laguna y es a prueba de rayos ultravioleta (p.221). En el proyecto se construyeron o repararon en menor medida 69 biodigestores, de ellos: nueve son tubulares plásticos; uno, de cúpula móvil (modelo hindú); dos, de lagunas anaeróbicas cubiertas, de 300 m³ (tecnología vietnamita); y los 57 restantes son de cúpula fija (Cepero, y otros, 2012, p.222)

En la investigación producción potencial de biogás empleando excretas de ganado porcino en el estado de Guanajuato realizado por Lozano (2015). Calculó la cantidad de biogás potencialmente extraíble de las excretas de puercos, mediante el empleo de biodigestores, manejando datos estadísticos de las variables de interés, para obtener el equivalente energético eléctrico y/o calorífico debido a la conversión del biometano (p.99). El último uso de biogás podría ser muy numeroso y puede usarse para generar calor, a través de calderas, estufas o para generar energía, a través de molinos eléctricos que usan motores de combustión interna. Del mismo modo, desde el punto de vista del análisis, puede ser en comparación con un barril de petróleo equivalente, por lo que se estudiará la cantidad de barriles que se produciría a través de la explotación eléctrica de la excreta de cerdo. (Lozano, 2015, p.103)

Según la investigación el aislamiento de *Lactobacillus plantarum* lpbm10 y caracterización parcial de su bacteriocina realizado por Zapata, Muñoz, Ruiz, Montoya, & Gutierrez (2009). Las bacterias acidolácticas (BAL) son un grupo de microorganismos Gram positivos utilizados ampliamente en la preservación de alimentos debido a sus

propiedades probióticas y su capacidad para producir bacteriocinas. Las bacteriocinas son compuestos antimicrobianos de naturaleza peptídica y han recibido gran atención por la industria de alimentos debido a su uso potencial como sustitutos de aditivos químicos. En este trabajo reportamos el aislamiento y caracterización de la cepa de *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 (p.75). Esta bacteria fue aislada a partir de leche fermentada, presenta propiedades probióticas y es productora de bacteriocinas. El extracto libre de células de LPBM10 presenta actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas. La bacteriocina LPBM10 es altamente termoestable, presenta mayor actividad a pH ácido y su actividad no se ve afectada por la presencia de proteinasa K, agentes quelantes y detergentes. El compuesto antibacteriano LPBM10 fue purificado mediante diálisis y cromatografía de exclusión. El análisis por espectroscopia ultravioleta e infrarroja sugiere que la bacteriocina LPBM10 es de naturaleza peptídica con presencia de tirosina y cisteína. Pruebas sobre el extracto crudo dializado mediante cromatografía de intercambio iónico indican la presencia de un compuesto aniónico antagonista del compuesto LPBM10 (Zapata, Muñoz, Ruiz, Montoya, & Gutierrez, 2009, p.76)

Según la investigación de las bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta realizado por Corrales, Antolinez, Bohorquez, & Corredor (2015). Las bacterias anaerobias cuentan con un metabolismo que genera su energía a partir de sustancias que carecen de oxígeno, lo hacen generalmente a través de procesos de fermentación. Los estudios estiman que la vida comenzó en el mundo aproximadamente 3 800 millones de años en el pasado; a lo largo de los primeros 2 000 a 2 500 millones de años se pobló únicamente por comunidades bacterianas. El interés secuencial y observado del microorganismo fotosintético, heterotrófico, saprofítico y quimiosintético permitió y permite que la materia sea reciclada y puede usarse indefinidamente.

El desarrollo de todo este tipo de nutrientes, en consecuencia, terminó en una ocasión trascendental: los ciclos biogeoquímicos del planeta se han cerrado, de modo que la vida podría perpetuarse a causa de la electricidad solar. La actividad metabólica de los diversos grupos bacterianos termina en la formación de varios microambientes en los que cada grupo descubrirá el máximo adecuado para sus deseos y puede protegerse de factores ambientales probablemente tóxicos (niveles excesivos de oxígeno, alta intensidad de luz, publicidad a la radiación ultravioleta, desecación, cepa osmótica y muchos otros.) (p.56). Estas asociaciones facilitan el intercambio de nutrientes, gases y metabolitos, y reflejan un estilo de vida mutualista y sinérgico, donde el crecimiento, la reproducción y los ciclos biogeoquímicos son llevados a cabo de forma más eficiente que en poblaciones aisladas (Corrales, Antolinez, Bohorquez, & Corredor, 2015, p.56)

La investigación de los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás: consideraciones en la elección del inóculo para el mejoramiento de la calidad y rendimiento realizado por Ferrer & Pérez (2010). El biogás es el producto principal de la digestión anaerobia, proceso biológico degradativo en el cual parte de los materiales orgánicos de un sustrato son convertidos en una mezcla de CO_2 , hidrógeno, metano, sulfuro de hidrógeno y trazas de otros elementos. En comparación con las digestiones aerobias, la fermentación anaerobia permite convertir gran cantidad de residuos, efluentes de las industrias papelera, alimentaria, fermentativa y química, en energía, al transformar casi totalmente la carga contaminante en metano. La producción de metano es un resultado directo de la reducción de DQO dentro del sistema metanogénico. El tratamiento anaeróbico es frecuentemente usado para tratar aguas residuales con una elevada DQO, para una eficiencia de remoción de 71-97 %. Los principales problemas en la producción de biogás están relacionados con alta generación de sulfuro de hidrógeno y dióxido de carbono, lo que implica un menor rendimiento neto de metano. La

inestable composición de los residuales sustratos y la ineficiente adaptabilidad de los grupos microbianos a los cambios, en las condiciones de fermentación, contribuyen a la merma en la calidad de la mezcla de gases (p.43)

La investigación cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico realizado por Gámez, Ramirez, & Aguirre (2013). Los *Lactobacillus* tienen un metabolismo fermentativo, son principalmente aerotolerantes y otras especies son estrictamente anaeróbicas. El crecimiento ocurre a un pH de 4,5 – 5,8. Son exigentes en términos de aminoácidos, péptidos, nucleótidos, vitaminas, minerales, ácidos grasos y carbohidratos. Se clasifican en homolácticos y heterolácticos principalmente en función de la ruta de fermentación que utilizan. En situaciones de glucosa extra y uso limitado de oxígeno, los homolácticos transforman una mol de glucosa a través de la vía glucolítica de *Embden-Meyerhof-Parnas* para formar dos moles de piruvato. La estabilidad redox intracelular se mantiene mediante la oxidación de NADH con la reducción concomitante de piruvato en ácido láctico. Esta técnica genera moles de ATP según el mol de glucosa alimentada. Los representantes de microorganismos homolácticos y de ácido láctico heteroláctico (BAL) abarcan *Lactococcus*, *Enterococci*, *Streptococci*, *Pediococcus* e institución I *Lactobacillus*. En la producción animal el género *Lactobacillus*, ha sido utilizado en lechones destetos para prevenir desordenes en el tracto gastrointestinal, como es el caso de la diarrea, promover el crecimiento, estimular la inmunidad protectora contra patógenos y aumentar la respuesta inmune de la mucosa intestinal (p.38).

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general.

Determinar el efecto de la aplicación de microorganismos catalíticos en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata- El Tambo 2018.

1.3.2. Objetivos específicos.

- Determinar la cantidad de dosificación de los microorganismos catalíticos en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata.
- Determinar porcentaje de metano (CH_4) en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata.
- Evaluar la variación del pH en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata.
- Evaluar la variación de la temperatura en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata.

1.4. Limitaciones del estudio

Escasa información existente de la aplicación de microorganismos eficiente en biodigestores convencionales, que busque optimizar los procesos de digestión dentro de la región Junín.

Capítulo II

Marco Teórico

2.1. Marco teórico

2.1.1. Digestión anaerobia y biogás.

En los procesos anaerobios se analiza mediante, “La Digestión anaerobia es un proceso biológico, en el que la materia orgánica, en ausencia de oxígeno y mediante la acción de un grupo de bacterias específicas, se descompone en productos gaseosos o “biogás” (CH_4, CO_2, H_2, H_2S , etc.), y en digestato, que es una mezcla de productos minerales (N, P, K, Ca , etc.) y compuestos de difícil degradación” (MLTC, 2007, p.5)

Donde, “el biogás es una mezcla constituida fundamentalmente por metano (CH_4), y dióxido de carbono (CO_2) en mayor porcentaje, y en menor medida: nitrógeno (N_2), sulfuro de hidrógeno (H_2S), vapor de agua, amoníaco (NH_3) y una pequeña cantidad de hidrógeno (H_2), pudiendo existir otros compuestos azufrados como sulfuro de carbonilo y disulfuro de carbono. En casos puntuales, se han detectado mediante análisis químicos extendidos, la presencia de trazas de compuestos orgánicos, hidrocarburos superiores al metano como propano y butano” (Wesner, 1989, p.12)

Tabla 1

Componentes del Biogás (análisis promedio)

Metano, CH_4	40-70 %
Dióxido de carbono, CO_2	30 – 60 %
Sulfuro de hidrogeno, H_2S	0-3 %
Hidrogeno, H_2	0-1%

Fuente: Wesner, 1989

El metano, “principal componente del biogás, es el gas que le confiere las características combustibles. El valor energético del biogás está determinado por la concentración de metano – alrededor de 20 – 25 Mj/m^3 , comparado con 33 – 38 Mj/m^3 que tienen el gas natural” (Wesner, 1989, p.13)

También para Moreno M. (2011) la digestión anaeróbica mediante, los microorganismos metanogénicos desempeñan la función de enzimas respiratorios y, junto con las bacterias no metanogénicas, constituyen una cadena alimentaria que guarda relación con las cadenas enzimáticas de células aeróbicas. De esta forma, los residuos orgánicos se transforman completamente en biogás que abandona el sistema. Sin embargo, el biogás generado suele estar contaminado con diferentes componentes, que pueden complicar el manejo y aprovechamiento del mismo. El proceso anaeróbico se clasifica como fermentación anaeróbica o respiración anaeróbica dependiendo del tipo de aceptores de electrones (p.14)

2.1.2. Fases de la digestión anaerobia.

A. Hidrolisis.

La materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos a menos que se hidrolicen en compuestos solubles, que puedan atravesar la pared celular. “La hidrólisis es el primer paso necesario para la degradación anaeróbica de sustratos orgánicos complejos. Por tanto, es el proceso de hidrólisis el que proporciona sustratos orgánicos para la digestión anaeróbica” (Moreno M., 2011, p.19). La hidrólisis de esas moléculas complicadas se logra con la ayuda del movimiento de enzimas extracelulares producidas a través de microorganismos hidrolíticos. La etapa hidrolítica puede ser el sistema que limita la velocidad general del sistema, específicamente mientras se tratan los desechos con un contenido excesivo de sólidos. Además, la hidrólisis depende de

la temperatura, el tiempo de retención hidráulica, la composición bioquímica del sustrato (porcentaje de lignina, carbohidratos, proteínas y grasas), el tamaño de partícula, el grado de pH, la concentración de NH_4 y de la concentración de los productos de la hidrólisis. Cualquier sustrato está compuesto por tres formas básicas de macromoléculas: carbohidratos, proteínas y lípidos. (Moreno M. , 2011, p.13). “Las proteínas constituyen un sustrato muy importante en el proceso de digestión anaeróbica debido a que además de ser fuente de carbono y energía, los aminoácidos derivados de su hidrólisis tienen un elevado valor nutricional. Las proteínas son hidrolizadas en péptidos y aminoácidos por la acción de enzimas proteolíticas llamadas proteasas. Parte de estos aminoácidos son utilizados directamente en la síntesis de nuevo material celular y el resto son degradados a ácidos volátiles, dióxido de carbono, hidrógeno, amonio y sulfuro en posteriores etapas del proceso” (Moreno M. , 2011, p.20). La degradación de los lípidos en entornos anaeróbicos comienza con la descomposición de las grasas con la ayuda de la acción de enzimas hidrolíticas conocidas como lipasas que generan ácidos grasos de cadena larga y glicerol. La tasa de degradación de las sustancias lignocelulósicas compuestas especialmente de lignina, celulosa y hemicelulosa es tan lenta que también incluye la etapa de restricción del procedimiento de hidrólisis. Esto se debe a que la lignina es muy resistente a la degradación a través de microorganismos anaeróbicos que también afectan la biodegradabilidad de la celulosa, la hemicelulosa y otros carbohidratos. (Moreno M. , 2011, p.21). Los productos primarios de la hidrólisis de celulosa son la celobiasa y la glucosa, mientras que la hemicelulosa produce pentosas, hexosas y ácidos urónicos. La velocidad de hidrólisis, en general, aumentará con la temperatura. La tasa de la hidrólisis también depende de las dimensiones de los desechos, especialmente debido a la

disponibilidad de la superficie para la adsorción de las enzimas hidrolíticas. Los pretratamientos físico-químicos, cuyo impacto principal es la reducción de las dimensiones de los escombros, producen un aumento dentro de la tasa de hidrólisis, y si esta sección es la dificultad del proceso anaeróbico, es una ventaja para el proceso general, generando millas. Instancias más cortas de menor retención y tamaños de reactores (Moreno M. , 2011, p.21)

B. Acidogénesis.

Durante esta etapa tiene lugar la fermentación de las moléculas orgánicas solubles en compuestos que puedan ser utilizados directamente por las “bacterias metanogénicas (acético, fórmico, H_2) y compuestos orgánicos más reducidos (propiónico, butírico, valérico, láctico y etanol principalmente) que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas en la siguiente etapa del proceso” (Moreno M. , 2011, p.21). “La importancia de la presencia de esta organización de bacterias que ya no es más efectiva radica en la realidad de que produce alimentos para las organizaciones de bacterias que actúan más tarde, pero además elimina cualquier rastro de oxígeno disuelto del sistema. Esta institución de microorganismos consiste en bacterias obligatorias facultativas y anaerobias, conocidas colectivamente como bacterias formadoras de ácido. (Moreno M. , 2011, p.21)

C. Acetogénesis.

La fermentación puede metabolizarse inmediatamente a través de organismos metanogénicos (H_2 y acético), otros (etanol, ácidos grasos peligrosos y algunos compuestos fragantes) deben transformarse en productos menos complicados, que consisten en acetato (CH_3COO^-)₆ e hidrógeno (H_2) a través de microorganismos acetogénicos, representantes de microorganismos acetogénicos son *Syntrophomonas wolfei* y

Syntrophobacter wolini (Moreno M. , 2011, p.21). Un tipo único de microorganismos acetogénicos, se conoce como homoacetogénico. Estas formas de bacterias son capaces de crecer heterotróficamente en presencia de azúcares o compuestos monocarbonados (como mezcla H_2/CO_2) produciendo como el único producto de acetato. A diferencia de los microorganismos acetogénicos, ya no producen hidrógeno como resultado de su metabolismo, sin embargo, lo comen como sustrato. Como se ha estudiado, el resultado final neto del metabolismo homoacetogénico permite mantener bajas presiones parciales de hidrógeno y, en consecuencia, permite la actividad de bacterias acidogénicas y acetogénicas. (Moreno M. , 2011, p.21). “Los principales microorganismos homoacetogénicos que han sido aislados son *Acetobacterium woodii* o *Clostridium aceticum*. A esta altura del proceso, la mayoría de las bacterias anaeróbicas han extraído todo el alimento de la biomasa y, como resultado de su metabolismo, eliminan sus propios productos de desecho de sus células. Estos productos, ácidos volátiles sencillos, son los que van a utilizar como sustrato las bacterias metanogénicas en la etapa siguiente” (Moreno M. , 2011, p.22)

D. *Metanogénesis.*

En esta etapa, un amplio grupo de bacterias anaeróbicas estrictas, actúa sobre los productos resultantes de las etapas anteriores. “Los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación del medio de los productos de los grupos anteriores, siendo, además, los que dan nombre al proceso general de biometanización” (Moreno M. , 2011, p.22). “Los microorganismos metanogénicos completan el proceso de digestión anaeróbica mediante la formación de

metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H_2/CO_2 , formato, metanol y algunas metilaminas” (Moreno M. , 2011, p.22). Los organismos metanogénicos se clasifican en el dominio Archaea y no tienen rasgos inusuales que los diferencien de los diferentes procariotas. Se pueden montar dos grandes grupos de microorganismos, dependiendo del sustrato primario que metabolizan: hidrogenotrófico, que consume H_2/CO_2 y fórmico y acetoclástico, que devoran acetato, metanol y algunas aminas. Se ha demostrado que el 70 % del metano producido en los reactores anaeróbicos se forma a partir de la descarboxilación del ácido acético, a pesar de que, al mismo tiempo que todos los organismos metanogénicos son capaces de usar H_2 como un receptor de electrones, los dos géneros más simples pueden usar acetato (Moreno M. , 2011, p.22). Los géneros que tienen especies acetotróficas son *Methanosarcina* y *Methanothrix*. El metano definitivo proviene de los sustratos ácido carbónico, ácido fórmico y metanol. El más vital es el carbónico, que se reduce a través del hidrógeno, producido adicionalmente en el grado anterior. (Moreno M. , 2011, p.22)

2.1.3. Microorganismos presentes en las fases de digestión anaerobia.

A. *Bacterias en la fase de hidrólisis.*

La hidrólisis es la descomposición biológica de polímeros orgánicos en moléculas más pequeñas (monómeros y dímeros) que son capaces de atravesar la membrana celular, este proceso se lleva a cabo por medio de enzimas denominadas hidrolasas, que son capaces de solubilizar la materia orgánica y romper enlaces específicos con ayuda de agua para poder ser utilizadas (Rodríguez, Gamboa, & Hernández, 2005, p.35).

La degradación anaeróbica ocurre especialmente en polímeros que incluyen celulosa y hemicelulosa, con la participación de enzimas celulasa. Se conocen tres variedades de esta enzima:

endocelulasa, responsable de romper los enlaces glucosídicos internos 1,4- β del polímero para convertirlo en moléculas más pequeñas; las oxixelulosas responsables de romper los enlaces glucosídicos 1,4- β de los polímeros disminuyeron por la endocelulasa obteniendo tetrámeros o dímeros y, posteriormente, las celobiasas o β -glucosidasas que hidrolizan las moléculas como resultado de la hidrólisis final en dos moléculas de glucosa (Almeida, Nafarrete, Alvarado, & Cervantes, 2014, p.5)

“Los microorganismos de muchos géneros son los responsables de la hidrólisis. Entre estos destacan: *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Propioni-bacterium*, *Sphingomonas*, *Sporobacterium*, *Megasphaera*, *Bifidobacterium*” (Moreno M. T., 2011 , p.24). “Dentro de las bacterias anaerobias, que participan en las fases de hidrólisis y acidogénesis, se encuentran *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Micrococcus* y *Clostridium* que interactúan con algunas bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*” (Diaz, Espitia, & Molina, 2002, p.46)

B. Bacterias en la fase de acidogénesis.

La mayoría de los microorganismos acidogénicos también participan de la hidrólisis. “El género *Clostridium*, *Paenibacillus* y *Ruminococcus* están presentes en todas las fases del proceso de fermentación, pero son dominantes en la fase acidogénica” (Moreno M. , 2011, p.25)

También “la clasificación de bacterias, se encargan de convertir azúcares, aminoácidos y lípidos en ácidos orgánicos, alcoholes y cetonas, acetato, CO_2 y H_2 , siendo el *Clostridium* el microorganismo que se encuentra principalmente realizando este proceso, aunque *Lactobacillus* y *Bacillus*, también lo hacen” (UCMC, 2015, p. 35)

La organización Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides representa el segundo grupo más grande de microorganismos en algún punto de las dos etapas primarias de descomposición. Sin embargo, dentro del segmento metanogénico representan menos del 5 % de los microorganismos completos. Esto sugiere que estos grupos son, en términos generales, responsables de la degradación de los compuestos monoméricos. (Moreno M. , 2011, p.24)

C. *Bacterias en la fase de Acetogénesis.*

“Esta fase en la cual se aceleran los procesos metabólicos bacterianos, con transformación enzimática o hidrólisis, de lípidos, polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos, en otros compuestos que serán utilizados como fuentes de energía y como transformación a carbono celular” (Marti, 2006, p.8).

En la acetogénesis, los ácidos grasos volátiles se transforman en ácido acético, dióxido de carbono e hidrógeno. El ácido acético se produce con la ayuda de mecanismos exclusivos: acetogénesis de hidrogenación, en donde el acetato (CH_3COO^-) se produce como el último producto de la reducción del dióxido de carbono (CO_2) más hidrógeno (H) y la acetogénesis por deshidrogenación en la que se inhiben las bacterias. por bajas cantidades de oxígeno (O_2) y, en consecuencia, sobreviven en asociaciones con microorganismos que comen hidrógeno junto con bacterias homoacetogénicas (fermentación láctica) y microorganismos que disminuyen el sulfato (Almedia, y otros, 2014, p.10). Las bacterias homoacetogénicas también son microorganismos anaeróbicos estrictos que catalizan la formación de acetato a partir de hidrógeno (H) y dióxido de carbono (CO_2). La reducción del dióxido de carbono en todos los homoacetógenos se produce utilizando la ruta acetil-CoA, esta ruta también es beneficioso para la fijación del carbono mediante el uso de bacterias sulfatorreductoras y la fermentación de

homoacetógenos para producir acetato porque el último producto” (Almedia, y otros, 2014, p.11)

“Dentro de los géneros más sobresalientes de las bacterias homoacetogénicas se encuentran *Clostridium acetium*, *Clostridium formicoaceticum* y *Acetobacterium woodii*” (Diaz, Espitia, & Molina, 2002, p.47)

Entendiéndose que, estas bacterias sólo pueden sobrevivir en simbiosis con el género que consume hidrógeno. “Todos los microorganismos acetogénicos tienen un período de regeneración de hasta 84 h. Donde las bacterias acetogénicas reductoras de sulfato son capaces de degradar lactato y etanol, pero no son capaces de degradar ácidos grasos y compuestos aromáticos” (Moreno M. , 2011, p.24)

D. Bacterias presentes en la fase de la metanogénesis.

Se entiende que el proceso de, metanogénesis es la etapa final de la digestión anaerobia. La formación de metano ocurre a partir de dos rutas importantes, la principal es el acetoclástico en el que los microorganismos se desarrollan principalmente de su sustrato (acetato) y la segunda es el hidrogenotrófico en el que los microorganismos crecen en sustratos que incluyen hidrógeno (H) y dióxido de carbono (CO₂). Su metabolismo se caracteriza con la ayuda de la integración de vías biosintéticas y bioenergéticas para la producción de ATP, de manera similar en ausencia de hidrógeno, oxidan compuestos para alcanzar electrones. (Parés & Juárez, 1997, p.47)

Por otro lado, las bacterias metanogénicas pueden considerarse el máximo crítico dentro del grupo de microorganismos anaerobios, ya que tienen la capacidad de proporcionar combustible de metano (CH₄) mediante la conversión de sustratos monocarbonados o con átomos de carbono relacionados mediante el uso de un enlace covalente que

consiste en acetato, H₂, CO₂, disposición, metanol y algunas metilaminas” (Schink, 1997, p.269)

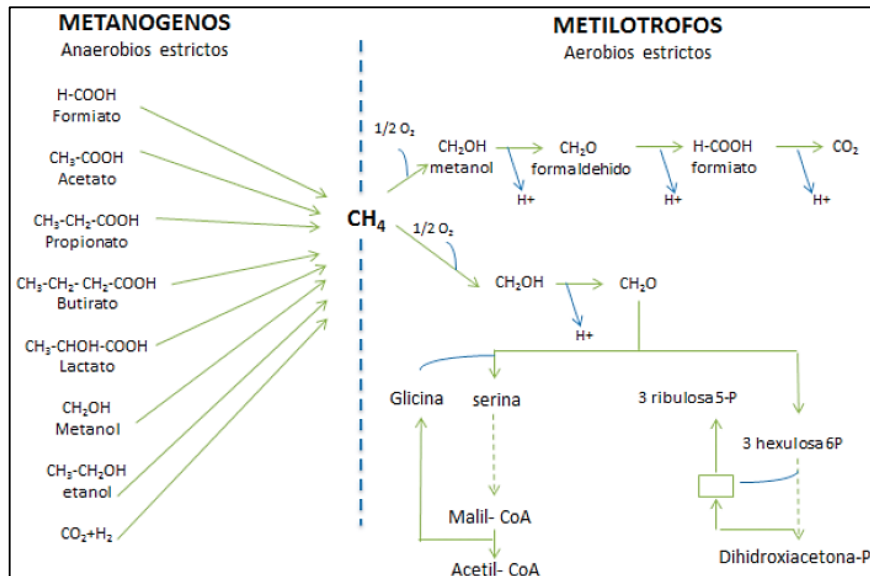


Figura 1. Metabolismo microbiano del metano.

Fuente: Tomado de Influence of Environmental Conditions on Methanogenic Compositions in Anaerobic Biogas Reactors, por Karakashev, Batstone, & Angelidaki, 2005

En la figura 1, la oxidación de CO₂ en color azul se localiza, incluso cuando la formación de esqueletos de carbono se acerca a la asimilación del formaldehído, que puede ser a través de la vía de la serina (izquierda) o por el ciclo del monofosfato de ribulosa (derecha). En esta dirección, se localizan las reacciones catalizadas por aldosas y trancetolasas. (Karakashev, Batstone, & Angelidaki, 2005, p.335).

El análisis del ARNr 16S ha permitido identificar aproximadamente unas 90 especies de metanógenas distribuidas en 5 clases distintas: Methanobacteria, Methanococci, Methanomicrobiota, Methanopyri y Methanosarcinales como también participan los Bacteroides sp, Clostridium sp, Bifidobacterium sp, Sphaerophorus sp, Fusobacterium sp, Veillonella sp, Peptococcus sp, Desulfovibrio sp. y otros como: Methanobacterium sp, Methanococcus sp, Methanospirillum sp, Methanobrevibacter sp,

Methanomicrobium sp como intervinientes. Estas bacterias abundan en ambientes donde se encuentran aceptores de electrones tales como O_2 , NO_3^- , Fe^{3+} , y SO_4^{2-} . Se encuentran en hábitats típicos como digestores anaerobios, sedimentos anoxicos, suelos de humedales y tractos gastrointestinales” (Karakashev, Batstone, & Angelidaki, 2005, p.333).

Los organismos metanogénicos se clasifican en el dominio de Archaea y, morfológicamente, como bacilos cortos y largos, cocos con asociaciones celulares distintivas, células formadas en placa y metanógenos filamentosos, cada Gram positivo y Gram negativo existen dependiendo del sustrato en el que se desarrollan. se pueden dividir en 3 entrenamientos principales: personas que usan un sustrato de tipo CO_2 , aquellos que usan un sustrato de tipo metilo o un sustrato de tipo acetato, de los cuales obtienen fuerza a través del sistema llamado metanogénesis (Madigan, Martinko, & Parker, 1999, p.583)

E. Bacterias presentes en la fase de la metanogénesis.

Las bacterias sulfatoreductoras son organismos anaerobios que pueden utilizar los sulfatos como aceptores finales en la respiración, reduciéndolo sin asimilarlo. “Los sulfatos son las sales o los esteres del ácido sulfúrico, contienen como unidad común un átomo de azufre en el centro de un tetraedro formado por cuatro átomos de oxígeno” (Torrado, Calixto, Sarmiento, & Panqueva, 2015, p.53).

Estas bacterias se pueden adaptar a distintos lugares o situaciones y se pueden determinar en numerosos entornos terrestres y acuáticos en los que se ha disminuido el oxígeno, debido a la descomposición aerobica del número de recuento orgánico, esta adaptación de microorganismos en diferentes entornos es visible en las vías de interacción, Figura 2. En esos entornos anaeróbicos, la fermentación de microorganismos puede extraer energía de grandes moléculas naturales,

produciéndose en pequeñas moléculas que incluyen ácidos orgánicos y alcoholes que pueden oxidarse con la ayuda de acetógenos y metanógenos (Torrado, Calixto, Sarmiento, & Panqueva, 2015, p.54). Estas bacterias se encuentran principalmente en ambientes anoxicos ricos en sulfatos. Se han encontrado en suelos, lodos estuarios, en agua dulce, aguas residuales y marinas, salubres, térmicas y geotérmicas, depósitos de azufre, en pozos de petróleo y combustible, y en el intestino de mamíferos e insectos. Las bacterias que disminuyen el sulfato son comunes en entornos anaeróbicos en los que ayudan dentro de la degradación del recuerdo natural (Torrado, Calixto, Sarmiento, & Panqueva, 2015, p.55)

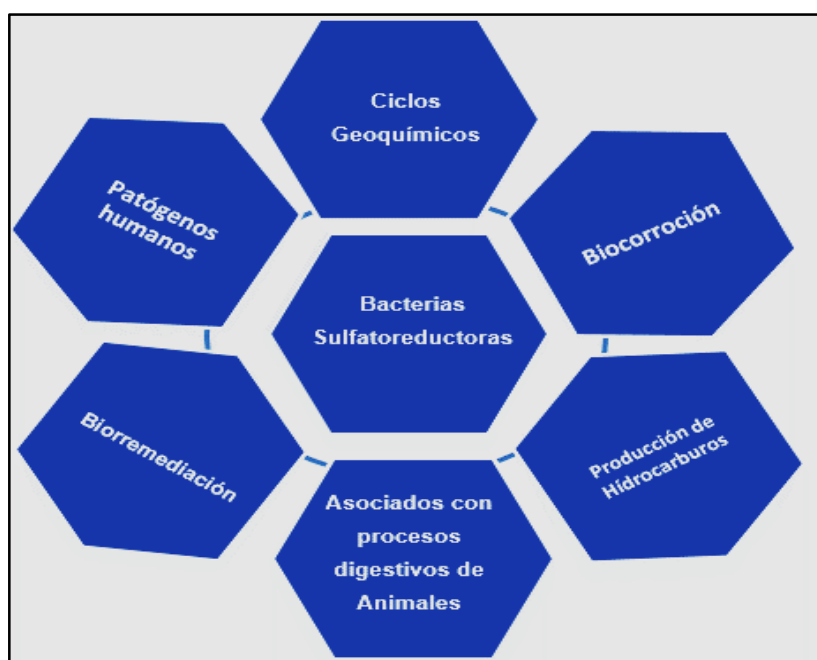


Figura 2. Vía de Interacción de las bacterias Sulfatoreductoras

Fuente: Torrado, Calixto, Sarmiento, & Panqueva, 2015.

F. Bacterias metanotróficas.

Las especies metanotróficas (especies que consumen metano) se encuentran presentes en todas partes, pero no son deseables en una planta de producción de biogás. “La mayoría de estos son aeróbicos. Estos microorganismos utilizan el oxígeno para degradar el metano y obtener su energía. Los productos

metabólicos son el agua y el dióxido de carbono. Los metanotróficos aeróbicos degradan aproximadamente el 17% de todo el metano en la atmósfera” (Moreno M. , 2011, p.24). Además de estos, existe otro grupo de metanotróficos, que es capaz de consumir metano, sin necesidad de oxígeno. Estos se encuentran en su mayoría en los sedimentos marinos. Los microorganismos metanotróficos sintetizan sus lípidos a partir del metano (Moreno M. , 2011, p.24)

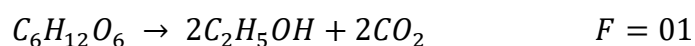
2.1.4. Tipos de fermentación.

A. *Fermentación alcohólica.*

Es el tipo de fermentación más antigua que se conoce, “es un proceso biológico que se lleva a cabo en ausencia de O_2 , originado por la actividad de algunos microorganismos. Produce etanol a partir de glucosa, aunque otras bacterias también producen alcohol, este es elaborado por otras vías” (Vázquez & Dacosta, 2014, p.6)

La fermentación alcohólica es un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de aire (*oxígeno* – O_2), originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares de tipo hexosa: como por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol cuya fórmula química es: $(CH_3 - CH_2 - OH)$, dióxido de carbono (CO_2) en forma de gas y unas moléculas de *ATP* que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.55).

La reacción de fermentación se representa por la siguiente ecuación:



La fermentación “alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a partir de la glucosa a los

microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno” (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.56)

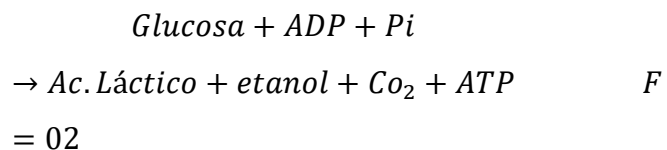
B. Fermentación heteroláctica.

En esta fermentación, su producto final, no es exclusivamente el ácido láctico como lo es la fermentación homoláctica, Figura 3. En este tipo de fermentación se pueden producir otros productos finales como ácido acético y ácido fórmico generados por bacterias del género *Bifidobacterium* (Yuan, 2006)

Las bifidobacterias “son un grupo predominante de la microflora del colon que puede representar hasta el 25 % del número total de bacterias presentes” (Devaraj, Hemarajata, & Versalovic, 2014, p.35)

Debido a su naturaleza heterofermentativa, las bifidobacterias pueden producir ácido láctico y etanol, así como varios ácidos grasos de cadena corta tales como ácido acético y ácido fórmico. Algunos investigadores también han mencionado la producción de pequeñas cantidades de dióxido de carbono y ácido succínico por parte de estos microorganismos (Meulen, Avonts, & Vuyst, 2004, p.12)

La reacción se representa por la siguiente ecuación:



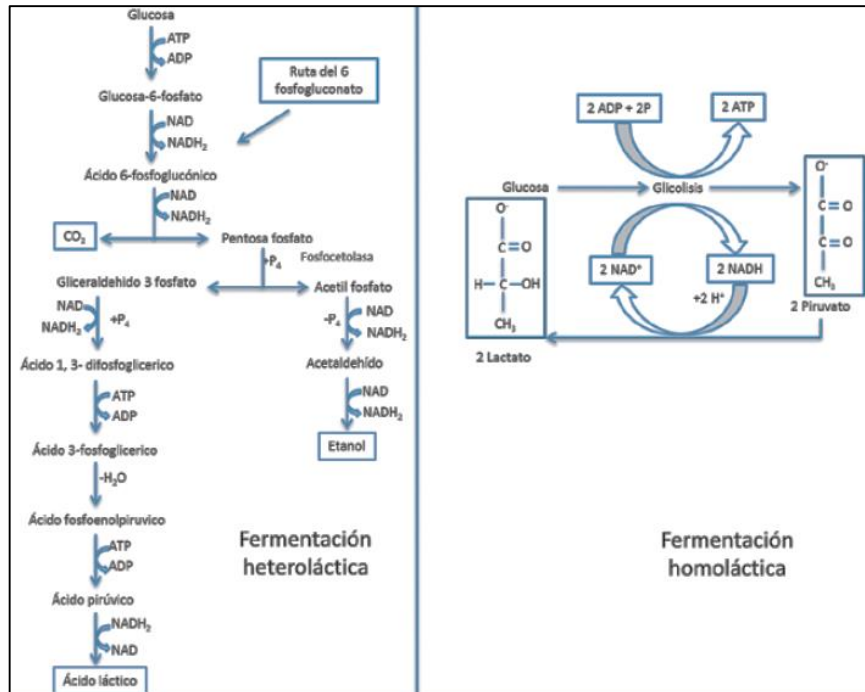


Figura 3. Fermentación Láctica

Fuente: Meulen, Avonts, & Vuyst, 2004

C. **Fermentación acetona-butanol.**

Es una variación de la fermentación ácido-mixta, Figura 4 en la que también se forman butanol, etanol, acetona e isopropanol, esta es una característica de algunas especies del género *Clostridium* Laramillo & Cardona (2014). La ruta metabólica para la producción de acetona-butanol-etanol está dada en dos diferentes fases, pero que tienen ciertas características de la fermentación que son nombradas comúnmente como fases de acidogénesis y solventogénesis. La primera fase está comprendida por la formación de ácido acético, butírico y ATP durante el crecimiento exponencial de las células. A esta fase le sigue otra donde el crecimiento va a ser estacionario, es en esta parte del proceso en que la solventogénesis toma lugar, los ácidos son asimilados, y la acetona-butanoletanol aparece como metabolitos secundarios (p.32).

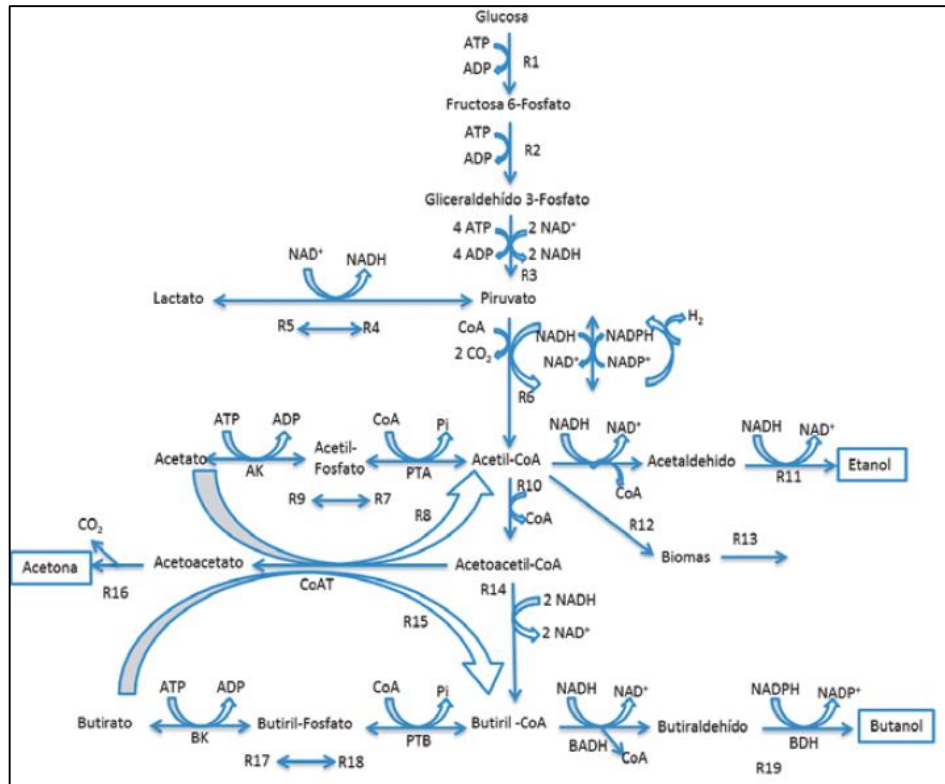


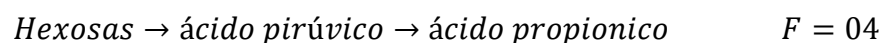
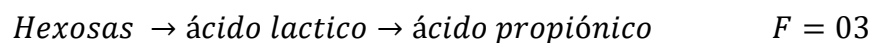
Figura 4. Fermentación Acetona - Butanol

Fuente: Laramillo & Cardona, 2014

D. Fermentación propiónica.

Los productos principales de este tipo de fermentación son ácidos propiónico, ácido acético, ácido succínico y dióxido de carbono, como se muestra en la Figura 5. “Es característica de las bacterias del género *Propionibacterium*, *Veillonella* y *Clostridium propionicum*, que pueden producir ácido propiónico utilizando el ácido láctico como sustrato, y algunas también a partir de polialcoholes, aminoácidos y otros ácidos orgánicos distintos al ácido láctico” (Tsiung & Hsu, 2014, p.26).

Los mecanismos de la fermentación propiónica de las hexosas se hacen de dos maneras:



(kosmider A, 1991)

Su ecuación fundamental es la siguiente:

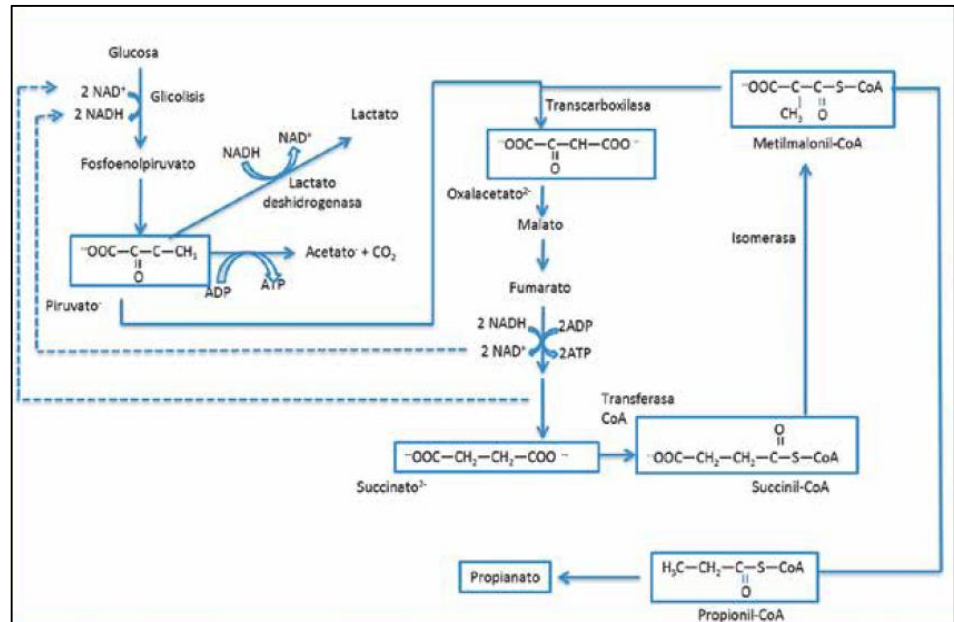
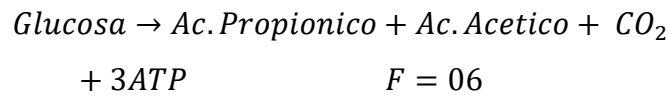
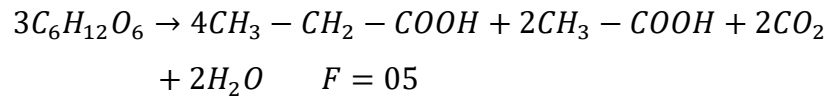


Figura 5. Fermentación propiónica, género *Propionibacterium*

Fuente: Tsiung & Hsu, 2014

E. Fermentación del ácido butírico.

Se presenta generalmente en bacterias del género *Clostridium*. “Si bien hasta ahora la referencia ha sido la fermentación de hidratos de carbono como procedimiento para obtener energía, se debe mencionar que otros compuestos orgánicos pueden ser fermentados, por ejemplo: aminoácidos (alanina, glicina)” (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.230).

2.1.5. Microorganismos eficientes

Los microorganismos eficientes, “funcionan como inoculante microbiano en un medio sólido y/o líquido que restablecen el equilibrio microbiológico del suelo, mejorando sus condiciones físico-químicas, incrementando la producción de los cultivos y su protección de mismo” (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.231).

2.1.6. Microorganismos eficientes y sus cinco grupos.

Conforme al orden natural, el mundo microbiano se puede clasificar, de una manera genérica, en tres grupos: el grupo de microorganismos regeneradores, el de los desintegradores, y el de los neutrales. La vida natural es un sistema cambiante, diverso y colectivo. Del mismo modo, el mundo microbiano está formado por una gran diversidad biológica, entre los que se encuentran las bacterias, levaduras y hongos, que se organiza en comunidades creando biotopos estables. Estos biotopos no permiten la reproducción excesiva de colonias individuales, ya que los microbios siguen al grupo que domina, organizando colectivamente el medio. Los microorganismos que están presentes en esta tecnología son del grupo de los regeneradores, siendo capaces de proteger el equilibrio y la salud del medio natural, de detener, directa o indirectamente, el proceso de descomposición y putrefacción en todas las sustancias, y de generar sustancias bioactivas (wordpress, 2014). Los microorganismos eficientes provienen de cinco especies únicas: bacterias fototróficas o fotosintéticas, bacterias de ácido láctico, levaduras, actinomicetos y hongos de fermentación. Estos microorganismos son ampliamente conocidos, ya que se han utilizado en remedios y en la fabricación de alimentos debido a los hechos históricos, siendo muy útiles para suelos, agua, flores, animales y, por supuesto, para las personas. Como se indicó en publicaciones anteriores, los microorganismos que representan la fórmula de esta tecnología no se han sintetizado ni alterado químicamente con ingeniería genética, se han seleccionado virtualmente de la misma naturaleza por sus características beneficiosas y han comenzado a actuar colectivamente (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.231).

A. *Bacterias fototróficas o fotosintéticas.*

Las bacterias fototróficas o fotosintéticas se encuentran en el arroz, en las algas verdes y en cualquier componente del suelo. “Son microorganismos autosuficientes que aprovechan la luz

solar y el calor del suelo como fuentes de energía para sintetizar las sustancias beneficiosas generadas por la segregación de las raíces, materia orgánica o gases nocivos (como el sulfuro de hidrógeno)” (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.232). Las sustancias útiles que sintetizan microorganismos fototróficos son los ácidos nucleicos, aminoácidos, materiales bioactivos y azúcares. Estos metabolitos o moléculas producidos durante el metabolismo son asimilados directamente por medio de la planta, fomentando su auge. Además, aparecer como sustratos permite el aumento de microorganismos fototróficos dentro del suelo, lo que favorece la multiplicación de otros microorganismos verdes. (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.233). El rendimiento de la bacteria segrega sustratos fotosintéticos o fototróficas que, por ejemplo, el crecimiento de las reservas de amino ácidos o aditivos de nitrógeno, que a su vez generan un auge en la cantidad de micorrizas (vesicular / arbuscular) VA. Micorrizas VA da fósforo para las plantas y se intensifica la solubilidad de los fosfatos en los suelos, y, además, mejora la voluntad de nitrógeno, debido al hecho de que es capaz de coexistir con Azotobacter como un organismo micro fijadoras de nitrógeno” (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.233).

B. *Bacterias acidolácticas (Lactobacillus plantarum)*

La bacteria del ácido láctico se “utiliza para elaborar alimentos y bebidas, como el queso, yogurt o derivados, desde hace mucho tiempo, porque generan ácidos a partir de azúcares y carbohidratos derivados de las bacterias fototróficas y las levaduras” (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.234). El ácido láctico producido con la ayuda de esta bacteria, al ser un esterilizador potente, puede atacar microorganismos peligrosos y estimular la descomposición del material orgánico. Además, eligen la fermentación de sustancias, junto con la celulosa,

evitando que se dañen esos materiales (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.234). Otra capacidad muy importante de la bacteria ácido láctica es la de eliminar la proliferación del *fusarium* (microorganismo patógeno que causa enfermedades en los cultivos) (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.235). “El aumento de colonias de *fussarium* hace que la planta sea más débil, lo que provoca la aparición de nematodos. Con la intervención de las bacterias de ácido láctico, se eliminan los *fussarium* y, con ellos, los nematodos” (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.235).

C. Actinomicetos o actinobacterias.

Los actinomicetos o actinobacterias son una categoría de bacterias Gram positivas. Tienen una estructura intermedia entre microorganismos y hongos, y contienen numerosos de los tipos más funcionales de existencia en la Tierra. En general, los actinomicetos están en el suelo y desempeñan una función ecológica vital dentro de la descomposición de la dependencia orgánica, reciclando las reservas de nutrientes dentro de la tierra y creando humus. A partir de los azúcares y aminoácidos producidos a través de bacterias fotosintéticas y recuento orgánico, los actinomicetos generan materiales antimicrobianos que pueden expulsar hongos dañinos y microorganismos patógenos. Los actinomicetos y las bacterias fotosintéticas pueden coexistir, por lo que las 2 especies aumentan colectivamente el hobby microbiano, regenerando la primera clase del suelo. (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.236).

D. Levaduras.

Las levaduras son usadas para elaborar pan, cerveza, vino, etc. Son hongos microscópicos de unicelulares capaces de descomponer materiales naturales a través de la fermentación, especialmente carbohidratos o azúcares, produciendo

materiales únicos. Las levaduras sintetizan y usan las sustancias antimicrobianas que están involucradas en el auge de la vida vegetal, a partir de los azúcares y aminoácidos producidos por bacterias fotosintéticas, además de la materia orgánica y las raíces de las plantas. Las levaduras producen materiales bioactivos, que incluyen enzimas y hormonas que aumentan la afinidad celular y la cantidad de raíces. Además, secretan sustratos que pueden ser beneficiosos para ciertos microorganismos efectivos, como los actinomicetos y las bacterias generadoras de ácido láctico (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.237)

E. Hongos de fermentación.

Los hongos de fermentación, como el *Aspergillus* y la *Penicilina*, “son capaces de descomponer rápidamente la materia orgánica, produciendo esteroides, alcohol y sustancias antimicrobianas. Este proceso genera la desodorización y evita la aparición de gusanos e insectos nocivos” (Vicent, Álvarez, & Zaragoza, 2006, p.238).

2.1.7. Procedimiento para el aislamiento de la bacteria *Lactobacillus plantarum* LPBM10.

La cepa LPBM10 se aisló en caldo MRS de leche fermentada naturalmente (sin inóculo) y se incubó a 37 °C durante cinco días en situaciones anaeróbicas. Luego se tomaron 01 ml de caldo MRS, se inocularon en agar MRS por profundidad y se incubaron en las mismas condiciones. Los aislamientos distintivos recibidos fueron examinados para catalasa, coloración de Gram y fabricación de esporas. La caracterización bioquímica de LPBM10 se completó con la verificación API 50CHL (bioMerieux, Inc.). Esto proporcionó la excelente conducta en algún momento de la evaluación de las propiedades probióticas y fue seleccionado para futuras investigaciones. (Salazar, 2003, p.26)

La microscopía electrónica de barrido (SEM) se llevó a cabo sobre un extendido de cultivo fresco de LPBM10 fijado por calentamiento. La extracción de plásmidos se hizo según la metodología descrita, en la cual la cepa LPBM10 fue almacenada a -80 °C en caldo MRS con glicerol al 20%" (Duan, 1999, p.10)

La caracterización de LPBM10 permite establecer que esta cepa corresponde a un microorganismo Gram positivo, catalasa negativa, que forma colonias de tamaño grande, cremosas, de color beige, con bordes homogéneos y cóncavos en agar MRS. LPBM10 tiene potencial probiótico, tal como lo indica su crecimiento a un pH ácido de 2,0 % y 0,3 % de sales biliares (Salazar, 2003, p.26). "La cepa LPBM10 fue identificada como *Lactobacillus plantarum* mediante características morfológicas y la fermentación de carbohidratos mediante la prueba API 50CHL (bio- Mérieux, Inc.)" (Schillinger & Locke, 1987, p.201). "La microscopía electrónica de LPBM10 muestra que esta bacteria tiene forma de varilla recta con extremos redondeados y dimensiones de ~ 0.7 μm x 1.6 μm (Véase figura 9). No se encontraron plásmidos asociados a LPBM10" (Salazar, 2003, p.27)



Figura 6. Microscopía electrónica de barrido de *Lactobacillus plantarum* LPBM10

Fuente: Salazar, 2003

2.1.8. Características de intervención de la bacteria *Lactobacillus plantarum* LPBM10.

Esta bacteria “es una especie importante en la fermentación de diversos productos vegetales, y es conocida por producir sustancias antimicrobianas, por ejemplo, el plantaricin, que es un activo agente 14 contra ciertos patógenos” (Cebeci & Gurakan, 2003, p.511). “*L. plantarum* es el inóculo para la producción de ácido láctico más común en el ensilaje (proceso de fermentación láctica que se realiza para preservar el forraje almacenado); como un inoculante del ensilaje no sólo acentúa la recuperación de la materia seca, sino que a menudo el desempeño animal es también es incrementado” (Cebeci & Gurakan, 2003, p.511)

Así las cepas “*L. plantarum* han comenzado a ser vendidas en mercado como un valioso probiótico, en particular por su adherencia en las células gastrointestinales. Estudios en que se simula el ambiente que las bacterias encontrarán al interior de un pez, ya han demostrado que si se administra el *L. plantarum* en las dosis adecuadas ($> 10^8$ UFC/día) éste cumple con su función probiótica” (Son *et al.* 2009)

2.1.9. Características de la fijación de Bacteriocina en *Lactobacillus plantarum* LPBM10.

El extracto celular de *Lactobacillus plantarum* LPBM10 mostró un efecto antimaterial contra bacterias Gram positivas como *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 1395); y microorganismos Gram negativas que incluyen *Salmonella tiphy* (ATCC 6539), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella* sp. Y *Serratia marcescens*. No se localizó ninguna actividad contra *Lactobacillus*, eso se explica por la proximidad entre cada especie que puede compartir un mecanismo de protección en oposición a sus propios compuestos antimicrobianos (Jack, Tagg, & Ray, 1995,

p.181). El efecto bactericida del extracto frente a las bacterias Gram negativas es interesante ya que pocos extractos de bacterias acidolácticas han mostrado actividad antimicrobiana frente a este grupo de bacterias. En *L. plantarum* se ha reportado actividad frente a bacterias Gram negativas con la plantaricina 35d (Messi P, 2001), y las bacteriocinas producidas por las cepas ST194BZ, ST414BZ y ST664BZ (Todorov, 2005, p.78)

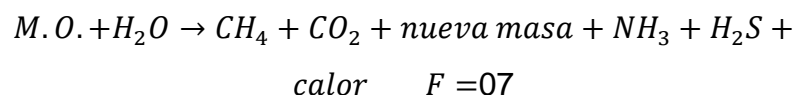
2.1.10. Capacidad catalítica del *Lactobacillus plantarum* LPBM10.

La cepa del "*Lactobacillus plantarum* LPBM10 en proceso de la actividad génica, en la fermentación de comporta acelerando el proceso junto a las demás poblaciones microbianas como los *Bacteroides*, *Lactobacillus Sp*, *Propioni-bacterium*, *Sphingomonas*, *Sporobacterium*, *Megasphaera*, *Bifidobacterium*, *aceticum*, *Clostridium formicoaceticum* y *Acetobacterium woodii*" (Varellen & Van, 1998, p.2).

Se analizó que el LP LPBM10 es preponderante en los procesos de fermentación en los componentes más rígidos como, la celulosa, pentosa, etc. Habiendo que se acelere el proceso tanto en los procesos de anabolismo y catabolismo activando su función lactántica y bactericida" (Varellen & Van, 1998, p.2)

2.1.11. Biodigestión anaeróbica.

En lo referente a la fermentación, o digestión anaerobia, es la utilización de microorganismos, en ausencia de oxígeno, para estabilizar la materia orgánica por conversión en metano y otros productos inorgánicos incluyendo dióxido de carbono.



Los beneficios del uso del proceso de digestión anaerobia son:

- ✓ Reducción del potencial contaminante del residuo.
- ✓ Mejoría del valor fertilizante-energético del residuo.

- ✓ Producción del biogás como fuente energética.

Al inicio de la digestión anaerobia, “la masa de polímeros complejos como proteínas, hidratos de carbono, lípidos, grasas y aceites se hidrolizan por la acción de enzimas extracelulares en productos solubles más sencillos de tamaño tan pequeño que les permite atravesar la membrana celular de los microorganismos” (Tavizón, 2010, p.34). Estos compuestos sencillos de aminoácidos, azúcares, ácidos grasos y alcoholes se fermentan en ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, amoníaco, hidrógeno y dióxido de carbono. Los ácidos grasos de cadena corta que no están en forma de acetatos se transforman en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono. El grado final es la fabricación de metano a partir de hidrógeno a través de metanógenos hidrógenos y a partir de acetatos a través de metanógenos acetoclásticos (Tavizón, 2010, p.34)

2.1.12. Desarrollo y aplicación de la digestión anaerobia.

El proceso de digestión anaerobia sucede de forma natural en los sedimentos marinos, en los estómagos de los rumiantes o en los pantanos, donde se dan las condiciones para que estas bacterias se desarrollen, aun siendo muy sensibles a las variaciones ambientales. Como resultado de la actividad de las bacterias anaerobias se obtienen un efluente establecido (cuya materia orgánica está en su forma más sencilla, sin probabilidad de volver a transformarse en condiciones ambientales) y el biogás (Tavizón, 2010, p.26)

El efluente o el biol se puede aplicar como fertilizante, “puesto que los nutrientes no son eliminados por las bacterias de la digestión anaerobia consiguiendo, así como producto un fertilizante orgánico de calidad variable en función de sustrato tratado” (Tavizón, 2010, p.30.)

El biogás, se puede utilizar directamente para cocinar, para alumbrado mediante lámparas de gas, no obstante, se toma en consideración de colocar un filtro antes de la combustión del biogás

ya que dentro de sus componentes hay agentes corrosivos que dañan los materiales de la cocina, lámpara, etc. (Tavizón, 2010, p.20).

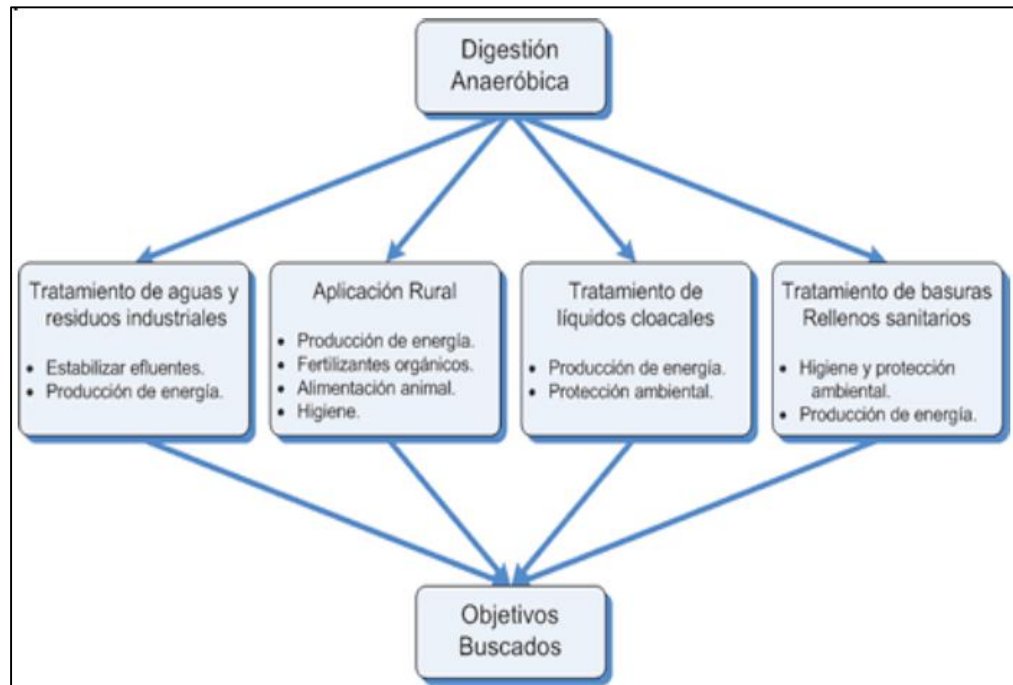


Figura 7. Esquema del uso de la digestión anaerobia

Fuente: Tavizón, 2010

2.1.13. Respiración anaerobia.

“Son procesos biológicos de oxidorreducción de monosacáridos y otros compuestos en el que el aceptor terminal de electrones es una molecular inorgánica distinta del oxígeno, y más raramente una molecular orgánica” (Hernández, Alfaro, & Arrieta, 2003, p.239). Se logra completamente mediante el uso de algunas organizaciones de bacterias y para esto utilizan una cadena de suministro de electrones análoga a la de las mitocondrias en la respiración anaeróbica. Ahora no debería ser confundido con la fermentación, que también es una forma anaeróbica, pero en lo que no se trata de una cadena de suministro de electrones y el último aceptor de electrones es constantemente un molecular orgánico (Hernández, Alfaro, & Arrieta, 2003, p.240). También manifiesta que el sistema respiratorio anaeróbico no utiliza oxígeno, sin embargo, utiliza una sustancia oxidante excepcional para la misma característica, incluido el sulfato

de nitrato. La bacteria con anaerobios respiratorios también implica una cadena de transporte de electrones en la que las coenzimas reducidas se reoxidan a lo largo de la oxidación de los sustratos de nutrientes; Tiene similitudes con la respiración aerobia, ya que está compuesta de elementos iguales (citocromos, quinonas, proteínas ferrosulfúricas, etc.), la diferencia más efectiva, en consecuencia, es que el aceptor final de electrones no siempre es oxígeno (Hernández, Alfaro, & Arrieta, 2003, p.240)

2.1.14. Factores determinantes en la producción de biogás.

En el procedimiento de biodegradación de la materia orgánica, es muy importante preservar algunas situaciones de trabajo del sistema, que sin demora están relacionadas con parámetros químicos que incluyen: El tipo de sustrato, temperatura, situaciones anaeróbicas, tiempo de retención, el pH entre otros. A continuación, se detallan los factores que ejercen el mejor efecto sobre el rendimiento de un sistema anaeróbico. (Bolívar & Ramírez, 2012, p.26).

Tabla 2

Parámetros de control y funcionamiento en la digestión anaerobia

Parámetro	Rango óptimo
Temperatura (°C)	30-35
pH	6,8 – 7,5
Relación C/N	20-30
Tiempo de retención (días)	10-25
Relación agua/solidos	6-10

Fuente: Bolívar & Ramírez, 2012.

Tanto la relación agua / sólidos como el tiempo de retención dependen del sustrato a cargar y de la temperatura respectivamente. Cabe anotar que las variaciones sustanciales en algunos otros parámetros como el pH y la relación C/N pueden redundar en cambios en la eficiencia de digestión o detenimiento del proceso fermentativo (Bolívar & Ramírez, 2012, p.27)

2.1.15. Naturaleza y composición de la materia prima.

Las diversas materias primas que se pueden utilizar en la fermentación metanogénica, pueden ser residuos orgánicos de origen vegetal, animal, agroindustrial, forestal, doméstico u otros (en el proyecto presente se trabajó con biomasa orgánica residual - BOR) (Hernández, Alfaro, & Arrieta, 2003, p.301)

Tabla 3

Residuos orgánicos de diversos orígenes

Residuos de origen animal	Estiércol, orina, guano, camas, residuos de mataderos (sangre y otros), residuos de pescado.
Residuos de origen vegetal	Maleza, rastrojos de cosechas, pajas, forraje en mal estado.
Residuos de origen humano	Heces, basura, orina.
Residuos agroindustriales	Salvado de arroz, orujos, casetas, malezas, residuos de semillas.
Residuos forestales	Hojas, vástagos, ramas y cortezas
Residuos de cultivos acuáticos	Algas marinas, Jacinto y malezas acuáticas.

Fuente: Bolívar & Ramírez, 2012

Las características bioquímicas que presenten estos residuos deben permitir el desarrollo y la actividad microbiana del sistema anaeróbico. El proceso microbiológico no solo requiere de fuentes de carbono y nitrógeno, sino que también deben estar presentes en un cierto equilibrio sales minerales (azufre, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, cobalto, selenio, tungsteno, níquel y otros menores). Normalmente las sustancias orgánicas como los estiércoles y lodos cloacales presentan estos elementos en proporciones adecuadas (Hernández, Alfaro, & Arrieta, 2003, p.96). “Sin embargo, en la digestión de ciertos desechos industriales puede presentarse el caso de ser necesaria la adición de los compuestos enumerados o bien un post tratamiento aeróbico” (Bolívar & Ramírez, 2012, p.29)

Los valores tanto de producción como de rendimiento en gas de la “Biomasa Orgánica Residual BOR (estiércoles) presentan grandes diferencias. Esto es debido al sinnúmero de factores que pueden

intervenir en el proceso, que hacen difícil la comparación de resultados” (Bolívar & Ramírez, 2012, p.28)

Tabla 4

Composición química (valores promedios – base seca).

Materia Prima	Lípidos (%)	Proteínas (%)	Celulosa Hemicelulosa (%)	Lignina (%)	Ceniza (%)
Porcino	11.50	10.95	32.39	21.49	23.67

Fuente: Bolívar & Ramírez, 2012.

Tabla 5

Rango de niveles de nutrientes.

Materia Prima	C (%)	N (%)	P ₂ O ₅ (%)	K ₂ O (%)	CaO (%)	MgO (%)
Porcino	17.4 – 46.0	1.1 – 2.5	0.4 – 4.6	0.30	0.09	0.10

Fuente: Bolívar & Ramírez, 2012.

La degradación o descomposición de la materia orgánica es compleja y difícil de tratar en detalle, todos los problemas que surgen. Simplificando este caso, los activos carbonatados más utilizados por los microorganismos quimiotróficos son los glúcidos y los carbohidratos y estos compuestos orgánicos, especialmente hexosas, que se degradan por vías metabólicas únicas. (Hernández, Alfaro, & Arrieta, 2003, p.95). Los fragmentos que alimentan estos procesos cíclicos, por un lado, dan origen a las cadenas de carbono que participan en la formación de células microbianas recientes y, al mismo tiempo, se utilizan en oxidaciones y reducciones biológicas que podrían estar relacionados con la síntesis de moléculas ricas en energía (Moreno M. T., 2011, p.33).

Tabla 6

Producción de biogás por tipo de residuo animal (valores promedios)

BOR (estiércol)	Disponibilidad Kg/día*	Relación C/N	Volumen de biogás	
			m ³ /Kg húmedo	m ³ /día/año
Porcino (50 Kg)	2.25	13:01	0.06	0.135

Fuente: Bolívar & Ramírez, 2012

“El dato se refiere a la cantidad estimada de estiércol que es posible recolectar de todo el producto”.

2.1.16. Relación carbono/nitrógeno de las materias primas

Todos los organismos necesitan de nutrientes para crecer y reproducirse, las cantidades varían manteniendo una relación constante unos con respecto a otros. El carbono es la fuente de energía y el nitrógeno de las nuevas cadenas de bacterias metanogénicas. Estas bacterias consumen 30 veces más carbono que nitrógeno, por lo que la proporción principal es del orden de 30: 1. Si hay exceso de nitrógeno, se produce amoníaco en grandes porciones que es un inhibidor, si por el contrario hay poco nitrógeno, las bacterias no lo hacen. multiplicación por más tiempo y, en consecuencia, la fabricación de biogás puede verse limitada (Moreno M. , 2011, p.35) .Sobre la base del contenido de carbono y de nitrógeno de cada una de las materias primas (Tabla 09) se puede calcularse la relación C/N de la mezcla aplicando la siguiente formula.

$$K = \frac{C1 * Q1 + C2 * Q2 + \dots Cn * Qn}{N1 * Q1 + N2 * Q2 + \dots Nn * Qn} \quad F = 08$$

K = C/N de la mezcla de materias primas.

C = % de carbono orgánico contenido en cada materia prima.

N = % de nitrógeno orgánico contenido en cada materia prima.

Q = Peso fresco de cada materia, expresado en kilos o toneladas.

Desde el punto de vista práctico es aconsejable manejarse con medidas volumétricas y determinar los parámetros: Densidad (D), Masa (M) y Volumen (V) a partir de la fórmula:

D = M/V, expresando la masa en kilos o toneladas y el volumen en litros o metros cúbicos.

Tabla 7

Valores promedios aproximados de la relación carbono/nitrógeno de algunos residuos disponibles en el medio rural.

Materiales / Residuos Animales	% C	% N	C/N
Porcinos	25	1.50	16:1

Fuente: Varnero y Arellano, 1991

2.1.17. Niveles de sólidos totales y sólidos volátiles.

Todo recuento orgánico consiste en agua y una fracción sólida conocida como sólidos generales (ST). El porcentaje de sólidos generales contenidos en el agregado con el que se carga el digestor es algo esencial a tener en cuenta para garantizar que la técnica se realice satisfactoriamente. La movilidad del microorganismo metanogénico dentro del sustrato es cada vez más limitada debido a que el contenido de sólidos aumenta y, en consecuencia, el rendimiento del gas y la fabricación del gas pueden verse afectados. (Moreno M. , 2011, p.36)

Experimentalmente se ha demostrado que “una carga en digestores semicontinuos no debe tener más de un 8 % a 12 % de sólidos totales para el buen funcionamiento del proceso, a diferencia de los digestores discontinuos, que tienen entre un 40 a 60% de sólidos totales” (Moreno M. , 2011, p.36)

“Para calcular el volumen de agua que se debe mezclar con la materia prima para dar la proporción adecuada de sólidos totales, es necesario conocer el porcentaje de sólidos totales de la materia prima fresca” (Moreno M. , 2011, p.36)

Tabla 8

Datos promedios sobre el contenido de sólidos totales de diversos residuos.

Materia Prima / Residuos Animales	% de solidos totales
Porcino	15.0 – 49.0

Fuente: Moreno M. , 2011

Los sólidos volátiles contienen componentes orgánicos, los que teóricamente deben ser convertidos a metano para fines de valorizar los porcentajes.

2.1.18. Condiciones de temperatura.

La temperatura es uno de los parámetros más cruciales que a la vez influye en el desarrollo de la digestión anaeróbica, entre otras cosas porque con esto se decide el tiempo de retención de la mezcla dentro del digestor. Hay 3 niveles de temperatura más satisfactorios para el correcto funcionamiento del procedimiento de aumento bacteriano y digestión del MO, en el que está muy organizado y se describe de la siguiente manera: psicrófilo (<25 °C), mesofílico (entre 25 °C y 45 °C) y termofílica (> 45 °C) (Bolívar & Ramírez, 2012, p.27)

Es vital que el auge de la temperatura sea directamente proporcional al crecimiento bacteriano y la conversión metabólica, a pesar de esto, el procedimiento necesita un equilibrio adicional, necesidades de fuerza, excelentes versiones en los grados de temperatura termofílica que infligen mortalidad bacteriana, en consecuencia, se detiene o disminuye procedimiento de digestión y aumentará el tiempo de retención (Bolívar & Ramírez, 2012, p.27). Por lo tanto, se entiende que es de suma importancia mantener la temperatura adecuada dentro del digestor, en donde el rango mesofílico es el más correcto y fácil de manipular, de manera similar que los cambios sorprendentes pueden aumentar o disminuir la digestión y muchas menos posibilidades de mortalidad bacteriana (Bolívar & Ramírez, 2012, p.27)

Tabla 9

Comparación de rendimiento de gas con materiales a diferente temperatura respecto BOR distintos.

Materiales	Mesofílico (35°C) m ³ /día	Ambiente (8-25 °C) m ³ /día
Estiércol de cerdo	0,42	0,25-0,3
Estiércol de vaca	0,3	0,2-0,25
Estiércol de humano	0,43	0,25-0,3

Fuente: Bolívar & Ramírez, 2012

La muestra el rendimiento a diferentes temperaturas de acuerdo a un tipo de sustrato diferente, se observa como la variación de la temperatura es directamente proporcional a la generación de biogás.

2.1.19. Nivel de acidez – pH.

El pH es uno de los parámetros que ejerce un impacto de alta calidad en la estabilidad del proceso, ya que es una de las variables que regula la coexistencia de las poblaciones de microorganismos, aunque no genera una tarifa entregada de inmediato. a la eficiencia del biogás si es lejos un parámetro de control para la subsistencia de microorganismos degradantes. Las bacterias responsables del mecanismo de fabricación de biogás son claramente sensibles a las modificaciones en el pH (Bolívar & Ramírez, 2012, p.28)

Los ácidos grasos volátiles (AGV) y el acetato tienden a disminuir el pH del sustrato. Si las bacterias metanogénicas ahora no convierten rápidamente los AGV, ya que se producen a través de bacterias acetogénicas, adquieren y disminuyen el pH dentro del digestor. Un pH más bajo resulta dentro de la inhibición del crecimiento de bacterias metanogénicas. Esto produce una disminución en la producción de metano y el material con contenido de dióxido de carbono crece, lo que a su vez produce olores desagradables debido al auge del material con contenido de sulfuro de hidrógeno. El valor óptimo de pH más útil para los orgánicos depende de digerir en el digestor es entre 6,6 y 7,6. Fuera de esos niveles, la producción de metano puede incluso prevenir (Bolívar & Ramírez, 2012, p.28)

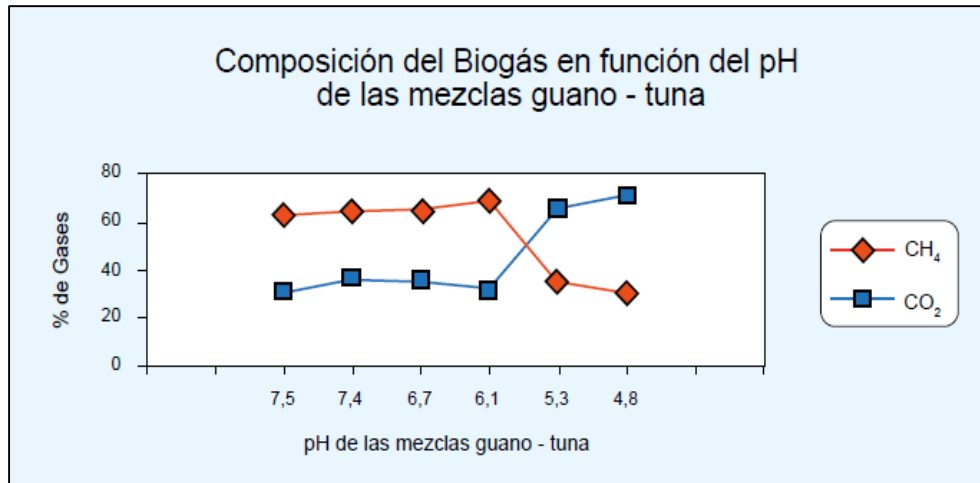


Figura 8. Composición del biogás en función del pH de la mezcla de materias primas
Fuente: Moreno M. , 2011

2.1.20. Tiempo de retención hidráulica y velocidad de carga orgánica.

Con este término se designa al volumen de sustrato orgánico cargado diariamente al digestor. Este valor tiene una relación inversa con el tiempo de retención, ya que a medida que aumenta la carga volumétrica disminuye el tiempo de retención. El tiempo de retención, junto con la velocidad de carga orgánica determinada por el tipo de sustrato, son los principales parámetros de diseño, definiendo el volumen del digestor (Moreno M. , 2011, p.41). “La materia orgánica o sólidos volátiles (SV) se refiere a la parte de la materia seca (MS) o sólidos totales (ST), que se volatilizan durante la incineración a temperaturas superiores a 550 °C” (Moreno M. , 2011, p.41) Los residuos animales pueden tener un contenido de MS adicional al 10 % de la combinación de agua de estiércol. De acuerdo con los requisitos operativos para un reactor anaeróbico, el contenido de MS no debe exceder el 10 % de la combinación de agua de estiércol en la mayoría de los casos. Por lo tanto, los residuos agrícolas deben diluirse antes de ser tratados (Moreno M. , 2011, p.41)

Donde la eficiencia de la producción de biogás se determina generalmente expresando el volumen de biogás producido por unidad de peso de MS o SV. “La fermentación de biogás requiere un cierto rango de concentración de MS que es muy amplio, usualmente desde

1 % al 30 %. La concentración óptima depende de la temperatura” (Moreno M. , 2011, p.41)

Las bacterias requieren un tiempo para degradar las especies naturales. La tasa de degradación depende en gran medida de la temperatura; cuanto mejor sea la temperatura, menor será el tiempo de retención o fermentación para obtener una gran producción de biogás. Si el uso del estiércol de animales de granja se toma como un ejemplo típico, la TRH varía con la temperatura común de cada región, con la variación estacional (Moreno M. , 2011, p.41)

En un digestor que opera a régimen estacionario o discontinuo, el tiempo de retención es el que transcurre entre la carga del sistema y su descarga (Moreno M. , 2011, p.41)

2.1.21. Tóxicos e inhibidores del proceso metanogénico.

El proceso de digestión anaeróbica se inhibe al usar la presencia de sustancias venenosas dentro del dispositivo. Estos materiales pueden ser parte de la materia prima que ingresan al digestor o pueden ser productos derivados del interés metabólico de los microorganismos anaerobios. Las sustancias que incluyen amoníaco, metales pesados, compuestos halogenados, cianuro y fenoles, son parte del primer grupo, incluso cuando el azufre, el amoníaco y los ácidos grasos de cadena larga son parte de la última institución a la que se hace referencia. Curiosamente, varias bacterias anaerobias pueden degradar compuestos orgánicos refractarios. (Moreno M. , 2011, p.46) En algunos casos, “la magnitud del efecto tóxico de una sustancia puede ser reducido significativamente mediante la aclimatación de la población de microorganismos al tóxico. Por otra parte, muchas de estas sustancias a bajas concentraciones pueden ser estimuladoras del proceso” (Moreno M. , 2011, p.46)

2.1.22. Nutrientes en el proceso.

Las materias primas fermentables están cubiertas dentro de un amplio espectro de biomasa vegetal, heces animales y humanas, aguas residuales y residuos de cultivos. La forma microbiológica que ahora no es más efectiva requiere recursos de carbono y nitrógeno, pero las sales minerales (azufre, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, molibdeno, zinc, cobalto, selenio, tungsteno) también se deben encontrar de manera segura. equilibrar). Níquel y diferentes menores). En lo que concierne al BOR de los animales en la degradación de cada uno de ellos, dependerá fundamentalmente del tipo de animal y la alimentación que hayan recibido (Bolívar & Ramírez, 2012, p.29).

En cuanto a la cantidad de BOR producida por medio de las distintas especies animales, varían según el peso y el tipo de alimentación y manejo de los mismos. Los valores de cada producción y el rendimiento de gas del estiércol presentan variaciones masivas, aunque existen numerosos valores teóricos, hay diferentes elementos que afectan la producción de biogás que entran en juego con el número de recuento orgánico digerido, esto es debido a la variedad de factores que intervienen que hacen que la evaluación de las consecuencias sea muy difícil. Es crucial mencionar que todo tipo de dependencia natural en su degradación tiene una capacidad de tecnología de metano. (Bolívar & Ramírez, 2012, p.29)

Tabla 10

Potencial de producción de metano

BOR (Residuo Orgánico)	$PCH_4(m^3CH_4/Kg SV)$
Cerdo	0.45

Fuente: Bolívar & Ramírez, 2012

Las diferencias de composición y características de la BOR porcinas impactan en la diferencia en la digestión y en los niveles de generación de biogás y bioabono como apreciamos en la tabla 10.

Según Vanero Moreno al igual que en todas las operaciones bioquímicas, se requieren macronutrientes (nitrógeno y fósforo) y micronutrientes (minerales traza) en el proceso anaeróbico para la síntesis de nueva biomasa. Sin embargo, una de las ventajas de los procesos de digestión anaeróbica, frente a los procesos aeróbicos, es su baja necesidad de nutrientes derivada de los bajos índices de producción de biomasa que presentan los microorganismos anaeróbicos. La cantidad de nitrógeno y fósforo requerido para la síntesis de biomasa puede calcularse asumiendo la fórmula empírica de una célula bacteriana anaeróbica como $C_5H_7O_2N$. La masa celular consiste de aproximadamente 12 % de nitrógeno, lo cual significa que unos 12 g de nitrógeno se requieren por cada 100 g de biomasa anaeróbica producida (Varnero, 2011, p.20).

2.1.23. Ácidos grasos volátiles.

Al igual que el sulfuro y el amoníaco, las formas no ionizadas de AGV inhiben las bacterias metanogénicas cuando presentan concentraciones de 30-60 mg/L. Un aumento en la concentración de ácidos volátiles en el sistema, implica una desestabilización del proceso y, en consecuencia, una disminución de la producción de biogás (Moreno M. , 2011, p.47).

2.1.24. Nitrógeno amoniacal.

El amoníaco puede estar presente dentro de las sustancias primas que ingresan al digestor o puede producirse durante la degradación anaeróbica de los compuestos naturales de nitrógeno que incluyen proteínas o aminoácidos. Las proteínas típicamente contienen 16 % de nitrógeno. Durante la forma anaeróbica, el nitrógeno natural se hidroliza dando lugar a formas amoniacales. Aunque el nitrógeno amoniacal es un nutriente esencial para el crecimiento bacteriano, la conciencia excesiva también puede restringir su aumento. (Moreno M. , 2011, p.47)

El nitrógeno amoniacal es “la suma del ión amonio (NH_{4+}) y del amoníaco NH_3 . Ambas especies se encuentran en equilibrio químico, y la concentración relativa de cada una depende del pH, tal indica la ecuación de equilibrio” (Moreno M. , 2011, p.47)



Tabla 11

Concentración de amoníaco y su efecto en el proceso de digestión anaeróbica.

Amoniaco-N (mg/L)	Efectos
50-100	Beneficios
200-1000	Sin efectos adversos
1500-3000	Efectos inhibitorios a niveles de pH altos
Sobre 3000	Toxico

Fuente: Moreno M. , 2011

2.1.25. Sulfuros y sulfatos.

La presencia de concentraciones excesivas de sulfato dentro del sustrato puede motivar la inhibición del sistema anaeróbico, en particular de la metanogénesis. En presencia de sulfatos, las bacterias metanogénicas compiten con los sulfato-reductores que reducen el sulfato por los sustratos iguales (acetato e hidrógeno), mostrando las últimas bendiciones termodinámicas y cinéticas sobre las anteriores. (Moreno M. , 2011, p.48)

El resultado de esta oposición decidirá el porcentaje de sulfuro de hidrógeno y metano dentro del biogás producido. El sulfuro también es un inhibidor para muchas empresas bacterianas. El azufre se puede producir a lo largo de la degradación del recuerdo natural que contiene azufre (proteínas), observado en residuos que incluyen guano de cerdo. En general, los metanógenos son más sensibles que los acidógenos y acetogénicos, y comienzan a ser venenosos con una conciencia de cincuenta mg/l, si los microorganismos metanogénicos no se aclimatan a los sulfuros (Moreno M. , 2011, p.48). “La forma más

tóxica para los metanogénicos corresponde a la no ionizada (H_2S), por lo que la inhibición se favorece a pH bajos y a bajas temperaturas. La forma ionizada (HS^-) presenta menor toxicidad” (Moreno M. , 2011, p.48).

Por lo tanto, “la inhibición tiene dos etapas, la primera debida a la competencia por el sustrato entre los microorganismos metanogénicos y sulfato-reductores y la segunda es una inhibición directa del crecimiento metanogénico por la presencia de sulfuros solubles” (Moreno M. , 2011, p.48)

2.1.26. Cationes y metales pesados.

"Los cationes de los metales alcalinos y alcalino-térreos tienen un efecto estimulador de la actividad de las bacterias a bajas concentraciones. A partir de un nivel de concentración, pueden proporcionar toxicidad provocando una disminución de la velocidad de crecimiento. Donde la toxicidad de los cationes aumenta con el peso molecular, por lo que los metales pesados son los que provocan toxicidad a menor concentración”. El orden de toxicidad de los metales pesados es $Ni > Cu > Cr (IV) \sim Cr (III) > Pb > Zn$.

Los niveles de inhibición varían mucho en función de varios factores. “Si la introducción del catión en el reactor se produce de forma gradual, los microorganismos pueden aclimatarse y el efecto tóxico es menor. Los metales solubles representan mayores problemas para el proceso que las formas insolubles. La presencia de sulfuros también disminuye la toxicidad de metales mediante la formación de sulfuros de metal insolubles (con excepción de cromo), los cuales precipitan, pudiendo llegar a tolerarse elevadas concentraciones de metales basados en estos casos. Aproximadamente 0.5 mg de sulfuro es necesario para precipitar 1.0 mg de metal. En cuando se presentan combinaciones de estos cationes, el efecto que se produce es más complejo. Algunos actúan antagónicamente, reduciendo la toxicidad, y otros actúan sinérgicamente aumentándola”.

2.1.27. Potencial redox.

Para el adecuado crecimiento de los anaerobios que están obligados en el valor del potencial redox, se debe mantener entre -220 mV a -350 mV a pH 7.0 de manera de asegurar el ambiente fuertemente reductor que las bacterias metanogénicas necesitan para su óptima actividad. Cuando se cultivan metanogénicas, se incorporan agentes reductores fuertes tales como sulfuro, cisteína o titanio III para ajustar el medio a un potencial redox adecuado (Varnero, 2011, p.30)

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Biodigestores.

Es un contenedor cerrado herméticamente en condiciones anaerobias (ausencia de oxígeno) se optimiza naturalmente el crecimiento y proliferación de un grupo de bacterias que descomponen los residuos ingresados, teniendo en cuenta que estos digestores son una valiosa alternativa de tratamiento de desechos orgánicos. Como fruto de este proceso se obtiene un gas combustible o biogás que posee aproximadamente 66 % de metano y 33 % de dióxido de carbono, el cual puede ser utilizado y convertido en forma de energía para sustentar algún requerimiento como calefacción, generación de energía entre otros. Adicionalmente el efluente generado es un compuesto rico en nutrientes y un fertilizante de importantes propiedades para el suelo (Hernan, 2012)

También se entiende que “un digestor de desechos orgánicos o biodigestor es un contenedor cerrado, hermético e impermeable, dentro del cual se deposita el material orgánico a fermentar, este puede ser excrementos de animales y humanos, desechos vegetales, etcétera, en determinada dilución de agua para que a través de la fermentación anaerobia se produzca gas metano y fertilizantes orgánicos ricos en nitrógeno, fósforo y potasio, y además, se

disminuya el potencial contaminante de los excrementos” (Hernan, 2012)

2.2.2. Hidrolisis.

Literalmente significa destrucción, descomposición o alteración de una sustancia química por el agua. En el estudio de las soluciones acuosas de hidrolitos, el termino hidrolisis se aplica especialmente a las reacciones de los cationes (iones positivos) con el agua para producir una base débil, o bien, a las de los aniones (iones negativos) para producir un ácido débil. Entonces se dice que la sal de un ácido débil o de una base débil, o de ambos, de un ácido débil y de una base débil, hasta hidrolizada. El grado de hidrolisis es la fracción del ion que relaciona con el agua. El termino solvólisis se emplea para las reacciones de solutos con solventes en general (Contreras, 2015).

Es una reacción química entre dos moléculas de agua y otra molécula, en la cual la molécula de agua se divide y sus átomos pasan a formar unión de otra especie química. Esta reacción es importante por el gran número de contextos en los que el agua actúa como disolvente.

2.2.3. Acidogénesis.

“La acidogénesis implica la conversión bacteriana de los compuestos producidos en la primera etapa de la digestión anaerobia, en compuestos intermedios identificables de menor peso molecular” (Hernan, 2012, p.15)

2.2.4. Acetogénesis.

“Es el proceso a través del cual las bacterias anaerobias producen acetato a partir de diversas fuentes de energía como del hidrógeno, carbono etc” (Hernan, 2012, p.16)

2.2.5. Metanogénesis.

“Es la formación de metano por parte de los seres vivos en la cual realiza una forma de metabolismo microbiano muy importante y

extendida, en el mayor de los entornos es el paso final de la descomposición de la biomasa” (Hernan, 2012, p.17)

2.2.6. Agentes de inhibición.

“El control del crecimiento de los microorganismos se puede realizar por: inhibición, lo impide el crecimiento exponencial microbiano, y que el oxígeno, los metales, el calcio, el magnesio, el potasio, el sodio, el amoníaco, el cianuro entre otros son cofactores dentro de un proceso crecimiento microbiano que a la misma vez son inhibidores si se desprecina los medios de cultivo” (Hernan, 2012, p.3)

2.2.7. Biomasa orgánica residual (BOR)

“Es el compuesto orgánico biológico de última descarga, como son los restos fecales, los restos de orina y todo resto de los seres biológicos después de metabolizar la materia orgánica son expulsados por deyección en forma de residuo de última cadena biológica en el cuerpo biológico” (Hernan, 2012, p.7)

2.2.8. Biogás.

“Es un gas de combustión que es producido a partir de la composición de desechos orgánicos por vía anaerobia controlada” (Hernan, 2012, p.1)

2.2.9. Bioabono.

“También conocido como abono orgánico, que es producido a partir de la fermentación y/o descomposición de la materia orgánica (en su mayoría de BOR) en procesos controlados (digestores anaerobios) sin usar componentes sintéticos para su optimización en la generación de ATP y CHOM como parámetros de uso para suelos desérticos” (Hernan, 2012, p.12)

2.2.10. Biol.

“El Biol es resultado de la fermentación de estiércol y agua a través de la descomposición, transformaciones químicas de residuos

orgánicos en un ambiente anaerobio. Tras salir del biodigestor, este material no huele y no atrae insectos una vez utilizado en suelos” (Hernan, 2012, p.3)

2.2.11. Biosol.

“Es un fertilizante en proporción de peso y volumen casi de 0,9 a 01 respecto a los residuos entrantes en un proceso de digesto anaerobia, que son vertientes de salida después del proceso en ausencia de oxígeno que son ricos en nutrientes orgánicos benéficos para el agro” (Hernan, 2012, p.3)

2.2.12. Digestión aeróbica.

“Es el proceso de la descomposición de la materia orgánicos en presencia del oxígeno como interviniente fundamental” (Hernan, 2012, p.6)

2.2.13. Metabolismo.

“Es el conjunto de procesos físicos y químicos y de reacciones a las que se está sujeta una célula las mismas que les permite realizar sus principales actividades como la reproducción, el crecimiento, el mantenimiento de sus estructuras y la respuesta a los estímulos que reciben para su supervivencia” (Hernan, 2012, p.6)

2.2.14. Catabolismo.

Se refiere de nuevo a la forma orgánica por la cual los factores únicos se reducen a su forma más efectiva, a las moléculas que los compusieron en un momento anterior a convertirse en complejos. También es responsable del crecimiento de la energía que el anabolismo necesita para la síntesis de hormonas, enzimas, azúcares y otros materiales que se producen en el auge celular (Hernan, 2012, p.7)

2.2.15. Anabolismo.

“Es la que constituye o reorganiza las moléculas a través de una serie de reacciones químicas, convirtiéndolas en unas más complejas normalmente durante este proceso es necesario la utilización de energía” (Hernan, 2012, p.7)

2.2.16. Reactor.

“Es un sistema de entrada y salida con procesos controlados mediante fines específicos de producción, validados en reacciones químicas, físicas y biológicas, basados en fundamentos básicos de la materia” (Hernan, 2012, p.7)

2.3. Hipótesis

2.3.1. Planteamiento del problema.

Uno de los retos de nuestros días es conseguir un desarrollo sostenible, es decir, hacer compatible la calidad del medio ambiente con el desarrollo económico como parte fundamental de la problemática ambiental en el mal manejo de los residuos orgánicos generados por las actividades ganaderas como en la producción de cerdos, el mismo que tras una mala gestión de estos residuos puede suponer la transmisión de enfermedades, como la peste porcina, la eutrofización y nitrificación de las aguas. “Generalmente los excedentes producto de la alimentación de los cerdos mezclados con excretas y orinas constituyen casi en su totalidad en los residuos orgánicos generados a diario por cada granja, la cual la valorización de estos residuos orgánicos mediante la digestión anaerobia del estiércol de cerdo produce gases que en su mayoría son metano (60 %), bióxido de carbono (39 %), y trazas (0.2 %) de óxido nitroso” (Soria & Ferrera, 2001, p.12). La conversión anaeróbica de estos compuestos orgánicos a biogás implica varias fases en las que participan diversos microorganismos que suelen ser facultativos (fase de hidrólisis y acidogénesis), mientras que para la acetogénesis son anaerobios estrictos con una tasa máxima de

crecimiento por lo menos cinco veces menor que el proceso acidogénicos. Por tanto si las bacterias acetogénicas tuvieran problemas para reproducirse y consumir los ácidos, estos se acumularán, generando dificultades en la producción de metano, por el proceso metanogénicas, también es importante mencionar que el proceso de digestión anaerobia se caracteriza por ser lento, ya que la tasa de conversión del sustrato en biomasa es cuatro veces menor que la tasa de eliminación de materia orgánica de un sistema aerobio, entendiéndose que muchas veces para tener una producción estable de biogás es necesario esperar hasta dos meses dependiendo de las tecnologías de fermentación que deben ser investigadas, y también los métodos para mejorar la selectividad de los productos y acelerar la producción de metano.

2.3.2. Variables.

A. Independiente:

Concentración del lactobacillus Plantarum LPMB10 $\left(\frac{UFC}{ml}\right)$

B. Dependiente:

% de Producción de biogás metano (CH₄)

2.3.3. Contrastación de hipótesis.

La contrastación de la hipótesis se realizará aplicando el software MINITAD 18 en el cual se realizó un análisis de varianza para poder evaluar la hipótesis

Capítulo III

Metodología

3.1. Diseño de investigación

En el presente trabajo de investigación se desarrolló un diseño completamente al azar, es el más sencillo de los diseños de experimentos que tratan de comparar dos o más tratamientos, puesto que sólo considera dos fuentes de variabilidad: los tratamientos y el error aleatorio.

En el diseño el experimentador asigna las unidades experimentales a los tratamientos al azar, con la única restricción del número de observaciones que se tomarán en cada tratamiento. Es el más sencillo y se origina por la asignación aleatoria de tratamientos a un conjunto de unidades experimentales.

Modelo Estadístico del diseño completamente al azar

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}; i, j = 1, 2;$$

Donde:

y_{ij} = Variable respuesta de la ij-esima unidad experimental

μ = Efecto de la media general

τ_i = Efecto del i-esimo tratamiento

ε_{ij} = Efecto del error experimental asociado a la i-esima unidad experimental

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población.

La biomasa orgánica residual (BOR) porcina del criadero de la comunidad campesina de Lamblaspata.

3.2.2. Muestra.

La muestra está compuesta por el volumen de 400 kg de BOR del criadero por cada muestra, se realizó según el diseño experimental.

3.3. Técnicas e instrumentos

“Son los procedimientos, vías y las fuentes para indagar sobre el objeto de estudio como el muestreo, observación, desarrollo de pruebas experimentales y los análisis realizados en laboratorio”.

“Dentro de los instrumentos de investigación se consideró a todo los medios auxiliares o herramientas para la recolección y registro de los datos obtenidos como: procedimiento del muestreo, monitoreo de parámetros, reportes de laboratorio y los resúmenes de los trabajos de información”.

3.4. Recolección de datos

3.4.1. Ubicación geográfica del lugar de estudio.

La comunidad Campesina de Lamblaspata se encuentra ubicado en el Distrito de El Tambo, provincia de Huancayo, departamento de Junín en a una latitud de $12^{\circ} 3'51.64''S$ al sur y una longitud de $75^{\circ}14'7.79''O$ al Oeste, a una altura aproximada de 3201 m.s.n.m.

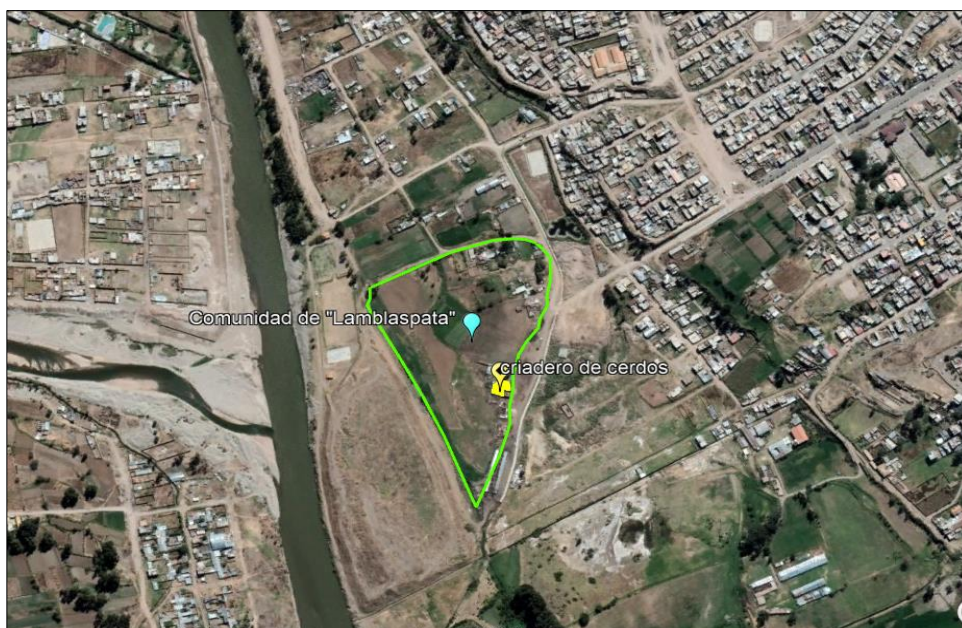


Figura 9. Localización de la comunidad campesina de “Lamblaspata”

Fuente: (Google Earth, 2018).

3.4.2. Procedimiento para la toma de muestra.

Para realizar la toma de muestra de la biomasa orgánica residual (BOR) de la comunidad de Lamblaspata se tomó en cuenta el siguiente procedimiento:

- a) Se organizaron las bolsas de plástico con sus respectivos rótulos para identificarlas con mayor claridad.
- b) Al llegar al criadero “Lamblaspata” utilizamos los equipos de protección personal EPS, para evitar cualquier riesgo.
- c) En los puntos de muestreo, se solicitó la colaboración necesaria del personal encargado del criadero para efectuar el muestreo.
- d) Con ayuda del geoposicionador y del altímetro determinamos la latitud, longitud y altitud del sitio exacto de la deyección de la BOR porcina.
- e) Se recogió con ayuda de dos palas, baldes y de bosas de polietileno para transportarlo con carretillas.
- f) Seguidamente se homogenizo toda la BOR porcina recolectada en una plataforma impermeable.
- g) Finalmente, estas fueron empacadas en bolsas de polietileno para ser pesadas y rotuladas respectivamente.

3.4.3. Preparación de los Lactobacillus Plantarum LPBM10 (PL-LPBM10)

El procedimiento de la preparación del LP – LPBM10 se realizaron en las instalaciones del laboratorio de Biotecnología de la Universidad Continental sede Huancayo basándonos en los conocimientos teóricos y antecedentes de la investigación (Zapata, Muñoz, Ruiz, Montoya, & Gutierrez, 2009)

A. M.R.S. Agar (proveído por GenLab del Perú S.A.C.)

- Suspender 68,25 g del polvo en 1 litro de agua destilada.
- Reposar 5 minutos
- Calentar agitando constantemente y llevar a ebullición durante 2 minutos (disolución total).
- Inocular en un matraz para llevar a esterilización en autoclave a 121 °C durante 15 minutos
- Enfriar y distribuir en cajas petri estériles.

B. Preparación del *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 (proveído por GenLab del Perú S.A.C.)

- Descongelar la solución la cepa del *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 previamente en condiciones aseptia.
- Trasvasar 50 mL de la solución que contiene las bacterias (*Lactobacillus Plantarum* LPBM10) a un matraz.
- Agitar por un minuto.
- Someter la solución del matraz a 4°C por 10 minutos.
- Dejar enfriar en medio ambiente para su uso.

C. Cultivo bacteriano.

- La solución de la cepa de LP - LPBM10 que se encuentra en el matraz se llevaron a dilución $10^0, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}$ y 10^{-6} .
- Se dispuso 20 placas m/placa del medio M.R.S. Agar.
- Se procedió a sembrar la cepa del LP - LPBM10 (dilución 10^{-6}).
- Finalmente se llevaron las placas a la incubadora a 37 °C durante 72 horas.

D. Conteo de colonias.

Consecuentemente se contó las colonias por el método de recuento en placa de las unidades formadoras de colonias (UFC/mL)

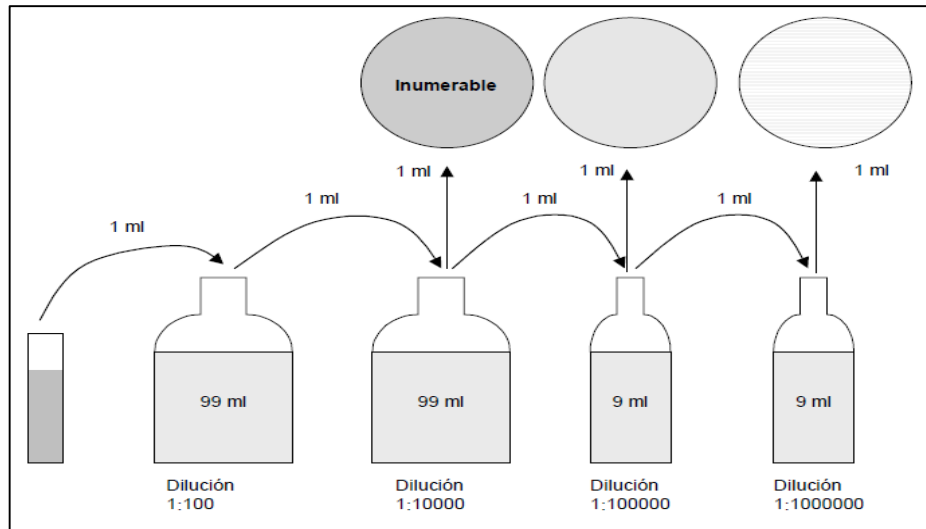


Figura 10. Método de recuento de placas.

Fuente: Rodríguez Arévalo A.C. 2003.

Se hizo el recuento de cajas petri, a partir de $3 \cdot 10^5$ UFC/mL que fueron diluidos a 10^{-6} UFC/mL previamente se realizó tinciones Gram para corroborar la no desnaturalización de los LP-LPBM10 en negativas preponderantes (tabla 17), que posteriormente fue llevado a una solución de $154 \cdot 10^5$ UFC/mL en medio líquido.

Tabla 12

Recuento de placas petri.

Nº	Componente	Unidad	Cantidad
1	Recuento de placas petri UFC/ mL	$3 \cdot 10^5$ UFC/mL	1
2	Diluciones de cepas	10^{-6} UFC/mL	1
3	Tinción Gram (+/-)	%	Lp-LPBM10 +74

Fuente: Elaboración propia..

El procedimiento se realizó por repeticiones para obtener las cantidades que se necesitaron para la preparación del compuesto.

3.4.4. Preparación del medio de cultivo y la cepa de LP – LPBM10 en un reactor tipo Batch.

Para la continuación del desarrollo de esta investigación se manipulo las variables en estudio, basándose en los conocimientos teóricos y los antecedentes de la investigación (Muños, 2012). Donde fue desarrollado en las instalaciones del laboratorio de Biotecnología de la Universidad Continental sede Huancayo, donde se trabajó con un reactor tipo Batch.

Tabla 13

Características del reactor Batch

Nº	Nombre	Unidad	Cantidad
1	Capacidad	L	3
2	Termostato	Vol	120
3	Manómetro	PSI	300
4	Sistema de agitación	RPM	280
5	Rango de Acides - basicidad (peachímetro)	pH	(02 - 08)
6	Rango de temperatura (termómetro)	°C	(0 - 300)
7	Material de agitación (acero inoxidable)	mm	0,5
8	Materia estructural (acero inoxidable)	mm	0,3
9	Flujo de entrada	tubería de 1/2"	1
10	Flujo de salida	tubería de 1/2"	2
11	Flujo de inoculación	tubería de 3/4"	2

Fuente: Bla & Lun S.A. (fabricantes) 2018.

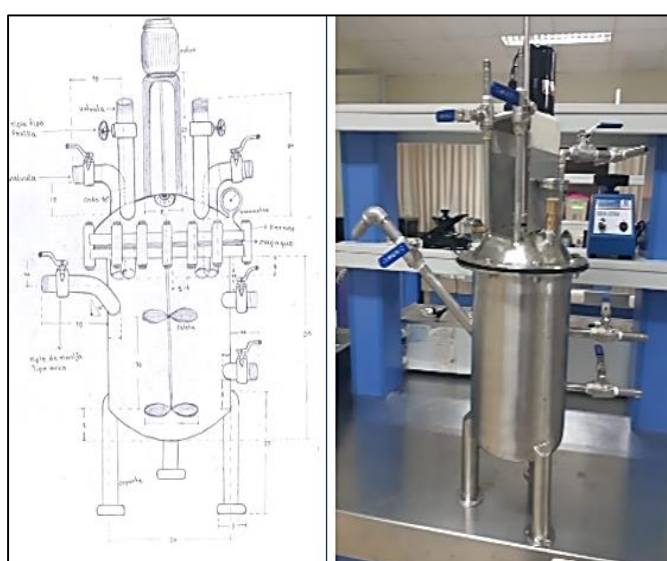


Figura 11. Diseño del reactor

Fuente: Bla & Lun S.A. (fabricantes) 2018.

Como siguiente paso se instaló las condiciones en el reactor tipo Batch conjuntamente con la cepa del *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 y los nutrientes por un tiempo de 24 horas controlando todos los parámetros.

A. Consideraciones.

Para el control del desbalance del grado de acidez se utilizó el carbonato de calcio $CaCO_3$ como agente antiácido y/o estabilizador durante todo el proceso en unidad de variación de pH por gramo.

El tiempo de fermentación anaerobia del LP – LPBM10 con todos los ingredientes en el reactor, fue de 24 horas ininterrumpidas. Todas las variables mencionadas en la tabla 19 fueron controladas por el tiempo mencionado.

Tabla 14

*Preparación del caldo de cultivo del *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 en el reactor tipo Batch.*

Nº	Nombre	Unidad	Cantidad
1	Suero de leche fresca	L	1
2	Caldo de cultivo (agar MRS)	Kg	0,5
3	Cepa de <i>Lactobacillus Plantarum</i> LPBM10	$154 \cdot 10^5$ UFC/mL	1000
4	Manómetro	PSI	45
5	Sistema de agitación	RPM	40
6	Nivel de acides promedio	pH	6,48
7	Temperatura	T°	28
8	Carbonato de calcio $CaCO_3$	Ud-pH/g	0,01

Fuente: Elaboración propia..

El procedimiento se realizó por repeticiones para obtener las cantidades que se necesitaron para la experimentación posterior en el digestor.

3.4.5. Características del biodigestor.

- Biodigestor tubular de PVC bi capa 1.0 mm de 0,94m de diámetro x 6,60m largo
- Con tapas en ambos extremos donde se instalan 3 mangas para la carga y salida del efluente y purga del biol.
- Se colocan tres tubos de PVC de 4"X 0,50m con abrazaderas regulables
- Un accesorio de PVC de 1" diámetro para salida del biogás y 02 niples de ½" a una distancia de 1,0m de cada tapa, con arandelas y tuercas de PVC rígido.
- Todo el biodigestor sellado por alta frecuencia (HF)
- Volumen total de 4,6 m³

3.4.6. Procedimiento de digestión anaerobia del lactobacillus Plantarum LPBM10 en un biodigestor tubular.

El presente procedimiento se realizó con los criterios teóricos y los antecedentes de la investigación (Salazar, 2003). Se desarrolló en las instalaciones de la Universidad Nacional Agraria La Molina – IRD San Juan de Yanamucllo – Jauja, donde se trabajó por cuatro meses la parte experimental.

- ✓ Construcción de la fosa y el ambiente invernadero
- ✓ Instalación de la manga tubular
- ✓ Puesta en marcha del biodigestor tubular



Figura 12. Diseño del Biodigestor tubular

Fuente: Creación propia y SIDELSA fabricantes 2018.

Como siguiente paso al haber instalado el biodigestor tubular conjuntamente con la cepa del *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 y los nutrientes que se muestran en la tabla 15.

Tabla 15

Componentes de ingreso al biodigestor tubular

N	Componente	T - Blanco		T - 01		T - 02		T - 03		
1	Biomasa orgánica Residual	2		2		2		2		
		0	Kg	0	Kg	0	Kg	0	Kg	
		0		0		0		0		
2	Agua no potable	8		8		8		8		
		0	L	0	L	0	L	0	L	
		0		0		0		0		
3	suero de leche fresca		L	1	L	2	L	4	L	
	Caldo de cultivo del <i>Lactobacillus Plantarum</i> LPBM10	(154x10 ⁵)	UFC/m L/L	0	(154x10 ⁵)	5	UFC/m L/L	1	(154x10 ⁵)	2

Fuente: Elaboración propia..

Capítulo IV

Resultados

4.1. Resultados del análisis de estiércol de cerdo y el suero de leche

Para el llenado del biodigestor es importante la caracterización de la materia prima usada como sustrato. De manera que se realizó un análisis de la relación carbono/nitrógeno de los sustratos utilizados, uno de ellos fueron las excretas porcinas (ver Anexo 1) y el otro el suero de leche (ver Anexo 2), siendo importante el análisis debido a que es uno de los indicadores que asegura una buena producción de biogás, en el Tablas 14 se muestra el análisis de relación carbono/nitrógeno del estiércol de porcino y del suero de leche.

Tabla 16

Relación de C/N

Sustrato	Relación C/N	%N	%C
Estiércol	39,6372549	2,04	80,86
<i>Suero de leche</i>	<i>17,4918033</i>	<i>1,22</i>	<i>21,34</i>

Fuente: Elaboración propia..

Según los resultados obtenidos, la relación C/N del estiércol de porcino fue de 40:1 el cual se encuentra en el rango estimado por (Landin, 2007) que es entre 35:1 a 42:1, lo mismo ocurre con el suero de leche que se encuentra del rango estimado por (Vázquez & Dacosta, 2014), que es entre 1:20 a 1:30, es importante la relación del C/N en los procesos de metalogénesis para la obtención del metano.

Otro de los componentes importantes para poder cargar al biodigestor fue el agua no potable que fue extraído del ojo de agua IRD_Sierra San Juan de Yanamucló – UNALM y según los puntos UTM 456860.95 mE y 8688811.43 mS y 3033 msnm, para el cual se realizó un análisis fisicoquímico en el laboratorio de Agua, Suelo, Medio Ambiente y Fertirriego (LASMAF). La

finalidad de este análisis fue corroborar la inexistencia de sustancias inhibitoras del proceso de digestión anaerobia que podrían afectar al proceso, los resultados se muestran en el Anexo 3 y en la Tabla 15 que se muestra a continuación.

Tabla 17

Resultados del análisis de agua.

Calidad del agua			ECA - Agua (Categoría 3)	
Parámetro	Unidad	Valor	D1: Riego de vegetales	D2: Bebida de animales
Conductividad Eléctrica	dS/m	0.75	0.025	0.05
pH	-	7,69	6.5 a 8.5	6.5 a 8.4
Calcio	meq/l	5.80	-	-
Magnesio	meq/l	0.88	-	250
Sodio	meq/l	1.24	-	-
Potasio	meq/l	0.06	-	-
SUMA DE CATIONES		7.26		
Cloruro	meq/l	2.39	500	-
Sulfato	meq/l	1.5	1000	1000
Bicarbonato	meq/l	3.09	518	-
Nitratos	meq/l	0.05	-	-
Carbonatos	meq/l	0.38	-	-
SUMA DE ANIONES		7.41		
SAR		0.89	-	-
CLASIFICACIÓN		C2-S1		
Boro	Ppm	0.80	1	5
Dureza total	mgCaCO ₃ /l	273.38	-	-
Alcalinidad Total	mgCaCO ₃ /l	158.12	-	-
Sólidos Suspendidos	mg/l	16	-	-
Hierro	mg/l	0.22	5	-
Cobre	mg/l	<0.035	0.2	0.5
Zinc	mg/l	<0.012	2	24
Manganeso	mg/l	0.05	0.2	0.2
Plomo	mg/l	<0.001	0.05	0.05
Cadmio	mg/l	<0.005	0.01	0.05
Cromo	mg/l	<0.05	0.1	1
Turbidez	NTU	7.9	-	-

Fuente: Laboratorio *LASMAF*.

Los parámetros fisicoquímicos analizados en el laboratorio *LASMAF*, nos sirvió para compararlo con el Estándar de Calidad Ambiental de Agua (ECA

Agua – DS N° 004-2017- MINAM) para la categoría 3. Según los resultados indican que los parámetros analizados no sobrepasan los valores dados por el ECA- Agua, siendo un líquido de calidad buena para cultivos que se adaptan o toleran moderadamente la sal, de igual manera se observó que la concentración mg/L de CaCO_3 es alta por lo tanto podemos afirmar que el agua es de tipo dura, según el Organismo Mundial de la Salud (Guía para la calidad de agua potable – OMS, 2005) es agua dura si sobrepasa los 200 mg/L CaCO_3 el cual sobre paso.

Referente a los parámetros inhibidores de la digestión anaerobia, las concentraciones de cobre y níquel se encuentran muy por debajo de la concentración inhibidora de la digestión anaerobia, es por ello que el uso de este insumo nos asegura un correcto funcionamiento de los biodigestores.

Para cargar el estiércol fresco al biodigestor es recomendable moler ya que al disminuir el tamaño de los sólidos se está aumentando el área de contacto con los microorganismos encargados de iniciar el proceso, de igual manera es importante del proceso para obtener una solución (agua-excreta) que garantice la producción de biogás. Para ello se realizan los pasos siguientes:

- a) Recolección de la excreta se hará manualmente directamente del establo y se almacenará en un tanque mezclador por uno o dos días dependiendo del modo de operación, aunque es recomendable dejarlo 2 días para permitir que todo el aire se elimine durante esta estancia en el tanque.
- b) Adicionar la cantidad necesaria de agua para obtener una concentración aproximada del 8% en peso de sólidos totales.

4.2. Balance de materia

Tratamiento 1

Calculo para 90 días.

Balance de masa para el Biodigestor Tubular	
Datos	
temperatura de operación	= 12 30,34 °C
R=C/N	= 40/1
Suero de leche fresca	= 1 L

Balance de masa para el Biodigestor Tubular	
Lactobacillus Plantarum	= 0,5
Características del Estiércol	
N _T	= 0,41 %
K	= 0,19 %
K ₂ O	= 0,14 %
Conversión de biomasa	= 18,04 %
Conversión de biogás	= 81,96%
Alimentación	= 3000 kg
Biogás Analizado	
CH ₄	= 62,26 %
CO ₂	= 18,21 %
otros	= 19,53 %
Materia seca de estiércol porcino	= 26,43 %
Peso Molecular	
C	= 12
CH ₄	= 16
CO ₂	= 44

Unidades de Lactobacillus Plantarum:

$$(154 \times \frac{10^5 UFC}{mL})/L$$

Las características del estiércol se obtuvo de (Cobos, 1989).

El biogás forma en función del carbono y nitrógeno del carbono Total

- Carbono se reduce produce metano.
- Carbono se oxida produce dióxido de carbono.

La relación de peso seco con el húmedo se obtuvo de (Cobos, 1989).

$$W_{seco} = 26,43 \times W_{hum}$$

Cálculos	
Hallando La Materia Seca	
Wseco	= 792,9 Kg
Biomasa	= 143,03916 Kg
Biogás	= 649,86084 Kg
Hallando La Cantidad De N _t	
N _T	= 2,6644294 Kg
R=C/N	
C	= 106,57718 Kg
Hallando Moles Totales De Carbono	
$C \rightarrow CH_4 + CO_2$	
1 mol	= 62,26% 18,21%
1 mol C	= 8,8814315
1 mol CH ₄	= 5,5295792

Cálculos		
1 mol CO ₂	=	1,6173087
Moles totales de biogás		
moles biogás	=	7,1468879

Cálculo del Volumen	
DATOS	
P	= 0,68 atm
n	= 7,1468879
T	= 303,49
R	= 0,082
V	= 261556,97 L de gas
V	= 261,55697 m ³
Formación de CH ₄	
CH ₄	= 162,84537 m ³
CO ₂	= 47,629524 m ³

Tratamiento 2

Calculo para 90 días.

Balance De Masa Para El Biodigestor Tubular		
Datos		
temperatura de operación	=	13 30 °C
R=C/N	=	40/1
Suero de leche fresca	=	2 L
Lactobacillus Plantarum	=	1
Características Del Estiércol		
N _T	=	0,41%
K	=	0,19%
K ₂ O	=	0,14%
Conversión de biomasa	=	18,04%
Conversión de biogás	=	81,96%
Alimentación	=	3000 kg
Biogás Analizado		
CH ₄	=	78,58%
CO ₂	=	15,85%
otros	=	5,57%
Materia seca de estiércol porcino	=	26,43%
Peso Molecular		
C	=	12
CH ₄	=	16
CO ₂	=	44

Unidades de Lactobacillus Plantarum:

$$(154 \times \frac{10^5 UFC}{mL})/L$$

Las características del estiércol se obtuvo de (Cobos, 1989).

El biogás forma en función del carbono y nitrógeno del carbono Total

- Carbono se reduce produce metano.
- Carbono se oxida produce dióxido de carbono.

La relación de peso seco con el húmedo se obtuvo de (Cobos, 1989).

$$W_{seco} = 26,43 \times W_{hum}$$

Cálculos	
Hallando La Materia Seca	
Wseco	= 792,9 Kg
Biomasa	= 143,03916 Kg
Biogás	= 649,86084 Kg
Hallando La Cantidad De N _t	
N _T	= 2,6644294 Kg
R=C/N	
C	= 106,57718 Kg
Hallando Moles Totales De Carbono	
$C \rightarrow CH_4 + CO_2$	
1 mol	= 78,58% 15,85%
1 mol C	= 8,8814315
1 mol CH ₄	= 6,9790289
1 mol CO ₂	= 1,4077069
Moles Totales De Biogás	
moles biogás	= 8,3867357

Cálculo del Volumen	
DATOS	
P	= 0,68 atm
n	= 8,3867357
T	= 303,15
R	= 0,082
V	= 306588,23 L de gas
V	= 306,58823 m ³
Formación De ch ₄	
CH ₄	= 240,91703 m ³
CO ₂	= 48,594234 m ³

Tratamiento 3

Calculo para 90 días.

Balance de Masa para el Biodigestor Tubular		
Datos		
temperatura de operación	=	13 30 °C
R=C/N	=	40/1
Suero de leche fresca	=	4 L
Lactobacillus Plantarum	=	2
Características del Estiércol		
N _T	=	0,41%
K	=	0,19%
K ₂ O	=	0,14%
Conversión de biomasa	=	18,04%
Conversión de biogás	=	81,96%
Alimentación	=	3000 kg
Biogás Analizado		
CH ₄	=	66,11%
CO ₂	=	15,07%
otros	=	18,82%
Materia seca de estiércol porcino	=	26,43%
Peso Molecular		
C	=	12
CH ₄	=	16
CO ₂	=	44

Unidades de Lactobacillus Plantarum:

$$(154 \times \frac{10^5 UFC}{mL})/L$$

Las características del estiércol se obtuvo de (Cobos, 1989).

El biogás forma en función del carbono y nitrógeno del carbono Total

- Carbono se reduce produce metano.
- Carbono se oxida produce dióxido de carbono.

La relación de peso seco con el húmedo se obtuvo de (Cobos, 1989).

$$W_{seco} = 26,43 \times W_{hum}$$

Cálculos		
Hallando la Materia Seca		
Wseco	=	792,9 Kg
Biomasa	=	143,03916 Kg
Biogás	=	649,86084 Kg
Hallando la Cantidad de N _t		
N _T	=	2,6644294 Kg

R=C/N	
C	= 106,57718 Kg
Hallando Moles Totales de Carbono	
$C \rightarrow CH_4 + CO_2$	
1 mol	= 66,11% 15,07%
1 mol C	= 8,8814315
1 mol CH ₄	= 5,8715144
1 mol CO ₂	= 1,3384317
Moles Totales de Biogás	
moles biogás	= 7,2099461

Cálculo del Volumen	
Datos	
P	= 0,68 atm
n	= 7,2099461
T	= 303,15
R	= 0,082
V	= 263569,12 L de gas
V	= 263,56912 m ³
Formación de CH ₄	
CH ₄	= 174,24555 m ³
CO ₂	= 39,719867 m ³

4.3. Costos

Inversión inicial: S/. 5930.00

Tiempo de 5 años

Tasa del 10 %

Ingresos	
biogás	S/2160.00
biofertilizantes	S/4700.00
Total	S/6860.00
Egresos	
mantenimiento	S/200.00
Lactobacillus Plantarium	S/1800.00
tuberías	S/300.00
supervisor	S/1200.00
Total	S/3500.00

Flujo de Ingresos	Flujo de Egreso	Flujo de Caja
1 S/6860.00	1 S/3500.00	1 S/3360.00

2	S/6900.00	2	S/3550.00	2	S/3350.00
3	S/6950.00	3	S/3600.00	3	S/3350.00
4	S/7000.00	4	S/3700.00	4	S/3300.00
5	S/7100.00	5	S/3950.00	5	S/3150.00

VAN = S/6619.891.65

Se observa que el VAN es positivo esto quiere decir que la inversión es factible.

TIR=48%

4.4. Análisis de los resultados

Una vez cargado el biodigestor con 200 Kg de estiércol de porcino con 800 litros de agua de riachuelo, generando un volumen de 1 m³ aproximadamente, adicionando el suero de leche y las cepas del Lactobacillus Plantarum LPBM10, según el diseño experimental, durante el lapso de tres meses y para ello se realizó el cargado una vez por semana por un mes, se utilizó para el cargado 1 m³ de la mezcla de estiércol y agua, como se detalla en la metodología. La finalidad de esta fase, fue medir la concentración de los diferentes gases que contiene el biogás al ser cargado con estiércol, suero de leche y la cepa del Lactobacillus Plantarum LPBM10, se midieron los parámetros cada 5 días, para ello se llevó muestras de gas en cámaras de llantas herméticas que fueron analizados por el personal técnico de laboratorio con el equipo muestreador de gases Multitec® 545. Así mismo se tomaron la temperatura donde se localizaba el biodigestor si fue monitoreada con un termómetro digital Marca EbcQ

4.4.1. Monitoreo de los componentes del bio gas.

Como se mencionó en la metodología, se realizó el monitoreo de biogás cada 5 días durante los 3 meses que permaneció la biomasa dentro del biodigestor, es conocido que durante todo este periodo dentro del biodigestor se producirán tres fases como son el hidrolisis, acidogénesis y la metalogénesis para finalmente obtener el metano,

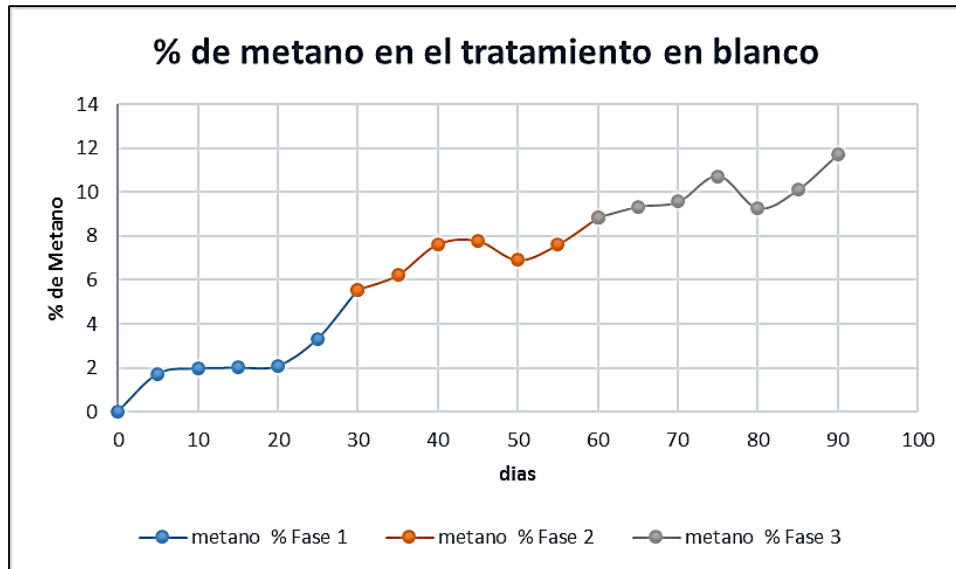


Figura 13. :% de metano en el tratamiento en blanco

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 13 se observa que el máximo porcentaje de metano durante la fase 1 fue de 5,55 por ciento, durante la fase 2 fue de 8,87 por ciento y durante la fase 3 fue de 11,69 por ciento, según se incrementa los días fue aumentando el % de metano, esto indica que el biodigestor tuvo que cumplir condiciones necesarias para que opere en un rango mesofílico, ya que (Chávez, 2007) menciona que “la velocidad de reacción de los procesos biológicos depende de la velocidad de crecimiento de los microorganismos involucrados en el proceso de digestión anaerobia”, los resultados obtenidos son muy bajos por causa de no se inocular las cepas del *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 en el biodigestor ya que el tratamiento es un blanco.

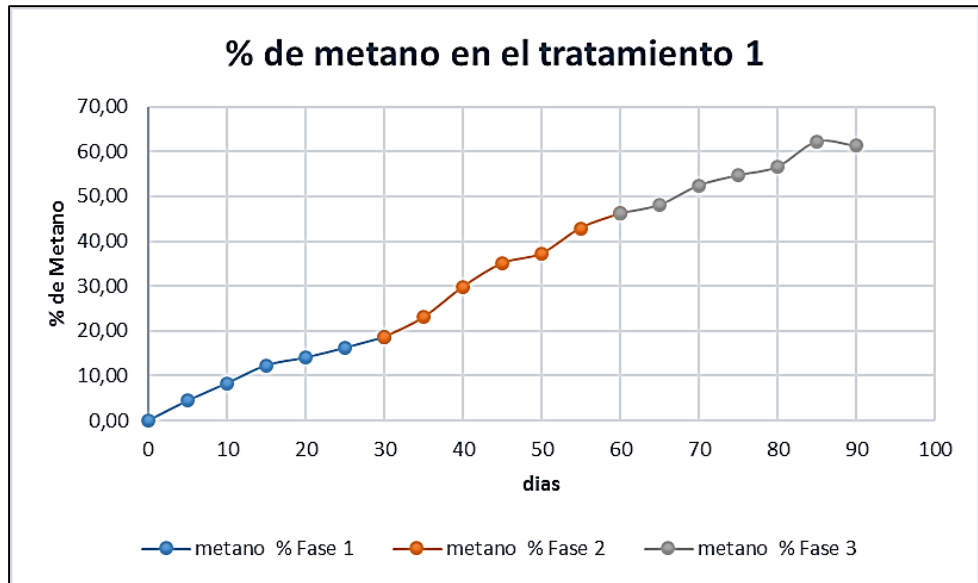


Figura 14. % de metano en el tratamiento en blanco

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 14 se observa que el máximo porcentaje de metano durante la fase 1 fue de 18,58 por ciento, durante la fase 2 fue de 46,15 por ciento y durante la fase 3 fue de 62,26 por ciento, según se incrementa los días fue aumentando el % de metano, alcanzando valores considerables que se pueden comprar con (Bolívar & Ramírez, 2012), que obtuvieron valores del 60% de metano, el incremento del % de metano es notorio a comparación de tratamiento sin la adición de cepas *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 de 0,5 (154×10^5 UFC/mL)/L y 1,0 litro de y lacto suero que ayudaron al crecimiento de los microorganismos dentro del biodigestor.

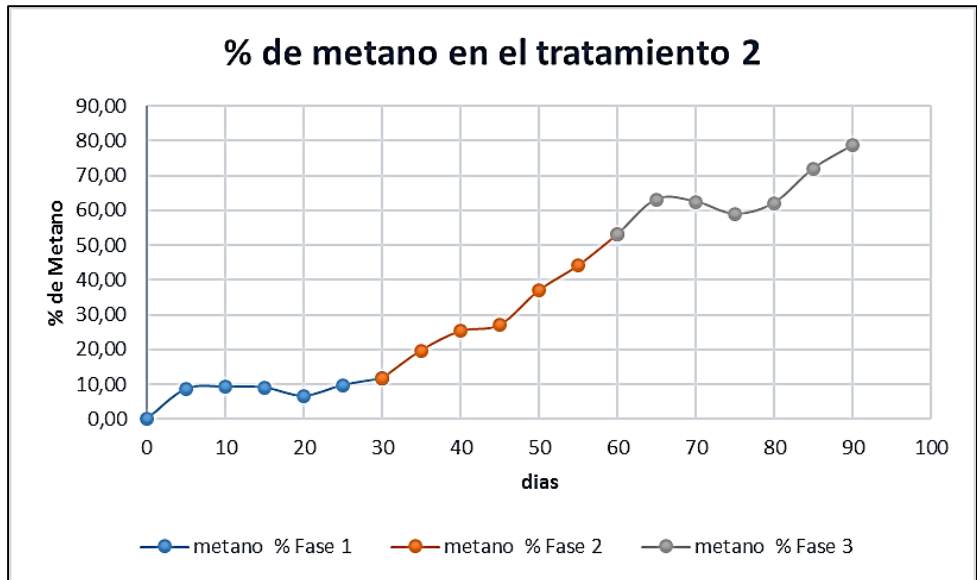


Figura 15. % de metano en el tratamiento 2

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 15 se observa los resultados del tratamiento 2 obteniendo el máximo porcentaje de metano durante la fase 1 fue de 11,66 por ciento, durante la fase 2 fue de 53,02 por ciento y durante la fase 3 fue de 78,58 por ciento, según se incrementa los días fue aumentando el % de metano, en este tratamiento se adiciono 1,0 (154×10^5 UFC/mL)/L de cepas *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 y 2,0 litro de lacto suero que ayudaron al crecimiento de los microorganismos dentro del biodigestor.

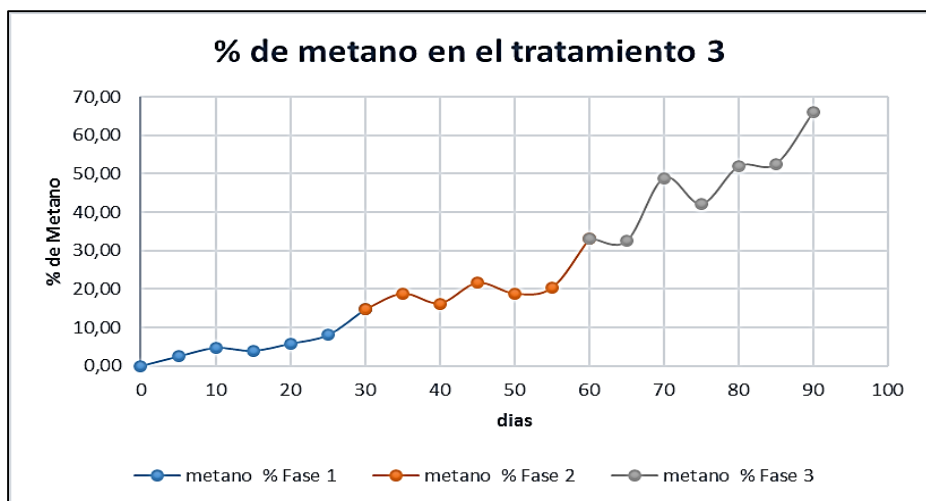


Figura 16. % de metano en el tratamiento 3

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 16 se observa los resultados del tratamiento 3 obteniendo el máximo porcentaje de metano durante la fase 1 fue de 14,68 por ciento, durante la fase 2 fue de 33,16 por ciento y durante la fase 3 fue de 66,11 por ciento, según se incrementa los días fue aumentando el % de metano, en este tratamiento se adiciono 2,0 (154x10⁵ UFC/mL)/L de cepas *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 y 4,0 litro de lacto suero que ayudaron al crecimiento de los microorganismos dentro del biodigestor.

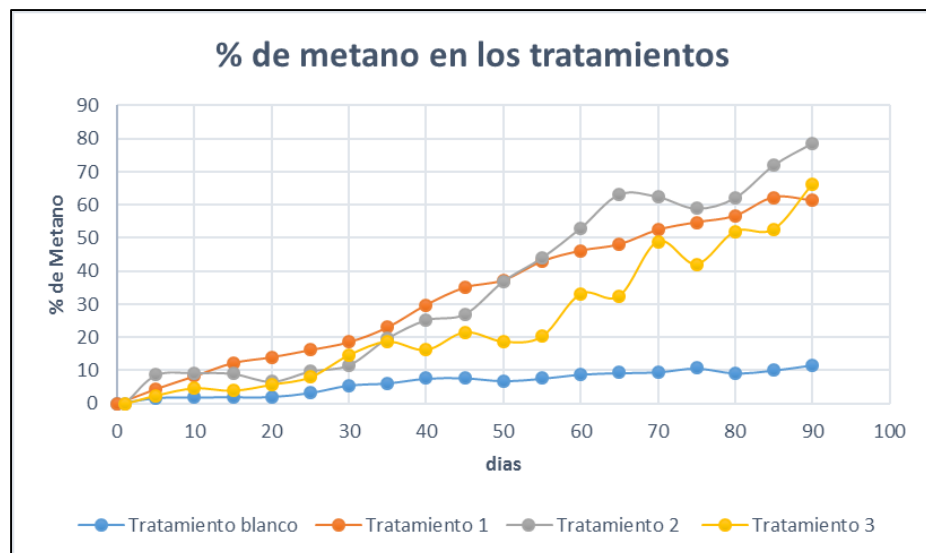


Figura 17. % de metano en los tratamientos

Fuente: Elaboración propia.

Por otro lado, como se observa en la Figura 17, se representa la obtención del porcentaje de metano en los diferentes tratamientos se aplicaron cepas *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 y lacto suero en diferentes proporciones para incrementar la generación de metano a medida que se introdujo los microorganismos y el lactosuero, la etapa hidrolítica se acorto, ya que la fibra lignocelulósica fue degradada previamente por los microorganismos benéficos, esto genera una menor materia orgánica polimérica que se encuentra en el biodigestor esto ocurre según (Cepero, y otros, 2012), es decir se tiene una materia orgánica más simple que puede ya ser usada por los

microorganismos hidrolíticos, para la generación de ácidos orgánicos que son usados en las etapa acidogénica.

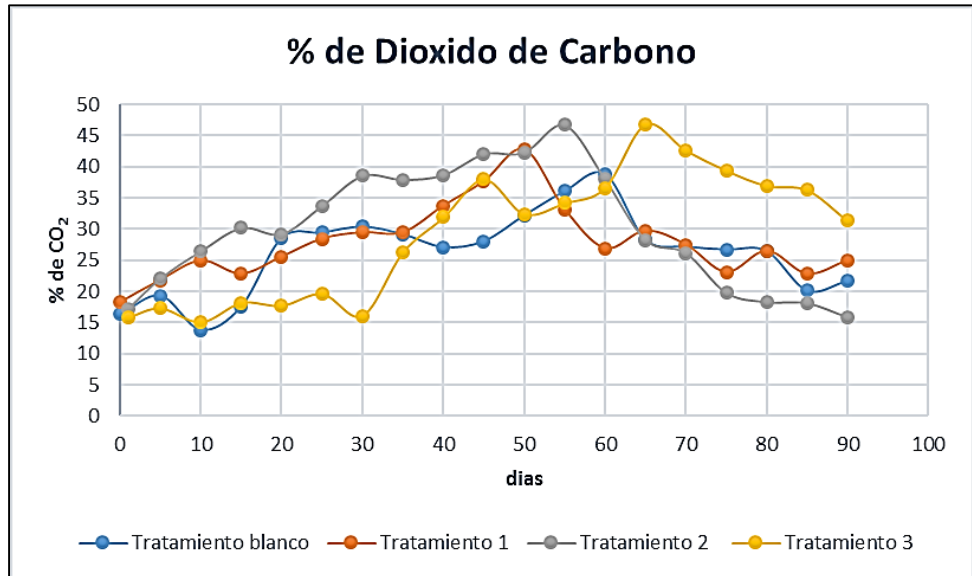


Figura 18. % de dióxido de carbonó de los tratamientos

Fuente: Elaboración propia.

El máximo porcentaje de CO₂ alcanzado en el tratamiento en blanco fue de 38,88%, para el tratamiento 1 fue de 42,74 % de CO₂, para el tratamiento 2 fue de 46,70% de y para el tratamiento 3 fue de 46,81% de CO₂, y los mínimos porcentajes de CO₂ alcanzado en el tratamiento en blanco fue de 13,80%, para el tratamiento 1 fue de 18,21 % de CO₂, para el tratamiento 2 fue de 15,85% de y para el tratamiento 3 fue de 15,07% de CO₂. Los valores mostrados de CO₂ según (Fernandez, Vasquez, & Martinez, 2002), menciona que el rango de CO₂ en la investigación se encuentra entre el 20 y 50 por ciento, mientras que en el trabajo se encuentra entre 10 y 50%. Así mismo, se aprecia en la Figura 17 que la concentración de dióxido de carbono fue variando ligeramente conforme fueron pasando de fase, lo cual evidencia el aumento de la concentración de metano, esto indica que el poder calorífico del biogás se ve aumentando ya que el único gas combustible del biogás es el metano, por otro lado, esta disminución del dióxido de carbono generará una menor producción de ácido

carbónico conllevando a una menor corrosión de los equipos del sistema de bio-digestión.

A continuación, en la Figura 19, se muestra el monitoreo del monóxido de carbono. en la obtención del metano.

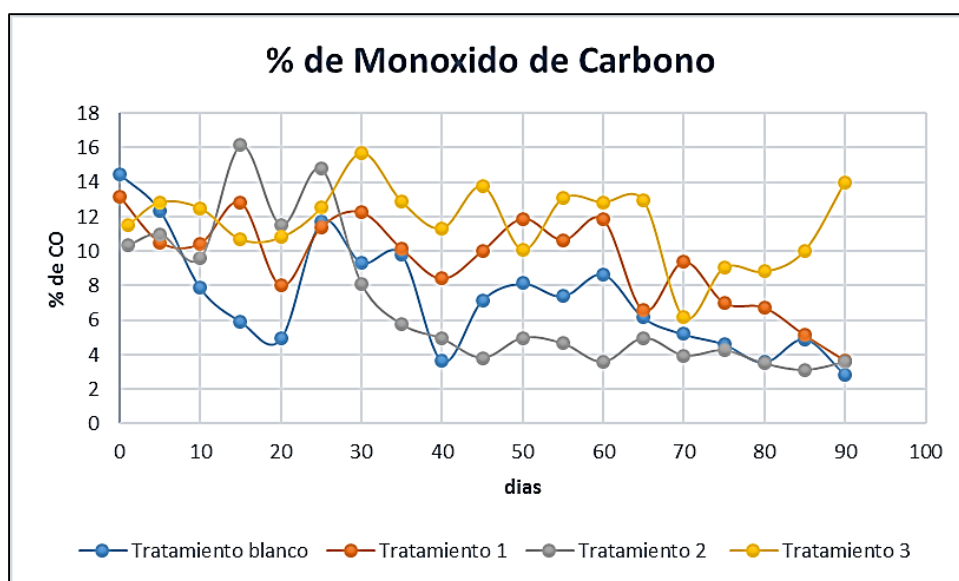


Figura 19. % de dióxido de carbonó de los tratamientos

Fuente: Elaboración propia..

En la figura 19, se observa que el valor máximo de CO en el tratamiento en blanco fue de 14,48 ppm CO y el valor mínimo fue de 2,87 ppm CO, para el tratamiento 1 el valor máximo obtenido fue de 13,15 ppm y el valor mínimo fue de 3,68 ppm de CO, para el tratamiento 2 el valor máximo fue de 16,14 ppm de CO y el valor mínimo fue de 3,12 ppm de CO y para el tratamiento 3 se obtuvo el valor máximo de 15,70 ppm de CO y el valor mínimo fue de 6,17 ppm de CO las concentraciones en el periodo de los tres meses fueron disminuyendo ligeramente, el tratamiento 2 fue el que obtuvo las concentraciones de CO más bajas durante todo el proceso, el CO al ser un componente traza del biogás su variación no es muy significativa para la mejora de la calidad del biogás.

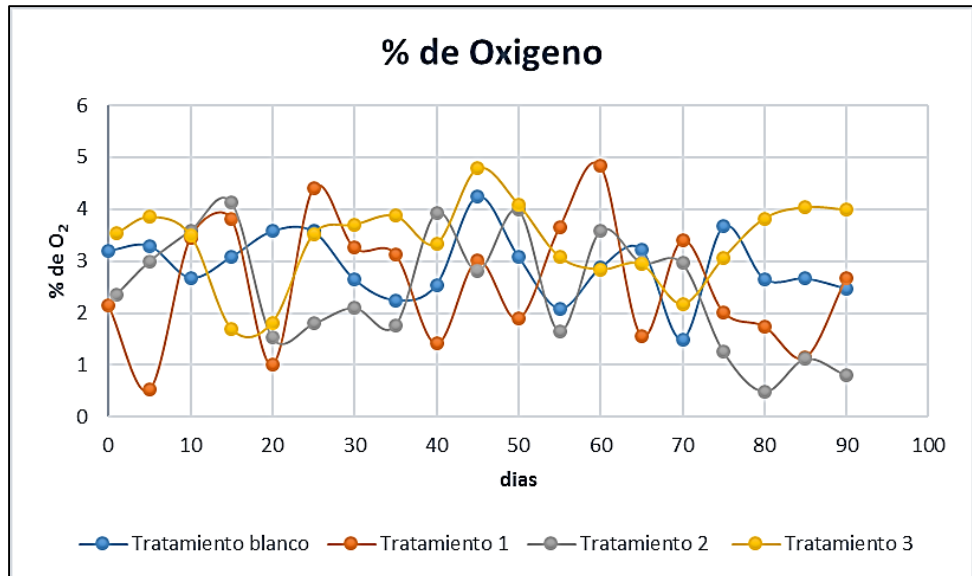


Figura 20. % de dióxido de carbonó de los tratamientos

Fuente: Elaboración propia.

Se muestra en la Figura 20 que el valor máximo de O₂ en el tratamiento en blanco fue de 4,25 por ciento y el valor mínimo fue de 1,49 por ciento, para el tratamiento 1, el valor máximo de fue de 4,83 por ciento y el valor mínimo fue de 0,52 por ciento, para el tratamiento 2, el valor máximo de fue de 4,14 por ciento y el valor mínimo fue de 0,49 por ciento y para el tratamiento 3 el valor máximo de fue de 3,35 por ciento y el valor mínimo fue de 1,69 por ciento, Al ser un reactor anaerobio se espera que la concentración de oxígeno se encuentre en valores muy cercano a 0; sin embargo, para poder realizar la medición de las concentraciones de los componentes del biogás se llevó muestras de biogás en cámaras, esto implico que la concentración de oxigeno tenga valores más altos de lo esperado.

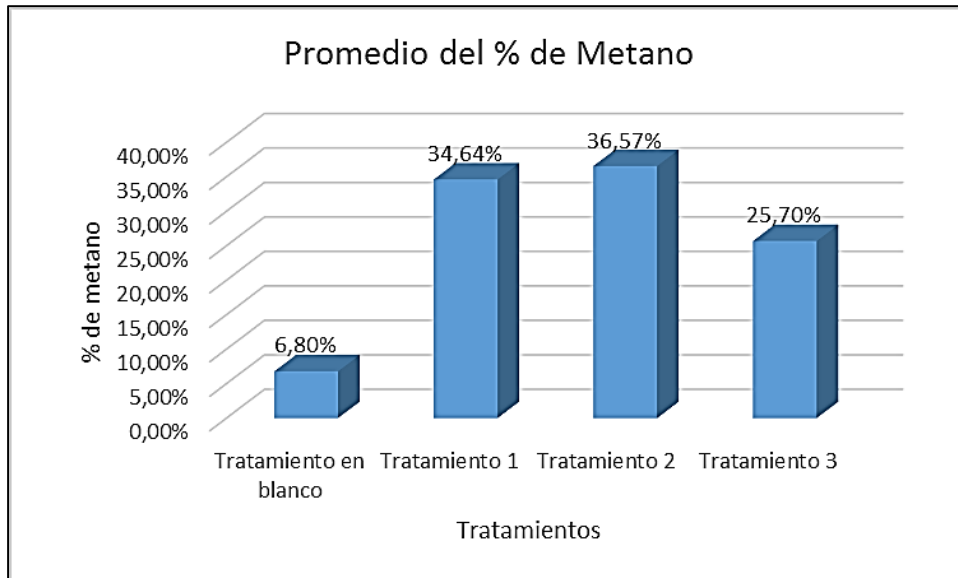


Figura 21. Promedio del % de metano

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 21, el promedio de metano obtenido en los tratamientos fue en aumento desde un 6,80% del tratamiento en blanco hasta un 36,57% del tratamiento 2 fue el mayor aumento promedio obtenido y según (MINAGRI & S.P., 2011), explica que el metano *es el único gas combustible de la mezcla* entonces al haber un aumento de este parámetro, la calidad del biogás es mejor ya que aumenta sus propiedades caloríficas producto de que se tiene más combustible en el biogás.

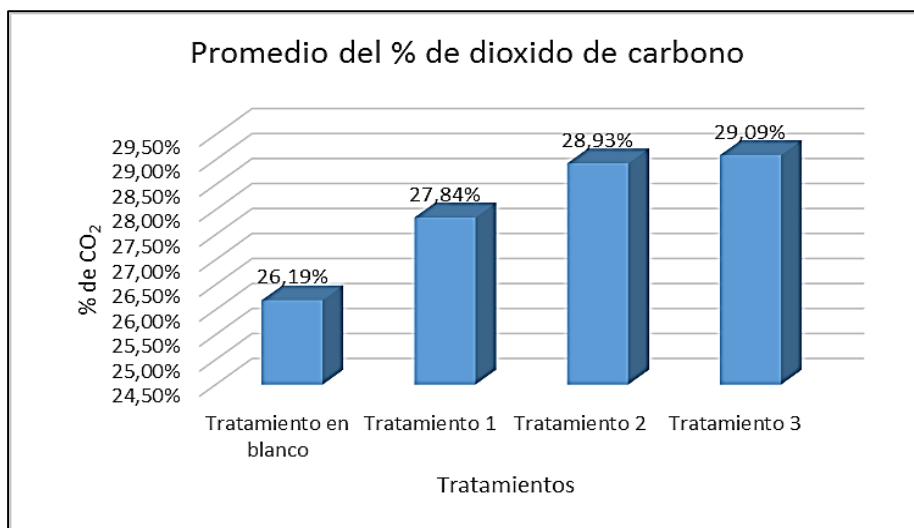


Figura 22. Promedio del % de dióxido de carbono

Fuente: Elaboración propia.

De igual manera en la Figura 22, el promedio del dióxido de carbono (CO_2) se encuentran entre el 26,19% en el tratamiento en blanco hasta un 29,09% en el tratamiento 3 habiendo una ligera variación, y según (Fregoso, 2001) estas bajos % de CO_2 implican que el poder calorífico del biogás aumente y que la corrosión de equipos disminuya, ya que al combinarse con agua forma ácido carbónico.

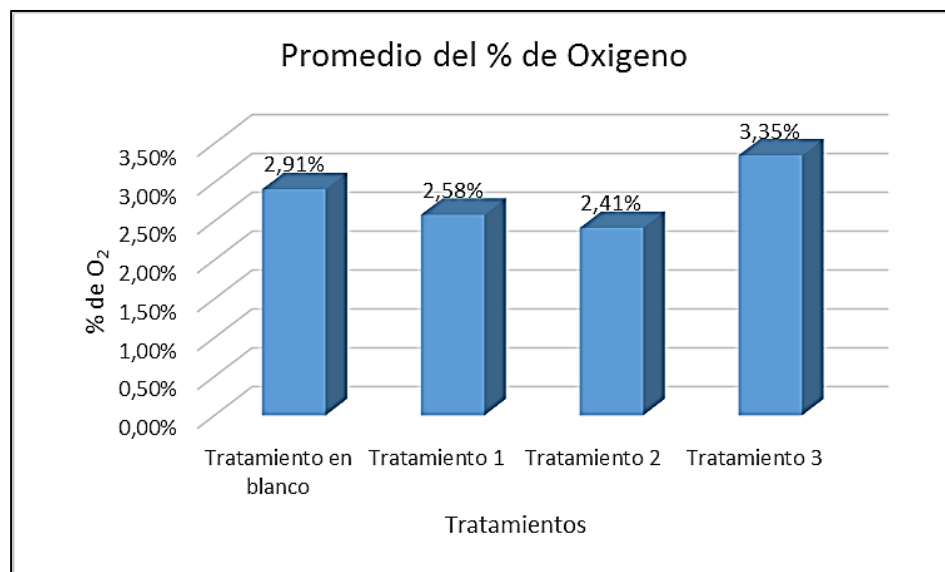


Figura 23. Promedio del % de Oxígeno

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 23 el promedio de Oxígeno en los tratamientos se encuentra por encima de lo mencionado por (Cepero, y otros, 2012), el cual menciona que el rango en el cual se encuentra este componente debe ser entre 0 a 1 por ciento, ya que el biodigestor es un sistema anaeróbico, sin embargo, se sugiere que los valores por encima de los estipulado se deben a que se trasladó el biogás en cámaras para poder realizar su análisis en laboratorio y esto implica que hay ingreso de oxígeno en la toma de muestra y los valores son muy por debajo del 4%.

A continuación, en la Figura 24, se muestra el promedio de la concentración de del monóxido de carbono.

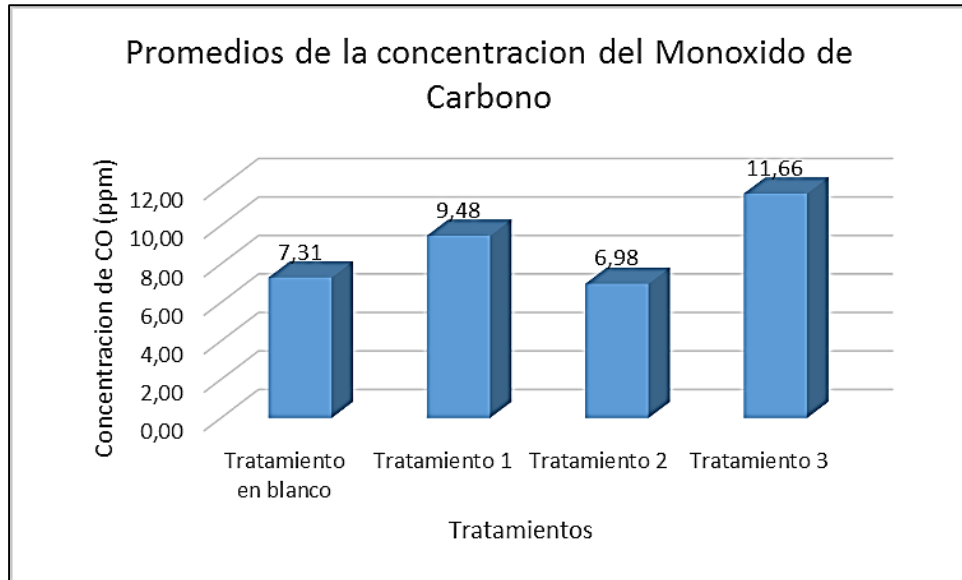


Figura 24. Promedio de las concentraciones del monóxido de carbono
Fuente: Elaboración propia.

Como se muestra en la Figura 24, el promedio monóxido de carbono llego a subir de 7,31 ppm en el tratamiento en blanco hasta 11,66 ppm en el tratamiento 3, notándose un aumento ligero, y según (Cepero, y otros, 2012), el valor típico de este componente traza se encuentra entre 0 a 10 ppm, evidenciándose que se encuentra dentro de este rango.

4.4.2. Análisis microbiológicos y de nutrientes del biol.

Los análisis de nutrientes y microbiológicos del biol, se realizaron a los cuatro tratamientos con la finalidad de observar la variación luego del proceso de bio-digestión los análisis de laboratorio se muestran en los Anexos 4

A continuación, en la Tabla 18 se muestra el análisis de nutrientes del biol.

Tabla 18*Análisis de nutrientes del biol en los tratamientos*

Parámetros	Unidad	Tratamiento en blanco	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
pH	Unidad	7,92	6,94	7,86	6,1
C.E.	dS/m	6,23	6,11	6,47	6,76
Sólidos totales	mg/L	5,43	6,02	5,68	6,89
M.O.	mg/L	10,4	12,65	12,85	12,32
N	mg/L	309,34	402,8	589,2	400,11
P	mg/L	40,37	50,03	49,65	51,92
K	mg/L	205,8	248,25	291,2	239,6
Ca	mg/L	310	377,5	390	341
Mg	mg/L	145,8	153,25	189,5	157,25
Na	mg/L	90,25	101	197,5	100,25

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 18 se observa los análisis de nutrientes del biol de los tratamientos se aprecia que existe un incremento de los valores de los parámetros del tratamiento en blanco respecto a los otros tratamientos, presentando una mayor concentración de N total en el tratamiento 2 siendo el valor de 589,2 mg/L en comparación del tratamiento en blanco que obtuvo un valor de 309,34 mg/L, respecto al P total, el biol en el tratamiento 3 obtuvo un valor de 51,92 mg/L presentando una concentración superior al tratamiento en blanco que se obtuvo un valor de 40,37 mg/L, y para el K total los valores obtenidos no presentan diferencia significativa, por lo tanto para este nutriente no se evidencia que hubo una variación.

Tabla 19*Parámetros microbiológicos del biol en los tratamientos*

Componente	Coliformes totales	Coliformes fecales	Echericha coli	Salmonella sp.
Unidad	NMP/g.	NMP/g.	NMP/g.	en 25 g.
Input	$70 \cdot 10^4$	$90 \cdot 10^2$	$99 \cdot 10$	$11 \cdot 10^2$
T - (B) Output	$18 \cdot 9^2$	$1.3 \cdot 0.1^2$	$0.9 \cdot 0.2^2$	Ausencia
T1 Output	$9 \cdot 0.1^2$	$0.7 \cdot 0.2^2$	Ausencia	Ausencia
T2 Output	$1 \cdot 0.1^2$	Ausencia	Ausencia	Ausencia

T3	Outpo t	$2 \cdot 0.1^2$	$0.1 \cdot 0.2^2$	Ausencia	Ausencia
----	------------	-----------------	-------------------	----------	----------

Fuente: Elaboración propia.

En la tabla 19 se presentan los parámetros microbiológicos del biol de todos los tratamientos al ingresar la muestra se analizó y se obtuvo valores altos de microorganismos patógenos, así mismo, se aprecia los valores diferentes de cada uno de los parámetros. Se sabe que las bacterias del grupo coliforme se encuentran principalmente en los intestinos de los animales de sangre caliente y estos se introducen al medio ambiente por medio de sus excretas según (Jack, Tagg, & Ray, 1995), motivo por el cual se deduce que la mayoría de los coliformes presentes en el ambiente son de origen fecal, de lo expuesto anteriormente, se sugiere que al usar las excretas de ganado vacuno. de todos los coliformes totales existentes la mayoría de estos son los fecales.

4.4.3. Efectos de la temperatura y el pH.

La temperatura es un factor de bastante relevancia en la digestión anaeróbica, ya que está directamente relacionada con la producción de biogás. Existe un aumento en la producción y tasa de velocidad de digestión a una mayor temperatura según (Domínguez & Ly, 2005).

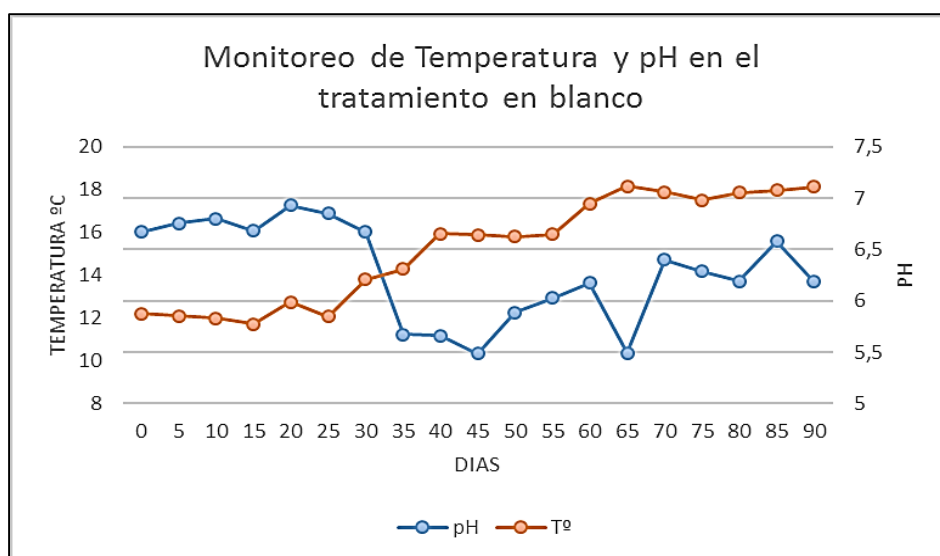


Figura 25. Valores de la temperatura y pH en el tratamiento en blanco

Fuente: Elaboración propia..

En la Figura 25, se puede notar que la temperatura contenida dentro de los biodigestores estuvo entre los 10 °C y los 20 °C. Estas condiciones hacen denominar a los biodigestores de tipo mesofílicos, en los cuales, las temperaturas varían entre 25 °C y 45 °C (Tavizón, 2010). La Figura 25 hace mostrar que prácticamente en el tratamiento blanco no se incrementa significativamente la temperatura.

Según indica (Tavizón, 2010), entre las ventajas la de biodigestión bajo condiciones mesofílicas se incluyen: una mayor estabilidad del sistema, balance energético, y mejor calidad del efluente, además, los costos energéticos son significativamente menores en comparación con sistemas termofílicos.

En la digestión anaeróbica, se requiere que los valores de pH estén entre el rango de seis y ocho para que este parámetro no se convierta en un factor limitante en el proceso de actividad bacteriana. El pH determina tanto la producción, como la composición del biogás generado variaron ligeramente hasta llegar a valores ligeramente ácidos de 5,5 hasta 7.

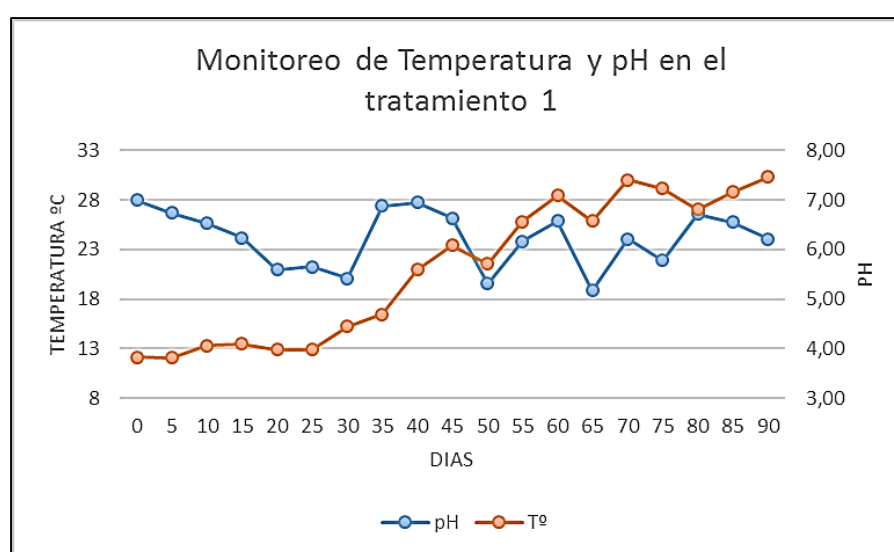


Figura 26. Valores de la temperatura y pH en el tratamiento 1

Fuente: Elaboración propia..

En la Figura 26, se puede notar que la temperatura contenida dentro de los biodigestores estuvo entre los 12 °C y los 30,34 °C. Estas condiciones hacen denominar a los biodigestores de tipo mesofílicos. La Figura 25 se muestra que prácticamente en el tratamiento 1 hay un incremento de la temperatura esto debido a que las reacciones internas en el biodigestor son exotérmicas, habiéndose dosificado cepas de *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 con un valor de 0,5 (154×10^5 UFC/mL)/L y un litro de suero de leche el cual ayudo al crecimiento de los microorganismos, los valores de pH estén entre el rango de 5,42 y 6,99 siendo optimas las condiciones para los microorganismos.

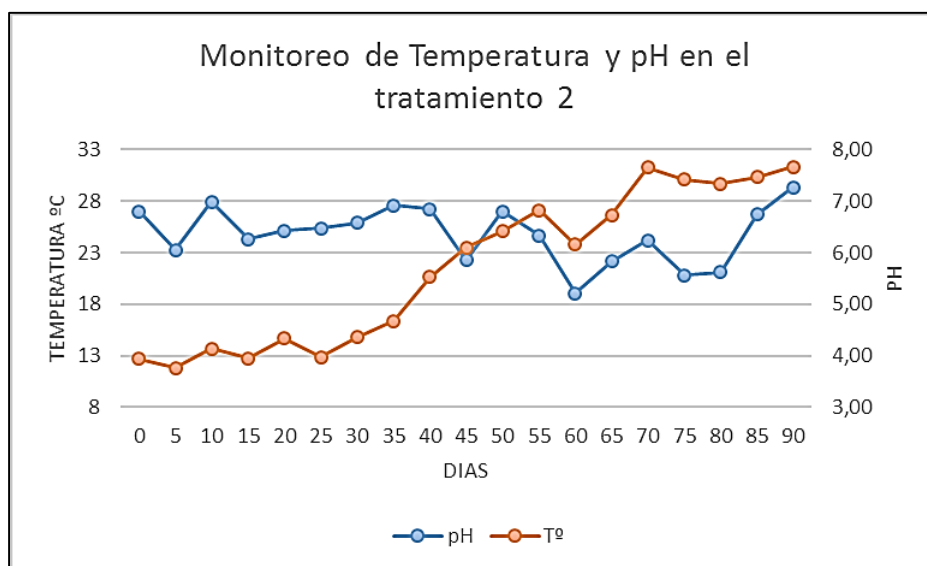


Figura 27. Valores de la temperatura y pH en el tratamiento 2

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 27, se puede notar que la temperatura contenida dentro de los biodigestores estuvo entre los 13 °C y los 30 °C. Estas condiciones hacen denominar a los biodigestores de tipo mesofílicos. De igual manera se muestra que prácticamente en el tratamiento 2 hay un mayor incremento de la temperatura esto debido a que las reacciones internas en el biodigestor son exotérmicas, habiéndose dosificado cepas de *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 con un valor de 1,0 (154×10^5 UFC/mL)/L y dos litros de suero de leche el cual ayudo al

crecimiento de los microorganismos, los valores de pH estén entre el rango de 5,22 y 7,24 siendo óptimas las condiciones para los microorganismos. Las condiciones de acidificación en un reactor anaeróbico, se deben a los desequilibrios en la producción y consumo de ácidos grasos volátiles, mientras más se acumulen, más disminuyen los valores de pH, Valores de pH elevados provocan la formación de amoníaco, que en altas concentraciones podría resultar en un factor inhibitorio de la actividad microbiana, mientras que en pH bajo, se genera la forma no ionizada del ácido acético que reduce el proceso de degradación del propionato (Domínguez & Ly, 2005)

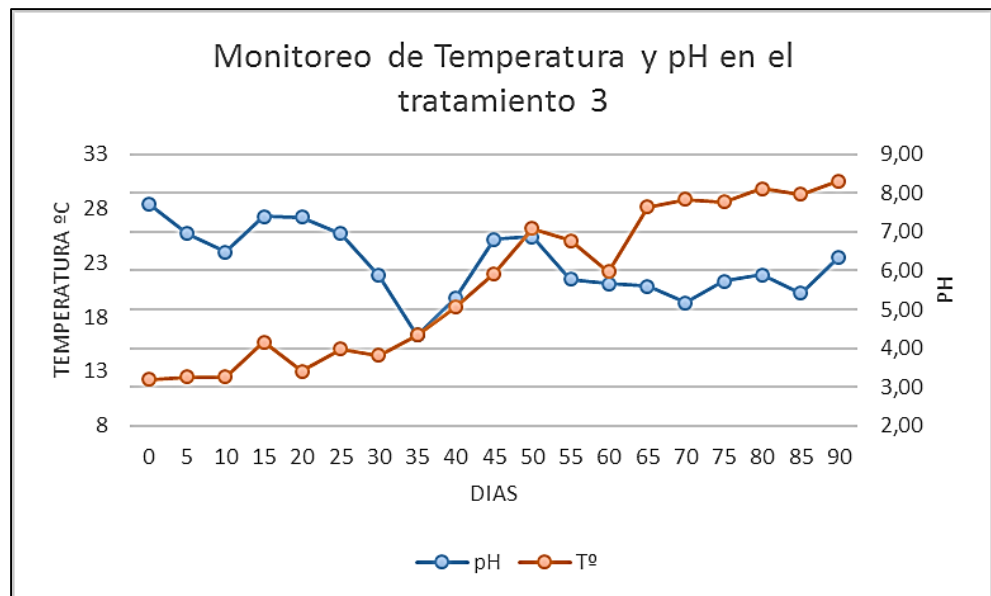


Figura 28. Promedio de las concentraciones del monóxido de carbono

Fuente: Elaboración propia.

En la Figura 28, se puede notar que la temperatura contenida dentro de los biodigestores estuvo entre los 13 °C y los 30 °C. Estas condiciones hacen denominar a los biodigestores de tipo mesofílicos. De igual manera se muestra que prácticamente en el tratamiento 2 hay un mayor incremento de la temperatura esto debido a que las reacciones internas en el biodigestor son exotérmicas, habiéndose dosificado cepas de *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 con un valor de 2,0 (154×10^5 UFC/mL)/L y cuatro litros de suero de leche el cual ayudo

al crecimiento de los microorganismos, los valores de pH estén entre el rango de 4,34 y 7,73 siendo óptimas las condiciones para los microorganismos.

4.4.4. Análisis estadístico.

A. Análisis de la probabilidad normal.

El análisis estadístico que se utilizó en la investigación ayudo analizar los resultados obtenido del metano a partir de un estudio de la normalidad de los datos respecto al % de metano obtenido en los diferentes tratamientos. a continuación, se presenta las gráficas obtenidas en el software Minitab 18. Donde se evalúa el valor P.

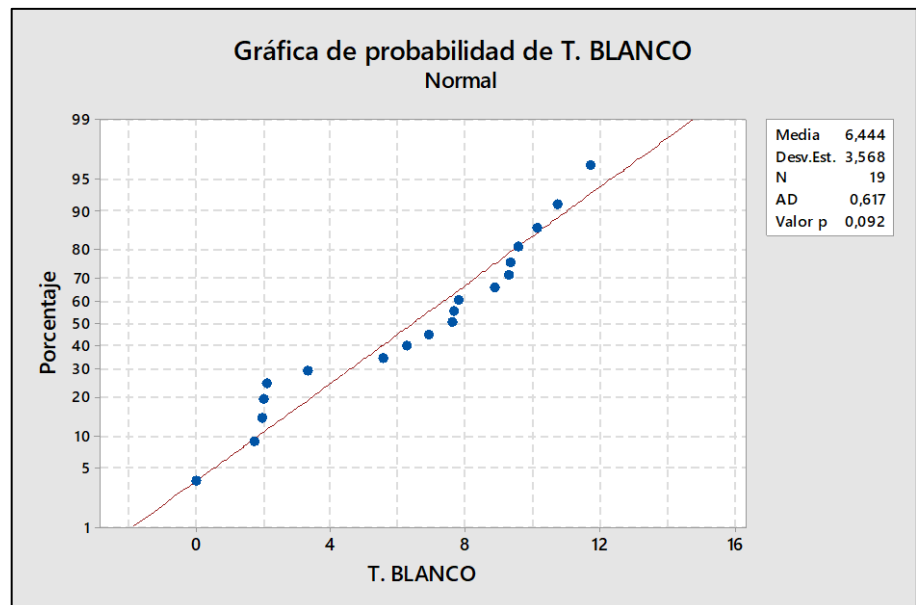


Figura 29. Probabilidad normal del tratamiento en blanco

Fuente: Elaboración propia..

En la gráfica 29 se puede observar que los datos analizados en el tratamiento en blanco se encuentran ligeramente alejados de la diagonal, y se obtuvo una media del 6,444 y un valor de P igual 0,092 este valor es mayor al valor de significancia, por lo tanto, los datos proceden de una población normal

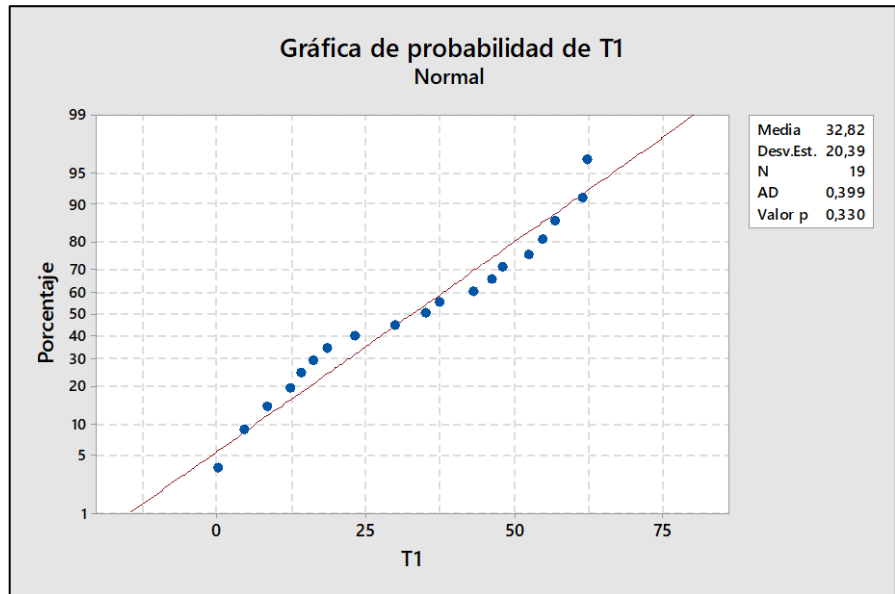


Figura 30. Probabilidad normal del tratamiento 1

Fuente: Elaboración propia.

En la gráfica 30 se puede observar que los datos analizados en el tratamiento 1 se encuentran dispersos dentro de la diagonal, y se obtuvo una media del 32,82 y un valor de P igual 0,330 este valor es mayor al valor de significancia, por lo tanto, los datos proceden de una población normal.

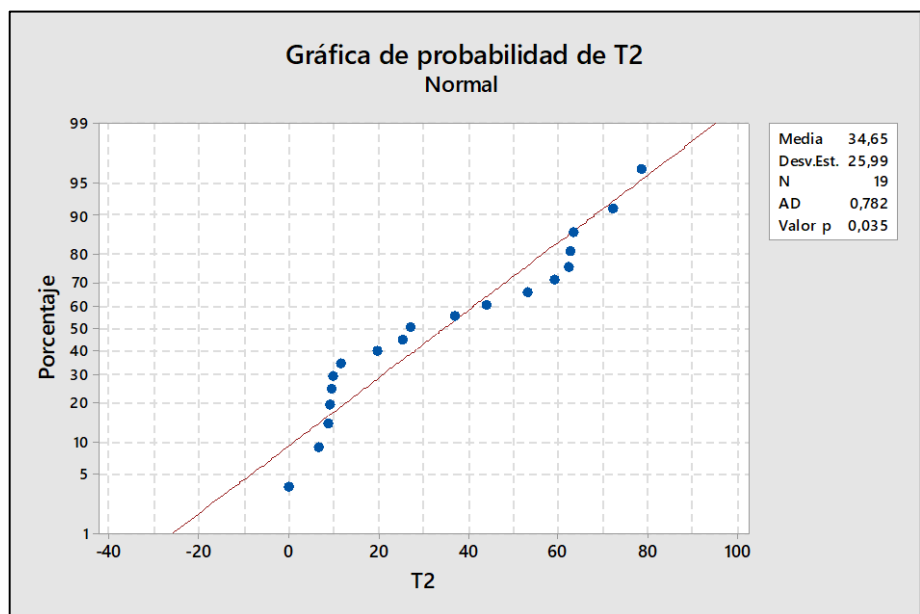


Figura 31. Probabilidad normal del tratamiento 2

Fuente: Elaboración propia.

En la gráfica 31 se puede observar que los datos analizados en el tratamiento 2 se encuentran dispersos y alejados de la diagonal, y se obtuvo una media del 34,65 y un valor de P igual 0,035 este valor es mayor al valor de significancia, por lo tanto, los datos proceden de una población normal.

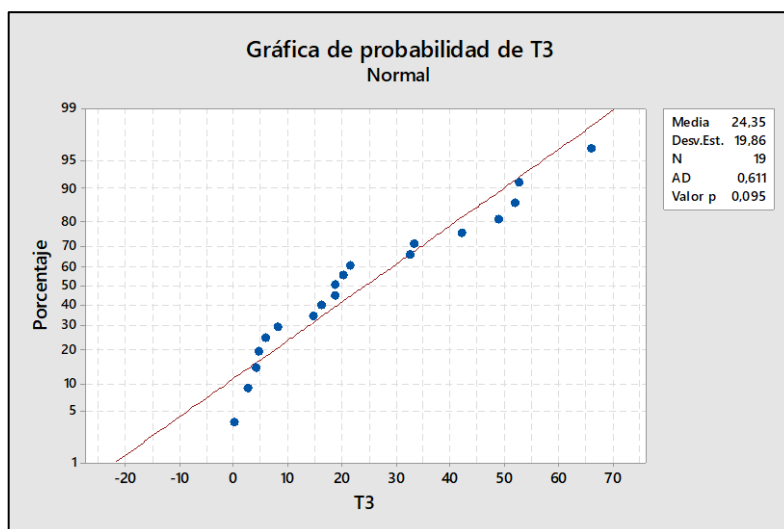


Figura 32. Probabilidad normal del tratamiento 3

Fuente: Elaboración propia.

En la gráfica 32 se puede observar que los datos analizados en el tratamiento 2 se encuentran dispersos y alejados de la diagonal, y se obtuvo una media del 24,35 y un valor de P igual 0,095 este valor es mayor al valor de significancia, por lo tanto, los datos proceden de una población normal.

B. Modelo lineal general: % de metano vs. Tratamientos

Método

Codificación de factores (-1; 0; +1)

Tabla 20

Información del factor

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Tratamientos	Fijo	4	T1; T 2; T3;T en blanco

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 21*Análisis de Varianza*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamientos	3	4709,8	1569,93	54,93	0,001
Error	4	114,3	28,58		
Total	7	4824,1			

Fuente: Elaboración propia..

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
5,34631	97,63%	95,85%	90,52%

En el análisis de la varianza con respecto la hipótesis se obtuvo un valor de P de 0,001, el cual significa que es menor al valor de significancia del 0,05 por lo tanto podemos afirmar que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, en consecuencia, si existe variación significativa en los resultados del % de metano en los tratamientos.

Conclusiones

- El efecto de la aplicación de los microorganismos catalíticos *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 ayudaron a mejorar la producción hasta un 78,58 % de metano en el biogás obtenido a partir de las excretas porcinas de la Comunidad Campesina de Lamblaspata y con ayuda de suero de leche.
- La dosificación de los microorganismos catalíticos en los tres tratamientos fueron de cepas de *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 con un valor de 0,5 (154×10^5 UFC/mL)/L; 1,0 (154×10^5 UFC/mL)/L y 2,0 (154×10^5 UFC/mL)/L conjuntamente se adicione 1L, 2L y 4L de suero de leche aumentando la producción de biogás, siendo de esta la mejor dosis de 1,0 (154×10^5 UFC/mL)/L y 2L de suero de leche obteniendo el mayor porcentaje de metano.
- Se determinar el mayor porcentaje de metano (CH_4) en los cuatro tratamientos obteniendo los siguientes resultados para el tratamiento en blanco se alcanzó un valor de 11,69%, para el tratamiento 1 se alcanzó un valor de 62,26%, para el tratamiento 2 se alcanzó el valor de 78,58% y para el tratamiento 3 se alcanzó un valor de 66,11%
- Se monitorearon los valores del pH en el biodigestor por un periodo de tres meses para cada uno de los tratamientos encontrándose entre los rangos de 5,22 y 7,24 siendo optimas las condiciones para el crecimiento de los microorganismos.
- La temperatura en todos los tratamientos fue aumentando al transcurrir los días y por las condiciones donde se encuentra ubicado el biodigestor tuvo variaciones significativas el rango donde se encontró para el tratamiento 1 de 12 °C a 30,34 °C, el tratamiento 2 de 13 °C a 30 °C y el tratamiento 3 de 13 °C a 29 °C se encontrarían en condiciones mesofílicas se incluyen: una mayor estabilidad del sistema, balance energético, y mejor calidad del efluente, además, los costos energéticos son significativamente menores en comparación con sistemas termofílicos.

Recomendaciones

- Se recomienda diseñar un biodigestor con el sistema de agitación al interior de la bolsa. Esto con el fin de disolver las natas que se forman en la superficie de la mezcla. Dicho sistema ayudará a aumentar la producción de biogás y permitirá, si es necesario, controlar el pH por medio de soluciones buffer.
- Al momento de construir la bolsa se recomienda contar con una entrada y una válvula para medir la temperatura y pH al interior de la bolsa.
- Es necesario mantener el pH en los rangos óptimos de 6,5 – 7,5 cuando se carga al biodigestor, de ser el caso que el pH este fuera de este rango se debe neutralidad.
- Si en los resultados del análisis de bioles persisten las concentraciones altas de patógenos, se recomienda tratar posteriormente el biol mediante bioles de segunda generación.

Referencias Bibliográficas

- Almedia, A., Nafarrete, E., Alvarado, A., Cervantes, A., Luevanos, M., Oropeza, R., & Belagurusamy, N. (2014). Expresión Genética en la digestión anaerobia. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 3 - 6.
- Almeida, A., Nafarrete, E., Alvarado, A., & Cervantes, A. (2014). Expresión Genética en la digestión anaerobia: un paso adelante en la comprensión entre las interacciones tróficas de esta biotecnología. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 3 -6.
- Bedoya, F. & Herrero, J. (2013). Plan del Programa Nacional de Biodigestores en el Perú. *HIVOS people unlimited*, 01.
- Bolívar, H. & Ramírez, E. (2012). Propuesta para el diseño de biodigestor para el aprovechamiento de la materia orgánica generada en los frigoríficos de Bogotá. *UDFJC - Ingeniería de Producción*, 112.
- Cebeci, A. & Gurakan, C. (2003). Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology*, 511-518.
- Cepero, L., Savran, V., Blanco, D., Díaz, M., Suárez, J., & Palacios, J. (2012). Producción de biogás y bioabonos a partir de efluentes de biodigestores. *redalyc*, 221.
- Chávez, R. (2007). Biodigestores: Una alternativa de aprovechamiento integral de las aguas residuales. *redalyc.org*, 191.
- Cobos, P. (1989). *Tecnología de ensilados. Memorias del Primer ciclo de conferencias sobre microbiología Pecuaria*. México: Universidad Autónoma de Chapingo.
- Contreras, E. (2015). *Hidrolisis*. Obtenido de EcuRed: <https://www.ecured.cu/Hidr%C3%B3lisis>
- Corrales, L., Antolinez, D., Bohorquez, J. & Corredor, A. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *NOVA*, 56-57.

- Devaraj, S., Hemarajata, P. & Versalovic, J. (2014). la microbiota intestinal Humanan y el metabolismo corporal. *Implicaciones con la obesidad y la diabetes*, 47.
- Dias, E. (2002). una aproximación a la tecnologia . *Microbiologia de la digestión anaerobia*, 45 - 71.
- Diaz, M., Espitia, S. & Molina, F. (2002). una aproximacion a la tecnologia. *Microbiología de la digestion Anaerobia*, 45 - 71.
- Domínguez, P. & Ly, J. (2005). Biodigestores como componentes de sistemas agropecuarios integrados. *revista cubana*, 34.
- Duan, K. (1999). Rapid Plasmid DNA. *Biotechnol Tech*, 13.
- Fernandez, G., Vasquez, E., & Martinez, P. (2002). Inhibidores del proceso anaerobio: compuestos utilizados en porcicultura. *Redalyc.org*, 67.
- Ferrer, Y., & Pérez, H. (2010). los microorganismos en la digestion anaerobia y la produccion de biogas: consideraciones en la eleccion del inoculo para el mejoramiento de la calidad y rendimiento. *redalyc.org*, 10.
- Fregoso, M. (2001). porduccion de biofertilizantes mediante biodigestion de excreta liquida de cerdo. *redalyc.org*, 354.
- Fúquene, H. (2012). Propuesta para el diseño de un biodigestor para el aprovechamiento de la materia organica generada en los frigoríficos de Bogota. *UDFJC - INGENIERÍA DE PRODUCCIÓN*, Bogotá.
- Gámez, H., Ramirez, C. & Aguirre, D. (2013). Cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico. *Veterinaria y Zootecnia ISSN 2011-5415*, 38.
- Henry, B. (2007). informacion tecnica sobre Gases de Efecto Invernadero y el Cambio Climatico. *IDEAM-MATEO*, 38.
- Hernan, F. (2012). Propuestas para un diseño de un bioreactor para el aprovechamiento de la materia organica generada en los frigorificos de Bogota. *Univercidad Distrital Francisco José de Caldas*, 20.
- Hernández, A., Alfaro, I., & Arrieta, R. (2003). Las fermentaciones. *Microbiología industrial UNED*, 39.
- Jack, R., Tagg, J., & Ray, B. (1995). Bacteriosins of Gram-Positive Bacteria. *Microbiol Rev.*, 171-200.

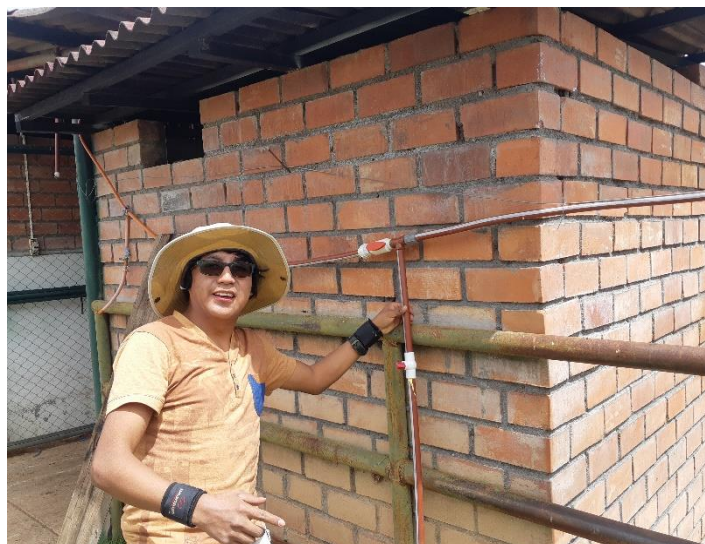
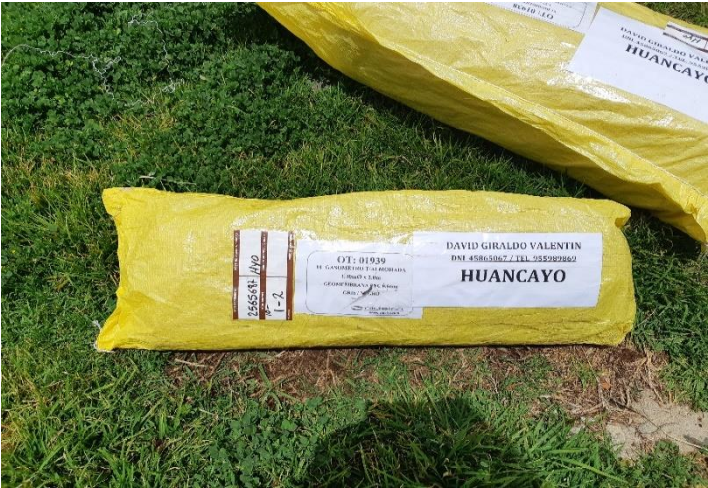
- Karakashev, D., Batstone, D., & Angelidaki, I. (2005). Influence of Environmental Conditions on Methanogenic Compositions in Anaerobic Biogas Reactors. *Applied and environmental microbiology*, 331-338.
- kosmider, D. (1991). Propionic Acid Production by Propionibacterium acidipropionici. *effects of pH*, 38.
- Landin, G. (2007). Tratamiento excretas Cerdos. *CENID Fisiología, INIFA*, 04.
- Laramillo, J., & Cardona, C. (2014). Análisis de la Producción de biobutanol en fermentación acetobutilica con Clostridium saccharoperbutylacetonicum. *Revista de Ingeniería*, 58.
- Lizama, W. & González, L. B. (2014). Eficiencia de remoción de materia orgánica de aguas residuales porcinas con biodigestor en el estado de Yucatán, México. *redalyc.org*, 321.
- Loundres, P. (2012). Biodigestor: Alternativa energética. *Desarrollo tecnológico*, 18.
- Lozano, M. (2015). Producción potencial de biogás empleando excretas de ganado porcino en el estado de Guanajuato. *Nova Scientia - redalyc.org.*, 103.
- Madigan, M., Martinko, J. & Parker, J. (1999). Brock Biology of Microorganisms. *Hardcover - New Jersey*.
- Marti, N. (2006). Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process. *Florida USA Universal - Publishers*.
- Martinez, E. (2011). Diseño de Biodigestor para una Finca del Resinto San Luis de las Mercedes del Cantón las Naves de la Provincia de Bolívar. *EPSOL*, 08.
- Messi, B. (2001). Detection, Purification and Partial Characterization of plantaricin C Lactobacillus Plantarum. *J Food Microbiol*, 60.
- Meulen, R., Avonts, L. & Vuyst, L. (2004). Short Fractions of Oligofructose are Preferentially Metabolized by Bifidobacterium. *Applied and environmental microbiology*, 70.
- MINAGRI, P. (2011). Biodigestores en el Perú. *Revista del Ministerio de Agricultura*, 03-04.
- MLTC. (2007). Biomasa: Digestores anaerobios. *IDAE*.
- Moreno, M. (2011). Bacterias que participan de la acidogénesis. En FAO, *Manual de Biogás* (pág. 24). Chile - Santiago: hermanromero.
- Moreno, M. (2011). especies metanotróficas. *manual de biogás*, 24.

- Moreno, M. (2011). *Manual de Biogás*. Santiago de Chile: FAO 2011.
- Moreno, M. (2011). Bacterias que participan de la Hidrolisis . En FAO, *Manual de biogas* (pág. 24). Chile: hernanromero.
- Moreno, M. (2011). Factores determinantes en el proceso metanogenico. En *Manual de biogas* (pág. 32). Santiago - Chile: hernanromero@vtr.net.
- Muños, S. (2012). Diseño, Costruccion y Puesta a Punto de un Biodigestor Tubular Carazo - Nicaragua . En U. C. III, *Proyecto Fin de Carrera* (pág. 15). Madrid : Escuela Politecnica Superior de la Universidad Carlos III.
- OCED. (2016). Plan Nacional de Biodigestores: Acceso a energía en comunidades aisladas, a partir la produccion local de biogás en Cajamarca/ Peru. *Compendio de buenas practicas para el desarrollo local en america latina.*, 01.
- Parés, R. & Juárez, A. (1997). Bioquimica de los Microorganismos. *Reverte S.A.*
- Pavlostathis; Gomez; Giraldo. (2011). reaccion de digestion anaeróbica. En M. T. Moreno, *Manual de Viogas* (pág. 20). Santiago de Chile: FAO 2011.
- Rodriguez, E., Gamboa, B., & Hernandez, F. (2005). bacteriología General: principios y practicas de Laboratorio. *Editorial Costa Rica*, 60.
- Salazar, B. (2003). Aislamiento de cepas nativas de probióticos y comparación de la viabilidad por efecto de un prebiótico. *Tesis Maestral - Medellín*, 77.
- Santillán, V. (2016). Emisiones de gases de efecto invernadero. *redalyc.org*, 84.
- Schillinger, U. & Locke, F. (1987). Identification of lactobacilli from meat. *Food Microbiol*, 199-208.
- Schink, B. (1997). Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. *Microbiology and molecular biology reviews*, 262-280.
- Soria, M. (2001). Produccion de biofertilizantes mediante biodigestion de excreta liquida de cerdo. *revista en redalyc*, 353.
- Soria, M. & Ferrera, R. (2001). Produccion de biofertilizantes mediante biodigestion de guano de cerdo. *revista en redalyc.org*, 355.
- Tapia, V. (2016). Manual tecnico Instalacion y uso de biogás. *Proyecto: Ramis Resiliente*, 05-06.
- Tavizón, E. (2010). Diseño de un biodigestor para desechos. *Centro de Investigación en Materiales Avanzados*, 67.
- Todorov, D. (2005). LMT Lactobacillus Plantarum. *Enzyme Microb Technol*.

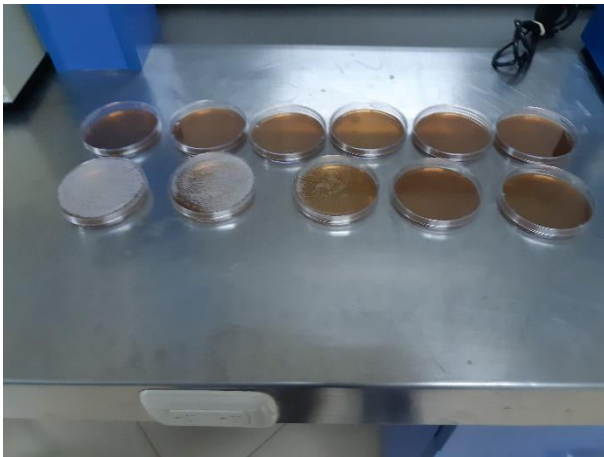
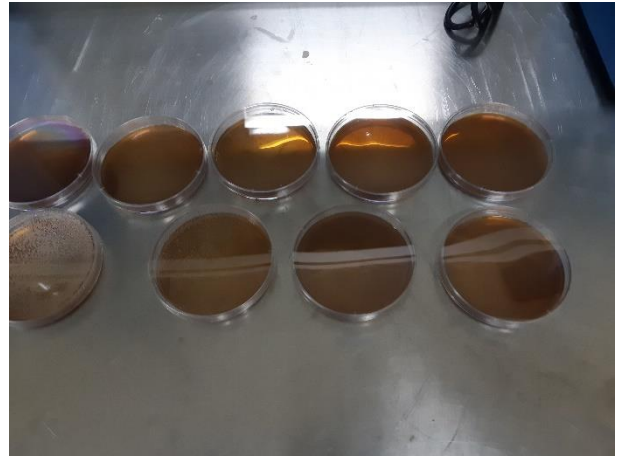
- Torrado, J., Calixto, D., Sarmiento, A., & Panqueva, J. (2015). Evaluación del molibdato y nitrato sobre bacterias sulfatoreductoras asociadas a procesos de corrosión en sistemas industriales. *Revista Argentina de microbiología*, 52-62.
- Tsiung, S. & Hsu, T. (2014). Propionic Acid Fermentation of Lactose By *Propionibacterium acidipropionici*. *PUBMED*, 38.
- UCMC. (2015). Bacterias Anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el Planeta . *NOVA*, 69.
- Varellen, T. & Van, R. (1998). *Lactobacillus Plantarum* Probiotic. *Ferment and Bioeng*, 179.
- Varnero, M. (2011). Manual de Biogas. En P. MINENERGIA, *Chile: Remoción de Barreras para la Electrificación Rural con Energías Renovables*. (pág. 30). Chile: Proyecto CHI/00/G32.
- Vázquez, H. & Dacosta, O. (2014). Fermentación Alcohólica. *Ingeniería Investigación y tecnología*, 4 - 8.
- Vicent, M., Álvarez, S., & Zaragozá, J. (2006). Química Industrial Organica. *UPV*.
Wesner. (1989).
- wordpress, E. (17 de marzo de 2014). *Microbiótica* . Obtenido de EM y sus cinco grupos de Microorganismos Eficientes: <http://microorganismoseficientes.wordpress.com/2013/05/06/microorganismo-s-del-em>
- Yuan, L. (2006). Microbial Biotechnoligy. *Principles and Applications*.
- Zapata, S., Muñoz, J., Ruiz, O., Montoya, O., & Gutierrez, P. (2009). Aislamiento de *Lactobacillus Plantarum* LPBM10 y caracterización parcial de su Bacteriocina. *Vitae - redalyc.org*, 75.

Anexos

Instalación del biodigestor – marca



Preparación de los microorganismos LPBM 10



Producción en masa de los microorganismos LPBM – 10 mediante el reactor biológico.



Matriz de consistencia

Problema	Objetivo	Hipótesis	Variables
<p>General: ¿Qué efecto tiene la aplicación de microorganismos catalíticos en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata - El Tambo 2018?</p> <p>Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Qué cantidad de dosificación de los microorganismos catalíticos en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata? • ¿Qué porcentaje de metano (CH₄) en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata? • ¿Cuánto varia el pH en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata? • ¿Cuánto varia la temperatura en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata? 	<p>Objetivo General: Determinar el efecto de la aplicación de microorganismos catalíticos en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata- El Tambo 2018</p> <p>Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la cantidad de dosificación de los microorganismos catalíticos en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata. • Determinar porcentaje de metano (CH₄) en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata. • Evaluar la variación del pH en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata. • Evaluar la variación de la temperatura en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata. 	<p>Hipótesis General: La aplicación de microorganismos catalíticos influye en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata- El Tambo 2018</p> <p>Hipótesis Especifica:</p> <ul style="list-style-type: none"> • La dosificación de microorganismo catalíticos es de 2,5 litros en la producción de biogás utilizando excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata. • El porcentaje de metano es de 70 % en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata. • El pH influye en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata • La temperatura influye en la producción de biogás utilizando microorganismos catalíticos y excretas porcinas en la Comunidad Campesina de Lamblaspata. 	<p>Variables independientes:</p> <p>Concentración del lactobacillus Plantarum LPMB10 (UFC/ml)</p> <p>Variables dependientes:</p> <p>% de Producción de biogás metano (CH₄)</p>