



PRODUCCIÓN DE METANO UTILIZANDO RESIDUOS CUNÍCOLAS METHANE PRODUCTION USING RABBIT RESIDUES

O. Teniza-García^{1,2}, M.M. Solís-Oba*, M.E. Pérez-López³, J.M. González-Prieto⁴, R. Valencia-Vázquez⁵

¹IPN, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Carretera Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, C.P. 90700, México.

²CECyTE Tlaxcala. Reforma No 10 Tlatempan, Tlaxcala C.P.90610, México.

³Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Sigma 119 Durango, C.P. 34220, México.

⁴Centro de Biotecnología Genómica. Boulevard del Maestro s/n esq. Elías Piña, Cd. Reynosa, Tamaulipas, C.P. 88710, México.

⁵Instituto Tecnológico de Durango. Boulevard Felipe Pescador 1830 Ote. Durango, Dgo. C.P. 3408, México.

Recibido 7 de Abril de 2014; Aceptado 31 de Mayo de 2015

Resumen

En las granjas cunícolas de Tlaxcala se obtienen dos residuos: una mezcla de aserrín, estiércol y orina de conejo (R_1) proveniente del criadero y las vísceras (R_2) proveniente del proceso de matanza. En este trabajo fue evaluada la digestión anaerobia de dichos residuos para definir las condiciones bajo las cuales se puedan utilizar como fuente de energía alternativa. La producción de metano fue valorada en cuatro etapas, la primera fue la digestión de R_1 y R_2 inoculados con estiércol de vaca (A), cerdo (B) y cabra (C), para seleccionar el par residuo-estiércol a utilizar. En la etapa dos fue considerado el tratamiento de mayor producción de metano de la etapa uno y se evaluó el ajuste de: pH a 7.2 y/o la relación C/N a 23/1; en la etapa tres se evaluó el impacto de dos valores de temperatura (ambiente y 37°C) y dos fuentes de carbono (paja de avena y aserrín), así como la adición de micronutrientes (etapa 4) sobre la producción de biogás. Se encontró que la digestión anaeróbica de las vísceras de conejo con 10% de estiércol de cabra generó la mayor producción de biogás con 71 % de metano; lo cual fue logrado al ajustar los parámetros de proceso (pH a 7.2, relación C/N a 23/1, temperatura de 37°C y adición de micronutrientes). El análisis estadístico mostró que la temperatura es el parámetro que tuvo el mayor efecto sobre la producción de metano, la adición de micronutrientes influyó en reducir el tiempos para obtener biogás con al menos 45% de metano (mínimo para ser considerado combustible), y la sustitución de paja de avena por aserrín no tuvo efecto significativo en la producción de biogás y metano.

Palabras clave: estiércol de conejo, vísceras, producción de metano, biogás, co-digestión.

Abstract

At the rabbit farms of Tlaxcala, Mexico two residues are produced: a mixture of sawdust with rabbit manure and urine (R_1) from the hatchery area, and the viscera (R_2) from the slaughter process. In this work, the anaerobic digestion (AD) process of such residues was evaluated to define the conditions at which they can be used to produce an alternative energy source. Methane content of the biogas produced was assessed in four stages. The first stage was the co-digestion of R_1 and R_2 inoculated with different manures: cow (A), pig (B) and goat (C), in order to select the residue-manure pair to be used. At stage two, the treatment which performed better at the previous stage was selected to evaluate the effect of pH adjustment to 7.2 and/or a C/N ratio to 23/1; during the third stage, it was evaluated the impact of internal temperature (ambient temperature and 37°C) and the addition of two carbon sources (oat straw and sawdust) on the methane content of the biogas produced; and finally, at stage four, the addition of micronutrients (step 4) over methane production was assessed. It was found that anaerobic digestion of rabbit entrails inoculated with 10% of goat manure generated the highest production of biogas with a 71% methane content; which was achieved by adjusting the process parameters (pH 7.2, C/N ratio to 23/1, internal temperature to 37°C and addition of micronutrients). Statistical analyses showed that temperature was the parameter that had the greatest effect on the methane content of the produced biogas; adding micronutrients reduced the lag-phase and helped to achieve 45% of methane in the biogas (minimal value required to be flammable); and, replacing sawdust by oat straw had no significant effect on the production of biogas or methane content.

Keywords: rabbit manure, internal organs, methane production, biogas, co-digestion.

* Autora para la correspondencia. E-mail: : myrobotlx@yahoo.com.mx
Tel. 012484870765, Fax 012484870762

1 Introducción

Desde el siglo pasado se han implementado tecnologías para la producción de energías alternativas al uso de los combustibles fósiles, un ejemplo es la digestión anaerobia (DA). Esta es un proceso natural de descomposición de materia orgánica en ausencia de oxígeno, en la cual el producto final es el biogás, formado principalmente por metano y dióxido de carbono y como subproducto se obtiene un líquido que puede ser usado como fertilizante orgánico. Dependiendo del contenido de metano en el biogás se puede utilizar para generar electricidad y/o calor (Bekkering y col. 2010). Incluso se ha propuesto el uso del biogás como combustible para los motor de combustión interna alternativo, debido a su facilidad de uso y alta resistencia a la auto ignición (Carrera-Escobedo y col. 2013)

El proceso de la DA se lleva a cabo en cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis; las cuales han sido ampliamente descritas en la literatura. Se recomienda que para obtener un proceso estable y con buena conversión de la materia orgánica a metano se implemente una alimentación con un contenido de sólidos totales de 7-9%, un pH de proceso de 6.6-7.6, una relación C/N de 20-30/1 y temperaturas mesofílicas (25 a 40°C) o termofílicas (45 a 65°C) (Abbassi y col. 2012).

La DA puede llevarse a cabo con un solo sustrato o agregando del 10 al 50% en peso de otro sustrato (co-digestión). Las ventajas de la co-digestión son: mejorar el rendimiento de metano, coadyuva suministrando nutrientes esenciales, diluye el potencial tóxico de compuestos inhibidores, ajusta el contenido de humedad y pH e incrementa el contenido de microorganismos que participan en el proceso de degradación (Budiyono y col., 2010; Kim y Kang 2015).

En la co-digestión son empleados residuos de naturaleza diversa como cárnicos, domésticos, agrícolas, industriales, lodos de aguas residuales, residuos sólidos municipales y agropecuarios como los estiércoles (Flores y col. 2008; Guangqing y col. 2009; Méndez-Contreras y col. 2009; Luste y Luostarinen, 2010; Bayr y col. 2012). Asimismo se ha demostrado que estrategias previas al proceso de la DA ayudan a acelerar la hidrólisis (Terreros-Mecalco y col., 2009); estos pre-tratamientos incluyen métodos físicos, como la reducción en el tamaño de partícula y tratamiento térmico (Vigueras y col., 2011); químicos, como la adición de álcali o ácido (Vigueras y col. 2013) y biológicos, mediante el uso de enzimas

(Valladao y col., 2007; Gómez y col., 2012). Por otro lado, se han empleado soportes como la zeolita, mismo que sirve como material filtrante, empaque, soporte y además favorece la inmovilización de la biomasa e incrementa la metanogénesis, debido a la remoción de amonio/amonia por intercambio catiónico con Mg^{+2} , Ca^{+2} y Na^{+1} presentes en la zeolita (Gan, 2013).

La DA también se ha estudiado para el tratamiento de aguas residuales con altas cargas orgánicas (Ferreira-Rolón y col., 2014); además de ser una alternativa viable para el manejo de residuos, como es el caso de los agropecuarios (Balagurusamy, 2007). La mayoría de estos residuos no son dispuestos adecuadamente; una práctica común es su almacenamiento a cielo abierto, ocasionando problemas ambientales como; son malos olores, atracción de fauna nociva y riesgo de contaminación de los suelos; además de la pérdida de recursos por desconocer otras alternativas, como son los beneficios de establecer un proceso de tratamiento basado en la DA. En Tlaxcala, México, existen productores y comercializadores de conejo que tienen los problemas mencionados. Y debido a la naturaleza de sus residuos existe una buena oportunidad para implementar un sistema que, aparte de resolver los problemas ambientales sirva para la generación de una fuente de energía alternativa.

El objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes mezclas de residuos provenientes de las granjas cunícolas, para establecer las condiciones de la digestión anaeróbica que coadyuven a generar mayor volumen de biogás con alto contenido de metano, y que favorezca su aprovechamiento como una fuente de energía alternativa.

2 Metodología

El presente trabajo fue llevado a cabo en la localidad de Tlaxcala, México, con uno de los mayores productores y comercializadores de conejo de la región; donde se generan 3 toneladas mensuales de una mezcla de aserrín con estiércol y orina de conejo (R_1), procedente del criadero y 1.2 toneladas mensuales de vísceras (R_2), que se producen durante el sacrificio de los animales.

El trabajo se realizó utilizando diversas mezclas de residuos y variando las condiciones de proceso, buscando obtener el mayor rendimiento en la producción de metano. El desarrollo experimental se realizó en cuatro etapas a nivel piloto. En la primera se evaluó la co-digestión de los dos residuos

R_1 y R_2 con tres tipos de estiércoles como fuente microbiana: de vaca (A), cerdo (B) y cabra (C) para seleccionar el par residuo-estiércol a utilizar. En las etapas subsecuentes se consideró el tratamiento con mayor rendimiento de la etapa anterior y se evaluó el efecto de modificar: pH y la relación C/N (segunda etapa); temperatura y fuente de carbono (tercera etapa) y la adición de micronutrientes (cuarta etapa), en la producción de biogás y su contenido de metano. Para que el biogás sea considerado como una fuente de energía alternativa su contenido de metano debe de ser superior al 45% v/v.

Todos los tratamientos se llevaron a cabo por triplicado, se usó una relación en peso de 9% de sólidos totales, constituidos por la mezcla en peso seco de 90% de residuo con (R_1 o R_2) 10% de estiércol.

El ajuste del valor de pH se hizo adicionando una solución de carbonato de sodio 2M; la relación C/N se ajustó con aserrín o paja de avena que se mantuvieron durante 15 días a condición de humedad constante del 70% y temperatura de 25°C.

2.1 Diseño experimental

Primera etapa. En ésta se consideraron los dos residuos mencionados y los tres estiércoles usados como fuente microbiana (Tabla 1), en el tratamiento control no se adicionó estiércol. Para validar las diferencias en rendimientos de metano se usó un diseño experimental con arreglo factorial 2x4, un factor fue el residuo (R_1 y R_2) y el otro la fuente microbiana (estiércoles A, B, C y sin estiércol).

Segunda etapa. Se usó R_2 con estiércol de cabra (par seleccionado) para evaluar el efecto del pH y de la relación C/N. Para validar las diferencias en rendimiento de metano se usó un diseño experimental con arreglo factorial 2x2 donde los dos factores a evaluar fueron: pH (5.8 y 7.2) y relación C/N (10.8/1 y 23/1), como se muestra en la Tabla 2.

Tercera etapa. Se utilizó el tratamiento con R_2 y estiércol de cabra a pH de 7.2 y relación C/N a 23/1, para evaluar el efecto de la temperatura y fuente de carbono sobre la producción de metano, se hizo bajo un diseño experimental con arreglo factorial 2x2. Los factores fueron la temperatura (25°C y 37°C) y la fuente de carbono (aserrín y paja de avena), ver Tabla 3.

Tabla 1. Tratamientos de la etapa 1

Residuo	Estiércol			
	Vaca	Cerdo	Cabra	Control
R_1	A ₁	B ₁	C ₁	Control ₁
R_2	A ₂	B ₂	C ₂	Control ₂

Tabla 2. Tratamientos de la etapa 2

Relación C/N	pH	
	5.8	7.2
10.8/1	C ₂	C ₂₋₁
23/1	C ₂₋₂	C ₂₋₃

Tabla 3. Tratamientos de la etapa 3

Fuente de carbono	Temperatura	
	25°C	37°C
Aserrín	C ₂₋₃	C ₃₋₁
Paja de avena	C ₃₋₁₁	C ₃₋₁₂

Cuarta etapa. Se utilizó R_2 con estiércol de cabra, pH 7.2 y relación C/N de 23/1, 37°C y aserrín como fuente de carbono. En esta etapa se evaluó el efecto de la adición de micronutrientes sobre el contenido de metano en el biogás. Se adicionó una mezcla con la siguiente composición: 10 mg/kg de sólidos totales (ST) de cloruro de cobalto, 10 mg/kg ST de cloruro de níquel, 1 mg/kg ST de cloruro ferroso, 1 mg/kg ST de selenito sódico, 6 mg/kg ST de molibdato de amonio y 1 mg/kg ST de tungstato de sodio (Facchin y col. 2013).

En las cuatro etapas la producción de biogás fue monitoreada semanalmente durante 75 días y cuantificado su contenido de metano; adicionalmente se determinaron los valores de pH y se cuantificaron los ácidos grasos volátiles (AGVs) para un mejor conocimiento del proceso. Las digestiones fueron realizadas en lote (batch), por triplicado.

2.2 Descripción de la unidad experimental

Los digestores empleados como unidad experimental fueron recipientes cilíndricos de polietileno de aproximadamente 120 L, cuyas dimensiones son diámetro 42 cm y altura 87 cm, adaptados con un termo pozo en la parte central para medir la temperatura interna y se instalaron dos válvulas de PVC, una en la tapa para muestreo de biogás (de 3/8" de diámetro) y la otra en la parte inferior para salida del líquido de digestión (1" de diámetro).

Los digestores fueron llenados hasta un 70% de la capacidad total (84 L) con la mezcla de residuos ajustada a un contenido de sólidos totales de aproximadamente 9%. Una vez llenados fueron cerrados herméticamente para posteriormente extraer el aire con una bomba de vacío. El periodo experimental fue de 75 días.

2.3 Caracterización de los materiales

En cada repetición se utilizó una muestra fresca representativa de los residuos, consistente en 300 kg de R_1 tamizados a través de una malla de 0.5 cm y 500 kg de R_2 molidos en una licuadora industrial, una vez homogenizadas y cuarteadas las mezclas se procedió a tomar muestras. A las mezclas de cada tratamiento se le determinó valores iniciales de pH y relación C/N, además de su contenido de sólidos totales y carbono orgánico total.

2.4 Métodos analíticos

A las mezclas iniciales y finales se les revisó pH, relación C/N, contenido de ácidos grasos volátiles, volumen de biogás y contenido de metano, como se indica. Los valores de pH se determinaron con un pH metro, marca Orion modelo 410 A. El contenido de carbono orgánico total se cuantificó según Navarro y col. (1993); la relación C/N a nivel orgánico se estableció utilizando los valores obtenidos del analizador elemental Perkin Elmer 2400 CHN, provisto con detector de conductividad térmica con temperatura de operación de 82.5°C, equipado con una columna de combustión y una columna de reducción, con temperaturas de trabajo de 925°C y 640°C respectivamente, utilizando helio como gas de arrastre.

La producción de biogás se cuantificó por desplazamiento de volumen con una solución acidificada con ácido clorhídrico a temperatura de 10°C según Marañón y col. (2012).

Para cuantificar los ácidos grasos volátiles (AGVs), las muestras se centrifugaron, decantaron y la fase líquida se acidificó a pH 2 con ácido fosfórico, se añadieron 0.15g de NaCl por mililitro de muestra. Los AGVs se extrajeron con diclorometano y fueron medidos en un cromatógrafo de gases Agilent equipado con un detector de ionización de flama y una columna capilar DB-FFAP 122-3232 de 30 m x 0.25 mm, temperatura de la columna 250°C, temperatura del inyector y detector de 250°C y 260°C respectivamente, usando nitrógeno como gas

acarreador. La cuantificación se hizo con curvas de calibración usando estándares de los diferentes ácidos.

Para el contenido de metano en el biogás se determinó empleando un cromatógrafo de gases Perkin Elmer autosystem XL, equipado con un detector TCD y una columna capilar HP-PLOT Q de 30 m x 0.53 mm, temperatura de inyección de 240°C, y temperatura del detector de 250°C; utilizando hidrogeno como gas acarreador. La cuantificación del contenido de metano en el biogás se realizó con ayuda de una curva de calibración construida con un estándar de gas natural.

Para validar las diferencias en la producción de metano se utilizó un ANOVA y para conocer las diferencias específicas entre los factores se utilizó la prueba de medias de Mínima Diferencia Significativa (LSD por sus siglas en inglés). Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa Statistica ver 7 (Stat. Soft. Inc., 1984-2004) con un valor de significancia de 0.05 (α).

3 Resultados y discusión

3.1 Primera etapa experimental

La primera etapa se llevó a cabo para seleccionar el par residuo-estiércol que genera una mayor cantidad de metano. A continuación se muestra la caracterización fisicoquímica de las mezclas al inicio del proceso de digestión (Tabla 4) y los análisis durante el proceso de la DA.

3.1.1. Caracterización fisicoquímica de las mezclas iniciales

Se prepararon ocho mezclas diferentes considerando los dos residuos y los estiércoles (ver Tabla 4).

El análisis de los parámetros indicados en la Tabla 4, fue llevado a cabo para conocer las condiciones iniciales del proceso y compararlos con los valores reportados en la literatura que favorecen la DA: valores de pH de 6.6 a 7.6 (Lorenzo y Obaya 2005), la relación C/N de 20-30/1 (Chen y col. 2008) y contenido de sólidos totales menor a 10% (Abbassi y col. 2012).

Los valores de pH en las mezclas iniciales con R_1 fueron ligeramente superiores a la neutralidad, mientras que con R_2 estuvieron entre pH 5 y 6; en ambos casos la adición de estiércol no modificó el valor de pH respecto a su control. El contenido de sólidos se ajustó a los valores recomendados de menos del 10%.

Tabla 4. Caracterización inicial de las mezclas de residuos de la etapa 1

Tratamientos	pH inicial	Sólidos totales inicial (%)	Carbono orgánico inicial (%)	Relación C/N inicial
A ₁	7.41 ± 0.23	8.83 ± 0.32	40.76 ± 0.51	28.37/1 ± 0.25
B ₁	7.43 ± 0.24	9.43 ± 0.15	43.57 ± 0.35	26.89/1 ± 0.31
C ₁	7.58 ± 0.33	9.81 ± 0.12	40.74 ± 0.53	27.87/1 ± 0.26
Control ₁	7.51 ± 0.32	8.68 ± 0.30	42.23 ± 0.46	29.11/1 ± 0.15
A ₂	5.85 ± 0.34	9.17 ± 0.13	45.82 ± 0.42	10.80/1 ± 0.25
B ₂	5.74 ± 0.28	9.10 ± 0.10	45.75 ± 0.40	10.23/1 ± 0.16
C ₂	5.70 ± 0.32	8.90 ± 0.32	44.43 ± 0.43	10.81/1 ± 0.24
Control ₂	5.58 ± 0.49	8.60 ± 0.29	47.29 ± 0.38	8.60/1 ± 0.12

Valores promedio ($N = 3 \pm$ desviación estándar)

Las condiciones iniciales de los tratamientos con R_1 coinciden con las reportadas para favorecer el proceso de DA en general, no así para los tratamientos con R_2 . Sin embargo, trabajos en los cuales utilizan residuos del tipo de R_2 refieren valores similares a los obtenidos en el presente trabajo, por ejemplo Mshandete y col. (2004) reportan valores de la relación C/N entre 6-9/1 para residuos del sacrificio de ganado.

3.1.2. Proceso de la DA para seleccionar el par residuo-estiércol

Variación del pH y de AGVs

Según lo reportado por Gerardi (2003), el pH al inicio del proceso de DA disminuye por la producción y acumulación de AGVs, posteriormente conforme las bacterias acetogénicas y metanogénicas los consumen, el pH incrementa. La mayoría de las bacterias anaerobias están activas en el intervalo de pH de 6.6 a 7.6; pero las bacterias metanogénicas se inhiben a valores de pH inferiores a 6.6.

Durante la etapa acidogénica se producen los AGVs, su cuantificación ayuda a la evaluación y seguimiento del proceso, un exceso de ácidos pueden inducir estrés en el proceso de DA, por ello se han sugerido límites máximos como son: para el ácido isobutírico no mayor a 300 mg/L, el valérico abajo de 200 mg/L (Hill y Holmberg 1988), el ácido acético debe ser menor de 1600 mg/L y el ácido propiónico debe estar en una concentración menor a 950 mg/L; valores mayores de éstos ácidos pueden inhibir el crecimiento de las bacterias metanogénicas (Demirel y Yenigun, 2002).

En la Figura 1 se muestra la variación en los valores de pH (líneas continuas) y las cantidades cuantificadas de AGVs totales (líneas punteadas) para las digestiones llevadas a cabo con R_1 , donde se observa que en todos los tratamientos,

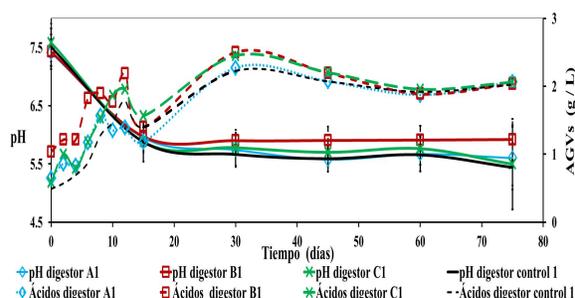


Fig. 1. Variación del pH y AGVs en los tratamientos con R_1 durante la etapa 1 de la DA.

durante los primeros 15 días del proceso de la DA el pH disminuyó de 7.5 a 5.7, esto se debió a la formación y acumulación de los AGVs y está acorde con lo reportado por Gerardi (2003). La concentración de AGVs continuó incrementándose, manteniendo los valores de pH en un intervalo de 5.9 a 6.3 durante el resto del periodo experimental; estas condiciones ambientales dentro de los reactores inhibieron el desarrollo de las comunidades bacterianas acetogénicas y metanogénicas que metabolizan los AGVs en acetato y metano, respectivamente (Gerardi, 2003).

Los valores de AGVs aumentan y disminuyen, porque estos se van formando y consumiendo conforme transcurren las etapas de la DA. Los valores de AGVs totales se incrementaron hasta alcanzar valores máximos en el día 30 y se mantuvieron constantes por el resto del periodo experimental, por ello los valores del pH se mantuvieron en valores ácidos y no incrementaron. En todos los tratamientos con R_1 se detectó la presencia de los ácidos acético, isobutírico, butírico y valérico. Los valores máximos cuantificados de AGVs durante el proceso de la DA para todos los digestores fue similar y oscilaron para el ácido acético entre 167 y 172 mg/L, para el butírico entre 1188 y 1195 mg/L, el isobutírico entre 753 y 760

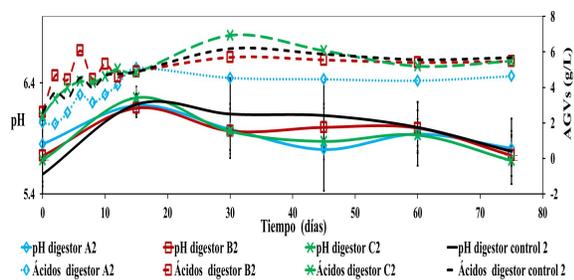


Fig. 2. Variación del pH y AGVs en los tratamientos con R₂ durante la etapa 1 de la DA.

mg/L y el valérico entre 255 y 260 mg/L.

Los valores de estos ácidos en todos los tratamientos al final de la experimentación (día 75) estuvieron entre 111 y 115 mg/L para el ácido acético, para el butírico entre 1020 y 1030 mg/L, para el isobutírico entre 657 y 665 mg/L y el valérico entre 256 y 270 mg/L. Las cantidades cuantificadas de ácido acético estuvieron en valores recomendados y no hubo presencia de ácido propiónico; pero las cantidades de los ácidos isobutírico y valérico sobrepasaron los valores recomendados por Hill y Holmberg (1988) para llevar a cabo un proceso de DA estable, lo cual pudo afectar la producción de metano por inhibición de las bacterias metanogénicas.

En la Figura 2 se aprecia la variación en los valores de pH (líneas continuas) y las cantidades cuantificadas de AGVs totales (líneas punteadas) para las digestiones con R₂. Los tratamientos iniciaron en valores de pH entre 5.6 y 5.8 y no se observó una disminución inicial de los mismos durante la DA, como se ha reportado (Gerardi, 2003), éstos incrementaron y posteriormente disminuyeron para mantenerse entre 5.6 y 6.3. Esto presumiblemente se

debió a que los residuos cárnicos muestran una baja relación C/N por sus altos contenidos de nitrógeno (Cuetos y col. 2010); el cual es convertido a amoníaco durante la degradación de las proteínas en el proceso de DA y contribuye a la estabilización del pH actuando como un amortiguador (Gerardi, 2003).

En todos los tratamientos, al igual que aquellos donde se usó R₁, se detectó la presencia de ácido acético, butírico, isobutírico y valérico. Los valores determinados en estos tratamientos fueron similares, para el acético se cuantificaron entre 290 a 300 mg/L, para el butírico entre 2850 y 2860 mg/L, el isobutírico de 1170 y 1180 mg/L y el valérico entre 1445 y 1460 mg/L. Mientras que al final de la experimentación (al día 75) oscilaron entre 300 y 310 mg/L para el ácido acético, entre 2650 y 2665 mg/L para el butírico, para el isobutírico entre 1080 y 1090 mg/L y para el valérico de 1340 a 1355 mg/L. Similar a los tratamientos con R₁, las cantidades de los ácidos acético y propiónico no sobrepasaron los límites reportados, pero las cantidades de ácidos isobutírico y valérico estuvieron por arriba del límite máximo recomendado para que la DA se lleve a cabo de manera eficiente, lo cual afectó la producción de metano. Adelard y col. (2015) indican que la digestión de materiales fácilmente degradables como R₂ pueden resultar en una elevada concentración de AGVs especialmente al inicio del proceso de digestión lo cual concuerda con los resultados obtenidos de AGVs en esta etapa para este tipo de residuos.

Generación de biogás y metano

La producción de biogás se registró desde el primer día en todos los tratamientos con ambos residuos R₁ y R₂.

Tabla 5. Producción de biogás y metano y valores de pH medidos en la etapa 1

Factor 1	Factor 2	pH inicial	pH final	Producción total de Biogás L/kg de sólido volátil	Producción total de Metano L/kg de sólido volátil	% de Metano al día 75
R ₁	A ₁	7.41 ± 0.23	5.60 ± 0.54	75.49 ^c ± 4.50	16.39 ^b ± 1.15	21.71 ^c ± 1.49
R ₁	B ₁	7.43 ± 0.29	5.92 ± 0.35	133.14 ^b ± 4.33	34.47 ^a ± 1.20	25.89 ^a ± 1.38
R ₁	C ₁	7.58 ± 0.33	5.50 ± 0.37	79.69 ^c ± 4.45	17.56 ^b ± 1.17	22.03 ^b ± 0.74
Control ₁		7.51 ± 0.32	5.44 ± 0.72	69.35 ^c ± 4.48	13.67 ^b ± 1.14	19.71 ^d ± 0.09
R ₂	A ₂	5.85 ± 0.34	5.81 ± 0.16	72.46 ^c ± 4.46	16.71 ^b ± 1.15	23.06 ^b ± 1.12
R ₂	B ₂	5.74 ± 0.28	5.75 ± 0.18	74.64 ^c ± 4.52	15.61 ^b ± 1.15	20.91 ^c ± 1.07
R ₂	C ₂	5.70 ± 0.32	5.70 ± 0.21	166.22 ^a ± 4.70	38.30 ^a ± 1.21	23.04 ^b ± 4.32
Control ₂		5.58 ± 0.49	5.78 ± 0.30	76.29 ^c ± 4.46	14.08 ^b ± 1.14	18.45 ^d ± 0.88

Valores promedio (N = 3 ± desviación estándar)

a,b,c,d Letras iguales en superíndices en columnas indican que no hay diferencia estadísticamente significativa

Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos de las mezclas al inicio de la digestión anaeróbica

Tratamientos	pH inicial	Sólidos Totales iniciales (%)	Carbono Orgánico inicial (%)	Relación C/N inicial
C ₂₋₁	7.34 ± 0.07	9.85 ± 0.35	42.55 ± 0.30	13.79 ± 0.14
C ₂₋₂	5.87 ± 0.01	9.06 ± 0.08	47.16 ± 0.45	22.35 ± 0.23
C ₂₋₃	7.16 ± 0.02	8.75 ± 0.05	40.05 ± 0.20	23.50 ± 0.24
Control C ₂	5.82 ± 0.12	9.11 ± 0.23	43.89 ± 0.31	10.64 ± 0.15

Valores promedio ($N = 3 \pm$ desviación estándar)

La presencia de metano para los tratamientos con R_1 se detectó a partir del cuarto día y durante los 75 días que duró la etapa experimental. Mientras que la presencia de metano en los tratamientos con R_2 , se registró a partir del día seis donde se adicionaron los estiércoles y en el tratamiento control inició a partir del día ocho.

En la Tabla 5 se muestra la producción total de biogás y su contenido de metano obtenidos en los diferentes tratamientos. En los digestores donde se usó R_1 , estadísticamente la mayor producción de biogás total y metano total se obtuvieron en el tratamiento donde se adicionó estiércol de cerdo (B). En los tratamientos con estiércol de vaca (A) o de cabra (C) el biogás y metano totales no fueron significativamente diferentes a las obtenidas en el control. Estadísticamente la mayor producción de biogás total y metano total donde se utilizó R_2 se obtuvo en el tratamiento donde se adicionó estiércol de cabra (C). La digestión de R_2 con estiércol de vaca (A) o cerdo (B) produjeron estadísticamente las mismas cantidades respecto al control.

De acuerdo con éstos resultados, para las etapas posteriores se utilizó el par R_2 (vísceras) y C (estiércol de cabra) porque de acuerdo con el análisis estadístico presentaron la más alta producción de biogás y mayor contenido de metano.

En todos los tratamientos usando R_1 o R_2 el contenido de metano en el biogás fue menor al 26%, esto pudo deberse al alto contenido de AGVs que se acumularon durante la DA, lo cual repercutió en que los valores de pH estuvieran por debajo de 6.6, valor en el cual se inhiben las bacterias metanogénicas (Gerardi, 2003). Bajo las condiciones experimentales llevadas a cabo en esta etapa no se obtuvo un biogás combustible. Para considerar al biogás como una fuente de energía alternativa debe contener al menos 45% de metano (Rasi y col. 2007), por ello se exploró la variación de algunos parámetros de la DA para incrementar el contenido de metano, como se explica en las etapas siguientes.

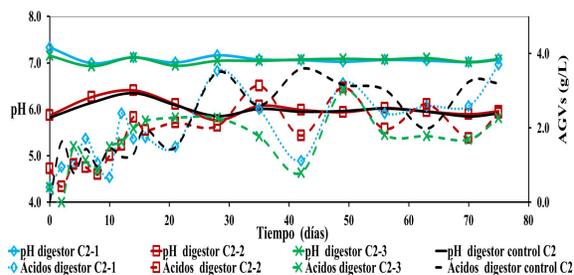


Fig. 3. Variación del pH y AGVs en los tratamientos con R_2 durante la etapa 2 de la DA.

3.2 Segunda etapa experimental

En esta etapa se evaluó el efecto en la producción de biogás y contenido de metano mediante la modificación del pH y la relación C/N. Iniciando con la caracterización fisicoquímica de las mezclas (Tabla 6) y los análisis durante la DA.

3.2.2 Proceso de la DA evaluando el efecto del pH y la relación C/N

Variación del pH y de AGVs

En la Figura 3 se observa la variación en los valores de pH (líneas continuas) y de los AGVs totales (líneas punteadas). En los tratamientos donde se ajustó el valor de pH a 7.2 (C₂₋₁ y C₂₋₃) éste parámetro disminuyó por la producción y acumulación de AGVs, para después mantenerse en valores entre 6.9 a 7.3, esto presumiblemente puede ser por el alto contenido de nitrógeno de los residuos del sacrificio de los animales, que durante su degradación anaerobia se produce amonio, que puede actuar como estabilizador del pH (Resch y col., 2011). En los tratamientos donde no hubo ajuste del valor de pH inicial (C₂₋₂ y control), éste incrementó y posteriormente se estabilizó entre 5.8 a 6.2.

En los tratamientos, excepto en el control, se detectó la presencia de ácidos acético, isobutírico, butírico, valérico además de ácido fórmico y ácido propiónico; mientras que en el digestor control solo se detectó la presencia de ácidos acético, isobutírico,

butírico y valérico. Los valores máximos cuantificados de ácidos para todos los tratamientos fueron similares y oscilaron para el acético de 120 a 130 mg/L, para el butírico entre 570 y 580 mg/L, el isobutírico de 220 a 230 mg/L y el valérico entre 240 y 250 mg/L. Al final de la experimentación (día 75) los valores para todos los tratamientos fueron similares; el ácido acético entre 250 y 270 mg/L, para el butírico de 780 a 800 mg/L, para el isobutírico entre 500 y 520 mg/L y el valérico de 380 a 400 mg/L. En todos los tratamientos los ácidos acético y propiónico no superaron los límites máximos recomendados para evitar el estrés en el proceso de DA, pero los ácidos isobutírico y valérico si estuvieron por arriba de sus límites recomendados, lo cual pudo repercutir en la producción de metano.

Generación de biogás y metano

En todos los tratamientos la producción de biogás inició el primer día y la formación de metano el día cuatro, la producción de metano incrementó en todos los tratamientos de manera significativa después del día veinte. A partir del día cuatro y durante todo el proceso, estadísticamente la mayor producción de biogás y metano se registró en el tratamiento donde fueron ajustados tanto el valor de pH a 7.2 como la relación C/N a 23/1 (C₂₋₃) (Tabla 7). La cantidad de metano producida por dicho tratamiento fue 8 veces superior a la obtenida en el control. La producción de biogás y metano en los tratamientos donde únicamente se ajustó el valor de pH a 7.2 o la relación C/N a 23/1 fue estadísticamente igual a la producida en el control.

Los factores relación C/N y pH de manera independiente no tuvieron efecto sobre la producción de metano, es necesario ajustar ambos parámetros a lo sugerido en la literatura (Gerardi, 2003) y generalmente las bacterias consumen fuentes de carbono de 25 a 30 veces más rápido que fuentes de nitrógeno, por ello la relación C/N óptima para el proceso de DA deberá estar entre 20/1 y 30/1.

Considerando los resultados de ésta etapa, los siguientes experimentos fueron llevados a cabo ajustando el pH a 7.2 y la relación C/N a 23/1. Si bien al ajustar ambos factores, el pH y la relación C/N, se produjo mayor cantidad total de biogás, el contenido de metano no cambió, éste siguió siendo menor al 28% lo cual es considerado como un biogás no combustible. En las siguientes etapas se evaluó el efecto del ajuste de la temperatura, fuente de carbono y adición de micronutrientes sobre la producción de metano.

3.3 Tercera etapa experimental

En la tercera etapa se consideró evaluar el efecto de la temperatura (25°C y 37°C) y la fuente de carbono (aserrín y paja de avena). A continuación se muestra la caracterización fisicoquímica de las mezclas al inicio del proceso de digestión (Tabla 8) y los análisis durante la DA.

3.3.1 Evaluación del efecto de la temperatura y la fuente de carbono en el proceso de la DA

Variación del pH y de AGVs

A diferencia de las etapas anteriores, en los tratamientos de la etapa tres, se observó primero un descenso y después un incremento en el pH hasta valores arriba de 6.6, lo que benefició la formación de metano. Los máximos valores de pH registrado fueron de 7.65 (donde se usó aserrín y a 37°C) y 7.2 (donde se usó paja de avena y a 37°C). En los tratamientos donde la temperatura fue 25°C el pH final fue de 7.1 donde se usó aserrín (C₂₋₃) y 6.6 empleando paja de avena (C₃₋₁₁) (figura 4).

Los ácidos grasos volátiles detectados en los tratamientos donde la temperatura fue de 37°C fueron acético, butírico, isobutírico y valérico, no hubo presencia de ácido fórmico o propiónico.

Tabla 7. Producción de biogás y metano y valores de pH cuantificados durante la DA

Tratamiento	pH inicial	pH final	Producción total de Biogás L/Kg de sólido volátil	Producción total de Metano L/Kg de sólido volátil	% de Metano al día 75
C ₂₋₁	7.34 ± 0.07	7.09 ^a ± 0.06	172.31 ^b ± 2.5	33.41 ^b ± 1.20	19.38 ^b ± 0.62
C ₂₋₂	5.87 ± 0.01	5.96 ^b ± 0.01	401.79 ^b ± 3.0	78.72 ^b ± 1.25	19.59 ^b ± 0.47
C ₂₋₃	7.16 ± 0.02	7.07 ^a ± 0.04	1010 ^a ± 3.2	278 ^a ± 1.5	27.52 ^a ± 0.04
Control C ₂	5.82 ± 0.12	5.92 ^b ± 0.17	175.63 ^b ± 2.2	35.92 ^b ± 1.21	20.45 ^b ± 1.00

Valores promedio (N = 3 ± desviación estándar)

^{a,b} Letras iguales en superíndices en columnas indican que no hay diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 8. Caracterización fisicoquímica inicial de las mezclas usadas en la etapa 3

Tratamientos	pH inicial	Sólidos Totales iniciales (%)	Carbono Orgánico inicial (%)	Relación C/N inicial
C ₂₋₃	7.16 ± 0.02	8.75 ± 0.05	40.05 ± 0.20	23.50 ± 0.24
C ₃₋₁	6.84 ± 0.12	9.7 ± 0.35	42.71 ± 0.93	23.45 ± 0.24
C ₃₋₁₁	7.03 ± 0.01	8.5 ± 0.35	41.67 ± 0.85	23.15 ± 0.14
C ₃₋₁₂	7.00 ± 0.02	8.5 ± 0.08	38.58 ± 0.18	23.25 ± 0.23

Valores promedio ($N = 3 \pm$ desviación estándar)

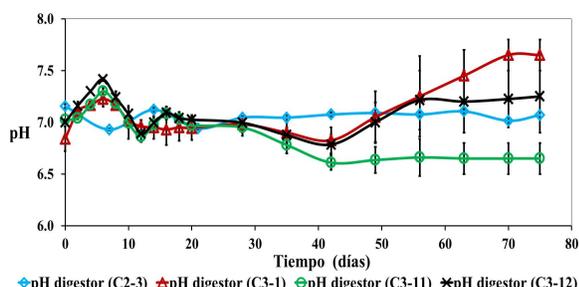


Fig. 4. Variación en el pH durante el proceso de la digestión anaeróbica en la etapa 3.

Mientras que en los tratamientos a 25°C, los ácidos cuantificados fueron ácido fórmico, acético, propiónico, butírico, isobutírico y valérico. La cuantificación de los ácidos en los tratamientos no sobre pasaron los límites recomendados, lo cual sugiere que el proceso se llevó a cabo sin estrés, y repercutió en una mayor cantidad de metano al final del proceso de la DA, comparado con el obtenido en las etapas 1 y 2.

Generación de biogás y metano

La producción de biogás inició desde el primer día en todos los tratamientos, en aquellos donde se usó aserrín (C₂₋₃ y C₃₋₁) la presencia de metano se observó a partir del cuarto día; mientras que en los tratamientos con paja de avena (C₃₋₁₁ y C₃₋₁₂) se registró metano desde el día dos. La mayor producción total de metano se registró en los tratamientos que se llevaron a cabo a temperatura de operación de 37°C (C₃₋₁, C₃₋₁₂), en ambos casos el contenido de metano fue mayor al 59%, es decir, se obtuvo biogás combustible a partir de los residuos cunícolas (R₂). Se puede observar en la Tabla 9 que no hubo diferencia significativa en la cantidad total de metano obtenida utilizando aserrín o paja de avena, a pesar de que Chandra y col. (2012) indican que el aserrín está formado por un mayor porcentaje de

celulosa, mientras que la paja de avena está constituida principalmente de hemicelulosa, material que es fácilmente hidrolizable a AGVs durante el proceso de DA (Kuhad y col., 1997); esto se puede explicar porque al ser la paja un sustrato más fácilmente hidrolizable se produjo mayor cantidad de AGVs y disminuyó el pH más que en los digestores donde se utilizó aserrín.

Estadísticamente la temperatura influyó significativamente sobre la producción de metano, el factor fuente de carbono no tuvo efecto sobre esta. Esto coincide con lo reportado por Wu y col. (2010) quienes indican que independientemente de la fuente de carbono (rastreo de maíz, paja de avena o paja de trigo) la producción de metano fue la misma en la DA de estiércol de cerdo a una temperatura de proceso de 37°C. Babae y col. (2013) reportaron que en la co-digestión de gallinaza y paja a 35°C, con una relación C/N de 23/1, incrementó la producción de metano hasta en un 43% respecto a la realizada a 25°C, además el contenido de metano en el biogás estuvo entre 50 y 70.2%, lo cual coincide con los datos aquí obtenidos.

3.4 Cuarta etapa experimental

En esta última etapa experimental se evaluó el efecto de la adición de micronutrientes (Co, Ni, Fe, Se y W), a continuación se muestra la caracterización fisicoquímica de las mezclas al inicio del proceso (Tabla 10) y cómo ocurrió la digestión anaeróbica.

3.4.1 Proceso de la DA evaluando el efecto de la adición de micronutrientes

En esta etapa se evaluó el efecto de la adición de micronutrientes a la digestión anaeróbica llevada a cabo a 37°C y con aserrín como fuente de carbono, que fue el tratamiento con mejor desempeño de la etapa anterior. En la Tabla 10 se muestra el análisis de las mezclas previo a la digestión

Tabla 9. Producción de metano y biogás y valores de pH en la digestión anaeróbica de la etapa 3

Tratamiento	pH inicial	pH final	Producción total de Biogás L/Kg de sólido volátil	Producción total de Metano L/Kg de sólido volátil	% de Metano al día 75
C ₂₋₃	7.16 ± 0.02	7.07 ^b ± 0.17	1010 ^b ± 3.2	278 ^b ± 1.5	27.52 ^b ± 0.04
C ₃₋₁	6.84 ± 0.12	7.65 ^a ± 0.04	2229 ^a ± 3.5	1321.59 ^a ± 2.5	59.29 ^a ± 6.47
C ₃₋₁₁	7.03 ± 0.01	6.65 ^c ± 0.06	261 ^c ± 1.5	62.01 ^c ± 0.50	23.75 ^b ± 6.47
C ₃₋₁₂	7.00 ± 0.02	7.25 ^b ± 0.01	1286 ^b ± 2.5	826.01 ^a ± 1.10	64.23 ^a ± 2.97

Valores promedio (N = 3± desviación estándar)

^{a,b}Letras iguales en superíndices en columnas indican que no hay diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 10. Caracterización de las mezclas al inicio de la DA en la etapa 4

Tratamientos *	pH inicial	Sólidos Totales iniciales (%)	Carbono Orgánico inicial (%)	Relación C/N inicial
C ₃₋₁	6.84 ± 0.12	9.7 + 0.35	42.71 ± 0.93	23.45 ± 0.24
C ₃₋₂	6.95± 0.02	9.2 + 0.08	43.66 ± 0.15	23.45 ± 0.29

Valores promedio (N = 3± desviación estándar)

Tabla 11. Producción de biogás y metano y valores de pH en las digestiones de la etapa 4

Tratamiento	pH inicial	pH final	Producción total de Biogás L/Kg de sólido volátil	Producción total de Metano L/Kg de sólido volátil	% de Metano al día 75
C ₃₋₁	6.84 ± 0.12	7.65 ± 0.04	2229 ^a ± 3.5	1321.59 ^a ± 2.5	59.29 ^a ± 6.47
C ₃₋₂	6.95± 0.02	7.88 ± 0.03	2285 ^a ± 2.8	1410 ^a ± 2.3	61.70 ^a ± 9.14

Valores promedio (N = 3± desviación estándar)

^a Letras iguales en superíndices en columnas indican que no hay diferencia estadísticamente significativa.

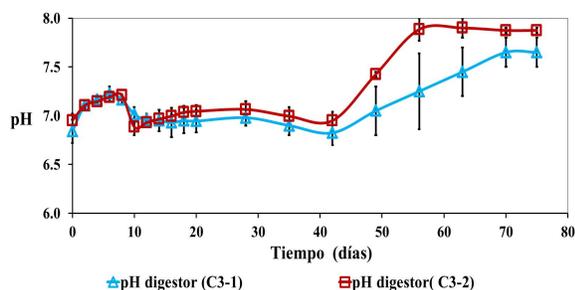


Fig. 5. Variación el pH durante el proceso de la digestión anaeróbica en la etapa 4.

Variación del pH y de AGVs

El pH en ambos tratamientos se mantuvo cercano a la neutralidad hasta el día 40, posteriormente en el tratamiento sin adición de micronutrientes (C₃₋₁) el pH incrementó hasta un valor de 7.7, mientras que en el tratamiento en el cual fueron adicionados (C₃₋₂) alcanzó un valor de 7.9 (Figura 5).

En todos los tratamientos sólo fue detectada la presencia de los ácidos: butírico y valérico. Ninguno de los ácidos sobrepasó los límites máximos recomendados para que el proceso se lleve a cabo sin inhibiciones, esto beneficio para que se obtuviera

biogás con una cantidad mayor al 50% de metano. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Demirel y Scherer (2011), quienes señalan que la adición de micronutrientes en el proceso de DA incrementa la producción de metano hasta en un 40% disminuyendo la concentración de AGVs.

Generación de biogás y metano

La producción de biogás inició desde el primer día y la formación de metano el sexto día; según el análisis estadístico la producción total de biogás y de metano fue la misma en ambos tratamientos. El análisis estadístico indica que el factor micronutrientes no tuvo efecto sobre la producción total de metano comparado con el tratamiento donde no fueron adicionados (Tabla 11). Sin embargo, se observó que en el tratamiento donde se adicionaron los micronutrientes (C₃₋₂) el contenido mínimo de metano para poder ser considerado como combustible (45%) se alcanzó el día 49 y su máximo fue del 71% de metano (día 70); mientras que donde no se adicionaron los micronutrientes (C₃₋₁) el biogás fue combustible hasta el día 63 con un máximo del 60% de metano (día 70).

Existen reportes reportes en los cuales han analizado el efecto de la adición de micronutrientes

durante el proceso de la DA, como el caso de Hassan y Tandon (1987), quienes reportaron que en la DA de estiércol de vaca la adición de Ni estimuló la producción de biogás y metano. Wilkie y col. (1986) señalaron que la digestión mesofílica de pasto elefante suplementado diariamente con micronutrientes (Ni, Co, Mo, Se y S) incrementó la producción de metano en aproximadamente 40% y disminuyó significativamente la concentración de AGVs respecto al control (sin adición de micronutrientes). Patel y col. (1993) reportan que en la co-digestión de lirio acuático y estiércol de vaca se produjo hasta un 60% más de biogás con alto contenido de metano al adicionar fierro. Facchin y col. (2013) reportaron que la co-digestión de residuos alimenticios y lodo activado suplementada con una combinación de elementos traza (Ni, Co, Mo, Se y S), incrementó la producción de metano en el biogás de 45 a 67%.

3.5 Estrategias para el aprovechamiento de los residuos cunícolas

La digestión anaeróbica de la materia orgánica da como resultado la producción de biogás, sin embargo para que sea aprovechable como fuente de energía alternativa debe contener al menos el 45% de metano. Para lograr estos contenidos se deben ajustar ciertos parámetros del proceso de la digestión anaeróbica, como son: el pH, relación C/N, temperatura y fuente de carbono a valores tales que favorezcan el desarrollo de las bacterias metanogénicas, acorde con lo reportado en la bibliografía.

Los productores de conejo acumulan sus residuos a cielo abierto y deben pagar por su disposición final en los rellenos sanitarios. Una alternativa para aprovechar los residuos de la granja cunícola, en específico las vísceras, es someterlas al proceso de la digestión anaeróbica para producir biogás, mismo que pueden emplear para calefacción o para generación de energía eléctrica, con lo cual reducirían los costos de operación. La digestión se debe llevar a cabo alimentando los digestores con 9% de la mezcla de vísceras molidas y 10% de estiércol de cabra, a una temperatura de operación de 37°C, ajustando a un pH inicial a 7.2 y la relación C/N a 23/1 mediante el uso ya sea de aserrín o de paja de avena.

Se ha reportado que el subproducto líquido que queda de la digestión anaeróbica, puede ser empleado como fertilizante y fortalecedor del crecimiento de la planta, raíces y frutos, gracias a su contenido de materia orgánica, macro y micronutrientes (Lorenzo y Obaya, 2005; Albuquerque y col., 2012) y a la

presencia de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal (Feng y col., 2011), las cuales son producto del metabolismo de las bacterias típicas de este tipo de fermentación anaeróbica. Por otro lado, dependiendo de la cantidad y disponibilidad de ciertos nutrientes, como carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, entre otros, este subproducto ha sido utilizado además, como medio de cultivo para el crecimiento de microorganismos de interés como son: *Pseudomonas* (Srivastava y col., 2009), la microalga *Chlorella* sp. (Wang y col., 2010) o *Cupriavidus necator* (Passanha y col., 2013). Con lo cual se puede dar un uso también al efluente de la digestión de los residuos de la granja cunícola.

Conclusiones

Los microorganismos nativos del estiércol y de las vísceras de conejo en condiciones anaeróbicas tienen el potencial de transformar la materia orgánica de dichos residuos en biogás, sin embargo el contenido de metano del biogás generado no es suficiente para utilizarlo como combustible. La cantidad de metano puede incrementarse a valores cercanos al 70% si se modifican ciertas condiciones bajo las cuales se lleva a cabo el proceso de la digestión anaeróbica: vísceras de conejo con 10% de estiércol de cabra, ajustando el pH a 7.2 y la relación C/N con aserrín o paja de avena a 23/1 y a 37°C, como las condiciones del presente trabajo donde se alcanzó 71% de metano, lo que permite la combustión del biogás.

El factor que influyó más en el incremento de la producción de metano fue la temperatura de operación. La adición de micronutrientes incidió sólo en reducir el tiempo en el cual se obtuvo 45% de metano en el biogás; el cambio de la fuente de carbono (aserrín o paja de avena) no influyó en la producción total de metano.

Dependiendo del tipo de residuo, la adición de estiércol puede influir sobre la producción de metano: Con el residuo conformado por aserrín, estiércol y orina de conejo se obtuvo más metano usando estiércol de cerdo, que al adicionar estiércol de vaca o de cabra. Con las vísceras de conejo hubo mayor producción de metano al mezclarlo con estiércol de cabra, comparado con el uso de otros tipos de estiércol.

3.6 Agradecimientos

El presente proyecto se llevó a cabo gracias al financiamiento otorgado por el Consejo Nacional de

Ciencia y Tecnología (CONACyT), a la propuesta número 138741 de la convocatoria de Proyectos de Investigación, Desarrollo o de Innovación Tecnológica 2010. El primer autor agradece al CONACyT por la beca 175787 y al Instituto Politécnico Nacional por las becas PIFI de los proyectos SIP20110337, 20113440, 20120992 y 20130635.

Referencias

- Abbassi, G.A., Brockmann, D., Trably, E., Dumas, C., Delgenès, J.P., Steyer, J.P. y Escudíe, R. (2012). Total solids content drives high solid anaerobic digestion via mass transfer limitation. *Bioresource Technology* 111, 55-61.
- Adelard, L., Poulsen, T.G. y Rakotoniaina V. (2015). Biogas and methane yield in response to co- and separate digestion of biomass wastes. *Waste Management and Research* 33, 55-62.
- Albuquerque, J., De la Fuente, C., Ferrer-Costa, A., Carrasco, L., Cegarra, L., Abad, M., Bernal, M. (2012). Assessment of the fertilizer potential of digestates from farm and agroindustrial residues. *Biomass and Bioenergy* 40, 181-189.
- Balagurusamy, N. (2007). A preliminary study on molecular characterization of the Eubacteria in a thermophilic, poultry waste fed anaerobic digester. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 6, 237-242.
- Babae, A., Shayegan, J. y Roshani, A. (2013). Anaerobic slurry co-digestion of poultry manure and straw: effect of organic loading and temperature. *Journal of Environmental Health Sciences & Engineering* 2013, 11-15
- Bayr, S., Rantanen, M., Kaparaju, P. y Rintala, J. (2012). Mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of rendering plant and slaughterhouse wastes. *Bioresource Technology* 104, 28-36.
- Bekkering, J., Broekhuis, A.A. y Gemert, V. (2010). Optimisation of a green gas supply chain - A review. *Bioresource Technology* 101, 450-456.
- Budiyono, B., Widiasta, I.N., Johari, S. y Sunarso, S. (2010). Increasing Biogas Production Rate from Cattle Manure Using Rumen Fluid as Inoculums. *International Journal of Basic and Applied Sciences* 10, 68-75.
- Carrera, E.J.L., Guzmán, V. C.H., Ortiz, R. A., Desiga, O. O. y García, R.M.A. (2013). Thermodynamic one-zone model with relations for combustion process for biogas fueled internal combustion engines. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 12, 649-660.
- Chandra, R., Takeuchi, H. y Hasegawa, T. (2012). Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16, 1462-1476.
- Chen, Y., Cheng, J.J. y Creamer, K.S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process. A review. *Bioresource Technology* 99, 4044-4064.
- Cuetos, M.J., Gomez, X., Otero, M. y Moran A. (2010). Anaerobic digestion and co-digestion of slaughterhouse waste (SHW): influence of heat and pressure pre-treatment in biogas yield. *Waste Manage* 30, 1780-1789.
- Demirel, B. y Yenigun, O. (2002). The effects of change in volatile fatty acid (VFA) composition on methanogenic up flow filter reactor (UFAF) performance. *Environmental Technology* 23, 1179-87.
- Demirel, B. y Scherer, P. (2011). Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane: Review. *Biomass and Bioenergy* 35, 992-998.
- Facchin, V., Cavinato, C., Fatone, F., Pavan P., Cecchi, F. y Bolzonella D. (2013). Effect of trace element supplementation on the mesophilic anaerobic digestion of food waste in batch trials: The influence of inoculum origin. *Biochemical Engineering Journal* 70, 71-77.
- Feng, H., Qu, G., Ning, P., Xiong, X., Jia, L., Shi, Y., Zhang, J. (2011). The Resource Utilization of Anaerobic Fermentation Residue. *Procedia Environmental Science* 11, 1092-1099.
- Ferreira-Rolón, A., Ramírez-Romero, G., Ramírez-Vives, F. (2014). Aumento de la actividad metanogénica en lodos granulares, precipitando calcio en el nejayote mediante el burbujeo de CO₂. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 13, 517-525.

- Flores, R., Muñoz-Ledo, R., Flores, B.B., Cano, K.I. (2008). Estimación de la generación de energía a partir de biomasa para proyectos del programa de mecanismo de desarrollo limpio. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 7, 35-39.
- Gan, J., Montañó, M., Fajardo, C., Meraz, M., Castilla P. (2013). Anaerobic co-treatment of leachates produced in a biodegradable urban solid waste composting plant in México city. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 12, 541-551.
- Gerardi, M.H. (2003). *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. Wastewater Microbiology series. Wiley Interscience. United States of América.
- Gomez, T. F., Celis, L.B., Razo, F. E. y Alatríste, M.F. (2012). Chemical and enzymatic sequential pretreatment of oat straw for methane production. *Bioresource Technology* 116, 372-378.
- Guangqing, L., Zhang, R., El-Mashad, H.M. y Dong, R. (2009). Effect of feed to inoculum ratios on biogas yields of food and green wastes. *Bioresource Technology* 100, 5103-5108.
- Hassan, D. y Tandon, S.M. (1987). Response of a cattle dung methane fermentation to nickel. *Biological Wastes* 22, 261-268.
- Hill, D.T. y Holmberg R.D. (1988) Long Chain Volatile Fatty Acid Relationships in Anaerobic Digestion of Swine Waste. *Biological Wastes* 23, 195-215.
- Kim, J. y Kang, Ch, M. (2015). Increased anaerobic production of methane by co-digestion of sludge with microalgal biomass and food waste leachate. *Bioresource Technology* 189, 409-412.
- Kuhad, R.C, Singh A. y Eriksson K.E. (1997). Microorganisms and enzymes involved in degradation of plant fiber cell walls. *Journal of Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology* 57, 45-125.
- Lorenzo, A.Y. y Obaya, A.M.C. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal* 39, 35-48.
- Luste, S. y Luostarinen, S. (2010). Anaerobic co-digestion of meat-processing by-products and sewage sludge-Effect of hygienization and organic loading rate. *Bioresource Technology* 101, 2657-2664.
- Marañón, E., Castrillón, L., Quiroga, G., Fernández-Nava, Y., Gómez, L. y García, M.M. (2012). Co-digestion of cattle manure with food waste and sludge to increase biogas production. *Waste Management* 32, 1821-1825.
- Méndez-Contreras, J.M., Rendón-Sagardi, J.A., Ruiz-Espinoza, J.E., Alvarado-Lassman, A., Martínez-Delgadillo, S.A. (2009). Behavior of the mesophilic and thermophilic anaerobic digestion in the stabilization of municipal wastewater sludge (part 1). *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 8, 283-290.
- Mshandete, A., Kivaisi, A., Rubindamayugi, M. y Mattiasson, B. (2004). Anaerobic batch co-digestion of sisal pulp and fish wastes. *Bioresource Technology* 95, 19-24.
- Navarro, A.F., Cegarra, J., Roig, A. y García, D. (1993). Relationships between organic matter and carbon contents of organic wastes. *Bioresource Technology* 44, 203-207.
- Passanha, P., Esteves, S., Kedia, G., Dinsdale, R., Guwy, A. 2013. Increasing polyhydroxyalkanoate (PHA) yields from *Cupriavidus necator* by using filtered digestate liquors. *Bioresource Technology* 147, 345-352.
- Patel, V.B., Patel, A.R., Patel M.C., y Madamwar D.B. (1993) Effect of metals on anaerobic digestion of water hyacinth-cattle dung. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 43, 45-50.
- Rasi, S., Veijanen, A. y Rintala, J. (2007) Trace compounds of biogas from different biogas production plants. *Energy* 32, 1375-1380.
- Resch, C., Wörl, A., Waltenberger, R., Braun, R. y Kirchmayr, R. (2011). Enhancement options for the utilisation of nitrogen rich animal by-products in anaerobic digestion. *Bioresource Technology* 102, 2503-2510.
- Srivastava, R., Arango, M., Sharma, A.K. Cow dung extract: a medium for the growth of pseudomonads enhancing their efficiency as biofertilizer and biocontrol agent in rice. *Indian Journal of Microbiology* 50, 349-354.

- Terreros-Mecalco, J., Olmos-Dichara, A., Noyola-Robles, A., Ramírez-Vives, F., Monroy-Hermosillo, O. (2009). Digestión anaerobia de lodo primario y secundario en dos reactores UASB en serie. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 8, 153-161.
- Valladão, G.B.A., Freire, G.M.D. y Cammarota, C.M. (2007). Enzymatic pre-hydrolysis applied to the anaerobic treatment of effluents from poultry slaughterhouses. *International Biodeterioration and Biodegradation* 60, 219-225.
- Vigueras, C.S.E., Ramírez, V.F., Noyola, R.N. y Monroy, H.O. (2011). Efecto del pre tratamiento termo alcalino en la digestión anaerobia mesofílica y termofílica de lodos residuales secundarios. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 10, 247-255.
- Vigueras, C.S.E., Zafra, J.G., García, R.M., Martínez, T.M.A. y Pérez, V.J. (2013) Effect of various pretreatments on anaerobic biodegradability and quality microbiology of waste activated sludge. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 12, 293-301.
- Wang, L., Li, Y., Chen, P., Min, M., Chen, Y., Zhu, J., Ruan, R. 2010. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp. *Bioresource Technology* 101, 2623-2628.
- Wilkie, A., Goto, M., Bordeaux, F.M. y Smith, P.H. (1986). Enhancement of anaerobic methanogenesis from napiergrass by addition of micronutrients. *Biomass* 11, 135-146.
- Wu, X., Yao, W., Zhu, J. y Miller, C. (2010) Biogas and CH₄ productivity by co-digesting swine manure with three crop residues as an external carbon source. *Bioresource Technology* 101, 4042-4047.