

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DEL  
EFLUENTE DE DOS BIODIGESTORES A ESCALA EN EL ITCR PARA  
SU UTILIZACIÓN COMO BIOABONO EN ENSAYOS DE  
INVERNADERO

Informe presentado a la Escuela de Biología del  
Instituto Tecnológico de Costa Rica como requisito parcial  
para optar al título de Bachiller en Ingeniería en Biotecnología

Margie Faith Vargas

Cartago, Abril, 2010



# EVALUACIÓN DE LA CALIDAD QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DEL EFLUENTE DE DOS BIODIGESTORES A ESCALA EN EL ITCR PARA SU UTILIZACIÓN COMO BIOABONO EN ENSAYOS DE INVERNADERO

Margie Faith Vargas<sup>1</sup>

## RESUMEN

Los procesos de tratamiento anaeróbico permiten utilizar desechos orgánicos de la agricultura, la industria y las aguas residuales domésticas, obteniendo dos productos de valor, el biogás para generación de energía, y un efluente con propiedades fertilizantes. En este estudio se analizó la composición química y calidad microbiológica del efluente de dos biodigestores a escala en el ITCR para determinar su potencial como bioabono en ensayos de invernadero con un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*). Los biodigestores se inocularon manualmente con aguas residuales de la planta de tratamiento del ITCR, a las cuales se les agregó lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) triturado. El material de carga aumentó su contenido de nutrientes con el proceso de biodigestión. Se observó disminución de bacterias coliformes, sin embargo su concentración no permite la aplicación inocua a los cultivos. El ensayo de invernadero se realizó aplicando tres tratamientos de fertilización. Para la altura de plantas, número de hojas y peso fresco, se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que en peso seco no se presentaron diferencias significativas. Se determinó que la aplicación del efluente al 50% de su concentración fue más efectiva que al 100%, además el fertilizante químico produjo mejores resultados en el corto plazo.

**PALABRAS CLAVE:** digestión anaeróbica, biodigestor, efluente, bioabono, *Eichhornia crassipes*, bacterias coliformes, *Lactuca sativa*.

---

<sup>1</sup> INFORME DE TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica. 2010.

## ABSTRACT

Anaerobic treatment processes can use the agriculture, industry and domestic waste waters to obtain two valuable products, biogas for energy generation, and also an effluent with fertilizer properties. On this study the chemical composition and microbiological quality of the effluent obtained from two small scale biodigesters at the ITCR, was analyzed to evaluate its potential use as biofertilizer on a greenhouse assay with lettuce (*Lactuca sativa*). The biodigesters were manually inoculated using domestic waste waters from the ITCR's treatment plant, and triturated water lilies (*Eichhornia crassipes*). The loading material increased its nutrient content on the biodigestion process. The decrease of coliform bacteria was observed, however its concentration does not allow safe application to crops. In the greenhouse assay, 3 fertilization treatments were used. For the plant height, leaf number and fresh weight, significant differences were observed between the treatments, while on the dry weight assay, there were no significant differences. It was determined that the effluent application at 50% concentration was more effective than 100%, and the chemical fertilizer produces better results in the short term.

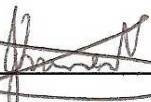
**KEY WORDS:** anaerobic digestion, biodigester, effluent, biofertilizer, *Eichhornia crassipes*, coliform bacteria, *Lactuca sativa*.

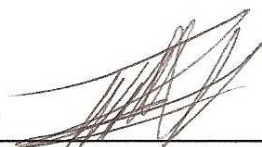
**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DEL EFLUENTE  
DE DOS BIODIGESTORES A ESCALA EN EL ITCR PARA SU UTILIZACIÓN  
COMO BIOABONO EN ENSAYOS DE INVERNADERO**

**Informe presentado a la Escuela de Biología del  
Instituto Tecnológico de Costa Rica como requisito parcial para  
optar al título de Bachiller en Ingeniería en Biotecnología**

**Miembros del Tribunal**

  
\_\_\_\_\_  
**Msc. Olga Rivas Solano**  
**Profesora asesora - ITCR**

  
\_\_\_\_\_  
**MAP. Jaime Brenes Madriz**  
**Profesor asesor – ITCR**

  
\_\_\_\_\_  
**Ing. William Rivera Méndez**  
**Lector**

## **DEDICATORIA**

A mi familia, que con cariño y dedicación han hecho realidad mi carrera profesional.

A Carlos, quien me ha dado todo el apoyo y comprensión para finalizar con éxito mis estudios.

Margie

## **AGRADECIMIENTOS**

A MSc. Olga Rivas, por su valiosa guía y colaboración como asesora en la consecución del proyecto.

A MSc. Dora Flores, MAP. Jaime Brenes y al Ing. William Rivera, por sus consejos y sugerencias durante el proyecto, así como en la revisión del documento final.

A Ing. Rossy Guillén y María Valerio, por su amistad y compañerismo al trabajar en el desarrollo del proyecto de graduación.

A los funcionarios del ITCR, Sr. Carlos Solano y Sr. Freddy Angulo, por su disposición y ayuda incondicional durante los meses de trabajo en el proyecto de investigación.

A los asistentes de Laboratorio de Biología y Laboratorio de Biología Molecular del Centro de Investigación en Biotecnología, Sr. Juan Carlos Solano y Sr. Julián Alvarado, por la asistencia brindada en el préstamo de materiales y equipo.

Con base en los resultados de este Trabajo Final de Graduación se elaboró el siguiente artículo científico: Faith, M., Rivas, O. 2010. Evaluación de la calidad química y microbiológica del efluente de dos biodigestores a escala en el ITCR para su utilización como bioabono en ensayos de invernadero (en preparación).

## INDICE GENERAL

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	5
Biogás y Digestión Anaeróbica .....	5
Biodigestores .....	8
Proceso de Fermentación Anaeróbica.....	9
Factores Condicionantes del Proceso de Biodigestión .....	11
Usos de los Biodigestores .....	15
Aprovechamiento del Efluente .....	16
Composición Química del Efluente .....	19
Calidad Microbiológica del Efluente .....	21
Efecto del Efluente sobre el Suelo y los Cultivos .....	23
Formas de Aplicación del Efluente.....	24
Otros Usos del Efluente .....	25
Evaluación Económica del Efluente .....	26
<b>OBJETIVOS</b> .....	28
Objetivo General .....	28
Objetivos Específicos.....	28
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	29
Localización del área experimental.....	29
Descripción de los biodigestores .....	29
Análisis de la composición química del efluente de los biodigestores .....	31
Determinación de presencia de coliformes en el efluente de los biodigestores.....	32
Establecimiento de ensayos de invernadero .....	33
<b>RESULTADOS</b> .....	38
Características del efluente y los biodigestores.....	38
Composición química del efluente .....	39



Calidad microbiológica del efluente .....	39
Variables evaluadas en el ensayo de invernadero .....	41
Altura de planta y Número de hojas .....	41
Peso fresco y Peso seco .....	45
Desarrollo general del cultivo de lechuga en el ensayo .....	46
<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	49
<b>CONCLUSIONES</b> .....	63
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	64
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	66
<b>ANEXOS</b> .....	71

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Valores aproximados de la composición de macronutrientes del efluente.	20
<b>Tabla 2.</b> Tratamientos utilizados para la aplicación del efluente como bioabono en plantas de lechuga. ....	34
<b>Tabla 3.</b> Análisis químico de nutrientes realizado al influente y efluente de los biodigestores alimentados con aguas del Residencial Iztarú en mg/l. ....	39
<b>Tabla 4.</b> Colonias observadas en las placas con diluciones del influente y el efluente de los biodigestores en UFC/ml y porcentaje de remoción de coliformes. ....	40
<b>Tabla 5.</b> Valores promedio obtenidos en cada tratamiento durante el cultivo de lechuga para las cuatro variables analizadas. ....	43
<b>Tabla 6.</b> Resumen del análisis de varianza de la altura de plantas de lechuga en cada tratamiento de fertilización (diferentes concentraciones de efluente, ml). ....	44
<b>Tabla 7.</b> Resumen del análisis de varianza del número de hojas en plantas de lechuga en cada tratamiento de fertilización (diferentes concentraciones de efluente, ml). ....	44
<b>Tabla 8.</b> Resumen del análisis de varianza del peso fresco de plantas de lechuga en cada tratamiento de fertilización (diferentes concentraciones de efluente, ml). ....	45
<b>Tabla 9.</b> Resumen del análisis de varianza del peso seco de plantas de lechuga en cada tratamiento de fertilización (diferentes concentraciones de efluente, ml). ....	46

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> A. Biodigestor de polietileno a escala. B. Entrada a la laguna de aguas residuales del Residencial Iztarú.....	30
<b>Figura 2.</b> A. Triturador de residuos orgánicos utilizado. B. Mezcla de los lirios triturados con el agua residual. ....	31
<b>Figura 3.</b> Sistema de siembra utilizado en cada tratamiento.....	34
<b>Figura 4.</b> A. Aplicación de abono granulado 10-30-10. B. Aplicación del efluente líquido a cada maceta. ....	35
<b>Figura 5.</b> A. Papel colocado en la pared del invernadero para disminuir la incidencia de luz. B. Aplicación de insecticida al cultivo. ....	36
<b>Figura 6.</b> Salida del efluente del biodigestor. ....	38
<b>Figura 7.</b> A. Placa de medio EMBA con la dilución $10^{-4}$ del influente. B. Placa de EMBA con la dilución $10^{-3}$ del efluente.....	41
<b>Figura 8.</b> A. Altura de plantas en T1. B. Número de hojas en T1. C. Altura de plantas en T2. D. Número de hojas en T2. E. Altura de plantas en T3. F. Número de hojas en T3. ....	42
<b>Figura 9.</b> A. Comparación del desarrollo de los tratamientos T1, T2 y T3 (de izquierda a derecha). B. Comparación visible de las raíces en los tratamientos T1, T2 y T3 (de izquierda a derecha). ....	46
<b>Figura 10.</b> Comparación de la coloración de las plantas de lechuga. ....	47
<b>Figura 11.</b> A. Plaga de <i>Myzus persicae</i> observada en los tratamientos T3 afectados. B. Colonización de la plaga en las hojas interiores. ....	48
<b>Figura 12.</b> Crecimiento anormal observado en el tratamiento T3-1.....	48

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Dimensiones de las cajas de entrada (materia orgánica) y salida (efluente) del biodigestor.....	711
---	-----

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la población mundial, la industrialización y el consumo creciente de recursos naturales están produciendo niveles de desechos orgánicos cada vez más altos. Muchos de estos no tienen un tratamiento adecuado o la búsqueda de su mejor uso representa altos costos. La mayor parte de los desechos orgánicos, que representan hasta un 60% del total de los desechos domésticos, no son reciclados, siendo depositados en rellenos sanitarios donde ocupan grandes espacios o entran al medio ambiente como un contaminante de aguas, suelos y atmósfera debido a sus grandes volúmenes (Dias *et al.*, 2007).

A nivel mundial, la disponibilidad de energía se ha convertido en uno de los principales problemas, los países tanto en vías de desarrollo como desarrollados, se enfrentan a una demanda creciente de energía para satisfacer sus expectativas económicas y sociales. Por otra parte el uso de combustibles fósiles para obtener energía, sobre todo eléctrica, trae como consecuencia el vertido de sustancias tóxicas al aire, al agua y a los suelos, dañando la naturaleza a corto, medio y largo plazo. Frente a esta situación, existe la necesidad de aprovechar estos desechos orgánicos para la generación de energía eléctrica y de calor, como una manera de suplir el déficit de energía y disminuir al mismo tiempo la contaminación ambiental (Moncayo y Arrue, 2007).

El uso de fertilizantes inorgánicos constituye una de las principales prácticas que ha permitido el incremento de la producción de las actividades agropecuarias del país. Sin embargo Costa Rica depende del exterior para la adquisición de este insumo, el cual debe importarse. Esta dependencia, aunada a las periódicas crisis petroleras, ha provocado un gran incremento en el precio de los insumos agropecuarios, principalmente de los fertilizantes, originando a su vez un aumento en los costos de producción (Gómez, 1990).

Existen varias alternativas, dentro de las cuales la utilización del efluente de los biodigestores, cobra gran valor ante el aumento del precio de los fertilizantes, alcanzando niveles que, en muchos casos, hacen prohibitiva su utilización, sobre todo para agricultores de escasos recursos económicos. Dentro de este marco deben buscarse nuevas opciones que sirvan no sólo como fuente de nutrientes para las cosechas sino que contribuyan también a mantener o incluso mejorar las condiciones de fertilidad del suelo (Solís, 1991).

Los procesos de tratamiento anaeróbico son especialmente adaptados para la utilización de desechos orgánicos provenientes de la agricultura y la industria, así como la parte orgánica de los desechos de hogares. La degradación anaeróbica es un método muy rentable para tratar desechos de origen biológico debido a que el biogás producido puede ser utilizado para generar calor y producir electricidad. Además es posible reciclar los residuos del digestor a la agricultura utilizándolos como fertilizante secundario. La tecnología anaeróbica también ayuda a reducir las emisiones de CO<sub>2</sub> de acuerdo al Protocolo de Kyoto (Weiland, 2000).

Los últimos 20 años han sido fructíferos en cuanto a descubrimientos sobre el funcionamiento del proceso microbiológico y bioquímico gracias a nuevos materiales de laboratorio que permitieron el estudio de los microorganismos intervinientes en condiciones anaeróbicas. Con la biotecnología, estos progresos en la comprensión del proceso microbiológico han estado acompañados por importantes logros de la investigación aplicada obteniéndose grandes avances en el campo tecnológico (Hilbert, 2006).

Ante esta situación los abonos de origen orgánico resurgen como una alternativa tecnológica que permite disminuir los gastos por consumo de fertilizantes inorgánicos, permite el reciclaje de desechos orgánicos que tradicionalmente han sido fuente de contaminación, y además su aplicación favorece al mejoramiento de las propiedades físicas y químicas del suelo, aumentando su fertilidad natural (Gómez, 1990).

En Costa Rica los problemas sociales apremiantes están relacionados con la vivienda deficitaria, el abastecimiento de agua potable, la inadecuada disposición de los desechos sólidos y líquidos de las agroindustrias o centros habitacionales que se vierten en los ríos sin ningún tratamiento. Por ello se hace necesario, la introducción de la tecnología de la biodigestión anaeróbica, la cual debe cumplir con los requisitos mínimos necesarios que exige la legislación vigente y servir como una unidad depuradora de esos desechos de alto nivel contaminante. Con este aprovechamiento completo de los desechos orgánicos, se elimina la contaminación a un costo menor, aumentando la producción, de ahí la importancia para los sectores agroindustrial y turístico de Costa Rica (Castillo, 2001).

El ITCR cuenta con un biodigestor para el tratamiento de desechos orgánicos del Instituto y alrededores, por lo que se pretende evaluar la calidad química (porcentaje de nutrientes N, P, K) del efluente de dos biodigestores a escala en el ITCR, para utilizarlo como biofertilizante, así como su calidad microbiológica para asegurar su inocuidad al aplicarlo a cultivos. El ensayo de invernadero se realizará con un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*), para determinar la efectividad del bioabono en cuanto a crecimiento y rendimiento del cultivo.



## REVISIÓN DE LITERATURA

### **Biogás y Digestión Anaeróbica**

La fermentación anaeróbica es un proceso natural que ocurre en forma espontánea en la naturaleza y forma parte del ciclo biológico. La generación de biogás, mezcla constituida fundamentalmente por metano ( $\text{CH}_4$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), y pequeñas cantidades de hidrógeno (H), sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ) y nitrógeno (N), constituye un proceso vital dentro del ciclo de la materia orgánica en la naturaleza.

La digestión anaeróbica ocurre naturalmente en el tracto digestivo de animales y debajo de aguas estancadas o pantanos, pero también puede realizarse en depósitos cerrados herméticamente, llamados digestores. Estos se utilizan cuando se quiere captar todos los productos obtenidos de la descomposición anaeróbica (gases y sólidos), ya que al haber en su interior un ambiente oscuro y sin aire, se favorece el medio óptimo para el cultivo intensivo de bacterias anaeróbicas (Soria *et al.*, 2001).

Los biodigestores son apropiados para las condiciones técnicas y posibilidades económicas de los países desarrollados y subdesarrollados. La tecnología del biogás está bien adaptada a las exigencias ecológicas, ambientales y económicas del futuro. Es una tecnología de avanzada y de mucha aceptación por tratarse del aprovechamiento de energías renovables (Moncayo y Arrue, 2007).

Las bacterias metanogénicas constituyen el último eslabón de la cadena de microorganismos encargados de digerir la materia orgánica y devolver al medio los elementos básicos para reiniciar el ciclo. Se estima que anualmente la actividad microbiológica libera a la atmósfera entre 590 y 880 millones de toneladas de metano (Hilbert, 2006).

Las primeras menciones sobre biogás se remontan al año 1600, identificado por varios científicos como un gas proveniente de la descomposición de la materia orgánica. En el año 1890 se construyó el primer biodigestor a escala real en la India y ya en 1896 en Inglaterra, las lámparas de alumbrado público eran alimentadas por el gas recolectado de los digestores que fermentaban los lodos cloacales de la ciudad (Hilbert, 2006).

Además de generar gas combustible, la fermentación anaeróbica de la materia orgánica produce un residuo orgánico de excelentes propiedades fertilizantes, evitando en esta forma la competencia que se podría presentar con el aprovechamiento tradicional de los residuos animales y agrícolas con fines fertilizantes o como combustibles (Mandujano *et al.*, 1981).

La producción de biogás a partir de desechos orgánicos para sustituir la energía fósil o utilizar el *compost* (reciclaje de carbono y nutrientes) no causa un incremento en las emisiones de CO<sub>2</sub> a la atmósfera (Gallert y Winter, 2002), además los residuos de estos métodos de tratamiento biológico pueden servir como fertilizantes o acondicionadores del suelo.

De forma alternativa, el gas puede ser comprimido después de la purificación y enriquecimiento, y luego ser usado para alimentar una planta, en motores o vehículos de combustión. Su mayor ventaja es el aspecto de la tecnología amigable con el ambiente, que incluye el potencial para el completo reciclaje de minerales, nutrientes (fosfato, etc.) y material rico en fibra proveniente de los campos que es devuelto al suelo, desempeñando un papel funcional sosteniendo la vitalidad del suelo para plantaciones futuras. La tecnología es actualmente madura, pero hay mucho espacio para la optimización, lo que resulta en grandes plantas de producción de alta tecnología con la utilización integrada de subproductos (Antoni *et al.*, 2007).

Un cambio significativo en la tecnología del biogás, particularmente en el caso de grandes plantas industriales, se ha trasladado a una tecnología más aceptable ambientalmente, que permite la combinación de la disposición de desechos con energía y producción de fertilizantes tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Esto se ha logrado gracias a incentivos financieros, avances en eficiencia de energía, diseminación de tecnología y capacitación de personal (Ebenezer *et al.*, 2007).

También se ha venido incrementado el uso del biogás para generar electricidad. A pesar de que hay ciertos problemas técnicos (trazas de compuestos como sulfuro de hidrógeno e hidrocarburos halogenados), existen buenas perspectivas. Es técnicamente factible alcanzar, con el biogás, casi la misma calidad del gas natural removiendo el dióxido de carbono en el biogás y el nivel de metano aumenta del usual 40-60% a cerca del 95%. Esta aproximación lleva a una potencial competitividad con el gas natural (Ebenezer *et al.*, 2007).

## **Biodigestores**

Los biodigestores son recipientes o tanques en los que se produce la digestión anaeróbica, permiten la carga (influyente) de sustratos (biomasa) y descarga (efluente) de bioabono, además poseen un sistema de recolección y almacenamiento de biogás para su aprovechamiento energético. El término biomasa o sustrato se refiere a toda la materia orgánica que proviene de desechos de animales (estiércol), árboles, plantas, desechos orgánicos que pueden ser convertidos en energía; o los provenientes de la agricultura (residuos de maíz, café, arroz, papa, banano, etc.), de aserraderos (podas, ramas, aserrín, cortezas) y de los residuos urbanos (aguas residuales, basura orgánica y otros) (Moncayo y Arrue, 2007).

Los desechos agroindustriales del proceso de cosecha y procesamiento de frutas, así como residuos agrícolas, se encuentran normalmente libres de contaminantes o materiales extraños y pueden ser utilizados a menudo sin ningún tratamiento previo. Por otro lado, los desechos biológicos de hogares están fuertemente contaminados con plásticos, metales, arena y otros materiales, lo que hace que siempre sea necesario un tratamiento previo. Por lo tanto las plantas de co-digestión deben estar equipadas con varios pasos de pre-tratamiento para remover materiales extraños, mejorar la calidad sanitaria y aumentar los desechos para la digestión (Weiland, 2000).

Un biodigestor o planta de biogás se compone de un tanque de homogenización o carga (pila de mezclado de la materia prima y el agua), una bomba (opcional), el tanque de biodigestión, un mezclador o agitador, tuberías de captación de biogás, el recipiente para almacenar biogás (puede estar integrado en el mismo biodigestor), tubería de descarga por donde se elimina el material procesado (bioabono), tanque de descarga, tuberías y válvulas de seguridad, cierre y desagües, filtro de remoción de H<sub>2</sub>S, quemadores de biogás, equipos para combustión (cocinas, incineradores, etc.) y generadores de energía eléctrica o calor (Castillo, 2001; Moncayo y Arrue, 2007).

Una idea general sobre el proceso microbiológico involucrado en la formación de metano es necesaria para poder comprender mejor el diseño y funcionamiento de los reactores o digestores productores de biogás.

### **Proceso de Fermentación Anaeróbica**

La fermentación anaeróbica involucra un complejo número de microorganismos de distinto tipo los cuales pueden ser divididos en tres grupos principales. La real producción de metano es la última parte del proceso y no ocurre si no han actuado los primeros dos grupos de microorganismos. Las bacterias productoras del biogás son estrictamente anaeróbicas y por lo tanto sólo podrán sobrevivir en ausencia total de oxígeno atmosférico. Otra característica que las identifica es la sensibilidad a los cambios ambientales debido a lo cual será necesario un mantenimiento constante de los parámetros básicos como la temperatura.

Las dificultades en el manejo de estas delicadas bacterias explican que la investigación sistemática tanto de su morfología como de la bioquímica fisiológica sólo se halla iniciado hace cincuenta años. Hoy en día se conoce mejor el mecanismo y funcionamiento de este complejo sistema microbiológico involucrado en la descomposición de la materia orgánica que la reduce a sus componentes básicos  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ .

De acuerdo a los microorganismos que participan en el proceso de digestión anaeróbica, este se puede dividir en tres fases; los microorganismos intervinientes en cada fase tienen propiedades distintas que son muy importantes y se les debe conocer para lograr comprender el equilibrio y funcionamiento óptimo de un biodigestor (Hilbert, 2006).

**Fase de Hidrólisis.** En esta primera etapa se da la hidrólisis de polisacáridos (almidón, celulosa, hemicelulosas, etc.), proteínas y grasas. Las bacterias toman la materia orgánica compleja, rompiendo sus largas cadenas de estructuras carbonadas y transformándolas en cadenas más cortas y simples como oligosacáridos y azúcares, ácidos grasos y glicerol. Este proceso es seguido por una fase de acidogénesis, la fermentación de estos productos en ácido acético, propiónico y butírico, dióxido de carbono e hidrógeno, alcoholes y otros compuestos menores (Antoni *et al.*, 2007).

**Fase de Acetogénesis.** Esta etapa la llevan a cabo las bacterias acetogénicas y realizan la degradación de los ácidos orgánicos llevándolos al grupo acético  $\text{CH}_3\text{-COOH}$  y liberando como productos hidrógeno y dióxido de carbono en el proceso de fermentación anaeróbica (Bagi *et al.*, 2007). Esta reacción es endoenergética pues demanda energía para ser realizada y es posible gracias a la estrecha relación simbiótica con las bacterias metanogénicas que sustraen los productos finales del medio minimizando la concentración de los mismos en la cercanía de las bacterias acetogénicas.

Esta baja concentración de productos finales es la que activa la reacción y la actividad de estas bacterias, haciendo posible la degradación, manteniendo el equilibrio energético (Hilbert, 2006). Debido al largo periodo de generación de éstas bacterias, éste parece ser el paso limitante en el proceso (Antoni *et al.*, 2007).

Fase de Metanogénesis. Las bacterias de esta etapa son bacterias de crecimiento lento que pertenecen al dominio Archaea. Generalmente son sensibles a la acidificación, acumulación de amonio, cantidades bajas de oxígeno y otros factores (Antoni *et al.*, 2007). La transformación final cumplida en esta etapa tiene como principal sustrato el ácido acético junto a otros ácidos orgánicos de cadena corta y los productos finales liberados son metano y dióxido de carbono. Se produce aproximadamente 70% (v/v) CH<sub>4</sub> y 30% CO<sub>2</sub>, así como los subproductos NH<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>S (Hilbert, 2006).

Las comunidades de bacterias involucradas en estas tres etapas son similares a las que se encuentran en el rumen de las vacas o en las plantas de tratamiento de aguas residuales (Antoni *et al.*, 2007); sin embargo, su composición varía dependiendo del sustrato, el tipo de biodigestor y el proceso.

### **Factores Condicionantes del Proceso de Biodigestión**

De acuerdo a Soria *et al.* (2001) se deben controlar ciertos parámetros en el biodigestor, para que las bacterias aseguren su ciclo biológico en el proceso de digestión anaeróbica, para esto es necesario que se presenten en condiciones óptimas los siguientes factores:

Temperatura. Lo más importante es que se mantenga constante durante todo el proceso ya que los cambios bruscos afectan la actividad bacteriana (Solís, 1991). La temperatura afecta directamente la tasa de producción de biogás, este puede ser producido a cualquier temperatura entre los 50°C y los 60°C. Dentro de este rango entre más alta la temperatura mayor será la producción de gas (Canessa *et al.*, 1985). Las bacterias mesófilas completan su ciclo biológico en el ámbito de 15 a 40°C con una temperatura óptima de 35°C. Las bacterias termofílicas cumplen sus funciones en el ámbito de 35 a 60°C con una temperatura óptima de 55°C (Soria *et al.*, 2001).

Hermetismo. Para que el proceso de digestión se lleve a cabo en forma eficiente, el tanque de fermentación debe estar herméticamente cerrado. Los microorganismos principales para el proceso son estrictamente anaeróbicos, por lo tanto, es esencial construir un digestor bien sellado para lograr este ambiente y para evitar escape del gas que se produce (Canessa *et al.*, 1985).

Presión. La presión sub-atmosférica de 6 cm de agua dentro del biodigestor se considera la presión óptima (Soria *et al.*, 2001).

Tiempo de retención. Es el tiempo promedio en que la materia orgánica es degradada por los microorganismos. Este tiempo se debe fijar en función de la temperatura ambiente y tipo de sustrato. Con temperaturas cercanas a 30°C pueden usarse periodos de 15-30 días, al bajar la temperatura, el periodo de retención tiende a aumentar llegando a 30-60 días (Solís, 1991).



Relación C/N. El carbono es importante porque es la fuente de energía de las bacterias y el nitrógeno sirve para la formación de estructuras de nuevas células (Solís, 1991). La relación óptima de C/N es de 30:1, cuando la relación es muy estrecha (10:1) hay pérdidas de nitrógeno asimilable, lo cual reduce la calidad del material digerido. Si la relación es muy amplia (40:1) se inhibe el crecimiento debido a falta de nitrógeno (Soria *et al.*, 2001).

Porcentaje de sólidos. Los sólidos totales representan la porción seca de la materia prima. Los sólidos volátiles son la porción de materia orgánica contenida en los sólidos totales. La determinación de estos dos factores es importante para obtener las materias primas apropiadas para el digester porque de ellos dependerá el potencial de producción de biogás (Canessa *et al.*, 1985). El porcentaje óptimo de sólidos en la mezcla a digerir es de 7 a 9 y se consigue al diluir el material orgánico con agua (Soria *et al.*, 2001).

pH. El pH dentro del digester tiene un impacto muy importante en la actividad biológica de las bacterias productoras de gas. El proceso normal requiere un valor de pH constante, aproximadamente neutro, una vez que se ha llenado el digester, el tiempo que dura para obtener el pH adecuado depende de la temperatura, la clase y la cantidad de materia prima utilizada (Canessa *et al.*, 1985). En digestores operados con estiércol bovino, los valores óptimos de operación oscilan entre 6.7 y 7.5 con límites de 6.5 a 8.0 (Soria *et al.*, 2001).

Agitación. Esta práctica es importante para establecer un mejor contacto de las bacterias con el sustrato (Soria *et al.*, 2001). Un aumento en la producción de gas está relacionado con la agitación frecuente de la mezcla (Canessa *et al.*, 1985). De acuerdo al tipo de biodigestor, se puede lograr un mezclado completo o un mezclado parcial. Para lograr un mezclado completo se puede realizar la agitación de líquidos mediante bombas internas o externas al digestor y la reinyección de biogás dentro de la cámara produciendo un intenso burbujeo. Se debe tener cuidado en la intensidad y periodicidad de la agitación, para no afectar el delicado equilibrio bacteriano. Un mezclado parcial, se realiza generalmente en los digestores pequeños con métodos de agitación rudimentarios. En otros casos como los digestores del tipo horizontal la agitación se logra mediante la circulación del sustrato dentro de la cámara de digestión provista de una serie de tabiques (Arévalo y Zambrano, 2007).

Para el mantenimiento del biodigestor se debe tomar en cuenta su alimentación y protección del medio ambiente. Una vez que el biodigestor está instalado se encuentra listo para ser alimentado diariamente de acuerdo a su tamaño. Por ejemplo un biodigestor de 8 m de largo (uno de los más comunes) debe ser alimentado todos los días con 50 kg de boñiga disuelta en 150 l de agua. Si todo funciona bien el biodigestor comenzará a producir gas a los 30 días. La cantidad de boñiga con que se alimenta es suficiente para producir 16 horas diarias de gas, siempre que se alimente todos los días. También se puede aprovechar el producto líquido como un buen biofertilizante para los cultivos (Retana, 2006).

De la protección y mantenimiento que se le dé al biodigestor depende su vida útil y por lo tanto, un mejor aprovechamiento del mismo. El biodigestor se debe proteger de la acción de animales, lluvia, sol y del mismo ser humano. Para protegerlo del sol y la lluvia es importante construir un techo sobre el biodigestor, de modo que los rayos solares no degraden el plástico y acorten su vida útil. El techo puede ser de lámina de zinc, sarán, plástico negro o bien de hojas de palma y debe estar a una altura máxima de 1.5 m (Retana, 2006).

### **Usos de los Biodigestores**

Castillo (2001) señala los tres usos principales que se le pueden dar al biodigestor de acuerdo a su objetivo de implementar un sistema de biodigestión:

Tratamiento de efluentes. La digestión anaeróbica es una alternativa cada vez más importante para el tratamiento de efluentes, con el consecuente beneficio sanitario y ambiental; ya que disminuye satisfactoriamente la demanda de oxígeno, los microorganismos patógenos, los insectos productores de enfermedades y sus huevos. Además elimina la reinfección de cultivos por hongos o insectos de cosechas anteriores y baja la carga de elementos contaminantes de los ríos producida por granjas pecuarias, la agroindustria y los asentamientos urbanos.

Producción de energía barata. El biogás es un combustible que no es tóxico, no contamina el ambiente regenera el ciclo biológico y posee un contenido energético aceptable. De esta forma se utiliza en calentamiento, en mover motores de combustión interna, iluminación, cocción, generación de electricidad, entre otros usos.

Producción de abono orgánico. El efluente del digestor es un humus con excelentes propiedades fertilizantes, pues mantiene y concentra los nutrientes de la materia original. Al ser estabilizado, no fomenta la descomposición posterior y, por lo tanto, no desarrolla organismos patógenos o indeseables, no tiene olor ni consume oxígeno. Esto da valor a la materia ya que disminuye los gastos de abono químico y mejora la materia orgánica para ser utilizada como tal.

### **Aprovechamiento del Efluente**

En algunos estudios realizados se ha demostrado que el uso del efluente líquido representa económicamente más beneficio que el propio biogás. El tratamiento anaerobio de residuales orgánicos (específicamente de excretas animales) imita a los procesos que ocurren en la naturaleza donde no existen los desechos o desperdicios, sino materia prima para crear otro tipo de material útil para la vida.

El residuo orgánico que se descarga del biodigestor es un lodo-líquido fluido de excelentes propiedades fertilizantes, el cual está constituido por la fracción orgánica que no alcanza a degradarse y por el material orgánico agotado. Su constitución puede variar mucho, dependiendo de las variaciones en el contenido de la materia orgánica utilizada para alimentar el biodigestor y del tiempo de residencia de dicho material dentro de él (Moncayo y Arrue, 2007).

Los biofertilizantes, también conocidos como bioabonos, son sustancias líquidas orgánicas que se obtienen mediante la fermentación de estiércoles, plantas y otros materiales orgánicos en medios líquidos (agua) y que algunas veces son enriquecidos con sales minerales naturales (Wong y Jiménez, 2009).

El proceso fermentativo y de producción de biogás no extrae más que carbono, trazas de azufre, hidrógeno y algo de nitrógeno por reducción de  $\text{NH}_3$ . Para una alimentación media de 50 kg/día y una producción diaria de  $1\text{m}^3$  de gas, la masa se reducirá solamente en un 2%. La viscosidad del efluente se ve reducida drásticamente debido a la transformación de los sólidos volátiles (un 50% de los mismos son reducidos en un digestor). Esto hace al efluente mucho más manejable para su utilización (Hilbert, 2006).

El fertilizante obtenido en la planta de biogás tiene características superiores al abono con estiércol fresco debido a que no se pierden los nutrientes. Puede competir con los fertilizantes químicos permitiendo un ahorro en la aplicación de otros abonos convencionales, sin disminuir la productividad de los cultivos. No deja residuos tóxicos en el suelo y además aumenta la productividad en comparación con suelos no abonados. Puede ser utilizado puro o como aditivo de origen orgánico de alta calidad, o como correctivo de la acidez en los suelos (Moncayo y Arrue, 2007).

La composición del bioabono en promedio tiene 8.5% de materia orgánica, 2.6% de nitrógeno, 1.5% de fósforo, 1.0% de potasio y un pH de 7.5 (Soria *et al.*, 2001).

El bioabono sólido o líquido no emana malos olores a diferencia del estiércol fresco, debido a que las sustancias provocadoras del mal olor son reducidas casi en su totalidad en función al tiempo de retención, el efluente tampoco atrae moscas y puede aplicarse directamente en las cantidades recomendadas (Soria *et al.*, 2001). Como biofertilizante puro, presenta una concentración de nutrientes relativamente alta, y a pesar de esta característica, puede ser aplicado directamente a los cultivos. Se lo utiliza también como aditivo en la preparación de soluciones nutritivas para cultivos hidropónicos.

Las ventajas de la utilización del bioabono como fertilizante son muy importantes, no solo por su bajo costo, sino por los excelentes resultados que se obtienen en la producción agrícola de todo tipo de cultivos (Moncayo y Arrue, 2007).

Mandujano *et al.* (1981) señala que las principales ventajas del efecto fertilizante de estos lodos radica en que posee mayor cantidad de nitrógeno que la materia prima original en base seca, que mediante el proceso de digestión se torna más asimilable por las plantas; es un buen material para el mejoramiento de suelos; a diferencia del estiércol fresco, no posee olores desagradables; no contiene bacterias patógenas o semillas de malas hierbas. Un metro cúbico de bioabono producido diariamente puede fertilizar más de 2 Ha de tierra por año a un nivel de 200 kg N/Ha; el incremento de la producción agrícola por el uso del bioabono puede alcanzar un promedio de 10-20%.

Además, al utilizar el efluente como bioabono, se reduce el riesgo de transmisión de enfermedades ya que al operar los digestores a temperaturas internas de 35°C, se destruye hasta el 95% de los huevos de parásitos y casi todas las bacterias y protozoarios responsables de enfermedades gastrointestinales (Castillo, 2001).

Si bien existen sustitutos inorgánicos para los nutrientes como nitrógeno, potasio y fósforo del bioabono, no existen sustitutos artificiales para otras sustancias como proteínas, celulosa, lignina, etc. Todas estas contribuyen a incrementar la permeabilidad del suelo y su higroscopicidad, a la vez que previenen la erosión y mejoran las condiciones del suelo en general. Las sustancias orgánicas también contribuyen a la base del desarrollo de los microorganismos responsables de convertir los nutrientes del suelo a formas que puedan ser incorporadas a las plantas de forma eficiente.

El alto contenido de amonio del lodo digerido (efluente) ayuda a reducir la tasa de lixiviación de nitrógeno en comparación con los fertilizantes que contienen cantidades sustanciales de nitratos y nitritos solubles en agua. Se ha comprobado que el amonio constituye la forma más valiosa de nitrógeno para la nutrición de las plantas. Además de suplir nutrientes, el efluente mejora la calidad del suelo al proveer materia orgánica, los ácidos húmicos presentes en el efluente contribuyen a que se dé una humificación más rápida, lo que ayuda a reducir la tasa de erosión.

Valdés *et al.* (1999) demostraron que las plantas a las cuales se les aplicó el lodo del efluente presentan una mayor velocidad de crecimiento. Por lo tanto, existe una mayor labor de síntesis de compuestos que pasan a formar parte de la estructura vegetal, estimulada por la aplicación del lodo de digestión como bioabono. Además, el lodo influye no sólo en la síntesis celular, sino también en el aceleramiento de los procesos fisiológicos normales que tienen lugar en la planta.

### **Composición Química del Efluente**

Como requisito para lograr mayor eficiencia en el proceso de biodigestión y tener un abono más rico, es necesario que la excreta líquida contenga mínimo 12% de sólidos totales o 2500 mg/l de sólidos sedimentables (Soria *et al.*, 2001).

En la Tabla 1 se dan los valores aproximados de la composición en los principales macronutrientes, pero se debe tener en cuenta que estos valores son sólo indicativos pues según el tipo de alimentación, raza, manejo, etc.; que tengan los animales y el tratamiento que sufra el estiércol antes y después de su digestión, estos valores pueden variar en forma significativa.

**Tabla 1.** Valores aproximados de la composición de macronutrientes del efluente.

Material de carga (estiércol)	Composición (%)			Relación nutritiva		
	N <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	N <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
Vacuno	0,46	0,2	0,5	2,3	1	2,5
Porcino	0,72	0,4	0,3	1,8	1	0,6
Aviar (seco)	3,60	4,6	2,5	0,8	1	0,6

**Fuente:** Hilbert, 2006.

Todos los nutrientes utilizados por los vegetales en forma importante (nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio) al igual que los elementos menores son preservados durante la fermentación. En el caso del fósforo su porción directamente asimilable no se ve afectada, conteniendo los efluentes un 50% en esta forma. En contraste con los otros nutrientes, el nitrógeno contenido en un 75% en macromoléculas orgánicas y un 25% en forma mineral en el estiércol, sufre una transformación reduciendo a un 50% el nitrógeno orgánico y aumentándose a un 50% el nitrógeno en forma mineral directamente asimilables por las plantas. Con respecto a este último nutriente es muy importante el tratamiento que se le dé al efluente después de que sale del digestor debido a que a medida que transcurren los días se incrementa la pérdida de nitrógeno mineral (5% en 11 días, 15% en 20 días), y en el caso de secar el efluente, la pérdida puede llegar al 90% (Hilbert, 2006).

Se puede realizar un análisis de la composición química del efluente del biodigestor con el fin de evaluar su potencial como bioabono, para esto se hacen determinaciones de N, P, K, Ca, Fe, Mg, Cu, Zn, con métodos analíticos de digestión ácida y posteriores lecturas con espectrometría (Soria *et al.*, 2001).



La dosis del efluente o bioabono que debe aplicarse en cualquier forma se determina en términos de la cantidad del nutriente equivalente que se necesite, la cual dependerá del tipo de suelo y cultivo; conviene, por tanto efectuar el análisis del efluente para establecer sus propiedades nutritivas (IICA, 2009).

### **Calidad Microbiológica del Efluente**

Las excretas contienen nutrimentos que los cultivos pueden utilizar, pero también poseen altas concentraciones de coliformes fecales que producen enfermedades infecciosas, capaces de causar incluso la muerte en los humanos. Para utilizarlas como fertilizantes, es necesario darles un tratamiento que elimine estos agentes infecciosos, mediante la biodigestión. En un biodigestor se utilizan los nutrimentos contenidos en las excretas y, además, se reduce la contaminación ambiental, ya que las excretas que contienen microorganismos patógenos como bacterias, protozoos, larvas, huevos, pupas de insectos, etc., se convierten en residuos útiles y sin riesgo de transmisión de enfermedades (Soria *et al.*, 2001).

En cuanto al aspecto sanitario, el efluente producto de la digestión anaeróbica aporta indudables beneficios al reemplazar otros costosos sistemas para obtener el mismo grado de descontaminación. El tratamiento de los desechos por vía anaeróbica elimina la acumulación de estos a la intemperie evitando la proliferación de moscas, mosquitos, otros insectos y roedores portadores de peligrosas enfermedades.

El proceso en sí mismo produce una reducción del 90% al 99% de los principales patógenos animales (*Staphylococcus*, *Salmonella*, *Pseudomonas*). Esta reducción, muy importante desde el punto de vista del saneamiento, está regulada por la temperatura de fermentación y la cantidad de días que permanece la biomasa dentro del digestor (tiempo de retención). El proceso fermentativo también tiene un efecto beneficioso si se lo emplea como biofertilizante ya que un gran porcentaje de semillas de las malezas se tornan inviables (Hilbert, 2006).

Se debe determinar la presencia de coliformes (UFC) en el efluente con el fin de estimar la calidad microbiológica del mismo, para esto se realiza el método de recuento, a partir de la dilución seriada de la muestra y posterior siembra en placa (Soria *et al.*, 2001).

La caracterización de las aguas residuales y lodos en cuanto al contenido en virus, coliformes fecales, *Salmonella* sp. y huevos de helmintos constituye uno de los factores de riesgo de mayor importancia para la salud humana y animal. Los criterios de calidad sugeridos para el uso inocuo de las aguas residuales en agricultura consisten en una nueva evaluación de las directrices propuestas por un grupo de expertos de la OMS en 1998. Estas recientes normativas son conocidas como las directrices de Engelberg y establecen que las aguas residuales tratadas contengan menos de 1000 UFC/ml de coliformes fecales y menos de 1 huevo viable de nemátodos intestinales por litro para su uso en agricultura (Cruz *et al.*, 2004).

## **Efecto del Efluente sobre el Suelo y los Cultivos**

Debido a la descomposición, el efluente brinda rápidamente nutrientes disponibles, los ácidos húmicos presentes en este material contribuyen a mejorar la estructura del suelo y su porosidad, aumentando al mismo tiempo la capacidad de intercambio. La cantidad de humus estable duplica al que se consigue mediante la utilización de estiércoles, incrementando al mismo tiempo en forma significativa la actividad biológica del suelo. El elevado contenido de nitrógeno en forma de amonio ( $\text{NH}_4$ ) presente en los efluentes ayuda a evitar la pérdida por lavado y lixiviación del nitrógeno del suelo al igual que las pérdidas por volatilización producidas por los procesos de denitrificación biológica (Hilbert, 2006).

La alta calidad del efluente como fertilizante radica en que después de haber transcurrido el proceso de biodigestión, todos los nutrientes y más de la mitad de la materia orgánica se encuentran aún en el mismo (Beteta y González, 2005).

De acuerdo con Mandujano *et al.* (1981), un metro cúbico de bioabono producido y aplicado diariamente, puede fertilizar más de 2 Ha de tierra por año y proporcionar hasta 200 kg N/Ha de los que estarán disponibles en el primer año entre 60 y 70 kg. El bioabono no deja residuos tóxicos en el suelo, eleva la calidad del mismo y puede considerarse como un buen fertilizante que puede competir o complementarse con los fertilizantes químicos.

En cuanto a los cultivos, existen amplias evidencias del incremento en la producción de distintas especies provocada por la aplicación de efluentes al suelo, las aseveraciones y cifras son relativas debido a que se está trabajando con sistemas biológicos muy complejos como son: el material orgánico de carga, el digestor, el suelo y finalmente el cultivo. Esta interacción y variación provoca grandes diferencias en los resultados y hace difícil cuantificar los beneficios obtenibles de la aplicación así como también definir dosis y modos de aplicación (Hilbert, 2006).

Las cosechas de los cultivos tienden a ser mayores luego de fertilizarse con los lodos digeridos. Por su aporte nutritivo a las plantas, el efluente se usa en cultivos anuales de alto valor, como papa, rábano, zanahoria, repollo, cebolla, ajo, chayote, lechuga, caña de azúcar, frutas y arroz, los cuales parecen reaccionar favorablemente a la fertilización con el efluente (Beteta y González, 2005). En contraste, cultivos como el trigo y algodón reaccionan de forma menos favorable. Los datos disponibles varían ampliamente debido a que el efecto fertilizante no es solamente específico para cada planta, sino que también depende del clima y tipo de suelo, entre otros (GTZ, 2009).

### **Formas de Aplicación del Efluente**

El efluente puede aplicarse de tres formas diferentes al suelo, sin embargo su eficiencia en los cultivos puede verse afectada de acuerdo al método de aplicación que se utilice (IICA, 2009).

Efluente líquido. Presenta ventajas como la alta disponibilidad de nutrientes y la buena absorción por parte de las plantas, puede aplicarse inmediatamente después de que sale del biodigestor, o almacenarse en tanques tapados por un periodo no mayor a 4 semanas, para evitar grandes pérdidas de nitrógeno.

Efluente compostado. Otra manera de manejar el efluente es agregarle material verde, como desechos de forraje de establo, y compostarlo, este método produce pérdidas de nitrógeno del 30% al 70%, pero tiene la ventaja de que el producto final es compacto, en forma de tierra negra, lo que facilita el transporte y aplicación.

Efluente seco. El resultado del secado es una pérdida casi total del nitrógeno orgánico (cerca del 90%), lo que equivale al 5 % del nitrógeno total. Las producciones observadas en cultivos al utilizar el efluente seco son las mismas que al usar estiércol seco o estiércol almacenado, este procedimiento se recomienda cuando se vayan a fertilizar grandes áreas, o la distancia a cultivos sea larga y difícil.

### **Otros Usos del Efluente**

El efluente de los digestores tiene otras aplicaciones entre ellas, la preparación de *compost*, la alimentación de algas, peces y de animales. Se han realizado numerosos ensayos y extendido sobre todo en Oriente, el uso del efluente como sustrato para el crecimiento de algas y peces en estanques cerrados. En otro tipo de estanques también se crían patos y peces, los que son aprovechados para confeccionar la ración de los animales conformando lo que se ha denominado “granjas integradas”, siendo estas la base para un pleno desarrollo sostenible. La utilización del efluente en mezcla con raciones ha sido empleada en numerosas especies y se cuenta con datos que aseguran un 30% de sustitución en cabras, 10-20% en pollos, 10% en cerdos y 10% en patos. Como un aditivo al material vegetal para la confección de *compost*, el efluente es excelente ya que aporta una buena fuente de nitrógeno que acelera el proceso y enriquece al mismo tiempo el producto final con fósforo y otros elementos (Hilbert, 2006).

Por otro lado el proceso de compostaje completa la efectiva destrucción de patógenos lograda en la digestión anaeróbica. Esto completa los usos potenciales del efluente de los digestores, últimamente otros productos de la digestión están utilizándose a nivel experimental como es el caso del CO<sub>2</sub> obtenido de la purificación del gas. Estos usos sólo son posibles en grandes plantas industriales donde la rentabilidad del producto justifique las inversiones necesarias para implementar este uso (Hilbert, 2006).

### **Evaluación Económica del Efluente**

Una aproximación al valor del efluente como producto surge de su análisis en cuanto al contenido de los principales macronutrientes (N, P, K) llevado a cantidades fijas, se las compara con el precio de estas mismas cantidades de macronutrientes en fertilizantes químicos que estén a disposición en el mercado.

Sin embargo, de acuerdo a Hilbert (2006), este método presenta una serie de dificultades: a) La composición del efluente no puede ser considerada constante ya que varía con la materia prima utilizada y el tratamiento previo durante y después de la digestión; b) Los precios del mercado de fertilizantes no reflejan los costos sociales de producción de divisas involucradas en su obtención; c) No es correcto atribuir la misma influencia sobre el terreno y el cultivo a cantidades equivalentes de elementos químicos aplicados a través de un fertilizante de este origen y uno orgánico, debido a que este último tiene una marcada influencia sobre otros factores, como la estructura, la capacidad de retención de agua y de intercambio del suelo.

Una medida real estaría dada por el efecto final de la aplicación del efluente sobre los cultivos comparándola con la utilización del estiércol en su forma natural o con algún tipo de tratamiento, como el compostado. Esta sería la forma más correcta, pero al mismo tiempo la más difícil de evaluar debido a la multiplicidad de factores intervinientes, la falta de información confiable y la relatividad de los precios involucrados (Hilbert, 2006).

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Evaluar la composición química y calidad microbiológica del efluente de dos biodigestores a escala en el ITCR para determinar su potencial como bioabono en ensayos de invernadero en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*).

### Objetivos Específicos

- Analizar la composición química del efluente de los biodigestores en cuanto a su contenido de Nitrógeno, Fósforo y Potasio, con el fin de evaluar su potencial como bioabono.
- Determinar la presencia de coliformes en el efluente de los biodigestores mediante recuento en placa, para estimar la calidad microbiológica del mismo.
- Establecer ensayos en invernadero con un cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) para determinar la eficiencia del efluente como bioabono.



## **MATERIALES Y MÉTODOS**

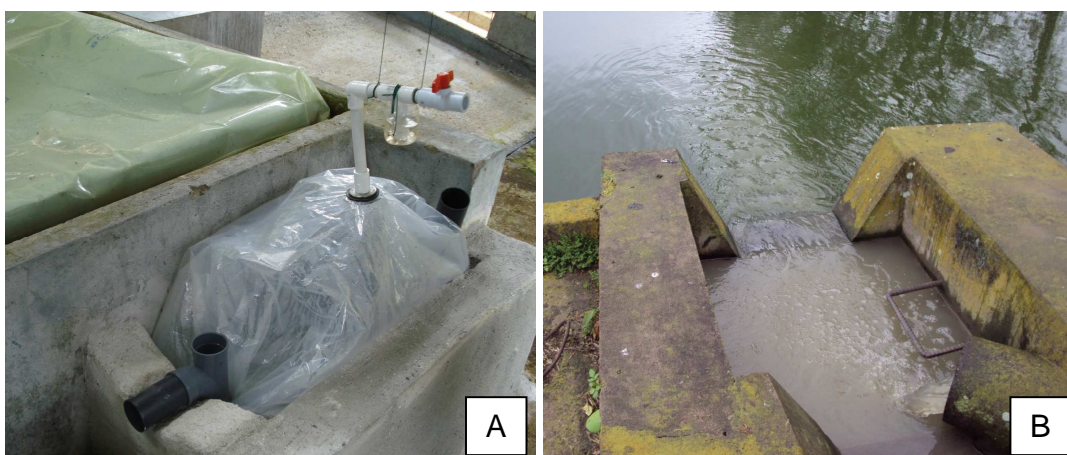
### **Localización del área experimental**

El presente estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la sede central del Instituto Tecnológico de Costa Rica ubicado en la provincia de Cartago, durante los meses de agosto 2009 a febrero 2010. Los biodigestores se instalaron en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Institución, y los análisis se realizaron en el Laboratorio de Biología y el Laboratorio de Biología Molecular del Centro de Investigación en Biotecnología, el ensayo de efectividad del bioabono se realizó en el Invernadero de Docencia de la Escuela de Biología.

### **Descripción de los biodigestores**

Se trabajó con dos biodigestores de polietileno a escala (A y B), con capacidad líquida de 80 l y fase gaseosa de 20 l; con dimensiones de 70 cm de largo, 37 cm de ancho y 40 cm de alto. Para la construcción de cada biodigestor se utilizaron 2 bolsas plásticas de 90 x 145 cm, 1 adaptador macho pvc ½ ", 1 adaptador hembra pvc ½ ", 1 codo 90° pvc ½ ", 1 llave de paso pvc ½ ", 50 cm tubo pvc ½ ", 1 tubo pegamento pvc, 60 cm tubo pvc 2 ", 3 codos de 90° pvc 2 " (Figura 1A).

Estos biodigestores se inocularon manualmente con aguas residuales provenientes de la planta de tratamiento del ITCR, de la entrada a la laguna que da tratamiento a las aguas del Residencial Iztarú, ubicado en los alrededores de la institución (Figura 1B).



**Figura 1.** A. Biodigestor de polietileno a escala. B. Entrada a la laguna de aguas residuales del Residencial Iztarú.

La primera inoculación se realizó a finales de agosto 2009 y al cabo de tres semanas se determinó que era necesario agregar mayor cantidad de sólidos, por lo que se procedió a agregar lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) tomado de las mismas lagunas de la planta de tratamiento.

Los lirios se trituraron en un triturador de residuos orgánicos Trapp TR200 (Figura 2A) y se agregaron a razón de 200 g por cada 7,5 l del agua residual, haciendo la mezcla antes de agregarla al biodigestor (Figura 2B), se realizó una alimentación semi-continua cargando los biodigestores dos veces por semana, para cumplir con el tiempo de retención de 10 días establecido.



**Figura 2.** A. Triturador de residuos orgánicos utilizado. B. Mezcla de los lirios triturados con el agua residual.

### **Análisis de la composición química del efluente de los biodigestores**

Se tomaron muestras líquidas de 2 l del influente (agua residual sin lirios) y el efluente (mezcla de la salida de ambos biodigestores), y se determinó el contenido en porcentaje de nitrógeno, fósforo y potasio (N, P, K), los análisis se realizaron en el Laboratorio Químico y de Control de Calidad Industrial AQYLA S.A., siguiendo la metodología de análisis del *Standard Methods of Water and Waste Water* (2005).

También se realizaron mediciones de pH, tanto del agua que se agregó, como del efluente que salía de los biodigestores, estas mediciones se realizaron con un pHmetro portátil.

## **Determinación de presencia de coliformes en el efluente de los biodigestores**

La medición de coliformes (en UFC) se realizó mediante el método de recuento, que es a partir de la siembra en placa de diluciones seriadas de la muestra.

Medio de Cultivo. Se utilizó Agar de Eosina y Azul de Metileno (EMB), el cual es un medio de cultivo selectivo y diferencial adecuado para la producción de ácidos por bacterias fermentadoras de lactosa, permite el crecimiento de colonias coliformes; cuyas colonias típicas en este medio tienen centro oscuro con o sin brillo metálico (Soria *et al.*, 2001). Se prepararon 0,5 l de medio de cultivo de acuerdo a las especificaciones del fabricante OXOID, se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 min, se dejó enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se distribuyó en placas Petri estériles. Luego de la solidificación del medio, las placas se envolvieron en papel aluminio y se pusieron en refrigeración para realizar la siembra al día siguiente.

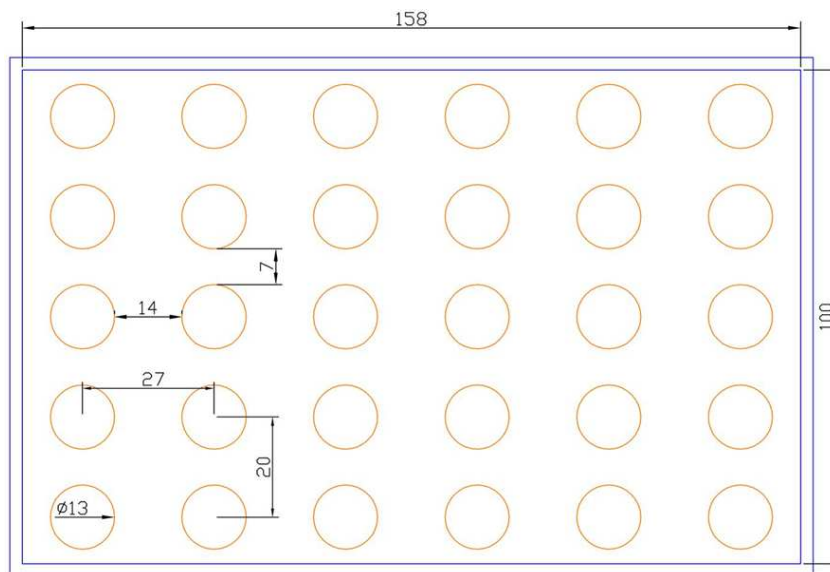
Preparación de las Diluciones y Siembra. La muestra de efluente se tomó de cada biodigestor al finalizar el proceso, la muestra del influente correspondía solamente al agua residual, antes de agregar los lirios triturados. Se prepararon diluciones en tubos de ensayo con un volumen de 9 ml de solución salina estéril al 0,85%, a ésta se le añadió 1 ml de muestra para la preparación de las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , así sucesivamente hasta  $10^{-3}$  en el efluente, y  $10^{-5}$  en el influente. Después se realizó la siembra de las muestras por el método de extensión en placas Petri, previamente rotuladas, con tres repeticiones por dilución. Las placas se pusieron a incubar durante 24 h a una temperatura de  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  (Soria *et al.*, 2001).

Determinación de Microorganismos Coliformes. El conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) se realizó interpretando los resultados de acuerdo a las especificaciones del medio de cultivo facilitadas por el proveedor OXOID, en el Certificado de Análisis. Para establecer la eficiencia de remoción de coliformes de los biodigestores se utilizó la ecuación presentada por Arévalo y Zambrano (2007).

### **Establecimiento de ensayos de invernadero**

Diseño Experimental. Se utilizó un diseño completamente al azar con 3 tratamientos y 3 repeticiones por tratamiento, cada repetición estaba formada por 30 plantas de lechuga. Las dosis de bioabono utilizadas consistieron en dos concentraciones diferentes del efluente (50% y 100%), aplicadas a un volumen de 100 ml por planta; así como un tratamiento testigo abonado con fertilizante químico granulado de composición 10-30-10 (N-P-K).

Siembra del ensayo. Se utilizaron 270 macetas plásticas de 13 cm de diámetro, las cuales se llenaron con aproximadamente 250 g de tierra mezclada con granza y los tratamientos se distribuyeron en las mesas del invernadero, cada tratamiento se colocó en un espacio de 1,0 m x 1,58 m; poniendo las plántulas a una distancia de 27 cm entre hileras y 20 cm entre plantas (Figura 3). El trasplante desde las bandejas de almácigo de lechuga a las macetas, se realizó en horas de la tarde para disminuir el estrés post-trasplante, luego se procedió a aplicarles la fertilización correspondiente a cada tratamiento.



AUTOCAD

**Figura 3.** Sistema de siembra utilizado en cada tratamiento.

Tratamientos y Aplicación. Los tratamientos de fertilización con efluente empleados se aplicaron en dos épocas, al momento de la siembra de las plántulas de lechuga, y a los 22 días después de la siembra. La nomenclatura utilizada para identificar cada tratamiento se describe en la Tabla 2. El efluente se recolectó en conjunto de la salida de ambos biodigestores y se llevó inmediatamente al invernadero para su aplicación.

**Tabla 2.** Tratamientos utilizados para la aplicación del efluente como bioabono en plantas de lechuga.

Tratamiento	Descripción
T1	100% Efluente (100 ml de efluente)
T2	50% Efluente (50 ml de efluente + 50 ml de agua)
T3	Testigo, Fertilizante químico 10-30-10

El fertilizante químico granulado se aplicó al voleo en la superficie alrededor de cada plántula (Figura 4A), únicamente al momento de la siembra; y el bioabono (efluente) se aplicó a cada maceta superficialmente con el uso de una probeta (Figura 4B).

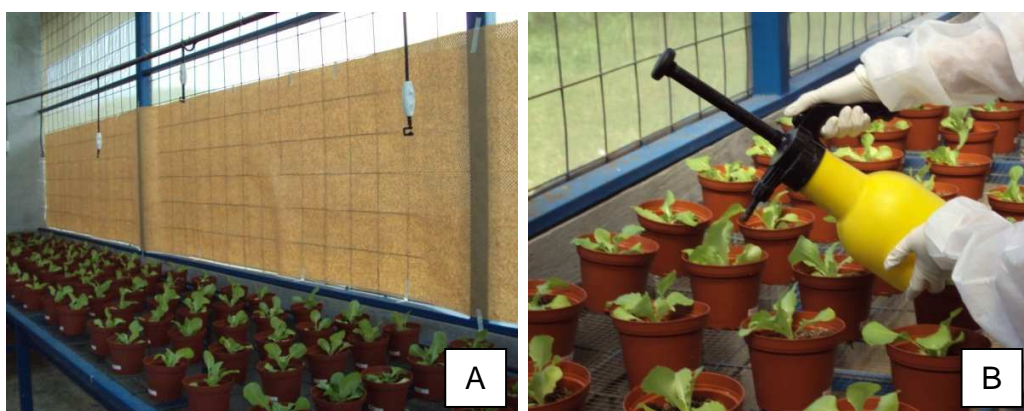


**Figura 4.** A. Aplicación de abono granulado 10-30-10. B. Aplicación del efluente líquido a cada maceta.

Prácticas realizadas. Con respecto al riego, durante las 6 semanas que comprendió el periodo de cultivo, las plantas se regaron manualmente tres veces por semana, procurando hacerlo en horas de la tarde para evitar la deshidratación de las mismas debido a las altas temperaturas registradas.

Así mismo, al término de la semana 3, se determinó que las plantas estaban recibiendo luz solar muy directamente, lo que estaba provocando problemas de deshidratación y debilitamiento visible, por lo que se colocó papel en una de las paredes del invernadero para disminuir la incidencia de luz y favorecer el desarrollo de las mismas (Figura 5A).

Aplicación de insecticida. En la semana 3 fue necesario hacer una aplicación de insecticida-acaricida, debido a la presencia de una plaga identificada como *Mysus persicae* (áfidos) en uno de los tratamientos, para esto se aplicó el producto TALSTAR® diluido en agua a razón de 1 ml/l. El mismo se aplicó a todo el cultivo de manera preventiva (Figura 5B). Al término de la semana 5 fue necesario realizar una segunda aplicación del insecticida-acaricida, ya que la misma plaga se presentaba en otro de los tratamientos.



**Figura 5.** A. Papel colocado en la pared del invernadero para disminuir la incidencia de luz. B. Aplicación de insecticida al cultivo.

Variables Evaluadas. En las plantas de lechuga se midió la altura de la planta (cm) desde la base del tallo hasta el extremo de la hoja más larga, el número de hojas, el peso fresco y peso seco de cada planta. Durante el ensayo, la evaluación de las variables se realizó cada semana con excepción del peso fresco y peso seco de la cosecha, el cual se determinó al final del periodo de cultivo.



Para determinar el peso fresco, cada planta de lechuga se cosechó, cortando la raíz y llevando inmediatamente al laboratorio para pesar en una balanza granataria Navigator™, seguidamente cada planta se envolvió en papel periódico y, debidamente identificadas, se colocaron en una estufa Heraeus - electronic- a 80°C por 18 h, al término de las cuales, se procedió a determinar el peso seco de cada planta en la misma balanza utilizada.

Análisis Estadístico. Para cada variable se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existían o no diferencias significativas entre los tratamientos, y una posterior prueba de comparación de medias (Prueba de Tukey) para determinar entre cuáles tratamientos existían diferencias significativas.

## RESULTADOS

### Características del efluente y los biodigestores

Al final del proceso de biodigestión se obtuvo un efluente de color verde translúcido (Figura 6), el cual presentaba un olor desagradable de menor intensidad con respecto al agua residual de carga del biodigestor.



**Figura 6.** Salida del efluente del biodigestor.

Con respecto a los biodigestores, se determinó que su diseño no fue el más adecuado, ya que la estructura no permitió mantener las condiciones óptimas en el sistema, las labores de alimentación fueron complicadas debido a la falta de una caja de entrada para realizar la mezcla de materiales de carga, y no fue posible realizar agitación-mezclado dentro del sistema.

### Composición química del efluente

En la Tabla 3 se detallan los resultados del análisis químico realizado por el Laboratorio AQYLA S.A., se observa que el contenido de los nutrientes evaluados (N, P, K) aumentó después del proceso de digestión anaeróbica al que se sometió la materia orgánica dentro del biodigestor.

**Tabla 3.** Análisis químico de nutrientes realizado al influente y efluente de los biodigestores alimentados con aguas del Residencial Iztarú en mg/l.

Nutriente	Influente	Efluente
Nitrógeno Total	22,8 ± 0,5	70,3 ± 0,7
Fósforo Total	60,7 ± 0,7	72,0 ± 0,6
Potasio	1072 ± 80	13530 ± 200

Con respecto a la medición de pH, se realizaron cinco determinaciones los días que se realizaron los muestreos, el influente presentó un valor promedio de 7,67. Este parámetro se redujo al hacer las mismas determinaciones en el efluente de ambos biodigestores, donde se obtuvo un pH promedio de 6,33.

### Calidad microbiológica del efluente

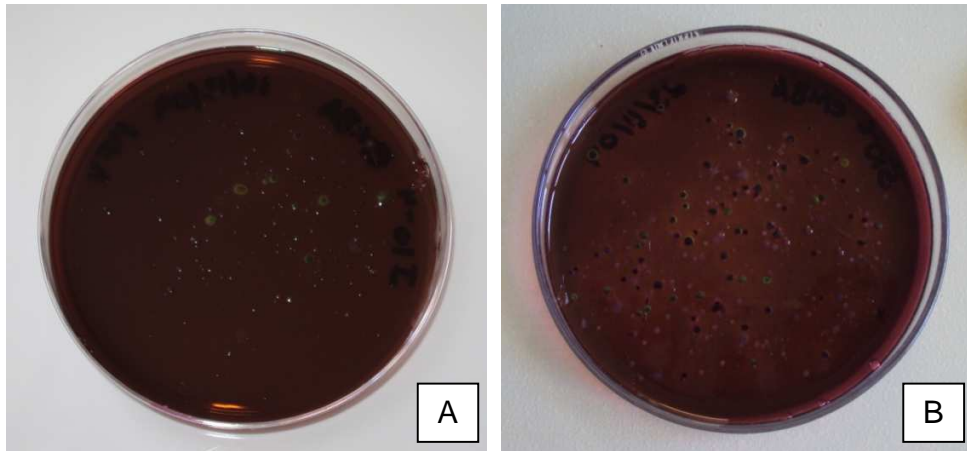
El conteo de UFC se realizó en las placas individualmente después de transcurrido el periodo de incubación; sin embargo para la interpretación de resultados, éstos se analizaron en conjunto, por ser el biodigestor B, una réplica del biodigestor A. De esta manera, se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Colonias observadas en las placas con diluciones del influente y el efluente de los biodigestores en UFC/ml y porcentaje de remoción de coliformes.

Descripción de colonias	Influente	Efluente	Remoción de coliformes (%)
Moradas, verde metálico	$(1,50 \pm 0,37) \times 10^5$	$(1,86 \pm 0,22) \times 10^3$	98,76
Moradas mucosas	$(3,80 \pm 0,18) \times 10^5$	$(2,90 \pm 0,16) \times 10^3$	99,23

En cuanto a la caracterización de bacterias, las colonias de color morado, verde metálico fueron identificadas como *Escherichia coli*, así mismo, las colonias moradas con aspecto mucoso correspondían a *Enterobacter aerogenes*, ambas clasificadas como coliformes fecales. En la Figura 7 se observa una placa de medio EMBA con el cultivo bacteriano del influente y otra del efluente en las diluciones  $10^{-4}$  y  $10^{-3}$ , respectivamente.

En las placas se observó crecimiento de otros tipos de colonias, sin embargo éstas no se tomaron en cuenta por no ser de relevancia para el objetivo del proyecto, éstas correspondían a otros géneros como *Pseudomonas sp.* y *Enterococcus sp.*, posiblemente.

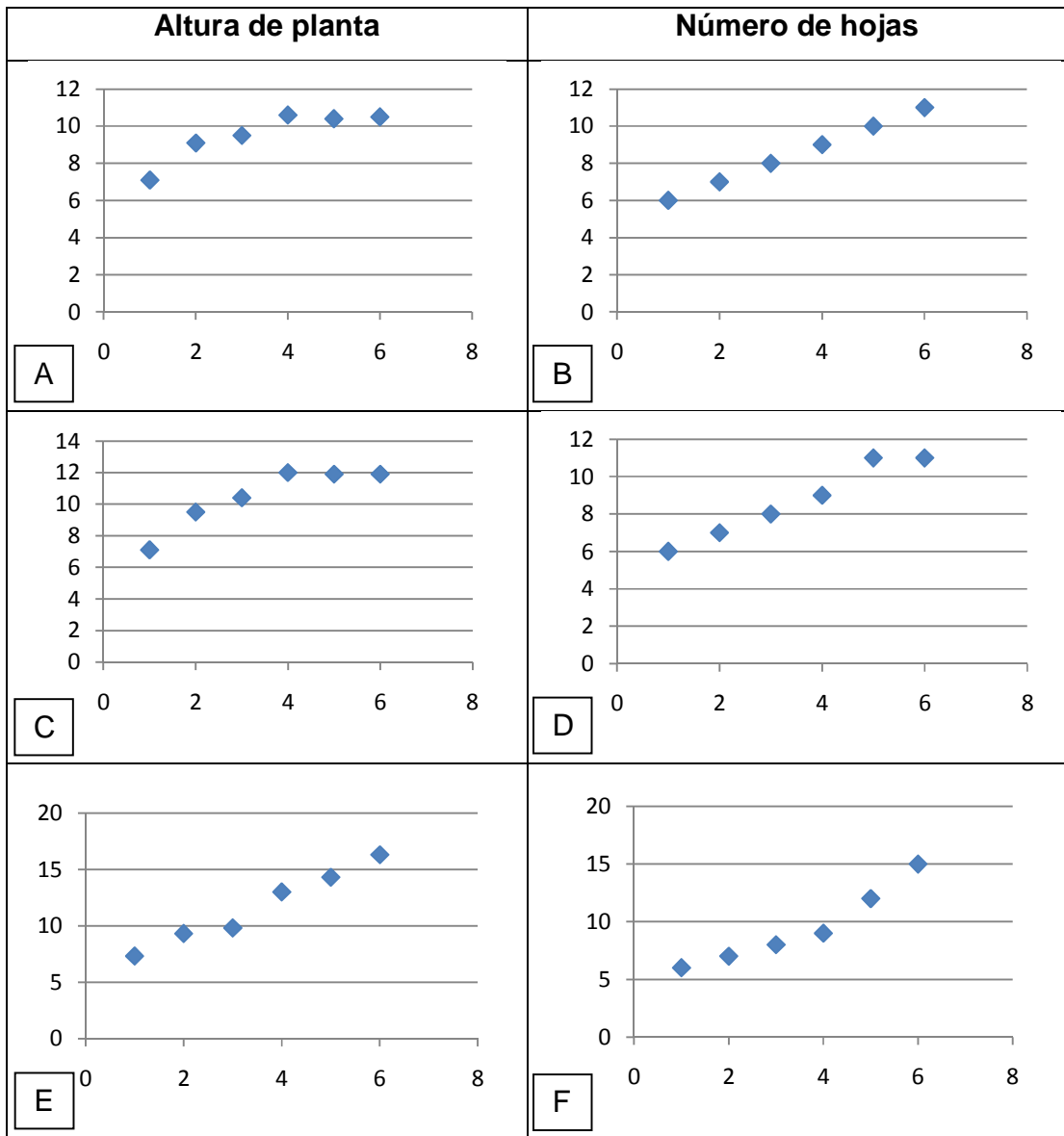


**Figura 7.** A. Placa de medio EMBA con la dilución  $10^{-4}$  del influente. B. Placa de EMBA con la dilución  $10^{-3}$  del efluente.

### **Variables evaluadas en el ensayo de invernadero**

#### **Altura de planta y Número de hojas**

Estas dos variables se analizaron durante todo el periodo de cultivo, en la Figura 8 se muestra el comportamiento presentado en cada tratamiento semanalmente (eje x) con respecto a la altura de la planta en cm, así como la cantidad de hojas (eje y), correspondientemente para la variable altura de planta y número de hojas.



**Figura 8.** A. Altura de plantas en T1. B. Número de hojas en T1. C. Altura de plantas en T2. D. Número de hojas en T2. E. Altura de plantas en T3. F. Número de hojas en T3.

Como se puede observar en la Figura 8, en todos los tratamientos se presentó un comportamiento creciente para ambas variables, hasta llegar a la semana 5, a partir de la cual se mantuvo constante; a excepción del T3 en donde aún en la última semana de medición, la tendencia era al aumento tanto de la altura de la planta, como del número de hojas presentes. En la Tabla 5 se presentan los datos de la media para cada una de las variables analizadas en el estudio, en los tres tratamientos de fertilización.

**Tabla 5.** Valores promedio obtenidos en cada tratamiento durante el cultivo de lechuga para las cuatro variables analizadas.

<b>Variable en estudio</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
Altura de planta (cm)	10,53	11,90	16,30
Número de hojas	11,33	11,33	15,00
Peso fresco (g)	3,60	4,79	12,45
Peso seco (g)	0,32	0,45	0,73

Para realizar el análisis de varianza (ANOVA), se plantearon dos hipótesis,  $H_0$  (Hipótesis nula: no existe diferencia significativa entre los tratamientos) y  $H_a$  (Hipótesis alternativa: existe diferencia significativa entre los tratamientos).

Para la variable altura de planta, se rechazó la hipótesis nula, ya que se determinó que existía una alta diferencia significativa entre los tres tratamientos, esto se afirmó con un 99% de confianza (Tabla 6). Con una posterior Prueba de Tukey, se confirmó que existía una alta diferencia significativa con respecto a la altura de las plantas de lechuga en los tres tratamientos, para  $\alpha=1\%$ .

**Tabla 6.** Resumen del análisis de varianza de la altura de plantas de lechuga en cada tratamiento de fertilización (diferentes concentraciones de efluente, ml).

<b>Fuentes de variación</b>	<b>g.l.</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>Fc</b>	<b>F 5%</b>	<b>F 1%</b>
Tratamientos	2	54,48	27,24	12,28	5,14	10,90
Error	6	13,31	2,22			
Total	8	67,79				

Con respecto a la variable número de hojas, con el análisis estadístico realizado, el ANOVA permitió rechazar la hipótesis nula, ya que existió diferencia significativa entre los tratamientos y, como se comprobó posteriormente, al menos una de las medias de los tratamientos fue diferente, esto se pudo afirmar con una confianza del 95% (Tabla 7).

**Tabla 7.** Resumen del análisis de varianza del número de hojas en plantas de lechuga en cada tratamiento de fertilización (diferentes concentraciones de efluente, ml).

<b>Fuentes de variación</b>	<b>g.l.</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>Fc</b>	<b>F 5%</b>	<b>F 1%</b>
Tratamientos	2	26,89	13,44	11,0	5,14	10,90
Error	6	7,33	1,22			
Total	8	34,22				

La prueba de separación de medias de los tratamientos (Prueba de Tukey) permitió determinar entre cuáles tratamientos hubo diferencias significativas. De esta forma, los tratamientos T1 y T2 se consideraron estadísticamente iguales, sin embargo éstos presentaron diferencia significativa con respecto al tratamiento T3. Lo anterior se pudo afirmar con una confianza del 95%.



### **Peso fresco y Peso seco**

Para el peso fresco, con el análisis de varianza se rechazó la hipótesis nula, ya que se presentó una alta diferencia significativa entre los tratamientos, esto se pudo afirmar con un 99% de confianza (Tabla 8). Al igual que con el número de hojas, la Prueba de Tukey reveló que los tratamientos T1 y T2 fueron estadísticamente iguales, sin embargo existió una alta diferencia significativa con respecto al tratamiento T3, lo anterior se afirmó con una confianza del 99%.

**Tabla 8.** Resumen del análisis de varianza del peso fresco de plantas de lechuga en cada tratamiento de fertilización (diferentes concentraciones de efluente, ml).

<b>Fuentes de variación</b>	<b>g.l.</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>Fc</b>	<b>F 5%</b>	<b>F 1%</b>
Tratamientos	2	138,33	69,16	21,09	5,14	10,90
Error	6	19,67	3,28			
Total	8	158,00				

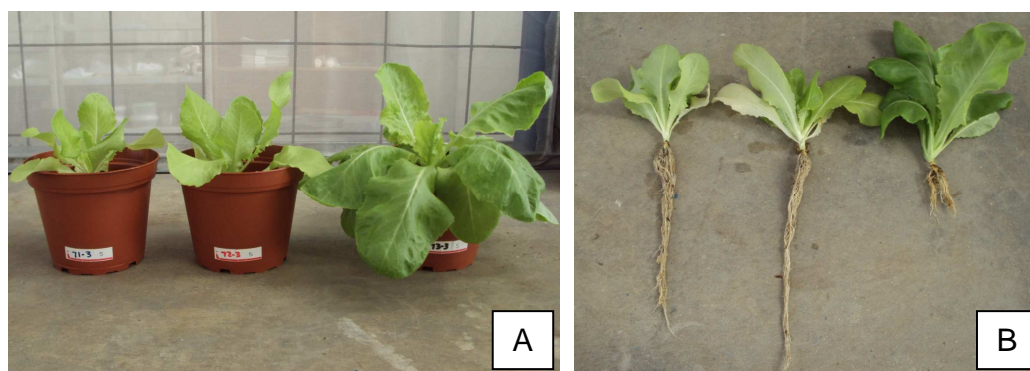
Al hacer el análisis estadístico para la variable peso seco, con el ANOVA se aceptó la hipótesis nula debido a que no existió diferencia significativa entre los tratamientos, esto se afirmó con una confianza del 95%. De esta manera se pudo inferir que los tratamientos T1, T2 y T3 fueron estadísticamente iguales para esta variable en estudio (Tabla 9).

**Tabla 9.** Resumen del análisis de varianza del peso seco de plantas de lechuga en cada tratamiento de fertilización (diferentes concentraciones de efluente, ml).

Fuentes de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Fc	F 5%	F 1%
Tratamientos	2	0,27	0,13	4,86	5,14	10,90
Error	6	0,16	0,03			
Total	8	0,43				

### Desarrollo general del cultivo de lechuga en el ensayo

En general, el cultivo se comportó de manera favorable durante todo el periodo del ensayo. Fue posible observar diferencias de tamaño entre los tratamientos, siendo el tratamiento T3 el que presentó el mejor desarrollo al momento de la cosecha. Se pudo observar que el menor crecimiento visible lo presentó el tratamiento T1, lo cual se comprobó al presentar éste la menor media para la variable altura de planta (Tabla 5). En la Figura 9A se observa la comparación de crecimiento en una planta tomada de cada uno de los tres tratamientos del ensayo, se pudo observar también una notable diferencia en el crecimiento de las raíces en los tres tratamientos (Figura 9B).



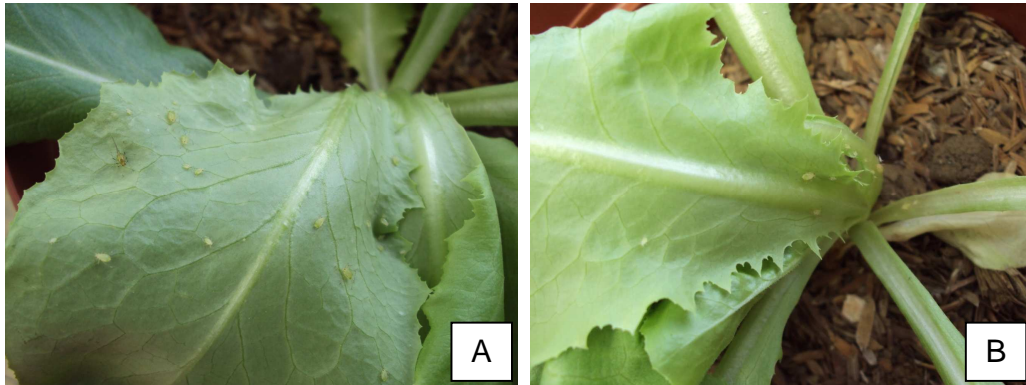
**Figura 9.** A. Comparación del desarrollo de los tratamientos T1, T2 y T3 (de izquierda a derecha). B. Comparación visible de las raíces en los tratamientos T1, T2 y T3 (de izquierda a derecha).

Con respecto a la coloración de las plantas, todas las repeticiones del tratamiento T3 presentaron un color verde oscuro a partir de la segunda semana de cultivo, los otros dos tratamientos presentaron una coloración verde más clara con hojas más gruesas, como se puede apreciar en la Figura 10.



**Figura 10.** Comparación de la coloración de las plantas de lechuga.

Con respecto a las plagas presentadas durante el periodo de cultivo, dos repeticiones del tratamiento 3, T3-1 y T3-3, mostraron ataque por el áfido o pulgón identificado como *Myzus persicae* (Figura 11A). La colonización del áfido comenzó en las hojas interiores, trasladándose después al exterior por el envés de las hojas (Figura 11B). Sin embargo al aplicar el insecticida-acaricida se eliminó el problema y las plantas continuaron su desarrollo sin mostrar efectos negativos.



**Figura 11.** A. Plaga de *Myzus persicae* observada en los tratamientos T3 afectados. B. Colonización de la plaga en las hojas interiores.

Uno de los tratamientos presentó un crecimiento anormal (Figura 12), el tratamiento T3-1, en el cual la planta creció verticalmente desarrollando un tallo a partir del cual se desplegaban las hojas, a diferencia del crecimiento en roseta que se observó en los demás tratamientos del ensayo.



**Figura 12.** Crecimiento anormal observado en el tratamiento T3-1.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El efluente que se obtuvo al final del proceso de biodigestión presentó un color más transparente en comparación al influente, tenía un olor desagradable, sin embargo éste olor era de menor intensidad con respecto al agua residual de carga del biodigestor. El olor es un indicativo del grado de contaminación (Soria *et al.*, 2001), y estas características en el efluente revelan que la carga del biodigestor no era adecuada; Retana (2006) afirma que si el efluente tiene un mal olor fuerte, es posible que se le esté dando más biomasa o poniendo más agua de la indicada y la salida del efluente sea muy rápida sin que se complete el proceso de fermentación, esto puede afectar también la producción de biogás.

Lo anterior se confirma con los resultados reportados por Guillén (2010), los cuales indican que los biodigestores no tuvieron la capacidad de degradar la materia orgánica y las condiciones del ambiente anaerobio no fueron adecuadas debido a la cantidad de sólidos que se incorporó al sistema al agregar los lirios triturados.

Hilbert (2006) señala que las sustancias con alto contenido de lignina no son directamente aprovechables y por lo tanto deben someterse a tratamientos previos a fin de liberar las sustancias factibles de ser transformadas de las incrustaciones de lignina. Esto sugiere que el tratamiento de trituración al que se sometieron los lirios antes de elaborar la mezcla, no fue suficiente y debió complementarse con un proceso de compostaje. Por su parte, Guevara (1996) sugiere para la preparación de la carga, que además de cortar en trozos el material vegetal, éstos se deben almacenar por un tiempo, y antes de agregarlos al biodigestor, tratarlos térmicamente para favorecer la fermentación.

Para compensar éste mal funcionamiento del sistema se proponen tres opciones de operación para cargar el biodigestor. Lo primero sería modificar el sistema de alimentación semi-continua, incorporando al biodigestor una carga batch del material vegetal (en este caso, los lirios) y luego realizar la carga continua con excretas de animales o humanos. De acuerdo a Guevara (1996), esta operación incrementa la calidad del bioabono que se produce debido a la adición continua de materia rica en nutrientes. Por su parte, Palacios (2005) confirma la conveniencia de mezclar excretas con materiales vegetales al añadir una fuente importante de carbono orgánico.

La otra opción es agregar un inculo en la primera carga del biodigestor, éste puede ser aguas municipales, lodos del fondo de lagos o lagunas, para esta investigación se propone extraer lodos del fondo de las lagunas de la planta de tratamiento de aguas residuales de la institución. Los lodos ofrecen un medio favorable para los microorganismos metanogénicos, además también se puede usar lodo activo del propio biodigestor. Según Guevara (1996), el inculo debe ser el 10-15% del volumen que se va a llenar y el 30% cuando proviene del mismo biodigestor.

Finalmente, en el caso de no haber inculo, se debe dejar fermentar la materia prima correspondiente a los lirios triturados durante 1-2 semanas y luego introducirla al digestor, así el material sufre un proceso de compostaje y se da inicio a la digestión de la materia con bacterias facultativas y aeróbicas antes de entrar al biodigestor. De esta manera se aprovechan los nutrientes que aporta el material vegetal, ya que se ha demostrado que los lirios constituyen un reservorio medible de nutrimentos (N, P, K, Ca y Mg) que pueden transferirse a cultivos de interés alimenticio y comercial después de ser estabilizados mediante procesos microbiológicos como la digestión anaeróbica (Álvarez *et al.*, 2001).

Con respecto a las características de los biodigestores a escala utilizados, en su diseño se debió haber previsto una caja a la entrada del sistema para efectuar la mezcla de materiales de carga para ingresar al biodigestor, esta fue una de las labores más difíciles de realizar durante la operación de los mismos, además se debió recubrir con cemento e impermeabilizante la parte interna de las cajas de entrada y salida. También se debió haber considerado la instalación de un mecanismo de agitación dentro del sistema para favorecer el proceso de digestión anaeróbica, el propósito de ésta es la remoción de los metabolitos producidos por las bacterias metanógenas, lograr el mezclado del sustrato fresco con la población bacteriana, evitar la formación de costra dentro del digestor y uniformar la densidad bacteriana (Hilbert, 2006).

En los resultados del análisis químico de nutrientes, se determinó que los contenidos de nitrógeno, fósforo y potasio aumentaron considerablemente, siendo el potasio el que presentó mayor incremento. Se ha reportado que los incrementos de nitrógeno y fósforo, dos de los macronutrientes esenciales para el desarrollo de las plantas, mejoran la calidad del efluente ya que la digestión anaeróbica degrada componentes complejos a formas moleculares más simples como  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{P}_2\text{O}_5$ , favoreciendo la asimilación de estos nutrientes por el sistema radicular de las plantas (Valdés *et al.*, 1999).

Sin embargo estos resultados difieren a los reportados, donde la tendencia de los parámetros analizados al inicio y al final del proceso muestra una reducción en su contenido (Soria *et al.*, 2001; Arévalo y Zambrano, 2007). No obstante Soria *et al.* (2001), sí reportan en su estudio que el potasio fue el único elemento que incrementó su contenido al finalizar el proceso.

Con respecto a la calidad del efluente, su contenido de nutrimentos fue bajo debido a la cantidad de sólidos sedimentables en el influente al momento de cargar el biodigestor, según Guillén (2010) fue de 350 mg/l, y éste valor estuvo por debajo de 2500 mg/l, que es la cantidad óptima según lo reportado por Soria *et al.* (2001).

Al mezclar los materiales de carga para el biodigestor, es importante establecer una adecuada relación C/N. Los lirios (*Eichhornia crassipes*) incrementaron la cantidad de carbono contenida en las aguas residuales, por lo que la relación C/N fue alta, cuando esto sucede, el nitrógeno es consumido rápidamente por las bacterias metanogénicas para formar proteínas y no reacciona con el material restante. Por el contrario, si la relación es muy baja, es decir, el nitrógeno es abundante, éste será liberado y acumulado en forma de amoníaco, el cual incrementará el pH de la carga en el digestor (Arévalo y Zambrano, 2007) y un pH mayor que 8.5 comenzará a mostrar efectos tóxicos en la población de bacterias metanogénicas (Guevara, 1996).

Con respecto al pH en el efluente, se obtuvo un valor promedio de 6,33, el cual, de acuerdo con Soria *et al.* (2001), se encuentra por debajo del rango óptimo para la eficiencia de la biodigestión. Esto fue un indicador de que los biodigestores no estaban operando correctamente. Se debió haber reajustado el pH en los biodigestores, y para corregir la acidez se puede adicionar hidróxido de calcio (cal) en la fase líquida. Las desviaciones de los valores normales de pH en el efluente son indicativas de un deterioro del equilibrio entre las bacterias de la fase ácida y la metanogénica. Si las bacterias metanogénicas no alcanzan a convertir rápidamente los ácidos grasos volátiles (AGV) a medida que lo producen las bacterias acetogénicas, estos se acumulan y disminuyen el pH en el digestor, inhibiendo la acción de las bacterias metanogénicas (Arévalo y Zambrano, 2007).



Sería importante determinar el contenido de ácidos grasos volátiles ya que cuando su concentración es alta se inhibe la digestión, en una fermentación mesofílica, su concentración no debe exceder 2000 mg/l. Para mantener la concentración de AGV por debajo de este valor, se debe disminuir la carga diaria del biodigestor, o mantener el mismo influente pero más diluido, de esta manera se estaría cargando con menos sólidos totales.

Un aspecto que se debe tomar en cuenta al evaluar las características del efluente, es el tiempo de retención (TR), que para esta investigación se estableció en 10 días; ya que a un tiempo corto de retención se produce mayor cantidad de biogás, pero un residuo de baja calidad fertilizante por haber sido parcialmente digerido. Pero para tiempos largos de retención se obtendrá un rendimiento bajo de biogás, pero con un efluente (residuo) más degradado y con excelentes características como fuente de nutrientes (Soria *et al.*, 2001).

En el caso de los biodigestores a escala, el tiempo de retención fue muy corto, por lo que el ciclo de fermentación se interrumpió, debido a que los microorganismos fueron removidos del sistema más rápidamente de lo que ellos podían reproducirse (Canessa *et al.*, 1985). Al producirse este “lavado de microorganismos” en la continua salida de efluente, su reproducción se hizo más lenta con respecto a la alimentación que recibía el biodigestor.

El TR se encuentra íntimamente ligado con la temperatura y el tipo de sustrato, ya que los materiales con mayor proporción de carbono retenido en moléculas resistentes como la celulosa demandarán mayores TR para ser totalmente digeridos (Hilbert, 2006). Este es el caso que se presentó al agregar material vegetal en la forma de lirios triturados, se debió aumentar el TR para lograr su completa digestión y consiguiente asimilación de nutrientes por los microorganismos.

Al analizar el contenido de bacterias coliformes fecales, se observó una reducción significativa en el efluente obtenido de los biodigestores, tanto de *Escherichia coli*, como de *Enterobacter aerogenes*. En el medio de cultivo utilizado se permite el aislamiento selectivo de bacilos Gram negativos de rápido desarrollo y escasas exigencias nutricionales, como son las especies de la familia *Enterobacteriaceae* (Laboratorios Britania, 2009).

Sin embargo los criterios de calidad sugeridos para el uso inocuo de las aguas residuales en agricultura establecen que las aguas residuales tratadas contengan menos de 1000 UFC/ml de coliformes fecales y menos de 1 huevo viable de nemátodos intestinales por litro (Cruz *et al.*, 2004), por lo que los valores obtenidos de 1860 UFC/ml para *Escherichia coli*, y 2900 UFC/ml para *Enterobacter aerogenes* en el efluente, no permiten su aplicación inocua a los cultivos. Esto concuerda con lo reportado por Corlay *et al.* (2009) donde la presencia de coliformes fecales en el efluente, restringe el uso de estos a cultivos de consumo directo.

Los datos obtenidos en esta investigación son semejantes a los de Palacios (2005), donde se detectó una escasa reducción en la carga de coliformes fecales y presencia de bacterias de los géneros *Escherichia*, *Proteus*, *Enterobacter* y *Klebsiella*. Sin embargo en otros estudios sí se ha logrado una eliminación eficiente de coliformes, lográndose hasta un 100% de remoción de estas bacterias (Soria *et al.*, 2001; Cruz *et al.*, 2004).

Por las razones antes planteadas, para poder utilizar el efluente de estos biodigestores en actividades agrícolas, se debe complementar el sistema de digestión anaeróbica con otro tratamiento posterior al efluente. Se propone un sistema de canales de plantas acuáticas como un paso complementario al tratamiento de las aguas residuales que se da en los biodigestores.

Según Chará (2000), en los canales operan factores físicos de filtración, sedimentación y adsorción; y factores biológicos de degradación y absorción de los nutrientes que quedan disponibles. Su tamaño depende de la cantidad de efluente a tratar, y su forma y distribución pueden adaptarse a las condiciones topográficas. El tiempo de retención en los canales, al igual que en los biodigestores varía de acuerdo a la temperatura, se ha comprobado que la reducción respecto del residuo inicial puede llegar hasta un 95 a 97%, a la vez que se obtiene una biomasa importante de plantas acuáticas que puede usarse como abono, alimento animal, o en este caso, como carga de materia sólida para alimentar el mismo biodigestor, de manera que se estaría trabajando en un ciclo con aprovechamiento máximo de la energía.

Al comienzo de los canales la planta más apropiada a sembrar es el lirio de agua (*Eichhornia crassipes*), por los sedimentos que capta en sus raíces y los nutrientes que absorbe; y en los canales finales, se puede producir lemna (*Lemna minor*) la cual absorbe bien el nitrógeno y alcanza niveles de proteína de hasta un 38% (Chará, 2000).

Estas dos plantas acuáticas están disponibles en las lagunas de tratamiento de aguas residuales del Instituto Tecnológico de Costa Rica, y se consideran malezas invasivas, que usualmente se descartan de las lagunas y se desechan, la implementación de canales a la salida de los biodigestores sería una buena forma de aprovecharlas.

Con respecto a las variables evaluadas en el ensayo de invernadero, en la Figura 8 se puede observar que el mayor crecimiento con respecto a la altura lo presentó el tratamiento T3 (fertilizante químico), con una media de 16,30 cm, seguidamente el tratamiento T2 presentó una media en la altura de plantas de 11,90 cm, y finalmente el tratamiento T1 mostró una altura promedio de 10,53 cm; además ya a partir de la semana 5, la altura se mantuvo constante en los tratamientos 1 y 2, lo que indica que ya para la semana 6 el producto estaba listo para cosechar.

Los resultados sugieren que la aplicación del efluente al 50% de su concentración fue más efectiva que al aplicarlo al 100%, de esta manera se puede aprovechar de mejor forma el bioabono resultante del proceso de biodigestión, mezclándolo con agua y pudiendo aplicarlo en una mayor área de cultivo, obteniendo mejores resultados.

Estos datos difieren con lo que menciona Solís (1991) en un estudio donde se investigó la respuesta del bioabono (efluente líquido) en lechuga comparado con un testigo, estiércol fresco y fertilizante químico. La mayor altura se presentó con el efluente líquido y el fertilizante químico, además el efluente produjo lechuga de mayor diámetro que el fertilizante químico.

Se han reportado incrementos en la altura de plantas de diferentes cultivos conforme aumenta la dosis de bioabono (Gómez, 1990; Solís, 1991). Sin embargo para este estudio, la aplicación de bioabono en el cultivo de lechuga tuvo una relación inversa con la variable altura de plantas, por esta razón se recomienda hacer estudios utilizando más diluciones del efluente para poder comprobar estos resultados.

En lo que respecta al número de hojas, se determinó que los tratamientos T1 y T2 fueron estadísticamente iguales, sin embargo existió diferencia significativa de éstos con respecto al tratamiento T3. De esta forma se pudo comprobar que el fertilizante químico produce mejores resultados a corto plazo. Esto se confirma con lo expuesto por Solís (1991), en otros estudios realizados, en los que el bioabono no mejoró estadísticamente los rendimientos de los cultivos ensayados, como tomate, cebolla y repollo. Con base a esto no se puede recomendar el uso de bioabono como sustituto del fertilizante químico porque no dio resultados satisfactorios ni rentables a corto plazo.

Con respecto a la variable peso fresco, al igual que con el número de hojas, se demostró que los tratamientos T1 y T2 eran estadísticamente iguales, pero éstos presentaron una alta diferencia significativa con respecto al tratamiento T3, en el cual se cosecharon los pesos frescos más altos con una media de 12,45 g por planta. Por su parte, al analizar las medias de peso fresco de los otros dos tratamientos, se pudo observar, un comportamiento semejante al presentado en la variable altura de plantas, donde la media del peso fresco aumentó su valor al disminuir la concentración del efluente (T2).

Al analizar los resultados obtenidos para la variable peso seco, no se presentaron diferencias significativas para ninguno de los tratamientos aplicados, esto sugiere que la disponibilidad de los nutrientes fue tan efectiva en el efluente como para el fertilizante químico (Solís, 1991), al menos para la respuesta en la planta de lechuga evaluada.

Los resultados obtenidos concuerdan con los de Gómez (1990), ya que bajo las condiciones de su ensayo, no se presentó efecto significativo de la aplicación de un abono orgánico sobre el comportamiento de la producción de albahaca en peso seco. Sin embargo, en otros casos sí se ha reportado un incremento de la biomasa en plantas sometidas a la influencia de lodos de digestión anaeróbica, éstos se atribuyen a un aumento de los procesos fotosintéticos ya que se ha determinado la presencia de fitohormonas y factores de crecimiento que tienen acción estimulante sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas (Valdés *et al.*, 1999).

Las diferencias de tamaño, color y desarrollo encontradas entre los tratamientos, se atribuyen a que la asimilación de nutrientes se realiza más rápido en plantas sometidas a un tratamiento químico. Solís (1991) menciona las características al comparar el fertilizante químico frente al efluente, el químico se caracteriza por tener gran velocidad de absorción por parte de la planta ya que es altamente soluble, aspecto que también causa contaminación en aguas subterráneas; en cambio el bioabono tiene una solubilidad mucho menor, lo que hace que los nutrientes sean absorbidos más lentamente. Es por ésta razón que el efecto fertilizante del efluente no es tan marcado como el de los fertilizantes químicos, y el resultado es un almacenamiento acumulativo de sustancias nutritivas debido a la presencia continua de los nutrientes en el suelo que mejora sus aspectos físicos y químicos, además de que no son contaminantes (Canessa *et al.*, 1985).

Además al utilizar los efluentes constituidos por materia orgánica, se le devuelven al suelo muchas de las propiedades que se han visto suprimidas por el uso de fertilizantes minerales en el proceso productivo (Valverde, 1989). Por estas razones, el efluente obtenido del tratamiento anaeróbico de desechos orgánicos se comporta como un fertilizante de liberación lenta y un excelente acondicionador de suelos.

Los resultados obtenidos del análisis de nutrientes son favorables para la alta concentración de potasio en el efluente, ya que éste es absorbido por las plantas en cantidades mayores que cualquier otro elemento mineral, con excepción del nitrógeno (Canessa *et al.*, 1985), el cual para este análisis presentó la menor concentración (70,3 mg/l). Además la lechuga es una planta exigente en abonado potásico, debiendo cuidar los aportes de este elemento, especialmente en épocas de bajas temperaturas (InfoAgro, 2010).

Valverde (1989) recomienda la utilización de abonos mixtos, mezcla de bioabono y fertilizante para obtener los mejores resultados en el desarrollo del cultivo, ya que los efectos favorables del bioabono ocurren a largo plazo como agente mejorador de la textura de los suelos y como fuente de nutrientes. Además la aplicación debe realizarse antes de la siembra o trasplante, tomando en cuenta la precocidad del ciclo vegetativo en el cultivo de lechuga, la cual se caracteriza por tener un ciclo de vida corto y un sistema radical superficial, lo cual la hace muy exigente en cuanto al balance nutricional y solubilidad de los elementos nutritivos, además es importante satisfacer las necesidades de agua del cultivo para garantizar buenos rendimientos (CEDAF, 1999).

Por esta razón se recomienda realizar una aplicación de efluente antes del momento de la siembra, de manera que los nutrientes ya estén disponibles en el suelo al momento de hacer el trasplante. Valverde (1989) comparó los efectos del efluente de un biodigestor con fertilizantes químicos. Los fertilizantes se aplicaron en dos épocas, 22 días antes del trasplante y al momento del trasplante, los rendimientos se vieron aumentados en desarrollo, calidad, y cantidad cuando se fertilizó a los 22 días con el efluente antes del trasplante.

Al analizar el desarrollo en los tratamientos estudiados, el menor crecimiento lo presentó el tratamiento T1, sin embargo, se pudo observar también una diferencia visible en el crecimiento de las raíces en los tres tratamientos, ya que los tratamientos T1 y T2 desarrollaron una raíz larga y profunda, como se observa en la Figura 9B, y por el contrario, el tratamiento T3 presentó una raíz pequeña y superficial. Para los objetivos de la investigación sólo se determinó el rendimiento (peso fresco y peso seco) de la parte foliar de la planta, por ser ésta la de interés comercial en el cultivo de lechuga, sin embargo se recomienda hacer también un análisis del comportamiento radicular para poder establecer su relación con respecto a la aplicación del bioabono.

Los resultados obtenidos son semejantes a los que menciona Solís (1991), al utilizar el efluente de un biodigestor semi-continuo cargado con estiércol bovino y un fertilizante químico (16-20-20) como abono en el cultivo de repollo, se presentó una marcada respuesta al fertilizante químico, sin embargo, la presencia de bioabono mostró un desarrollo radical profundo sin rendimiento significativo.

Una de las desventajas del material obtenido de la biodegradación anaeróbica es que al ser líquido y al aplicarse en forma líquida, en suelos permeables existe mucha pérdida por lixiviación de algunos de sus componentes. Por esta razón es recomendable tener el suelo húmedo para hacer la aplicación del efluente porque si el suelo está seco existe gran pérdida de nitrógeno del efluente por volatilización (Soria *et al.*, 2001).



Durante todo el periodo de cultivo, sólo se presentó una plaga en dos repeticiones correspondientes al tratamiento T3 en diferentes épocas, ésta se identificó como *Myzus persicae*, y con la aplicación del insecticida-acaricida TALSTAR® fue posible controlar el ataque y éste no se difundió a los demás tratamientos. La detección temprana y acción rápida frente a la aparición de áfidos evitó daños en el cultivo, ya que se ha reportado que éstos áfidos succionan la savia de las hojas, atrofiando el desarrollo de las plantas y disminuyendo la calidad comercial, además son transmisores de enfermedades causadas por virus (CEDAF, 1999).

Uno de los tratamientos (T3-1) presentó un crecimiento anormal, a diferencia del crecimiento en roseta presentado por los demás tratamientos del ensayo. Este crecimiento no debe confundirse con el espigado o subida de la flor de lechuga, ya que a pesar de que éste desarrollo se puede influenciar por elevadas temperaturas, no se da sino hasta después de los dos meses de edad del cultivo, aproximadamente (InfoAgro, 2010).

Por lo que las anomalías en el crecimiento de este tratamiento en específico se atribuyen a la poca incidencia de luz que recibió éste, por encontrarse en la esquina del invernadero donde solamente recibía luz solar durante las horas de la tarde, lo que provocó una elongación de la planta en busca de luz. Se ha reportado que para la formación de la cabeza en las lechugas es necesario un equilibrio entre luz y temperatura, y que el acogollado responde favorablemente ante el incremento del estímulo lumínico acompañado por una temperatura superior a 20°C (Defilipis *et al.*, 2005). Además cuando hay escasez de luz, las hojas de lechuga se adelgazan y la roseta de hoja es muy suelta, por lo que la lechuga no se debe cultivar con plantas que le hagan sombra (CEDAF, 1999).

Para realizar una adecuada evaluación del bioabono se requiere un estudio más profundo, empleando un mayor número de variables y concentraciones, se debería analizar no sólo la respuesta de plantas a la aplicación de efluente, sino también el efecto en los suelos, y tomar en cuenta que la respuesta tiene relación con los parámetros físico-químicos y las características microbiológicas del material, así como las condiciones climatológicas del lugar.

## CONCLUSIONES

Debido a la concentración inicial de sólidos, al corto TR y la falta de movilidad de la materia, se dio un “lavado” de microorganismos, y se obtuvo un efluente con una baja calidad fertilizante.

Los contenidos de N, P y K, aumentaron considerablemente en el efluente, siendo el potasio el que presentó mayor incremento.

El análisis de calidad microbiológica reveló una reducción significativa en el efluente de *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*, sin embargo la concentración en UFC/ml no permite su aplicación inocua a los cultivos.

La aplicación del efluente al 50% de su concentración fue más efectiva que al 100%, para la variable altura de plantas y peso fresco. También se observó una diferencia visible en el crecimiento de las raíces asociada a la concentración del efluente.

El fertilizante químico produce mejores resultados en el corto plazo, además al aplicar el efluente de forma líquida, se da una pérdida por lixiviación de algunos de sus componentes.

Al aplicar el bioabono, en peso seco la disponibilidad de los nutrientes fue tan efectiva en el efluente como en el fertilizante químico.

Las diferencias de tamaño, color y desarrollo entre los tratamientos, se atribuyen a que la asimilación de nutrientes se realiza más rápido en plantas sometidas a tratamiento químico, a diferencia del efluente que se comporta como un fertilizante de liberación lenta y acondicionador de suelos.

## RECOMENDACIONES

Se proponen tres alternativas de operación para cargar el biodigestor, ya sea modificar el sistema de alimentación semi-continua; agregar un inóculo en la primera carga; o dejar fermentar la materia vegetal (compostaje) antes de introducirla al biodigestor.

En el diseño del biodigestor se debe considerar una caja a la entrada del sistema para efectuar la mezcla de materiales de carga (Anexo 1), así como la instalación de un mecanismo de agitación dentro del sistema.

Se recomienda hacer determinaciones de otros elementos al efluente, y no limitar el análisis a N, P, K. Se podría evaluar concentraciones de Ca, Fe, Mg, Cu, Zn mediante digestión ácida y lecturas en espectrofotometría de absorción atómica.

Debido al alto contenido de carbono del material vegetal agregado, se debe aumentar el TR para lograr su completa digestión y asimilación de nutrientes por los microorganismos.

Para poder utilizar el efluente en actividades agrícolas, se propone un sistema de canales de plantas acuáticas como un paso complementario al tratamiento que se da en los biodigestores.

Se recomienda humedecer el suelo y realizar una aplicación de efluente antes de la siembra, para que los nutrientes estén disponibles en el suelo al momento del trasplante; y hacer un análisis del comportamiento radicular para establecer su relación con respecto a la aplicación del bioabono.

Se debería analizar el efecto de la aplicación del bioabono en los suelos, además de probar diferentes concentraciones del efluente en la planta para poder tener una mejor estimación de su comportamiento, así como evaluar el uso de abonos mixtos (mezcla de bioabono y fertilizante) para obtener mejores resultados.

## BIBLIOGRAFÍA

- ÁLVAREZ, M., OLGUÍN, C., ASIAIN, A., ALCÁNTAR, G., CASTILLO, A. 2001. Biotecnificación de solares familiares de las zonas bajas tropicales. *Terra*. 19: 37-45.
- ANTONI, D., ZVERLOV, V., SCHWARZ, W. 2007. Biofuels from microbes. *Appl Microbiol Biotechnol* 77:23-35.
- ARÉVALO, J., ZAMBRANO, L. 2007. Implementación de un sistema autosostenible en la granja agropecuaria del municipio de Cogua para el tratamiento de los vertimientos líquidos porcícolas. Tesis Lic. Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Universidad de La Salle. Bogotá, Colombia. 168 p.
- BAGI, Z., ÁCS, N., BÁLINT, B., HORVÁTH, L., DOBÓ, K., PEREI, K., RÁKHELY, G., KOVÁCS, K. 2007. Biotechnological intensification of biogas production. *Appl Microbiol Biotechnol* 76:473-482.
- BETETA, T., GONZÁLEZ, J. 2005. Construcción y uso de biodigestores tubulares plásticos. Guía Técnica (7). Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua.
- CANESSA, E., SANTANA, A., COTO, J., ABELES, T., INDRICK, S. 1985. Simposio Centroamericano sobre aplicaciones de energía biomásica. Diseño y construcción de biodigestores. 2Ed. Editorial Tecnológica de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. 204 p.
- CASTILLO, J. 2001. Uso de biodigestores en el tratamiento de desechos orgánicos. *Revista Energía*. 35: 9-12.

- CEDAF. 1999. Cultivo de lechuga y apio. Guía Técnica N° 34. Serie Cultivos. 1°Ed. Santo Domingo, República Dominicana. 5-25 p.
- CHARÁ, J. 2000. El Potencial De Las Excretas Porcinas Para Uso Múltiple Y Los Sistemas De Descontaminación Productiva. Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria (CIPAV). Disponible en: <http://www.cipav.org.co/cipav/confr/ichara1.htm> (Enero, 2010).
- CORLAY, L., ROBLEDO, A., HERNÁNDEZ, J., PINEDA, R., MALDONADO, J., CRUZ, A., ALVAREZ, E. 2009. Caracterización química y microbiológica del efluente de digester anaeróbico. Universidad Autónoma Chapingo, México. Disponible en: [http://www.agronomiayciencias.uat.edu.mx/eventos/antecedentes/Agronomia/Congreso\\_nacional\\_ciencia\\_suelo/Contenido/biologia%20del%20suelo/carteles/L.%20Corlay%20Chee.pdf](http://www.agronomiayciencias.uat.edu.mx/eventos/antecedentes/Agronomia/Congreso_nacional_ciencia_suelo/Contenido/biologia%20del%20suelo/carteles/L.%20Corlay%20Chee.pdf) (Abril, 2009).
- CRUZ, E., MARTÍNEZ, V., NARANJO, R., SOSA, R. 2004. Evaluación microbiológica del efluente anaerobio de un biodigestor de cúpula fija. Revista Computadorizada de Producción Porcina. 11(2): 89-95.
- DEFILIPIS, C., PARIANI, S., JIMENEZ, A., BOUZO, C. 2005. Respuesta al riego de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cultivada en invernadero. Universidad Nacional de Luján. Buenos Aires, Argentina. Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/Mendoza/Jornadas/Trabajospresentados/Defilipis.pdf> (Febrero, 2010)

- DIAS, E., KRELING, J., BOTERO, R., MURILLO, J. 2007. Evaluación de la productividad y del efluente de biodigestores suplementados con grasas residuales. *Tierra Tropical* 3 (2): 149-160.
- EBENEZER, A., SETHUMADHAVAN, R., VELRAJ, R. 2007. Biogas: Can It Be an Important Source of Energy? *Env Sci Pollut Res* 14 (1): 67-71.
- GALLERT, C., WINTER, J. 2002. Solid and liquid residues as raw materials for biotechnology. *Naturwissenschaften* 89:483-496.
- GÓMEZ, F. 1990. Efecto de un abono orgánico sobre la producción de albahaca (*Ocimum sanctum* L.) y las propiedades físico-químicas de un suelo. Tesis Lic. Escuela de ciencias agrarias. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 130 p.
- GTZ. 2009. Biogas Digest. Vol I. Biogas basics. Information and Advisory Service on Appropriate Technology. Disponible en: <http://www.gtz.de/de/dokumente/en-biogas-volume1.pdf> (Abril, 2009).
- GUEVARA, A. 1996. Fundamentos básicos para el diseño de biodigestores anaeróbicos rurales: Producción de gas y saneamiento de efluentes. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. Lima, Perú. 70 p.
- GUILLÉN, R. 2010. Caracterización de los parámetros de operación de los biodigestores a escala del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Tesis Bach. Escuela de Biología. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. 81 p.

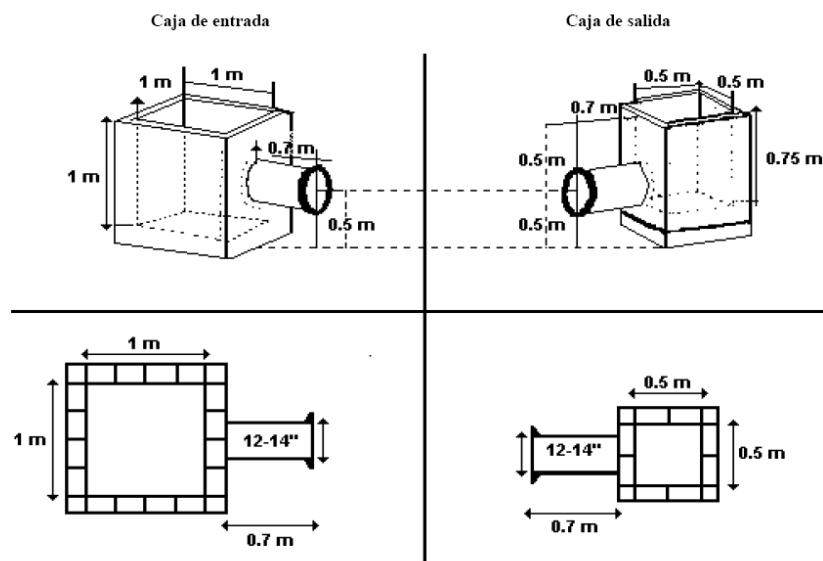


- HILBERT, J. 2006. Manual para la producción de biogás. Instituto de Ingeniería Rural I.N.T.A. – Castelar.
- IICA. 2009. Biodigestores: Construcción de biodigestores o plantas de biogás. Disponible en: [http://www.iica.int.ni/Estudios\\_PDF/Biodisgestores.pdf](http://www.iica.int.ni/Estudios_PDF/Biodisgestores.pdf) (Abril, 2009).
- INFOAGRO. 2010. El cultivo de la lechuga. Disponible en: <http://www.infoagro.com/hortalizas/lechuga.htm> (Febrero, 2010).
- LABORATORIOS BRITANIA. 2009. Argentina. Disponible en: [http://www.britanialab.com.ar/espanol/catalogo\\_r.html](http://www.britanialab.com.ar/espanol/catalogo_r.html) (Mayo, 2009).
- MANDUJANO, M., FELIX, A., MARTÍNEZ, A. 1981. Biogas: Energía y fertilizantes a partir de desechos orgánicos. Manual para el promotor de la tecnología. OLADE. Morelos, México. 7-24 p.
- MONCAYO, G., ARRUE, R. 2007. Construcción de biodigestores para el aprovechamiento del estiércol de animales para producción de biogás y energía eléctrica. Colegio de Ingenieros Agrónomos de Chile. Disponible en: <http://www.agronomos.cl/2007/feb/htm/construccion.htm> (Abril, 2009).
- PALACIOS, O. 2005. Evaluación de un sistema discontinuo de biodigestión anaerobia para el tratamiento de desechos avícolas. Revista de la Facultad de Ingeniería de la U.C.V. 20(4):105-112.
- RETANA, A. 2006. El biodigestor: ¿Cómo darle mantenimiento? Engormix. Disponible en: [http://www.engormix.com/el\\_biodigestor\\_como\\_darle\\_s\\_articulos\\_1029\\_POR.htm](http://www.engormix.com/el_biodigestor_como_darle_s_articulos_1029_POR.htm) (Abril, 2009).

- SOLÍS, E. 1991. Determinación de la dosis (mezcla abono fertilizante) y la época de aplicación del efluente utilizando el estiércol caprino como materia prima en el cultivo del frijón (*Phaseolus vulgaris*) y su efecto sobre las propiedades físicas del suelo. Tesis Lic. Escuela de ciencias agrarias. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 130 p.
- SORIA, M., FERRERA-CERRATO, R., ETCHEVERS, J., ALCÁNTAR, G., TRINIDAD, J., BORGES, L., PEREYDA, G. 2001. Producción de biofertilizantes mediante biodigestión de excreta líquida de cerdo. Terra. 19 (4):353-362.
- VALDÉS, W., RODRÍGUEZ, S., CÁRDENAS, J. 1999. Utilización del lodo obtenido de la digestión anaeróbica de la cachaza como bioabono para el cultivo del ajo porro (*Allium porrum* L.). Interciencia. 24(4):264-267.
- VALVERDE, C. 1989. Evaluación comparativa del efluente (subproducto del biodigestor) con la fertilización comercial en el cultivo del puerro (*Allium porrum* L.) Tesis Lic. Escuela de ciencias agrarias. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 130 p.
- WEILAND, P. 2000. Anaerobic waste digestion in Germany – Status and recent developments. Biodegradation 11: 415-421.
- WONG, M., JIMÉNEZ, E. 2009. Comparación del efecto de 2 biofertilizantes líquidos a base de estiércol caprino y vacuno sobre parámetros de crecimiento de algarrobo (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC.) en fase de vivero. Disponible en: <http://hdl.handle.net/123456789/509> (Abril, 2009).

## ANEXOS

**ANEXO 1.** Dimensiones de las cajas de entrada (materia orgánica) y salida (efluente) del biodigestor.



**Fuente:** Soria *et al.* (2001).