



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE HIDROCIENCIAS

EMISIONES DE METANO GENERADAS POR EXCRETAS DE ANIMALES DE GRANJA Y CONTENIDO RUMINAL DE BOVINO

IRMA FABIOLA RAMÍREZ HERNÁNDEZ

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE :**

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO


2010

La presente tesis titulada: **Emisiones de metano generadas por excretas de animales de granja y contenido ruminal de bovino**, realizada por la alumna: **Irma Fabiola Ramírez Hernández**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
HIDROCIENCIAS

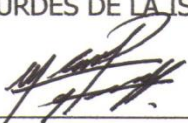
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DRA. MA. DE LOURDES DE LA ISLA SERRANO

DIRECTOR DE TESIS



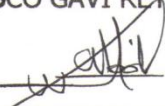
DR. MARIO ANTONIO COBOS PERALTA

ASESOR



DR. FRANCISCO GAVI REYES

ASESOR



DR. ABEL QUEVEDO NOLASCO

ASESOR



DR. EUGENIO GONZÁLEZ AVALOS

Montecillo, Texcoco, Estado de México, diciembre de 2010

DEDICATORIA

A Mario y a nuestro hijo Sebastián, motivos de mi crecimiento como profesional y ser humano. Este éxito es un tributo a ustedes.

A mis padres, Enrique e Irma, mis ejemplos de vida.

A mis hermanos, Iris Yadhira y Luis Enrique, lazos de sangre, amor y apoyo.

A Apolinar y Geatzul, mis hermanos gracias a mis hermanos.

A ti que has abierto esta tesis.

AGRADECIMIENTO

A mi Consejo Particular: **Dr Mario A. Cobos Peralta**, por transmitirme el conocimiento de mi investigación y plasmarlo en este resultado. Gracias por ser mi guía en este éxito. A la **Dra. María de Lourdes de la Isla de Bauer**, por sus oportunos y acertados consejos, gracias por su ejemplo. Al **Dr. Eugenio González Ávalos**, **Dr. Francisco Reyes Gavi** y **Dr. Abel Quevedo Nolasco**, por su apoyo e interés, y sus excelentes aportaciones en mi investigación y sus valiosos comentarios a mi tesis.

Al Colegio de Postgraduados, por haberme permitido ser parte de su comunidad estudiantil.

A la Línea Prioritaria de Investigación N°8, “Impacto y Mitigación del Cambio Climático” del Colegio de Postgraduados, por el apoyo económico para la realización de esta investigación.

Al Programa de Hidrociencias, por el apoyo hacia mi estancia en la Universidad de Purdue, In, USA y mi formación doctoral. Al Programa de Ganadería por su cobijo, soporte y colaboración para el desarrollo de mi investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico en el periodo de mi estudio e investigación doctoral y al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por el apoyo en la finalización de esta tesis.

Al Sr. Agustín Hernández, jefe de laboratorio de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana, del Programa de Ganadería, por su valiosa cooperación y apoyo en la realización del trabajo experimental. Al laboratorio de

Nutrición Animal, del Programa de Ganadería, por su apoyo en la caracterización de las muestras estudiadas.

A Irene Osorio, por su enorme y valioso apoyo en los trámites y trabajo de escritorio, a lo largo de mi estancia en el COLPOS.

A mis amigos y compañeros del laboratorio: José Luis, Jaime, Mata, Pedro, Rossy, Angi, Isabel, Edson y Felipe que en algún momento coincidimos en nuestra formación de posgrado.

A Ruth Sandoval, por tu amistad.

CONTENIDO

| | |
|--|----|
| RESUMEN..... | 1 |
| ABSTRACT..... | 2 |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 5 |
| 2.1.Cambio climático..... | 5 |
| 2.2.1. Gases de efecto invernadero | 6 |
| 2.1.2. Protocolo de Kioto..... | 8 |
| 2.2.El metano como gas efecto invernadero..... | 11 |
| 2.2.1. El metano proveniente de la fermentación ruminal y de tracto digestivo..... | 12 |
| 2.2.2. Metodologías para determinar producción y emisión de metano..... | 16 |
| 2.2.3. Metodologías para el cálculo de metano provenientes de fermentación entérica y por excretas del INGEI, 2005..... | 18 |
| 2.2.3.1. Fermentación entérica..... | 20 |
| 2.2.3.2. Manejo de excretas..... | 36 |
| 2.3. Inventario nacional de gases de efecto invernadero | 44 |
| 2.3.1. Emisiones de la agricultura del INGEI, 2005..... | 45 |
| 3. TÉCNICAS <i>in vitro</i> PARA LA PRODUCCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BIOGÁS..... | 49 |
| 4. EXPERIMENTO I. COMPARACIÓN DE BIOGÁS TOTAL Y METANO POR FERMENTACIÓN EN EXCRETAS DE GANADO VACUNO DE ENGORDA Y LECHERO, PORCINO, BORREGOS, CABRAS Y AVES DE CORRAL DE POSTURA..... | 52 |
| 4.1. Introducción..... | 52 |

| | |
|---|-----------|
| 4.2. Objetivo general..... | 53 |
| 4.3. Objetivos particulares..... | 53 |
| 4.4. Hipótesis..... | 53 |
| 4.5. Materiales y métodos..... | 53 |
| 4.5.1. Captura de CH ₄ y CO ₂ | 53 |
| 4.5.2. Medición inicial y final de pH y conteo de bacterias..... | 55 |
| 4.5.3. Medición de la materia seca total de las excretas frescas..... | 56 |
| 4.5.4. Determinación de cenizas..... | 56 |
| 4.5.5. Determinación de nitrógeno y proteína..... | 57 |
| 4.5.6. Determinación de fibra detergente ácido..... | 58 |
| 4.5.7. Determinación de fibra detergente neutro..... | 58 |
| 4.5.8. Determinación analítica de carbón orgánico..... | 59 |
| 4.5.9. Medición de ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases..... | 59 |
| 4.6. Resultados y discusión..... | 60 |
| 4.6.1. Producción de biogás total y metano por desplazamiento de la fase líquida de las trampas..... | 60 |
| 4.6.2. CH ₄ y CO ₂ por desplazamiento de fases líquidas de trampas..... | 68 |
| 4.6.3. Ácidos grasos volátiles..... | 71 |
| 4.6.4. Medición de pH..... | 72 |
| 4.6.5. Fibra detergente ácido, fibra detergente neutro, carbón orgánico, nitrógeno, proteína, cenizas y humedad..... | 73 |
| 4.7. Conclusiones..... | 76 |
| | |
| 5. EXPERIMENTO II. COMPARACIÓN DE BIOGÁS TOTAL METANO Y BIÓXIDO DE CARBONO POR FERMENTACIÓN EN EXCRETAS DE GANADO VACUNO LECHERO CERDAZA Y FERMENTACIÓN RUMINAL..... | 79 |
| 5.1. Introducción..... | 79 |
| 5.2. Objetivo general..... | 80 |
| 5.3. Objetivos particulares..... | 80 |
| 5.4. Hipótesis..... | 80 |

| | |
|---|-----|
| 5.5. Metodología y materiales..... | 81 |
| 5.5.1. Captura de CH ₄ y CO ₂ | 81 |
| 5.5.2. Medición inicial y final de pH y conteo de bacterias..... | 81 |
| 5.5.3. Medición de la materia seca total de las excretas frescas..... | 81 |
| 5.5.4. Determinación de cenizas..... | 81 |
| 5.5.5. Determinación de nitrógeno y proteína..... | 81 |
| 5.5.6. Determinación de fibra detergente ácido..... | 82 |
| 5.5.7. Determinación de fibra detergente neutro..... | 82 |
| 5.5.8. Determinación analítica de carbón orgánico..... | 82 |
| 5.5.9. Medición de ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases..... | 82 |
| 5.6. Resultados y discusión..... | 82 |
| 5.6.1. Cuantificación de biogás total y metano por desplazamiento de la fase líquida de las trampas..... | 82 |
| 5.6.2. Cálculo de la concentración en moles y gramos de CH ₄ y CO ₂ | 85 |
| 5.6.3. Producción parcial de BT, CO ₂ y CH ₄ | 87 |
| 5.6.4. Caracterización de las muestras..... | 90 |
| 5.6.5. Variación de pH..... | 93 |
| 5.7. Conclusiones..... | 95 |
| | |
| 6. EXPERIMENTO III. COMPARACIÓN DE BIOGÁS TOTAL, METANO Y BIÓXIDO DE CARBONO POR FERMENTACIÓN DE EXCRETAS DE GANADO VACUNO LECHERO, CERDAZA Y FERMENTACIÓN RUMINAL A 20, 30, 40 y 50°C..... | 97 |
| 6.1. Introducción..... | 97 |
| 6.2. Objetivo general..... | 98 |
| 6.3. Objetivos particulares..... | 98 |
| 6.4. Hipótesis..... | 98 |
| 6.5. Metodología y materiales..... | 98 |
| 6.5.1. Captura de CH ₄ y CO ₂ | 98 |
| 6.5.2. Medición inicial y final de pH y conteo de bacterias..... | 100 |
| 6.5.3. Medición de la materia seca total de las excretas frescas..... | 100 |

| | |
|--|-----|
| 6.5.4. Determinación de cenizas..... | 100 |
| 6.5.6. Determinación de nitrógeno y proteína..... | 100 |
| 6.5.6. Determinación de fibra detergente ácido..... | 100 |
| 6.5.7. Determinación de fibra detergente neutro..... | 100 |
| 6.5.8. Determinación analítica de carbón orgánico..... | 100 |
| 6.5.9. Medición de ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases..... | 100 |
| 6.5.10. Medición de biogás (CH ₄ y CO ₂) por cromatografía de gases..... | 100 |
| 6.6. Resultados y discusión..... | 100 |
| 6.6.1. Cuantificación de biogás total y metano por desplazamiento de la fase líquida de las trampas..... | 100 |
| 6.6.2. Cuantificación de biogás total y bióxido de carbono por cromatografía de gases..... | 105 |
| 6.6.3. Cuntificación de masa de CH ₄ y CO ₂ | 109 |
| 6.6.4 Caracterización de las muestras..... | 112 |
| 6.6.5. Variación de pH..... | 120 |
| 6.7. Conclusiones..... | 121 |
| | |
| 7. EXPERIMENTO IV. COMPARACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS TOTAL, METANO Y BIÓXIDO DE CARBONO POR FERMENTACIÓN EN EXCRETAS DE GANADO VACUNO LECHERO, CERDAZA Y FERMENTACIÓN RUMINAL CON DIFERENTE CONTENIDO DE HUMEDAD..... | 123 |
| 7.1. Introducción..... | 123 |
| 7.2. Objetivo general..... | 123 |
| 7.3. Objetivos particulares..... | 124 |
| 7.4. Hipótesis..... | 124 |
| 7.5. Metodología y materiales..... | 124 |
| 7.5.1. Captura de metano CH ₄ y CO ₂ | 124 |
| 7.5.2 Medición inicial y final de pH y conteo de bacterias..... | 125 |
| 7.5.3. Medición de la materia seca total del líquido ruminal y las excretas fresca..... | 125 |

| | |
|--|-----|
| 7.5.4. Medición de biogás (CH ₄ y CO ₂) por cromatografía de gases..... | 125 |
| 7.6. Resultados y discusión..... | 125 |
| 7.6.1. Producción de biogás total, bióxido de carbono y metano..... | 125 |
| 7.6.2. Medición de pH..... | 137 |
| 7.7. Conclusiones..... | 138 |
| | |
| 8. INCERTIDUMBRE DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS..... | 139 |
| 8.1. Generalidades..... | 139 |
| 8.2. Metodología..... | 140 |
| 8.2.1. Especificación..... | 140 |
| 8.2.2. Identificación de fuentes de incertidumbre..... | 140 |
| 8.2.3. Relación funcional de las fuentes de incertidumbre..... | 141 |
| 8.2.4. Cuantificación..... | 143 |
| 8.3. Resultados de la incertidumbre..... | 144 |
| 8.3.1. Experimento I..... | 144 |
| 8.3.2. Experimento II..... | 148 |
| 8.3.3. Experimento III..... | 150 |
| 8.3.4. Experimento IV..... | 154 |
| 8.4. Conclusiones..... | 157 |
| | |
| 9. CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES..... | 159 |
| | |
| 10. LITERATURA CITADA..... | 161 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Página |
|--------|---|--------|
| 2.1 | Evaluaciones del grado de confianza en los cambios observados y proyectados en fenómenos climáticos y de tiempo extremos..... | 7 |
| 2.2 | Los gases efecto invernadero (IPCC) y algunas de sus características | 8 |
| 2.3 | Principales fuentes naturales y antropogénicas de CH ₄ a nivel global (GTon/año)..... | 12 |
| 2.4 | Hoja de cálculo Excel para la estimación de emisiones de CH ₄ para fermentación entérica y manejo de excretas del INGEI, 2005..... | 20 |
| 2.5 | Coeficientes para el cálculo de ENm..... | 24 |
| 2.6 | Coeficientes de actividad correspondientes a las condiciones de alimentación del animal (ganado vacuno)..... | 25 |
| 2.7 | Factores de emisión de metano procedentes de la fermentación entérica del ganado vacuno..... | 33 |
| 2.8 | Tasas de conversión del CH ₄ para el ganado vacuno y los búfalos... | 36 |
| 2.9 | Factores de emisión para el manejo de estiércol del ganado vacuno... | 38 |
| 2.10 | Valores de ED y Bo propuestos por el IPCC para América Latina... | 40 |
| 2.11 | Valores de FCM para los sistemas de manejo del estiércol..... | 42 |
| 2.12 | Comparación entre los factores de emisión propuestos por el IPCC y González <i>et al.</i> (1999)..... | 44 |
| 2.13 | Factores de emisión de CH ₄ por ganado vacuno utilizados por el INGEI..... | 45 |
| 2.14 | Emisiones por contaminante de acuerdo al Inventario de Emisiones de GEI 2002 en México..... | 46 |
| 2.15 | Emisiones de CH ₄ y N ₂ O de la categoría agricultura, Gg de CO ₂ equivalente..... | 47 |
| 2.16 | Emisiones de metano de la sección ganadera, expresadas en Gg, para el periodo 1990 – 2002 en México..... | 48 |
| 4.1 | Vapor de agua generado por seis muestras de excretas fermentadas | 61 |
| 4.2 | BT y CH ₄ acumulado por 72 h de fermentación de 100 g de gallinaza, | |

| | | |
|------|---|----|
| | excretas de cabras, cerdaza, borregos y estiércol de ganado lechero y en engorda..... | 62 |
| 4.3 | Producción de BT y CH ₄ parcial y registro de la temperatura ambiente e interna de las excretas, en la fermentación de seis muestras de excretas..... | 64 |
| 4.4 | Proporción, volumen y presión parcial del CH ₄ y CO ₂ por desplazamiento de la fase líquida de las trampas..... | 70 |
| 4.5 | Concentración en moles y gramos del CH ₄ y CO ₂ por la fermentación de seis muestras de excretas considerando la proporción CH ₄ :CO ₂ por desplazamiento..... | 71 |
| 4.6 | Promedio y desviación estándar de la concentración de AGVs de seis diferentes muestras de excretas frescas y al término de 72 h de fermentación..... | 72 |
| 4.7 | pH de las muestras frescas y al término de las 72 h de fermentación | 73 |
| 4.8 | Caracterización de seis muestras de excretas frescas..... | 74 |
| 4.9 | Coefficientes de correlación de la caracterización de las muestras con relación a la producción de BT y CH ₄ | 75 |
| 4.10 | Concentración de la población bacteriana total de las muestras frescas y al término de la fermentación, de excretas de seis animales..... | 76 |
| 5.1 | Proporción de CH ₄ y CO ₂ considerando las trampas de NaOH y solución salina y volumen de los analitos del biogás producido..... | 84 |
| 5.2 | Comparación de la concentración en moles y gramos de CH ₄ y CO ₂ calculados por el desplazamiento de la fase líquida..... | 87 |
| 5.3 | BT, CH ₄ y CO ₂ producido, en mL, por la fermentación de 100 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a 39°C..... | 88 |
| 5.4 | Caracterización de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza..... | 90 |
| 5.5 | Coefficientes de correlación Pearson de la producción de BT, CH ₄ y CO ₂ a 39°C con relación a los parámetros de caracterización de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza..... | 92 |
| 5.6 | Variación de pH de las muestras frescas y al término de las 72 h de | |

| | | |
|------|--|-----|
| | fermentación..... | 94 |
| 5.7 | Concentración de bacterias totales de líquido ruminal, estiércol y cerdaza al inicio y final de la fermentación..... | 94 |
| 5.8 | Variación en la producción de ácidos grasos volátiles en las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza y al final de la fermentación..... | 95 |
| 6.1 | Vapor de agua generado de los testigos a diferentes temperaturas | 101 |
| 6.2 | Vapor de agua generado por cada muestra a diferentes temperaturas | 101 |
| 6.3 | Biogás total acumulado por la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza..... | 102 |
| 6.4 | Proporción y volumen de los analitos del biogás producido por la fermentación de 30 g de líquido ruminal a diferentes temperaturas... | 105 |
| 6.5 | Proporción y volumen de los analitos del biogás producido por la fermentación de 30 g de estiércol a diferentes temperaturas..... | 106 |
| 6.6 | Proporción y volumen de los analitos del biogás producido por la fermentación de 30 g de cerdaza a diferentes temperaturas..... | 107 |
| 6.7 | Presión de vapor de agua y presión por CH ₄ y CO ₂ en el espacio de cabeza de las trampas producido por la fermentación de 3 muestras a diferentes temperaturas..... | 110 |
| 6.8 | Masa de CH ₄ y CO ₂ en 110 h de fermentación de 30 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza..... | 111 |
| 6.9 | Características químicas de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza..... | 112 |
| 6.10 | Coefficientes de correlación Pearson entre la producción de BT, CH ₄ y CO ₂ a 20°C y características químicas de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza..... | 113 |
| 6.11 | Coefficientes de correlación Pearson entre la producción de BT, CH ₄ y CO ₂ a 30°C y características químicas de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza..... | 114 |
| 6.12 | Coefficientes de correlación Pearson entre la producción de BT, CH ₄ y | |

| | | |
|------|---|-----|
| | CO ₂ a 40°C y características químicas de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza..... | 116 |
| 6.13 | Coeficientes de correlación Pearson entre la producción de BT, CH ₄ y CO ₂ a 50°C y características químicas de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza..... | 117 |
| 6.14 | Coeficientes de Pearson de la correlación del biogás producido y la caracterización en conjunto de las tres muestras..... | 119 |
| 6.15 | Variación de pH de las muestras al inicio y al final de la fermentación por LR, estiércol y cerdaza a 20, 30, 40 y 50 °C..... | 120 |
| 6.16 | Concentración de bacterias de las muestras al inicio y al final de la fermentación por líquido ruminal, estiércol y cerdaza a 20, 30, 40 y 50°C..... | 121 |
| 7.1 | Proporción de sólidos:agua base húmeda y seca de líquido ruminal, estiércol y cerdaza con diferentes cantidades de agua..... | 127 |
| 7.2 | Biogás total acumulado por la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza..... | 127 |
| 7.3 | Contenido de CH ₄ , CO ₂ y BT producido por la fermentación de 50 g de líquido ruminal a 40°C y a diferentes proporciones de muestra fresca:agua..... | 131 |
| 7.4 | Contenido de CH ₄ , CO ₂ y BT producido por la fermentación de 50 g de estiércol a 40°C y a diferentes proporciones de muestra fresca:agua | 131 |
| 7.5 | Contenido de CH ₄ , CO ₂ y BT producido por la fermentación de 50 g de cerdaza a 40°C y a diferentes proporciones de muestra fresca:agua | 132 |
| 7.6 | Presión por CH ₄ y CO ₂ en el espacio de cabeza de las trampas producido por la fermentación de tres muestras a diferentes proporciones de temperatura..... | 135 |
| 7.7 | Cuadro 7.7. Masa de CH ₄ y CO ₂ en 120 h de fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza con diferentes proporciones de humedad..... | 137 |
| 7.8 | Variación de pH de las muestras al inicio y final de la fermentación a | |

| | | |
|------|---|-----|
| | diferentes proporciones de muestra fresca:agua | 136 |
| 8.1 | Esquema de la hoja de cálculo de incertidumbre combinada de BT | 145 |
| 8.2 | Esquema de la hoja de cálculo de incertidumbre combinada | 145 |
| 8.3 | Valores de V_{BR} , V_{CH_4} y V_{H_2O} e incertidumbres $u(x)$ de seis muestras de excretas (Experimento I)..... | 146 |
| 8.4 | Valores e incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema (Experimento I)..... | 145 |
| | Comparación de incertidumbre combinada en el Experimento I. | |
| 8.5 | Producción de BT y CH_4 de la fermentación de 100 g de seis diferentes muestras de excretas a condiciones ambientales por 72 h. | 147 |
| | Comparación de incertidumbre expandida en el Experimento I. | |
| 8.6 | Producción de BT y CH_4 de la fermentación de 100g de 6 diferentes muestras de excretas a condiciones ambientales por 72h..... | 148 |
| 8.7 | Valores de V_{BR} , V_{CH_4} y V_{H_2O} e incertidumbres $u(x)$ de muestras de líquido ruminal, estiércol y cerdaza (Experimento II)..... | 148 |
| 8.8 | Valores e incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema (Experimento II)..... | 149 |
| | Comparación de incertidumbre combinada en el Experimento II. | |
| 8.9 | Producción de biogás total y CH_4 de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a temperatura constante de 39°C por 120 h..... | 150 |
| | Comparación de incertidumbre expandida en el Experimento II. | |
| 8.10 | Producción de biogás total y CH_4 de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a temperatura constante de 39°C por 120 h..... | 150 |
| 8.11 | Valores de V_{BR} y V_{H_2O} e incertidumbres $u(x)$ de muestras de líquido ruminal, estiércol y cerdaza (Experimento III)..... | 151 |
| 8.12 | Valores e incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema (Experimento III)..... | 151 |
| 8.13 | Comparación de incertidumbre combinada en el Experimento III. | |

| | | |
|------|---|-----|
| | Producción de biogás total de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes temperaturas por 120 h. | 153 |
| | Comparación de incertidumbre expandida en el Experimento III. | |
| 8.14 | Producción de biogás total de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes temperaturas por 120 h. | 154 |
| 8.15 | Valores de V_{BR} y V_{H_2O} e incertidumbres $u(x)$ de muestras de líquido ruminal, estiércol y cerdaza (Experimento IV)..... | 155 |
| 8.16 | Valores e incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema (Experimento IV)..... | 155 |
| | Comparación de incertidumbre combinada en el Experimento IV. | |
| 8.17 | Producción de biogás total de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes proporciones de muestra fresca:agua a temperatura constante de 40°C por 120 h..... | 156 |
| | Comparación de incertidumbre expandida en el Experimento IV. | |
| 8.18 | Producción de biogás total y CH_4 de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes proporciones de humedad y temperatura constante de 40°C por 120 h..... | 157 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | | Página |
|--------|--|--------|
| 2.1 | Proceso global de la descomposición anóxica ruminal..... | 14 |
| 2.2 | Porcentajes de emisiones por contaminante de acuerdo al Inventario de Emisiones de GEI 2002 en México..... | 46 |
| 2.3 | Porcentajes de emisiones por sector de acuerdo al Inventario de Emisiones de GEI 2002 en México..... | 47 |
| 4.1 | Sistema para la captación de biogás..... | 55 |
| 4.2 | Red de conteo de la cámara Petroff-Hausser y dirección para contabilizar bacterias..... | 56 |
| 4.3 | Comportamiento de la producción acumulado de a) BT y b) CH ₄ con relación al tiempo..... | 63 |
| 4.4 | Comportamiento de la producción del BT y CH ₄ con relación a las temperaturas internas de las muestras..... | 67 |
| 5.1 | Comportamiento de la producción de BT, CH ₄ y CO ₂ de líquido ruminal a 39°C..... | 89 |
| 5.2 | Comportamiento de la producción de BT, CH ₄ y CO ₂ de estiércol a 39°C..... | 89 |
| 5.3 | Comportamiento de la producción de BT, CH ₄ y CO ₂ de cerdaza a 39°C..... | 89 |
| 6.1 | Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 30 g de líquido ruminal a 20, 30, 40 y 50°C..... | 103 |
| 6.2 | Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 30 g de estiércol a 20, 30, 40 y 50°C..... | 104 |
| 6.3 | Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 30 g de cerdaza a 20, 30, 40 y 50°C..... | 104 |
| 6.4 | Biogás total producido por la fermentación de 30 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes temperaturas..... | 107 |
| 6.5 | CH ₄ producido por la fermentación de 30 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes temperaturas..... | 108 |
| 6.6 | CO ₂ producido por la fermentación de 30 g de líquido ruminal, | |

| | | |
|-----|--|-----|
| | estiércol y cerdaza a diferentes temperaturas..... | 109 |
| 7.1 | Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 50 g de líquido ruminal con una proporción de muestra fresca:agua 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4 a 40°C..... | 129 |
| 7.2 | Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 50 g de estiércol con una proporción de muestra fresca:agua 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4 a 40°C..... | 129 |
| 7.3 | Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 50 g de cerdaza con una proporción de muestra fresca:agua 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4 a 40°C..... | 129 |
| 7.4 | Biogás total producido por la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a proporciones de muestra fresca:agua: 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4..... | 132 |
| 7.5 | CH ₄ producido por la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a proporciones de muestra fresca:agua: 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4..... | 133 |
| 7.6 | CO ₂ producido por la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a proporciones de muestra fresca:agua: 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4..... | 134 |
| 8.1 | Etapas a seguir para el cálculo la incertidumbre según el método de la ISO..... | 139 |
| 8.2 | Incertidumbres en la producción de biogás total y metano..... | 142 |
| 8.3 | Comparación de incertidumbres de los parámetros en común en los sistemas biorreactor-trampa del Experimento I..... | 147 |
| 8.4 | Comparación de incertidumbres de los parámetros en común en los sistemas biorreactor-trampa del Experimento II..... | 149 |
| 8.5 | Comparación de incertidumbres de los parámetros en común en los sistemas biorreactor-trampa del Experimento III..... | 152 |
| 8.6 | Comparación de incertidumbres de los parámetros en común en los sistemas biorreactor-trampa del Experimento IV..... | 156 |

EMISIONES DE METANO GENERADAS POR EXCRETAS DE ANIMALES DE GRANJA Y CONTENIDO RUMINAL DE BOVINO

Irma Fabiola Ramírez Hernández, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2010

RESUMEN

Las emisiones de metano (CH_4) de las actividades ganaderas, como un gas de efecto invernadero, son estimadas para el desarrollo de inventarios. Sin embargo el aprovechamiento de la producción del CH_4 a partir de excretas de animales rumiantes y no rumiantes, para la generación de energía, requiere de establecer condiciones de temperatura y humedad para eficientar la mayor producción de este gas, compuesto del biogás producido por la actividad microbiana. En este estudio, se desarrollaron cuatro experimentos para cuantificar la producción de CH_4 , con la fermentación controlada, en un sistema biorreactor-trampa. En el 1er experimento, se compararon diferentes excretas de animales rumiantes: estiércol de ganado lechero y en engorda, excretas de cabras y borregos, con gallinaza y cerdaza, como animales no rumiantes, fermentadas bajo condiciones ambientales. Las muestras produjeron diferentes ($P < 0.0001$) cantidades de CH_4 , siendo la cerdaza la de mayor emisión de CH_4 (46.34% del biogás total). En el 2do experimento, bajo condiciones de temperatura constante de 39°C el estiércol presentó el 92.7% de CH_4 del biogás, el 73% por el líquido ruminal y 51.1% por la cerdaza. En el 3er experimento, se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la producción de CH_4 por la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a 20, 30, 40 y 50°C . La temperatura que produjo la mayor cantidad de CH_4 fue de 40°C (72.6% para líquido ruminal; 56.2% de estiércol y 21% en cerdaza), sin embargo, a 20°C no se detectó presencia de CH_4 . Finalmente en el último experimento, se sometieron las muestras con una relación muestra fresca:agua (1:0, 1:1, 1:2 y 1:4) a fermentación a temperatura constante de 40°C , siendo la muestra sin agua agregada (1:0), la que mayor producción de CH_4 se registro para líquido ruminal y estiércol, con 45.93% y 44.56% respectivamente. La proporción 1:4 fue la que mayor producción de CH_4 se registró para la cerdaza, con 24.21%.

Palabras claves: biogás, metano, excretas, rumiantes, fermentación.

**METANE EMISSION GENERATED BY ANIMAL FARM MANURE AND
RUMINANT CATTLE CONTENT**

Irma Fabiola Ramírez Hernández, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2010

ABSTRACT

Metane emissions (CH₄) from livestock, as a greenhouse gas, are estimated to inventory development. However, advantage in production of metane, from animal manure, requires stabilising, temperatures and humidity conditions in order to make more efficient gas production. CH₄ is a component of biogas, and it is produced by microbial activity. In this study, four experiments were developed, in order to quantify CH₄ production, by controlled fermentation. This was made in a bioreactor-trap system. In first experiment, different manure of ruminant was compared: dairy and meat cattle manure, goat and sheep manure, and in the other hand, poultry and swine manure, as no ruminants, were fermented with environmental conditions. CH₄ amounts were different (P<0.0001) between samples, but swine manure which the most produced emission of CH₄ sample (46.34% total biogas). In the second experiment, with permanent temperature (39°C), produced CH₄ was 92.7% by rumen fluid, 73% manure dairy cattle and 51.1% by swine manure. CH₄ production by rumen fluid fermentation and swine manure in 20, 30, 40 and 50 degrees were obtained significant differences (P<0.05). The highest production of CH₄, was at 40°C (72.6% for rumen fluid, 56.2% manure and 21% of swine manure). However, CH₄ was not detected at 20°C. Finally, last experiment, samples were subjected to a fresh sample: water (1:0, 1:1, 1:2 and 1:4), fermentation with constant temperature of 40°C. Sample without added water (1:0) rumen fluid (45.93%) and manure (44.56%) were the samples which produced the most CH₄ emissions. Proportion 1:4 was the most production of CH₄ by swine manure with 24.21%.

Key words: biogas, metane, manure, ruminants, fermentation.

1. INTRODUCCIÓN

La agricultura y la producción pecuaria contribuyen ampliamente a las emisiones antropogénicas de metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) y óxido nitroso (N₂O) a la atmósfera. El aumento de las concentraciones de estos gases provoca un calentamiento de la superficie terrestre y la destrucción de la capa de ozono en la estratosfera.

Diversos estudios indican que la actividad ganadera produce entre 15-20 % de la emisión mundial de gas metano (Moss *et al*, 2000 y Moss and Givens, 2002). El ganado rumiante emite gas CH₄ porque en su proceso digestivo, que ocurre bajo condiciones anaeróbicas, participan diferentes tipos de bacterias metanogénicas. Además las excretas de animales domésticos también generan GEI. El principal problema de este residuo, es que su incorrecto manejo y disposición, lo cual contribuyen en gran medida con emisiones no controladas de CH₄ y CO₂.

Existen diversas formas para estimar y medir las emisiones de biogás, específicamente de CH₄ y CO₂, producidas por la fermentación ruminal y por el manejo de estiércol. Los modelos para la estimación de estos gases es teórica, y utilizan diferentes variables, como la relación de ácidos grasos volátiles y factores de emisión, sin embargo, estos modelos en muchas ocasiones dan por hecho la homologación de consideraciones importantes, como tamaño, edad, y fin zootécnico del animal, así como factores del clima ambiental. Otras metodologías cuantifican directamente las emisiones de CH₄ y CO₂, en la mayoría de las ocasiones a través de equipos, costosos y que requiere de personal técnico calificado para su correcto uso.

Las características de fermentación en el rumen y de excretas pueden ser estudiadas por métodos *in vitro*. La técnica de producción de gases es un método *in vitro* que permite determinar la extensión y la cinética de la degradación de sustrato a través del volumen de gas producido durante el proceso fermentativo. Una de las ventajas de este procedimiento radica en que el curso de la fermentación y el papel de los componentes solubles pueden ser cuantificados, lo cual es particularmente evidente en los primeros horarios de incubación (Posada *et al*, 2005).

Al conocer las características que influyen sobre las emisiones del biogás producidas por la fermentación entérica y manejo de excretas, se puede controlar la producción de CH₄ y considerar las emisiones como una atractiva solución a este problema de GEI. Los residuos de las excretas se pueden tratar entonces mediante un compostaje anaerobio, mejor conocido como digestión anaerobia o biometanización, producción de biogás y proponer su uso como combustible alternativo para la generación de energía eléctrica o calorífica.

En el presente estudio, en el Capítulo 2, se presenta una revisión de la literatura sobre la definición del cambio climático y los gases efecto invernadero (GEI), así como las generalidades del Protocolo de Kioto, con énfasis a las características del CH₄ y la contribución de las actividades ganaderas en la producción de este gas. Se presenta además una revisión sobre modelos que permiten la cuantificación de GEI, con especial relevancia en la metodología propuesta por el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC).

En el Capítulo 3, se presenta una revisión rápida de Técnicas in vitro para la producción y cuantificación de biogás, resaltando algunos problemas en la eficiencia de producción de metano como parte del biogás. En el Capítulo 4, se muestra la comparación de emisiones de BT, CH₄ y CO₂ por la fermentación de excretas de ganado vacuno de engorda y lechero, porcino, borregos, cabras y aves de corral de postura, bajo condiciones ambientales de temperatura y humedad. En el Capítulo 5, se presentan los resultados de la comparación de las emisiones de estos gases por la fermentación de estiércol y cerdaza en comparación al LR, a una temperatura constante de 39°C. En el Capítulo 6 se muestra la comparación de emisiones de estiércol, cerdaza y LR, a temperaturas de 20, 30, 40 y 50°C. Finalmente, en el Capítulo 7 se presentan las emisiones de estiércol, cerdaza y LR a 40°C, pero con diferentes proporciones de humedad adicional de 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4.

Los resultados obtenidos, pueden contribuir en el desarrollo de sistemas de producción de biogás (CH₄) para la ganadería familiar y para estimar de la contribución de diferentes excretas animales y LR en la generación de gases efecto invernadero.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Cambio climático

El cambio climático del planeta o cambio climático global se debe a la emisión de gases efecto invernadero (GEI) de origen antropogénico que se suman a los producidos de manera en períodos comparables (CMCC, 2005; IPCCa, 2001).

De manera general, los cambios en el clima del planeta se dan porque la Tierra absorbe la radiación del Sol, sobre todo en la superficie del planeta. Esta energía es redistribuida luego por las circulaciones atmosférica y oceánica, y es irradiada nuevamente al espacio en longitudes de onda infrarroja más largas. La temperatura media anual de la Tierra se equilibra entre la energía de la radiación solar que ingresa y la radiación terrestre saliente. Cualquier factor que altere la radiación solar que entra al planeta o la salida de la radiación infrarroja al espacio, o que altere la redistribución de energía dentro de la atmósfera y entre atmósfera, tierra y océano, puede afectar el balance y producir un cambio climático global.

En el 3er. Informe de Evaluación del IPCC (IPCCa, 2001) se establece que:

- La temperatura media mundial de la superficie ha aumentado aproximadamente 0.6°C en el siglo XX.
- Las temperaturas han aumentado durante los cuatro últimos decenios en los 8 kilómetros inferiores de la atmósfera.
- La extensión del hielo y de la capa de nieve ha disminuido.
- El nivel medio del mar en todo el mundo ha subido y el contenido de energía interna de los océanos ha aumentado.
- También se han producido cambios en otros aspectos importantes del clima, como por ejemplo en los patrones de las precipitaciones, porcentaje de nubosidad, diferencias en las frecuencias y temporadas de fenómenos como El Niño, y cambios en los periodos de sequías.
- Algunos aspectos importantes del clima parecen no haber cambiado, por ejemplo algunas zonas del globo no se han calentado en los últimos decenios, principalmente ciertas partes de los océanos del hemisferio sur y partes de la Antártida. Además no

parece haber tendencias significativas en la extensión del hielo marino del Antártico desde 1978 (período para el que se dispone de medidas por satélite fiables)

- Las emisiones GEI debidas a las actividades humanas siguen modificando la composición de la atmósfera de formas y se pronostican cambios en el clima.
- Las concentraciones de GEI y su forzamiento radiativo siguen aumentando como consecuencia de las actividades humanas.
- Los aerosoles antropógenos son efímeros y producen principalmente un forzamiento radiativo negativo.
- Los factores naturales han intervenido poco en el forzamiento radiativo del siglo pasado.

En el Cuadro 2.1, se resumen la evaluación proyectada por el Grupo de Trabajo I del IPCCa, 2001, con dos escenarios; el primero, en la segunda mitad del siglo XX, y el segundo durante el siglo XXI. En este último con un grado de confianza basado en estudios y datos más robustos.

2.1.1 Gases efecto invernadero

Los Gases Efecto Invernadero (GEI) son gases integrantes de la atmósfera, de origen natural y antropogénico, que absorben radiación en determinadas longitudes de onda provenientes del sol y que son emitidas, en forma de calor, en la superficie de la Tierra. Esta propiedad causa el efecto invernadero. El vapor de agua (H₂O), dióxido de carbono (CO₂), óxido nitroso (N₂O), metano (CH₄), y ozono (O₃) son los principales gases efecto invernadero en la atmósfera terrestre. Además existe en la atmósfera una serie de GEI totalmente producidos por el hombre, como los halocarbonos y otras sustancias que contienen cloro y bromuro, de las que se ocupa el Protocolo de Montreal. Además del CO₂, N₂O, y CH₄, el Protocolo de Kioto aborda otros gases efecto invernadero, como el hexafluoruro de azufre (SF₆), los hidrofluorocarbonos (HFC) y los perfluorocarbonos (PFC) (IPCC, 2001). En el Cuadro 2.2 se enlistan los seis GEI que los que el IPCC enfoca sus estudios, proyecciones y mitigaciones.

Cuadro 2.1. Evaluaciones del grado de confianza en los cambios observados y proyectados en fenómenos climáticos y de tiempo extremos

| Grado de confianza en los cambios observados durante la segunda mitad del siglo XX | Cambios en el fenómeno climático | Grado de confianza en los cambios proyectados durante el siglo XXI |
|--|---|---|
| Probablemente | Temperaturas máximas más elevadas y mayor temperatura en casi todas las zonas terrestres | Muy probable |
| Muy probable | Temperas mínimas más elevadas, menos días con heladas o con bajas temperaturas en casi todas las zonas terrestres | Muy probable |
| Muy probable | Menor amplitud del margen de variación de la temperatura diurna en la mayoría de las zonas terrestres | Muy probable |
| Probable en muchas zonas | Aumento del índice de calor en las zonas terrestres | Muy probable en la mayoría de las zonas |
| Probable en muchas zonas terrestres de las latitudes medias y altas del hemisferio norte | Más episodios de precipitación intensa | Muy probable en muchas zonas |
| Probable en algunas zonas | Mayor desecación continental estival y riesgo asociado de sequía | Probable en la mayoría de las zonas continentales interiores de latitud media (faltan proyecciones coherentes en las otras zonas) |
| No se observa en los pocos análisis disponibles | Aumento de las intensidades máximas de los vientos de los ciclones tropicales | Probable en algunas zonas |
| Datos insuficientes para efectuar una evaluación | Aumento en las intensidades máximas y medias de las precipitaciones de los ciclones tropicales | Probable en algunas zonas |

IPCCa, 2001

El CO₂ es el GEI más abundante y el que actualmente tiene un mayor aporte al incremento del calentamiento global. La concentración de CH₄ atmosférico es inferior a la de CO₂ (ver Cuadro 2.1.2), sin embargo se está incrementando su emisión y además, posee un efecto invernadero 21-30 mayor al del CO₂.

Cuadro 2.2. Los gases efecto invernadero (IPCC) y algunas de sus características

| Variable | CO ₂ | CH ₄ | N ₂ O | HFC-23 | CF ₄ | SF ₆ |
|----------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Preindustrialización | 280 ppm | 700 ppmm | 270 | 0 ppb | 40 | 0 |
| Año 1998 | 365 ppm | 1745 ppmm | 314 ppmm | 14 ppb | 80 ppb | 4.2 ppb |
| Cambio | 1.5 ppm/año | 7.0 ppmm/año | 0.8 ppmm/año | 0.55 ppb/año | 1 ppb/año | 0.24 ppb/año |
| Tiempo de residencia | 5 - 200 | 12 | 114 | 260 | >50,000 | 3,600 |
| FR | 1.46 | 0.48 | 0.15 | 0.002 | 0.003 | 0.002 |
| PCG | 1 | 21 | 296 | 12,000 | 5,700 | 22,200 |

Preindustrialización = Concentración periodo previo a la industrialización (1750); Año 1998 = Concentración 1998; Cambio = Tasa de cambio en concentración; Tiempo de vida = Tiempo de residencia en la atmósfera (años); FR = Forzamiento radiativo (W/m²); PCG = Potencial de calentamiento global (unidades [equivalentes de CO₂/molécula]). Nota: La abundancia de gases traza en la atmósfera se indica como la fracción molar del gas en relación con el aire seco (ppm, partes por millón=10⁻⁶; ppmm, partes por mil millones=10⁻⁹; ppb, partes por billón=10⁻¹²). IPCCa, 2001)

2.1.2. Protocolo de Kioto

El Protocolo de Kioto es un acuerdo internacional asumido en 1997 en el ámbito de las Naciones Unidas que trata de frenar el cambio climático de origen antropogénico. Uno de sus objetivos es reducir las emisiones de los gases que aceleran el calentamiento global. Este ha sido ratificado por 163 países ambientalistas, de los cuales el acuerdo impone para 39 países, que se consideran desarrollados, la reducción de sus emisiones de GEI (CMCC, 2005).

Para llevar a cabo esta reducción de emisiones, según el Protocolo de Kioto, se tomaron como base las emisiones generadas en el año 1990, de forma, que los países que acatan el protocolo deberán reducir sus emisiones en un 8%. Para verificar el cumplimiento se medirá las emisiones de GEI del año 2008 al 2012. (CMCC, 2005, ONU, 1998)

El Protocolo de Kioto considera los GEI descritos en el Cuadro 2.1.2. Se estima que el CO₂, CH₄ y el N₂O contribuyen con el 50, 18 y 6%, respectivamente, del efecto invernadero mundial derivado de actividades humanas. Los HFC y PFC se utilizan como productos sustitutos de las sustancias que agotan la capa de ozono, como los clorofluorocarbonos (CFC), que se están eliminando gradualmente en virtud del Protocolo

de Montreal. El SF₆ se utiliza en algunos procesos industriales y en el equipo eléctrico, como medio aislante en transformadores de potencia y de instrumentación.

Negociaciones efectuadas en Buenos Aires (Noviembre, 1998), en La Haya (finales de 2000), en Bonn (julio, 2001) y finalmente en Marrakech (noviembre, 2001), concluyeron en normas más detalladas del Protocolo de Kioto y afinaron indicadores más elaborados para aplicar los acuerdos de la Convención y sus normas (CMCC, 2005 y ONU 1998).

El Protocolo de Kioto sólo podía entrar en vigor cuando fuera ratificado por al menos por 55 Partes en la Convención, entre ellas un número de países industrializados incluidos en el anexo I que representara al menos el 55 por ciento de las emisiones de CO₂ de dicho grupo en 1990. Las primeras Partes ratificaron el Protocolo en 1998. Con la ratificación de la Federación Rusa del 18 de noviembre de 2004, se puso en marcha la cuenta regresiva prevista de 90 días, de tal forma que el Protocolo de Kioto entró en vigor el 16 de febrero de 2005.

La Convención divide a los países en tres grupos principales, de acuerdo con sus diferentes compromisos. Las Partes incluidas en el ANEXO I son los países industrializados miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) en 1992, más los países con economías en transición (PET), en particular, la Federación Rusa, los Estados Bálticos y varios Estados de Europa central y oriental. Una obligación que afecta únicamente a las Partes incluidas en el ANEXO I es la de adoptar políticas y medidas relativas al cambio climático, con el fin de reducir sus emisiones de GEI 5 a 8% de los niveles reportados en 1990, antes del año 2012. Esta disposición les obliga a dar ejemplo de firmeza para hacer frente a los problemas de cambio climático. La Convención otorga "cierto grado de flexibilidad" a las PET, en consideración de las perturbaciones económicas y políticas de dichos países.

Las Partes incluidas en el ANEXO II son los países miembros de la OCDE que están en el ANEXO I, pero no las PET. Deben ofrecer recursos financieros para permitir a los países en desarrollo emprender actividades de reducción de las emisiones de conformidad

con lo dispuesto en la Convención y ayudarles a adaptarse a los efectos negativos del cambio climático. Además, "deben tomar todas las medidas posibles" para promover el desarrollo y la transferencia de tecnologías ambientalmente sanas a las PET y a los países en desarrollo. El financiamiento ofrecido por las Partes incluidas en el anexo II se encauza fundamentalmente a través del mecanismo financiero de la Convención.

Las Partes NO INCLUIDAS EN EL ANEXO I son en su mayoría países en desarrollo. Algunos grupos de países en desarrollo son reconocidos por la Convención como especialmente vulnerables a los efectos negativos del cambio climático, en particular los países con zonas costeras bajas o con zonas expuestas a sequía y desertificación. Otros, como los países cuyas economías dependen particularmente de la producción y la exportación de combustibles fósiles, son más vulnerables a las medidas de respuesta a los cambios climáticos

Todas las Partes en la Convención, es decir, los países que la han ratificado, aceptado o aprobado o se han adherido a ella, están sujetos a los compromisos generales de responder al cambio climático. Han acordado compilar un inventario de las emisiones de gases efecto invernadero y presentar informes (comunicaciones nacionales) sobre las medidas que están adoptando para aplicar la Convención. Para orientar estas medidas, deben preparar programas nacionales, que contarán con los siguientes elementos:

- Medidas de mitigación del cambio climático.
- Disposiciones para la elaboración y transferencia de tecnologías ambientalmente sanas.
- Disposiciones para la gestión sostenible de los 'sumideros' de carbono, donde se incluyen los bosques y otros ecosistemas que pueden eliminar de la atmósfera más gases efecto invernadero que los que ellos emiten.
- Preparativos para adaptarse al cambio climático
- Planes para la realización de investigaciones sobre el clima, la observación del sistema climático mundial y el intercambio de información
- Planes para promover la educación, formación y sensibilización del público respecto al cambio climático.

2.2. El metano como gas efecto invernadero

El metano (CH_4) se produce fundamentalmente por la descomposición anaerobia de la materia orgánica en los sistemas biológicos. Los procesos agrícolas como el cultivo del arroz inundado en agua, la fermentación entérica en los animales y la descomposición de los desechos de éstos, y la descomposición de los desechos municipales emiten CH_4 . El CH_4 también se emite durante la producción y distribución de gas natural y petróleo, y es liberado como subproducto en la extracción del carbón y en la combustión incompleta de los energéticos fósiles (Cuatecontzi y Gasca, 2004).

La concentración media global de CH_4 en la atmósfera en 1994 fue de 1,720 ppmv, lo que representa un incremento del 145% en relación con la concentración existente en el periodo previo a la industrialización de 700 ppmv (IPCC, 1996a). En 1998, la concentración atmosférica era de 1,745 ppmv, con una tasa de cambio en la concentración de 7.0 partes por billón anual. El CH_4 tiene un tiempo de residencia de 12 años y es eliminado de la atmósfera por reacciones químicas. El fortalecimiento radiativo directo actual del CH_4 es de 0.48 W/m^2 , y representa el 20% del total de los GEI (Albritton y Meira, 2001). Se estima que de 60 a 80% de las emisiones actuales de CH_4 provienen de las actividades antropogénicas. Los modelos de predicción proyectan cambios en la concentración de CH_4 en la atmósfera entre los años 1998 y 2100, que oscilan entre -90 y +1970 ppbv, es decir, una variación de entre -11% y +112% de la concentración registrada en el periodo previo a la industrialización.

En el Cuadro 2.3, se enlistan las principales fuentes de CH_4 , con una producción anual de aproximadamente 470 millones de toneladas métricas/año de CH_4 que ingresan a la atmósfera debido a actividades antropogénicas y fenómenos naturales, de las cuales el 17% corresponde a animales domésticos. Sin embargo, el grado de incidencia y la proporción exacta de muchas de estas fuentes no son muy claros. A esta tasa se esperaría que el metano cause cerca del 15-17% del calentamiento global (IPCC, 1996a)

Cuadro 2.3. Principales fuentes naturales y antropogénicas de CH₄ a nivel global (GTon/año)

| Natural | | Energía y desechos | | Agricultura | |
|------------|-----|---------------------|-----|---------------------|-----|
| Pantanos | 115 | Gas y petróleo | 50 | Cultivos de arroz | 60 |
| Océanos | 15 | Carbón mineral | 40 | Animales domésticos | 80 |
| Termitas | 20 | Carbón vegetal | 10 | Abonos orgánicos | 10 |
| Combustión | 10 | Rellenos sanitarios | 30 | Combustión | 5 |
| | | Aguas residuales | 25 | | |
| Total | 160 | | 155 | | 155 |

Johnson y Johnson, 1995

2.2.1. El metano proveniente de la fermentación ruminal y del tracto digestivo

Los bovinos poseen un sistema digestivo que tiene la capacidad de aprovechar y convertir material fibroso con altos contenidos de carbohidratos estructurales, en alimentos de alta calidad nutritiva, la carne y la leche. Sin embargo por sus características innatas, este mismo sistema digestivo también produce metano,

El principal factor biótico a nivel del rumen en la producción de metano son las bacterias anaerobias metanógenas. Estas bacterias utilizan diferentes sustratos para la producción de CH₄, pero los principales son el H₂ y el CO₂.

La fermentación entérica del ganado ruminal es una contribución importante en la emisión de CH₄. En países con una alta población de ganado lechero, como Australia, se estimó que el ganado vacuno fue el responsable del 48% de CH₄ (McCrabb y Hunter, 1999). Las emisiones GEI derivadas de la actividad ganadera de este país representan el 12% del total de las emisiones (Howden y Reyenga, 1999).

De manera global, la actividad ganadera es responsable de 65 a 100 millones de toneladas por año de CH₄, o el 23% de las emisiones antropogénicas de este contaminante (US EPA 1994, citado por McCrabb y Hunter, 1999). Otros autores indican que la actividad ganadera produce entre 15-20% de la emisión mundial de CH₄ (Johnson y Johnson, 1995; Moss *et al.*, 2000).

Kurihara et al (1999) y Johnson y Johnson (1995), señalan que las emisiones de CH₄ producidas por el ganado bovino, es de 58 GTon/año, lo que representa el 73% del total de emisiones (80 millones) de todas la especies domésticas. McCaughey *et al* (1999) y Moss *et al* (2000), indican que los animales domésticos, principalmente el ganado bovino son responsables de aproximadamente el 15% de la producción de metano global. Otros contribuyentes significativos son los pantanos naturales (21%), los cultivos de arroz (20%), pérdidas por combustión de hidrocarburos (14%), combustión de biomasa (10%) y rellenos sanitarios (7%) (McCaughey et al, 1997).

Para la estimación de la producción de CH₄ por la fermentación entérica, es necesario conocer el proceso de formación de este GEI. Entre los diferentes procesos biológicos que se dan en la naturaleza, la transformación de la materia orgánica por microorganismos anaerobios es el que mayor importancia tiene en el mantenimiento de la vida en nuestro planeta por su contribución al ciclo del carbono. La formación de CH₄ y CO₂ es la característica más sobresaliente en la descomposición de la materia orgánica, proceso en el que microorganismos metanógenos combinan su capacidad de oxidar el hidrógeno y de reducir el dióxido de carbono en tres etapas.

El ganado bovino emite CH₄ porque en su proceso digestivo participan diferentes tipos de bacterias anaeróbicas. Estas, fermentan la glucosa liberada de carbohidratos de reserva y estructurales ingeridos en su alimentación ingerida en ácido acético, propiónico y butírico reducen el CO₂, formando CH₄ en el proceso. La producción de CH₄ en el rumen representa energía alimenticia que se transforma en gas y no es aprovechada por el animal (Johnson y Johnson, 1995 y McCaughey *et al*, 1999).

En los rumiantes, en la primera etapa de fermentación, las bacterias anaerobias hidrolizan las proteínas, grasas y polisacáridos para generar aminoácidos, péptidos de cadena corta, monosacáridos, disacáridos y ácidos grasos. En una segunda etapa de este proceso se da la transformación de los productos de la hidrolisis, a alcoholes simples y diversos ácidos orgánicos como el acético, el propiónico y el butírico, mediante la

participación de bacterias acetógenas. En la tercera etapa se genera el CH_4 , liberándose a través de eructos (Madigan *et al.*, 2004).

En la Figura 2.1 se ilustra el proceso global de la descomposición anóxica ruminal que varios grupos de microorganismos anaerobios fermentativos actúan conjuntamente en la conversión de materiales orgánicos complejos en CH_4 y CO_2 .

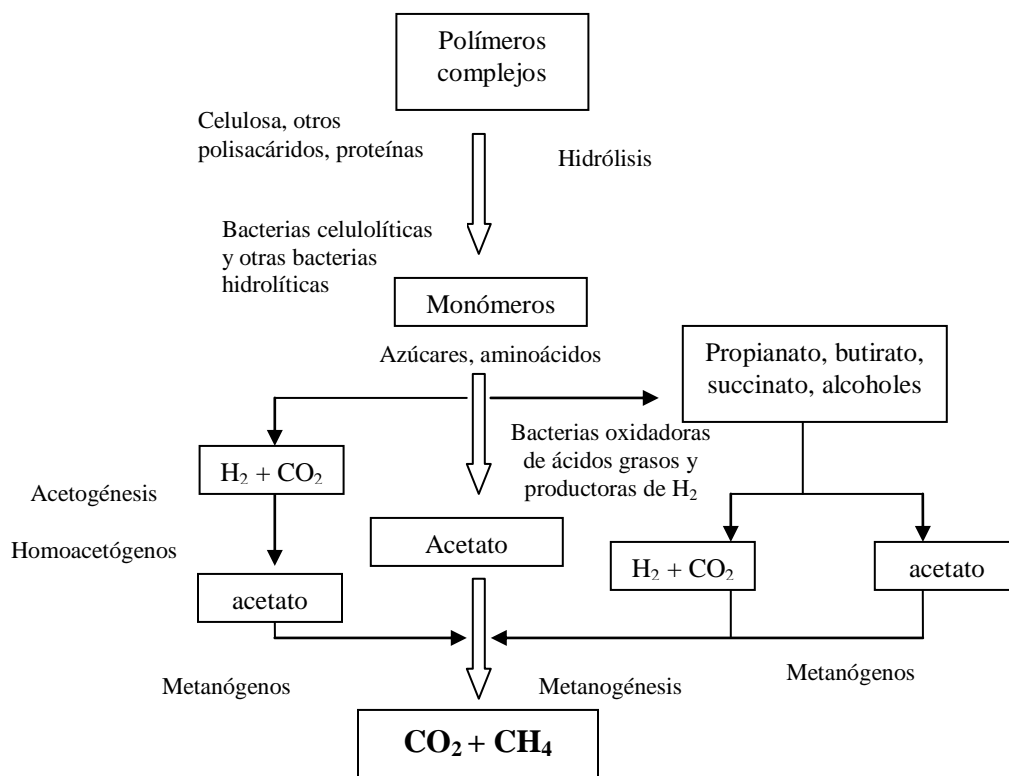


Figura 2.1. Proceso global de la descomposición anóxica ruminal. (Madigan *et al.*, 2004)

La eliminación de metano vía eructo en el ganado inicia aproximadamente a las cuatro semanas de vida, cuando los alimentos sólidos empiezan a ser retenidos en el retículo-rumen, aumentándose la fermentación y la producción de gases a medida que el retículo-rumen se va desarrollando (McCaughey *et al.*, 1999). En sistemas de producción de alta tecnificación la producción anual de CH_4 en animales adultos está entre 60 y 126 kg o 250 a 500 L (Johnson y Johnson, 1995). DeRamus *et al.*, (2003) reportan que las emisiones anuales de CH_4 por novillos de carne en pastoreo oscilaron entre 32 y 83 kg y entre 60 y 95 kg para vacas adultas en pastoreo.

McCaughey *et al.*, (1999), reportan que el 87% de la producción de metano se da en el rumen, y 13% en el tracto digestivo posterior. De este último, aproximadamente el 89% es absorbido hacia la sangre y expirado a través de los pulmones. Esto indica que cerca del 98% del total de metano producido por los rumiantes puede ser expirado a través de la boca y los orificios nasales.

Estas estimaciones coinciden con la metodología del IPCC para el uso de factores de emisión, ya que la contribución de la emisión de CH₄ entre la fermentación entérica y el manejo de excretas para un individuo del sistema de ganado vacuno lechero es de 99.34% y 0.66% respectivamente. En cuanto al ganado vacuno no lechero la relación es de 98% para fermentación entérica y 2% para manejo de excretas (IPCC, 1996a; IPCC, 1996b; Ordoñez-Díaz y Hernández-Tejeda, 2005).

La producción de CH₄ en los bovinos normalmente representa entre 5.5-6.5% del total de energía consumida en la dieta, sin embargo valores entre 2-12% se reportan en condiciones de pastoreo en zonas templadas (Anderson y Rasmussen, 1998; Kurihara *et al.*, 1999; Weimer, 1998). Pero cuando la alimentación es con forrajes de baja calidad nutritiva, la producción de CH₄ puede representar entre el 15 y el 18% de la energía digestible (Carmona *et al.*, 2005).

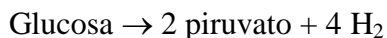
Los dos principales factores responsables de las variaciones en la producción de metano son: a) la cantidad de carbohidratos fermentados en el retículo-rumen, lo cual implica diversas interacciones dieta del animal, que afectan el balance entre las tasas de fermentación de estos carbohidratos y b) la tasa de pasaje (Johnson y Johnson, 1995). El otro mecanismo es la relación de ácidos grasos volátiles (AGV) producidos, la cual regula la producción de hidrógeno y la subsecuente producción de metano (Johnson y Johnson, 1995; Wolin, 1960).

2.2.2. Metodologías para determinar producción y emisión de metano

En la metanogénesis la relación ácido acético:ácido propiónico puede predecir la producción de CH₄ y CO₂. Si esta relación llega a 0.5 la pérdida energética puede ser de 0%. Pero si todos los carbohidratos fuesen fermentados a ácido acético y no se produjera ácido propiónico, las pérdidas energéticas podrían llegar a ser del 33%; mientras que la relación acético:propiónico puede variar entre 0.9 a 4, por lo tanto las pérdidas por metano varían ampliamente (Johnson y Johnson, 1995; Wolin, 1960).

La estequiometría de las principales rutas de fermentación son:

- Reacciones productoras de H₂:



- Reacciones que utilizan de H₂:



Autores como Wolin (1960) han determinado estequiometricamente la estimación de CH₄ y CO₂ con relación a la producción de ácidos grasos volátiles (AGV). En donde se estima que 57.5 moles de glucosa (C₆H₁₃O₆) producen 65 moles de acético (CH₃CO₂H) + 20 moles de propiónico (CH₃CH₂CO₂H) + 15 moles de butírico (CH₃(CH₂)₂CO₂H) + Y moles de CO₂ + Z moles de CH₄. Para calcular la producción de CO₂ y CH₄ (Y y Z) se usan las ecuaciones siguientes.

$$Y = \frac{Ma}{2} + \frac{Mp}{4} + \frac{3Mb}{2}$$

donde:

Y = moles de CO₂

Ma = proporción molar del ácido acético

Mp = proporción molar del ácido propiónico

Mb = proporción molar del ácido butírico

Para el cálculo de CH₄, la propuesta de Wolin (1960) es la ecuación:

$$Z = Ma + 2Mb - Y$$

donde:

Z = moles de CH₄

Y = moles de CO₂

Ma = proporción molar del ácido acético

Mb = proporción molar del ácido butírico

La metodología propuesta por Wolin (1960) asume que todo el exceso de H₂ es convertido en CH₄ y no hay hidrógeno asociado con la síntesis de células microbiales y que de la fermentación de los sustratos no carbohidratados no se producen AGV. Cuando las células microbiales son incluidas en la estequiometría de la fermentación, los estimativos de la producción de metano pueden disminuir.

Otras metodologías consideran que las características del alimento para calcular la producción de metano. La ecuación de Blaxter y Claperton (1965) consideró inicialmente las características del alimento y es la base de la cual la mayoría de los estimativos de producción de metano se han derivado. Otra ecuación fue propuesta por Moe y Tyrrel en 1979, la cual también incorpora las características del alimento. Se deriva de mediciones realizadas en ganado con raciones diarias de alta calidad y su relación con residuos solubles, hemicelulosa y celulosa en la producción de metano (Carmona, 2005). Esta se determina como:

$$\text{CH}_4 = 3.406 + 0.510 (\text{residuo soluble}) + 1.736 (\text{hemicelulosa}) + 2.648 (\text{celulosa})$$

Donde CH₄ está en MJ/día y los residuos solubles, hemicelulosa y celulosa en kg /día.

Sin embargo, Johnson y Johnson (2005) anotan que es poco probable que una ecuación simple basada en las características del alimento tenga una predicción exacta de la producción de metano bajo condiciones de campo. Van Soest (1994) señala que las nuevas ecuaciones implementadas en la estimación de producción de metano indican que la digestibilidad del carbohidrato (hemicelulosa más que almidón) tiene efecto sobre la producción de metano.

Por otro lado, el CH₄ puede ser medido usando espectroscopía infrarroja, cromatografía de gas, espectroscopía de masa y técnicas de diodo láser (Johnson y Johnson, 1995). Las mediciones de metano *in vivo* requieren de equipos en muchas ocasiones no accesibles; una alternativa es estimar el metano a través de cálculos. Esto usualmente se realiza por ecuaciones de regresión de consumo de energía digestible (ED), las cuales ignoran las relaciones de ácidos grasos volátiles y el balance de carbono (IPCC, 2001). Esto conlleva que los valores de energía metabolizable (EM) puedan no ser buenos estimativos de la producción de metano.

El Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC) propone metodologías de estimación de CH₄ para el desarrollo de inventarios de gases efecto invernadero, utilizando el consumo de la ED. Dado que en México se utilizan estas metodologías para el desarrollo de los inventarios nacionales de GEI, esta información se desarrolla con mayor enfoque en la sección 2.2.3 “Metodologías para el cálculo de CH₄ provenientes de fermentación entérica y por excretas del INGEI, 2005” de este capítulo.

2.2.3. Metodologías para el cálculo de metano provenientes de fermentación entérica y por excretas del INGEI, 2005.

De acuerdo con el Inventario Nacional de Gases efecto invernadero (INGEI) (Ordoñez-Díaz, 2005), la metodología utilizada para el cálculo de las emisiones de metano (CH₄), es la propuesta por el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC). Los factores empleados en la fermentación entérica de ganado bovino, son promedios ponderados de los animales correspondientes de cada estrato del hato definido por función, forma de producción y edad. La estructura del hato que se toma como modelo es la registrada en el año de 1990 en virtud del detalle de la información y que en años posteriores ya no estuvo disponible. El factor de emisión de ganado lechero que registraron fue equivalente al de los países desarrollados, mientras que el factor reportado para ganado de carne y doble propósito fue ligeramente menor al sugerido por defecto para los países de Latinoamérica.

Por otro lado los factores de emisión utilizados para la cuantificación del CH₄ proveniente del manejo de excretas, es un promedio ponderado tomado de González Ávalos (1999), y González Ávalos y Ruiz Suárez (2001), obtenidos de estudios experimentales desarrollados en México.

Dado que el ganado bovino produjo el 99% de las emisiones de CH₄ por fermentación entérica y manejo de excretas se analizará únicamente la metodología para el cálculo de este gas para ganado bovino propuesta por el IPCC.

Ruiz Suárez y González Ávalos (1997) y Ruiz Suárez y colaboradores (1999) determinaron experimentalmente los factores de emisión asociados al manejo de desechos, a fin de mejorar las estimaciones y así poder determinar el potencial de mitigación de las emisiones generadas en este sector.

En el Cuadro 2.4, se muestra la hoja de cálculo en Excell de las emisiones de CH₄ provenientes de fermentación entérica y manejo de excretas del INGEI para el año 2002. Cabe señalar que esta hoja de cálculo es la propuesta por el IPCC, en el manual *“Orientación del IPCC sobre las buenas prácticas y la gestión de la incertidumbre en los inventarios nacionales de gases efecto invernadero”* (IPCC, 2002).

De acuerdo con la hoja de cálculo (Cuadro 2.4), el IPCC recomienda multiplicar el número de animales (columna A) de cada categoría por un factor de emisión apropiado (columna B para fermentación entérica y columna D para manejo de excretas). Los resultados parciales son la columna C para fermentación entérica y la columna E para manejo de excretas. Para obtener el resultado total se suman las emisiones de todas las categorías de animales de cada resultado parcial.

Cuadro 2.4. Hoja de cálculo Excel para la estimación de emisiones de CH₄ para fermentación entérica y manejo de excretas del INGEI, 2005.

| WORKSHEET | | 4-1 | | | | |
|------------------|--|---|--|--|---|--|
| SHEET | | 1 OF 2 METHANE EMISSIONS FROM DOMESTIC LIVESTOCK ENTERIC FERMENTATION AND MANURE MANAGEMENT | | | | |
| COUNTRY | | México | | | | |
| YEAR | | 2002 | | | | |
| Livestock Type | STEP 1 | | | STEP 2 | | STEP 3 |
| | A Number of Animals (1000s) | B Emissions Factor for Enteric Fermentation (kg/head/yr) | C Emissions from Enteric Fermentation (t/yr) | D Emissions Factor for Manure Management (kg/head/yr) | E Emissions from Manure Management (t/yr) | F Total Annual Emissions from Domestic Livestock (Gg) |
| | | | C = (A x B) | | E = (A x D) | F=(C + E)/1000 |
| Dairy Cattle | 2,166 | 104.353 | 226,044.15 | 0.694 | 1,504.11 | 227.55 |
| Non-dairy Cattle | 29,224 | 47.409 | 1,385,494.03 | 1.000 | 29,224.28 | 1,414.72 |
| Buffalo | | | 0.00 | | 0.00 | 0.00 |
| Sheep | 6,417 | 5 | 32,085.40 | 0.139 | 893.23 | 32.98 |
| Goats | 9,130 | 5 | 45,651.75 | 0.149 | 1,362.21 | 47.01 |
| Camels | | | 0.00 | | 0.00 | 0.00 |
| Horses | 3,152 | 18 | 56,731.75 | 1.803 | 5,681.29 | 62.41 |
| Mules & Asses | 1,825 | 10 | 18,245.10 | 0.986 | 1,799.27 | 20.04 |
| Swine | 15,123 | 1 | 15,122.89 | 0.694 | 10,500.86 | 25.62 |
| Poultry | 251,795 | 0 | 0.00 | 0.016 | 4,008.47 | 4.01 |
| Totals | | | 1,779,375.06 | | 54,973.71 | 1,834.35 |

(Ordoñez-Díaz, 2005)

A continuación se analiza la metodología propuesta por el IPCC para el cálculo de las emisiones de CH₄ de fermentación entérica para ganado bovino. Así también se analiza la metodología de González Avalos (1999) y la metodología del IPCC para el cálculo de las emisiones de CH₄ por el manejo de excretas.

2.2.3.1. Fermentación entérica

La metodología del IPCC, caracteriza las emisiones del ganado en dos fuentes:

- Emisiones de CH₄ procedentes de la fermentación entérica en el ganado doméstico;
- Emisiones de CH₄ procedentes del manejo del excretas

De acuerdo con el manual del IPCC para el cálculo de las estimaciones de emisiones, todos los métodos de estimación de las emisiones de CH₄ procedentes de categorías de fuentes relacionadas con el ganado requieren información tal como la definición de subcategorías de ganado vacuno, poblaciones anuales y estimaciones de la ingestión de alimentos, así como el tipo de clima (González y Ruiz, 1994).

La subcategoría del ganado vacuno en la metodología del IPCC, tanto para fermentación entérica, como para manejo de excretas (IPCC, 2002), se clasifican en:

- vacas lecheras de alto y bajo rendimiento que hayan parido por lo menos una vez y se utilicen principalmente para la producción lechera;
- vacas destinadas principalmente a la producción de carne;
- vacas utilizadas con más de un fin productivo: para producción de leche, para producción de carne, como animales de tiro.
- vacunos en crecimiento;
- vacunos alimentados principalmente con granos en corrales de engorde.

Por otro lado, de acuerdo con el Inventario Nacional de Gases efecto invernadero (INGEI), las categorías del ganado vacuno, utilizadas para la estimación de las emisiones de CH₄ por excretas, son: ganado lechero, ganado para carne y ganado de doble propósito. Estos están a su vez divididos en intensivo, semintensivo y de pastoreo (González-Avalos y Ruiz-Suárez, 2001 o bien González, 1999 y Ordoñez-Díaz, 2005). Dado que el INGEI utiliza la metodología para CH₄ de excretas de González (1999), el nivel de confiabilidad es el TIER2, mientras que para fermentación entérica se utilizan los factores de emisión propuestos por el IPCC, el nivel de confiabilidad es el TIER1.

Entonces para estimar las emisiones de CH₄, lo primero que se requiere es caracterizar el tipo de ganado en subcategorías. De esta manera, la metodología considera que la ingestión de alimentos en un animal representativo de cada subcategoría constituye un elemento de juicio que permite fundamentar las estimaciones de las emisiones calculadas por el método de nivel de confianza TIER2. La ingestión de alimentos se mide generalmente en unidades de energía (MJ/día) o de materia seca (kg/día) (IPCC, 2005).

Para estimar la ingestión de alimentos correspondiente a cada subcategoría de animales se requieren los siguientes datos sobre el rendimiento:

- **Peso (W), kg:** Deberán obtenerse datos sobre el peso en pie de cada subcategoría de animales, basados en la medición del peso de animales vivos. Puesto que no es realista pretender realizar un censo completo del peso en pie, estos datos podrán obtenerse de estudios de investigación, dictámenes de expertos o bases de datos estadísticos. Así, es necesario saber el peso promedio anual de cada categoría de animales.
- **Aumento promedio (o pérdida promedi) de peso por día (WG), kg/d:** Por lo general, los datos compilados sobre el aumento promedio de peso se refieren a animales confinados en corrales de engorde y a animales jóvenes en crecimiento. Generalmente se considera que los animales adultos no registran un aumento neto o una pérdida neta de peso al cabo de todo un año. Sin embargo, es conveniente reunir datos sobre el aumento y la pérdida de peso netos de los animales adultos en el caso de lugares con estaciones lluviosas y secas o temperaturas extremas. Los animales adultos pierden peso durante la estación seca y cuando hay temperaturas extremas, y suben de peso durante la estación lluviosa. En esas circunstancias, la ingestión de alimentos se debe estimar en forma separada para la estación lluviosa y la estación seca, así como para la estación cálida y la estación fría.
- **Peso adulto (MW), en kg:** El peso adulto es el peso corporal potencial que podría alcanzar un animal adulto si llegara a tener un 28% de grasa corporal (NRC, 1996 citado por IPCC, 2002 y 2006). El peso adulto varía según la raza del animal.
- **Condiciones de alimentación:** Se deberán determinar las condiciones de alimentación que representen con mayor exactitud la subcategoría de animales de que se trate, utilizando las definiciones que se indican a continuación. Si las condiciones de alimentación no se ajustan exactamente a alguna de esas definiciones, se deberán describir en detalle. Esta información detallada puede ser necesaria para calcular las emisiones procedentes de la fermentación entérica, ya que tal vez se requiera una interpolación entre las distintas condiciones de alimentación para poder asignar el coeficiente más apropiado. En las condiciones de alimentación son las siguientes:

- En confinamiento o a resguardo. Los animales se encuentran confinados a un espacio reducido (amarrados, en un corral, en un establo) y por lo tanto gastan muy poca energía para obtener su alimento.
 - En praderas Los animales se encuentran confinados en áreas con suficiente forraje, lo que les exige un gasto modesto de energía para la obtención de su alimento.
 - Pastoreo en zonas extensas. Los animales pastorean en zonas de gran extensión o en terreno accidentado, y gastan por ende una gran cantidad de energía para obtener su alimento.
- Producción media de leche por día, en kg/día. Estos datos corresponden a vacas en ordeño y que estén amamantando terneros. La producción media por día deberá calcularse dividiendo la producción anual total por 365, o declararse como la producción media por día junto con los días de lactancia por año, o estimarse dividiendo la producción estacional por el número de días por estación.
 - Contenido graso, en %: Se deberá determinar el contenido graso medio de la leche producida por todas las vacas que estén amamantando terneros.
 - Porcentaje de hembras que paren por año.
 - Digestibilidad de los alimentos (ED). Por digestibilidad de los alimentos se entiende la proporción de energía existente en los alimentos que no se excreta en las heces. Por lo general, la digestibilidad de los alimentos se expresa en términos porcentuales (%). Los rangos habituales de la digestibilidad de los alimentos son de 50% a 60% para los subproductos de los cultivos y las tierras de pastoreo, de 60% a 75% para las praderas de buena calidad, los forrajes bien conservados y las dietas basadas en forrajes con suplemento de granos, y de 75% a 85% para las dietas basadas en granos en corrales de engorde. Los datos sobre la digestibilidad deben basarse en valores obtenidos mediante mediciones de los alimentos o forrajes de mayor consumo, teniendo en cuenta las variaciones estacionales. Al establecer los datos de digestibilidad también deberán registrarse, cuando se disponga de ellos, los datos sobre otras características conexas de los alimentos, como los valores de medición de la fibra detergente neutra (FDN), la fibra detergente ácida (FDA) y la proteína cruda. La FDN y la FDA son características de los alimentos que se miden

en el laboratorio y se utilizan para indicar el valor nutritivo de los alimentos para animales rumiantes. La concentración de proteína cruda en los alimentos puede usarse para estimar la excreción de nitrógeno.

Los datos sobre el rendimiento de los animales se usan para estimar la ingestión de energía bruta (EB), que es la cantidad de energía (MJ/día) que necesita un animal para actividades como el crecimiento, la lactancia y la preñez.

Las ecuaciones utilizadas para calcular la EB provenientes de IPCC 2002 y 2006, se presentan a continuación. Dado que existen diferencias entre algunas ecuaciones para el cálculo parcial de energía entre la traducción en inglés y español de los documentos oficiales del IPCC, se hace una comparación en aquellas ecuaciones con estas diferencias.

Mantenimiento (ENm) es la energía neta necesaria para el mantenimiento, es decir, la cantidad de energía que requiere el animal para mantener su equilibrio cuando no se produce aumento ni pérdida de tejido corporal (Jurgen, 1988 citado por IPCC, 2002 y 2006).

$$ENm = Cfi (\text{Peso})^{0.75} \quad \text{ecuación 1}$$

donde:

ENm = energía neta necesaria para el mantenimiento del animal, en MJ/día

Cfi = coeficiente que varía para cada categoría de animales (Cuadro 2.5)

Peso = peso en pie del animal, en kg

Cuadro 2.5. Coeficientes para el cálculo de ENm

| Categoría de animales | Cfi |
|--|------------|
| Ganado vacuno (fuera del periodo de lactancia) | 0.322 |
| Ganado vacuno (en periodo de lactancia) | 0.386 |

NRC, 1996 y AFRC, 1993, citado por IPCC, 2006.

Actividad (ENa) es la energía neta necesaria para la actividad, es decir, la energía que requiere el animal para obtener su alimento (IPCC, 2002 y 2006).

$$ENa = (Ca)(ENm) \quad \text{ecuación 2}$$

donde:

ENa = energía neta necesaria para la actividad del animal, en MJ/día

Ca = coeficiente correspondiente a las condiciones de alimentación del animal (Cuadro 2.6)

ENm = energía neta que requiere el animal para su mantenimiento (ecuación 1), en MJ/día

Cuadro 2.6. Coeficientes de actividad correspondientes a las condiciones de alimentación del animal (ganado vacuno).

| Condiciones de alimentación | Definición | Ca |
|-----------------------------|---|------|
| En confinamiento | Los animales se encuentran confinados a un espacio reducido (p.ej., amarrados, en un corral, en un establo), y por lo tanto gastan muy poca energía, o ninguna, para obtener su alimento. | 0 |
| En praderas | Los animales se encuentran confinados en áreas con suficiente forraje, lo que les exige un gasto modesto de energía para la obtención de su alimento. | 0.17 |
| Pastoreo en áreas extensas | Los animales pastorean en zonas muy extensas o en terreno accidentado, por lo que gastan una gran cantidad de energía para obtener su alimento. | 0.36 |

NRC, 1996 y AFRC, 1993, citados por IPCC, 2002 y 2006

Crecimiento (ENc) es la energía neta necesaria para el crecimiento (es decir, para el aumento de peso). La ecuación de ENc incluye un factor de escala de peso para animales adultos. Cuando se desee caracterizar una categoría de animales que muestre una pérdida de peso neto durante un cierto período de tiempo (p.ej. el ganado vacuno durante la estación seca), no se deberá utilizar la ecuación 3, sino aplicar directamente las ecuaciones para *Pérdida de peso en el ganado vacuno* (ecuaciones 4a y 4b) (IPCC, 2002 y 2006).

$$ENc = 4.18 \cdot \{0,0635 \cdot [0.891 \cdot (PP \cdot 0.96) \cdot (478/(C \cdot PC))]^{0,75} \cdot (AP \cdot 0.92)^{1.097}\} \quad ENc = 22.02 (PP /C PC)^{0.75} AP^{1.097}$$

donde:

ENc = energía neta necesaria para el crecimiento, en MJ/día

PP = peso en pie del animal, en kg

C = coeficiente con un valor de 0,8 para hembras, 1,0 para animales castrados y 1,2 para toros (NRC,1996, citado por IPCC, 2002 y 2006)

PC = peso corporal de un animal adulto, en kg

AP = aumento de peso por día, en kg/día

IPCC, 2002

ecuación 3a

donde:

ENc = energía neta necesaria para el crecimiento, en MJ/día

PP = peso en pie del animal, en kg

C = coeficiente con un valor de 0,8 para hembras, 1,0 para animales castrados y 1,2 para toros (NRC,1996, citado por IPCC, 2002 y 2006)

PC = peso corporal de un animal adulto, en kg

AP = aumento de peso por día, en kg/día

IPCC, 2006

ecuación 3b

Como se puede observar en las ecuaciones 3a y 3b, se presentan ecuaciones distintas en los dos documentos oficiales del IPCC.

El IPCC (2002) menciona que se debe considerar, inclusive el destete de los corderos a lo largo de varias semanas, en cuanto complementan su dieta láctea, de tal forma que el destete es el período durante el cual los corderos dependen de la leche para obtener la mitad de la energía que necesitan.

Pérdida de peso en el ganado vacuno (ENmovilizada). Cuando un animal pierde peso, el valor de la ENmovilizada representa la energía inherente a la pérdida de peso que el animal podría utilizar para su mantenimiento. En general, al preparar un inventario no se observa la pérdida de peso, porque los datos se obtienen normalmente para describir el cambio de peso en un año determinado, y el ganado vacuno adulto no suele mostrar cambios de peso de un año para el otro. Sin embargo, los animales a veces pierden peso durante una parte del año y aumentan de peso durante otra. Además, una vaca lechera de alto rendimiento suele perder peso al comienzo del período de lactancia, cuando los tejidos

corporales se dedican a suministrar la energía necesaria para producir leche. Generalmente el peso se recupera más adelante, en el transcurso del año (IPCC, 2002 y 2006).

Energía neta debida a pérdida de peso (vacas lecheras en período de lactancia

$$\text{ENmovilizada} = (19.7) (\text{Pérdida de peso}) \quad \text{ecuación 4a}$$

donde:

ENmovilizada = energía neta debida a la pérdida de peso (movilizada), en MJ/día

Pérdida de peso = peso que pierde el animal por día, en kg/día, considerándose como un valor negativo, por lo que la ENmovilizada se expresa también como una cifra negativa.

En el caso de otro tipo de ganado vacuno, la cantidad de energía movilizada por la pérdida de peso se calcula: 1) insertando la cantidad de peso perdido (kg/día) como valor positivo en la ecuación 3 para el cálculo de la ENc, y 2) calculando la ENmovilizada mediante la multiplicación de ENc por el factor -0.8 (NRC, 1996; citado por IPCC, 2002).

Energía neta debida a pérdida de peso (otro tipo de ganado vacuno)

$$\text{ENmovilizada} = \text{ENc} (-0.8) \quad \text{ecuación 4b}$$

El documento del IPCC 2006, no considera la ecuación de la ENmovilizada para vacas lecheras en período de lactancia, ni para otro tipo de ganado vacuno. En este caso se consideró oportuno incluir las ecuaciones de IPCC 2002 por considerarse un documento oficial en español. Este dato se incluye en la ecuación final del cálculo de la energía bruta EB.

Lactancia (ENI) es la energía neta necesaria para la secreción de leche. En el ganado vacuno la energía neta que necesita el animal para segregar leche se expresa como una función de la cantidad de leche producida y su contenido graso expresado como porcentaje (NRC, 1989, citado por IPCC, 2002 y 2006).

$$\text{ENI} = \text{kg de leche por día} [1,47 + (0,40 \cdot \text{Grasa})] \quad \text{ecuación 5}$$

donde:

ENl = energía neta necesaria para la lactancia, en MJ/día

Grasa = contenido de grasa de la leche, en %

Labor (ENt) es la energía neta que necesita el animal para trabajar. Se utiliza para estimar la energía requerida para la potencia de tiro del ganado vacuno. Las necesidades de energía para suministrar esta potencia de tiro han sido resumidas por diversos autores (p.ej. Lawrence, 1985; Bamualim y Kartiarso, 1985, e Ibrahim, 1985, citados por IPCC, 2005). La intensidad de la labor realizada por el animal influye en sus necesidades de energía, por lo que se ha estimado un rango amplio de necesidades energéticas. Estos valores propuestos indican que, por cada hora de labor habitual de los animales de tiro, se requiere aproximadamente el 10% de las necesidades diarias de ENm (ecuación 1) (IPCC, 2002 y 2006).

$$ENt = (0.10) (ENm) (\text{horas de labor por día}) \quad \text{ecuación 6}$$

donde:

ENt = energía neta que necesita el animal para trabajar, en MJ/día

ENm = energía neta requerida por el animal para su mantenimiento (ecuación 1), en MJ/día

Preñez (ENp) representa la energía requerida durante la preñez. En el caso del ganado vacuno se calcula que la necesidad total de energía para la preñez, considerando un período medio de gestación de 281 días en el año, equivale al 10% de la ENm (ecuación 1) (IPCC, 2002 y 2006).

$$ENp = Cp (ENm) \quad \text{ecuación 7}$$

donde:

ENp = energía neta necesaria para la preñez, en MJ/día

Cp = coeficiente de preñez (para el caso de ganado vacuno y búfalos la Cp tiene un valor de 0.10 de acuerdo con el NRC,1996, citado por IPCC, 2002 y 2006)

ENm = energía neta requerida por el animal para su mantenimiento (ecuación 1), en MJ/día

Al utilizar la ENp para calcular la EB del ganado vacuno, la estimación de la ENp debe ponderarse en función de la cantidad de hembras adultas que efectivamente pasan por un período de gestación en el curso de un año. Por ejemplo, si el 80% de las hembras adultas de una categoría de animales dan cría en el curso de un año, entonces se utilizará el 80% del valor de la ENp en la ecuación relativa a la EB.

Razón entre la energía neta disponible en una dieta de mantenimiento y la energía digestible (o asimilable) consumida (ENma/ED) (IPCC, 2002 y 2006).

$$\frac{ENma}{ED} = \left\{ 1.123 - [4.092 \times 10^{-3}(ED)] + [1.126 \times 10^{-5}(ED^2)] - \frac{25.4}{ED} \right\} \quad \text{ecuación 8}$$

donde:

ENma/ED = relación entre la energía neta disponible en una dieta de mantenimiento y la energía digestible consumida

ED = energía digestible expresada como porcentaje de la energía bruta

Relación entre la energía neta disponible para el crecimiento en una dieta y la energía digestible consumida (ENcre/ED) (IPCC, 2002 y 2006).

$$\frac{ENcre}{ED} = \left\{ 1.164 - [5.16 \times 10^{-3}(ED)] + [1.308 \times 10^{-5}(ED^2)] - \frac{37.4}{ED} \right\} \quad \text{ecuación 9}$$

donde:

ENcre/ED = relación entre la energía neta disponible para el crecimiento en una dieta, y la energía digestible consumida

ED = energía digestible expresada como porcentaje de la energía bruta

Energía bruta (EB). La EB se calcula sobre la base de las estimaciones de la energía neta y las características de los alimentos. En los documentos originales del IPCC 2002 y 2005, con relación al ganado ovino, en la ecuación de la energía bruta se considera la energía neta requerida para la producción anual de lana, dado que en este estudio solamente se analiza las emisiones de metano por ganado vacuno se asume este dato con un valor de cero.

$$EB = \frac{\left[\frac{ENm + ENmovilizada + ENa + ENI + ENt + ENp}{(ENma / ED)} \right] + \left[\frac{ENc}{(ENcre / ED)} \right]}{(ED / 100)}$$

Ecuación 10a (IPCC, 2002)

$$EB = \frac{\left[\frac{ENm + ENa + ENI + ENt + ENp}{(ENma / ED)} \right] + \left[\frac{ENc}{(ENcre / ED)} \right]}{(ED / 100)}$$

Ecuación 10b (IPCC, 2006)

donde:

EB = energía bruta, en MJ/día

ENm = energía neta requerida por el animal para su mantenimiento (ecuación 1), en MJ/día

ENmovilizada = energía neta debida a pérdida de peso (ecuaciones 4a y 4b), en MJ/día

ENa = energía neta necesaria para la actividad del animal (ecuación 2), en MJ/día

ENI = energía neta necesaria para la secreción de leche (ecuación 5), en MJ/día

ENt = energía neta requerida para la labor (ecuación 6), en MJ/día

ENp = energía neta necesaria para la preñez (ecuación 7), en MJ/día

ENma/ED = relación entre la energía neta para mantenimiento presente en una dieta y la energía digestible consumida (ecuación 8)

ENc = energía neta necesaria para el crecimiento (ecuaciones 3a y 3b), en MJ/día

ENcre/ED = relación entre la energía neta disponible para el crecimiento en una dieta, y la energía digestible consumida (ecuación 9)

ED = energía digestible expresada como porcentaje de la energía bruta

La diferencia de la ecuación 10a con respecto a la 10b se encuentra en que en esta última no se considera la energía neta debida a pérdida de peso (ENmovilizada).

Una vez calculados los valores de EB para cada subcategoría de animales, también deberá calcularse la ingestión de alimentos en unidades de kilogramo de materia seca por día (kg/día), y compararse con el peso del animal representativo de la subcategoría. Para convertir las unidades de energía bruta (EB) en ingestión de materia seca, se deberá dividir dichas unidades por la densidad de energía existente en el alimento. Cuando no se disponga

de información específica sobre un determinado alimento, se podrá usar el valor por defecto de 18,45 MJ/kg. La ingestión diaria de materia seca resultante debería ser del orden de 1% a 3% del peso corporal del animal.

Cálculo de emisiones de CH₄ por fermentación entérica. Con el fin de estimar las emisiones de CH₄ procedentes de la fermentación entérica, el IPCC recomienda multiplicar el número de animales de cada categoría por un factor de emisión apropiado. Luego se suman las emisiones de todas las categorías de animales para obtener el total. A fin de mantener la coherencia de los datos básicos, se requiere utilizar la caracterización de una única población de ganado como marco para estimar las emisiones de CH₄ procedentes de la fermentación entérica, así como las procedentes del manejo del estiércol

El IPCC propone dos métodos de carácter general para estimar las emisiones procedentes de la fermentación entérica, considerando la importancia de las emisiones de CH₄ de esta fuente, con relación a la caracterización de la actividad ganadera.

El método de nivel 1 es un método simplificado que se basa en factores de emisión basado en estudios anteriores. Este método de nivel 1 es muy general.

El método de nivel 2 es un método más complejo, para el cual se requieren datos detallados y específicos sobre las necesidades de nutrientes, la ingestión de alimentos y las tasas de conversión del CH₄ aplicables a determinados tipos de alimentos, que más tarde se utilizan para calcular los factores de emisión correspondientes a las categorías de ganado definidas. Este método se utiliza cuando la fermentación entérica constituye una categoría principal de fuentes.

Método del nivel TIER 1. Para el método del nivel 1, se requieren utilizar los datos sobre las categorías de ganado y la producción de leche para seleccionar factores de emisión, considerados en el Cuadro 5 del Manual de Referencia de las *Directrices del IPCC* (IPCC, 1996). De acuerdo con la ecuación 11, el factor de emisión se multiplica por el número de animales para determinar las emisiones totales procedentes de cada categoría

de ganado. Las emisiones totales de esta categoría de fuentes equivalen a la suma de todas las categorías de ganado, como se describe en la ecuación 11.

$$Emisiones = \frac{(FE)(población)}{106 \frac{kg}{Gg}} \quad \text{ecuación 11}$$

donde:

Emisiones = emisiones de metano procedentes de la fermentación entérica, en Gg de CH₄/año

FE = factor de emisión correspondiente a una población específica, en kg/cabeza/año (Cuadro 2.7)

Población = número de animales, en cabezas

Cuadro 2.7. Factores de emisión de metano procedentes de la fermentación entérica del ganado vacuno

| Características regionales | Tipo de ganado | Factores de emisión (kg CH ₄ /cabeza/año) | Comentarios |
|--|----------------|--|--|
| América del Norte: Sector lácteo muy productivo y comercializado, con alimentación de elevada calidad a base de forraje y grano. Rebaños separados, de vacas para carne, principalmente en pastoreo con suplementos alimenticios estacionales. Terneras y novillos para carne de rápido crecimiento alimentados con grano en la etapa final en corrales de engorde. Las vacas lecheras representan una pequeña parte de la población. | Lechero | 118 | Producción media de leche de 6700 kg/ cabeza/año |
| | No lechero | 47 | Incluye vacas, toros, terneras y novillas para carne y ganado de cría. |
| Europa Occidental: Sector lácteo muy productivo y comercializado, con alimentación de elevada calidad a base de forraje y grano. Las vacas lecheras se utilizan también para la producción de novillos para carne. El rebaño de vacas para carne es poco numeroso. La alimentación con granos en corrales de engorde es poco frecuente. | Lechero | 100 | Producción media de leche de 4200 kg/ cabeza /año |
| | No lechero | 48 | Incluye vacas, toros, becerros y cría de terneras y novillos. |
| Europa Oriental: Sector lácteo comercializado, con alimentación de forraje. Rebaño separado de vacas para carne, principalmente en pastoreo. Pocos animales criados en corrales de engorde y alimentados con grano. | Lechero | 81 | Producción media de leche de 2550 kg/ cabeza/año |
| | No lechero | 56 | Incluye vacas, toros, y crías de razas para carne. |
| Oceanía: Sector lácteo comercializado, basado en el pastoreo. Rebaños separados de vacas para carne, principalmente en pastoreo en extensos terrenos de distintas calidades. Va en aumento el número de animales criados en corrales de engorde y alimentados con grano. Las vacas lecheras representan una pequeña parte de la población. | Lechero | 68 | Producción media de leche de 1700 kg/ cabeza/año |
| | No lechero | 53 | Incluye vacas, toros y crías de razas para carne. |
| América Latina: Sector lácteo comercializado, basado en el pastoreo. Rebaños separados de vacas para carne, principalmente en pastoreo en pastizales y prados. Reducido número de animales criados en corrales de engorde y alimentados con grano. La cría de ganado vacuno constituye la mayor parte de la población. | Lechero | 57 | Producción media de leche de 800 kg/ cabeza/año |
| | No lechero | 49 | Incluye vacas, toros y crías de raza para carne. |

| | | | |
|---|------------|----|---|
| <p>Asia: Pequeño sector lácteo comercializado. La mayor parte del ganado se emplea para varios propósitos, utilizándolos como animales de tiro y para producir leche en regiones agrícolas. Pequeña población en pastoreo. Todos los tipos de ganado son más pequeños que los encontrados en la mayoría de las demás regiones.</p> | Lechero | 56 | Producción media de leche de 1650 kg/cabeza /año |
| | No lechero | 44 | Incluye vacas, toros y crías para múltiples fines. |
| <p>África y Oriente Medio: Sector lácteo comercializado, basado en el pastoreo con baja productividad por vaca. La mayor parte del ganado sirve para varios propósitos, y se utiliza como animales de tiro y para producir leche en las regiones agrícolas. Parte del ganado en pastoreo por extensas áreas. El ganado de todos los tipos es más pequeño que el de la mayoría de las otras regiones.</p> | Lechero | 36 | Producción media de leche de 475 kg/cabeza /año |
| | No lechero | 32 | Incluye vacas, toros y crías de razas para múltiples usos. |
| <p>Subcontinente indio: Sector lácteo comercializado, con alimentación basada en subproductos de las cosechas y con baja producción por vaca. La mayoría de los bueyes se utilizan como animales de tiro y las vacas producen algo de leche en las regiones granjeras. Pocos animales en pastoreo. El ganado de todos los tipos es más pequeño que el criado en la mayoría de las otras regiones.</p> | Lechero | 46 | Producción media de leche de 900 kg/cabeza /año |
| | No lechero | 25 | Incluye vacas, toros y crías. Las crías constituyen la mayor parte de la población. |

IPCC, 1996

Por lo tanto, las emisiones totales se calculan sumando las emisiones parciales de cada subcategoría.

$$\text{Emisiones totales de CH}_4 = \sum E_i \quad \text{ecuación 12}$$

donde:

Emisiones totales de CH₄ = emisiones totales de metano procedentes de la fermentación entérica, en Gg de CH₄/año

E_i = emisiones correspondientes a la cantidad *i* de categorías y subcategorías de ganado

Método de nivel TIER 2 (IPCC, 1996c). En el método de nivel 2 también se utiliza la ecuación 11 para calcular las emisiones, pero aplicándola a categorías de población de ganado más desglosadas y usando factores de emisión calculados, en lugar de valores por defecto. La ecuación 12 deberá utilizarse para sumar las emisiones procedentes de las categorías desglosadas de especies de ganado correspondientes a todas las especies de

ganado, a fin de obtener las emisiones totales del país. Los aspectos fundamentales del método de nivel 2 son la determinación de factores de emisión y la reunión de datos de actividad detallados.

Cuando se aplica el método de nivel 2, los factores de emisión correspondientes a categoría de animales se estiman utilizando los datos detallados obtenidos mediante la caracterización del ganado.

Para la elección de los factores de emisión, primero se deberá determinar un factor de emisión para cada categoría de animales utilizando la ecuación 13.

$$FE = \frac{(EB)(Ym)\left(365\frac{\text{días}}{\text{año}}\right)}{55.65\frac{\text{MJ}}{\text{kg}}\text{CH}_4} \quad \text{ecuación 13}$$

donde:

FE = factor de emisión, en kg de CH₄/cabeza/año (Cuadro 5)

EB = absorción de energía bruta, en MJ/cabeza/día (ecuación 10)

Ym = tasa de conversión del metano, que es la fracción de energía bruta presente en los alimentos que se convierte en metano

Obtención de la tasa de conversión del metano (Ym). La medida en que la energía presente en los alimentos se convierte en CH₄ depende de varios factores de dichos alimentos y del propio animal, que interactúan entre sí. Dado que en México no se han desarrollado investigaciones para obtener las tasas de conversión del CH₄ por fermentación entérica, se podrían utilizar los valores indicados en el Cuadro 2.8, “Tasas de conversión del CH₄ para el ganado vacuno y los búfalos”, para esas dos subcategorías de ganado. Estas estimaciones generales constituyen una guía aproximada que se basa en las características generales de los alimentos y las prácticas de producción propias de muchos países desarrollados y en desarrollo. Cuando se disponga de alimentos de buena calidad, de gran digestibilidad y alto valor energético, se usarán los valores inferiores. Cuando la alimentación disponible sea de menor calidad, será mejor utilizar los valores superiores. Se

parte de la base de una tasa de conversión del CH₄ igual a cero para todos los animales jóvenes lactantes.

Cuadro 2.8. Tasas de conversión del CH₄ para el ganado vacuno y los búfalos

| Países | Tipo de Ganado | Ym |
|----------------------|---|--------------|
| Países desarrollados | Ganado vacuno alimentado en corral de engorda (Cuando la dieta contiene 90% o más de concentrados) | 0.04 ± 0.005 |
| | Resto del ganado vacuno | 0.06 ± 0.005 |
| Países en desarrollo | Vacas lecheras (vacunos y búfalos) y sus crías | 0.06 ± 0.005 |
| | Otro ganado vacuno y búfalos alimentados fundamentalmente con residuos y subproductos agrícolas de baja calidad | 0.07 ± 0.005 |
| | Otro ganado vacuno o búfalos en África en pastoreo | 0.07 ± 0.005 |
| | Otro ganado vacuno o búfalos en países en desarrollo con excepción de África en pastoreo | 0.06 ± 0.005 |

IPCC, 1996.

2.2.3.2. Manejo de excretas. El estiércol del ganado está compuesto principalmente de materia orgánica. Cuando esa materia orgánica se descompone en un medio anaeróbico, las bacterias metanogénicas producen metano (CH₄). Estas condiciones se dan a menudo cuando se manejan excretas, independientemente de las cantidades, en espacios limitados (como tambos, granjas porcinas y de aves de corral, y corrales para engorde de ganado de carne, donde el estiércol suele almacenarse en grandes pilas o se vierte en tanques de almacenamiento o estanques anaeróbicos).

En este apartado se pretende analizar la metodología de la estimación de emisiones, tanto del IPCC y González (1999), para el uso en el Inventario de Emisiones de GEI de México.

Para estimar las emisiones de CH₄ procedentes de los sistemas de manejo del estiércol, se debe dividir la población de animales en las especies y categorías aplicables que reflejen

las diversas cantidades de estiércol que produce cada animal y la forma de manejo del estiércol. Esta caracterización es la misma que la indicada para la Metodología para el cálculo de emisiones de CH₄ de fermentación entérica, vista en la sección 2.3.2.1. del presente capítulo.

De manera general el factor de emisión para la estimación de CH₄ por manejo de excretas se presenta en la ecuación 14.

$$Emisiones\ de\ CH_4 = \frac{(FE)(Población)}{\frac{10^6\ kg}{Gg}} \quad \text{ecuación 14}$$

donde:

Emisiones de CH₄(mm) = emisiones de CH₄ procedentes del manejo del estiércol para una población definida, en Gg/año

Factor de emisión = factor de emisión correspondiente a la población de ganado definida, en kg/cabeza/año

Población = el número de cabezas que integra la población de ganado definida

En las Directrices del IPCC se prevén dos niveles de estimación de las emisiones de CH₄ procedentes del estiércol del ganado. El método de nivel 1 es un método simplificado para el cual sólo es necesario contar con datos, sobre la población de ganado, desglosados por especie o categoría de animales y por región climática (fría, templada, cálida) a efecto de estimar las emisiones. El método de nivel 2 es un método detallado de estimación de las emisiones de CH₄ procedentes de los sistemas de manejo del estiércol, y se recomienda su uso a los países en los que una determinada especie o categoría de ganado representa una proporción importante de las emisiones. Para aplicar este método es necesario tener información detallada sobre las características de los animales y la forma de manejo del estiércol. Con esta información se pueden determinar factores de emisión que respondan específicamente a las condiciones del país (IPCC,1996).

Cuando se aplica el método de nivel 1, se usan factores de emisión por defecto. Estos factores de emisión por defecto se indican en el Cuadro 2.9 de América del Norte, así como de América Latina (IPCC,1996).

Cuadro 2.9. Factores de emisión para el manejo de estiércol del ganado vacuno.

| Características regionales | Tipo de ganado | Factores de emisión por región climática ^a kg/cabeza/año | | |
|---|-------------------|---|----------|--------|
| | | Fría | Templada | Cálida |
| América el Norte: Por lo general se emplean sistemas de tipo líquido para el estiércol de las vacas lecheras. El estiércol del ganado no lechero se maneja generalmente en forma sólida y se deposita en pastizales o prados. | Ganado lechero | 36 | 54 | 76 |
| | Ganado no lechero | 1 | 2 | 3 |
| América Latina: casi todo el estiércol del ganado se trata como sólido en pastizales y prados. | Ganado lechero | 0 | 1 | 2 |
| | Ganado no lechero | 1 | 1 | 1 |

a. Los climas fríos tienen una temperatura media inferior a 15°C, los climas templados tienen una temperatura media comprendida entre los 15 y 25°C y los climas cálidos tienen una temperatura media superior a los 25°C. IPCC,1996

El nivel comienza con la identificación de los sólidos volátiles excretados por los animales (SV, en kg) y la determinación de la capacidad máxima de producción de CH₄ del estiércol (Bo, en m³/kg de SV). Además, para cada sistema de manejo del estiércol debe obtenerse un factor de conversión del CH₄ (FCM) que refleje la influencia del clima en la producción de CH₄.

Tasas de excreción de SV: La mejor forma de obtener las tasas medias de excreción diaria de SV es utilizar datos extraídos de publicaciones específicas del país de que se trate. Si no es posible obtenerlas de esa manera, las tasas de excreción de SV específicas del país pueden estimarse a partir de los niveles de ingestión de alimentos. En el caso del ganado vacuno, la ingestión de alimentos puede estimarse utilizando el método de caracterización “minuciosa” que se describe a continuación.

Se considera que la ingestión de alimentos en un animal representativo de cada subcategoría constituye un elemento de juicio que permite fundamentar las estimaciones de las emisiones calculadas por el método de nivel 2. La ingestión de alimentos se mide generalmente en unidades de energía (p.ej., MJ/día) o de materia seca (p.ej., kg/día). Para estimar la ingestión de alimentos correspondiente a cada subcategoría de animales se requieren de obtener la cantidad de energía bruta (EB) descrita en la ecuación 10a y 10b de la sección “2.3.2.1. Metodología para el cálculo de emisiones de CH₄ por fermentación entérica”.

Para convertir las unidades de la EB en ingestión de materia seca, se deberá dividir dichas unidades por la densidad de energía existente en el alimento. Cuando no se disponga de información específica sobre un determinado alimento, se podrá usar el valor por defecto de 18.45 MJ/kg. La ingestión diaria de materia seca resultante debería ser del orden de 1% a 3% del peso corporal del animal.

Una vez estimada la ingestión de alimentos, la tasa de excreción de SV se determina con la ecuación 15.

$$SV = (EB) \left(\frac{1 \text{ kg dm}}{18.45 \text{ MJ}} \right) \left(1 - \frac{ED}{100} \right) \left(1 - \frac{\text{cenizas}}{100} \right) \quad \text{ecuación 15}$$

donde:

SV = excreción de sólidos volátiles por día sobre la base del peso de la materia seca, en kg-dm/día

EB = Energía bruta estimada de la ingestión media de alimentos por día, en MJ/día

ED = Energía digestible presente en los alimentos, en porcentaje (p.ej. 60%)

cenizas = contenido de cenizas del estiércol, en porcentaje (p.ej. 8%)

Nota: El valor 18.45 representa la densidad de energía de los alimentos expresada en MJ por kg de materia seca. Este valor se mantiene relativamente constante en una amplia gama de forrajes y alimentos a base de granos consumidos por el ganado.

El contenido de cenizas del estiércol del ganado vacuno y de los búfalos es en general de aproximadamente 8% (IPCC, 1996). En cuanto al contenido de cenizas, se pueden usar

valores de 2% para los países desarrollados y de 4% para los países en desarrollo (IPCC, 1996).

El valor de ED que se aplique para el ganado vacuno debe ser el mismo valor que el utilizado en la sección “2.3.2.1. Metodología para el cálculo de emisiones de CH₄ por fermentación entérica”, de este capítulo.

Si no es posible determinar valores SV específicos para el país, se pueden usar las tasas de producción de SV por que figuran propone el IPCC para Latinoamérica, estos factores por defecto se calcularon a partir de datos relativos a los valores medios de ingestión y digestibilidad de los alimentos, y se considera que son razonablemente fiables.

Valores de capacidad máxima de producción de CH₄ del estiércol (Bo): El método ideal para obtener los valores de medición de Bo es utilizar datos de publicaciones específicas del país, medidas con un método normalizado. Es importante uniformar la forma de medición de Bo, incluido el sistema de muestreo. Si no se dispone de valores de medición de Bo específicos del país, se puede recurrir a los valores que el IPCC propone para Latinoamérica del Cuadro 2.10

Cuadro 2.10. Valores de ED y Bo propuestos por el IPCC para América Latina.

| Categoría de animal | VS (kg/h/d) | Bo (m ³ CH ₄ /kg VS) |
|----------------------------------|----------------|---|
| Ganado vacuno lechero (promedio) | 2.91 | 0.13 |
| Ganado no lechero maduro hembra | 2.95 | 0.10 |
| Ganado no lechero maduro macho | 2.87 | 0.10 |
| Ganado no lechero joven | 2.14 | 0.10 |

Valores del factor de conversión del CH₄ (FCM): El IPCC indica valores por defecto del FCM para distintos sistemas de manejo del estiércol y zonas climáticas, enlistadas en el Cuadro 2.11. Sin embargo, estos valores no siempre contemplan el gran potencial de variación dentro de las categorías definidas de sistemas de manejo. Por lo tanto, si es

posible se deberán determinar valores de FCM específicos de cada país. Es preferible realizarse mediciones de campo para cada región climática, a fin de reemplazar los valores por defecto del FCM, originados teóricamente.

$$FCM = \frac{(CH_4prod - CH_4usado - CH_4quemado + FCMalmacenado)(Bo - CH_4prod)}{Bo} \times 100 \quad \text{ecuación 16}$$

donde:

CH₄ prod = producción de metano en digestor, (l CH₄/gSV agregado).

CH₄ usado = volumen de metano usado para generar energía, (l CH₄/gSV agregado)

CH₄ quemado = volumen de metano quemado en antorcha, (l CH₄/gSV agregado)

FCMalmacenado = CH₄ emitido durante el almacenamiento del estiércol digerido (%)

Cuando se incluye un almacenamiento hermético a prueba de fugas de gas:

FCMalmacenado = 0 ; de lo contrario FCMalmacenado = valor de FCM para almacenamiento en estado líquido

Finalmente la ecuación 17 muestra la forma de calcular el factor de emisión de CH₄ procedente del manejo del estiércol.

$$FE_i = (SV_i) \left(365 \frac{\text{días}}{\text{año}} \right) (Bo_i) \left(0.67 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right) \sum_{(jk)} (FCM_{jk}) (SM_{ijk}) \quad \text{ecuación 17}$$

donde:

FE_i = factor de emisión anual de la población de ganado definida *i*, en kg

SV_i = excreción diaria de SV de un animal dentro de la población definida *i*, en kg

Bo_i = capacidad máxima de producción de CH₄ del estiércol de un animal dentro de la población definida *i*, en m³/kg de SV

FCM_{jk} = factores de conversión del CH₄ para cada sistema *j* de manejo del estiércol, por zona climática *k*

SM_{ijk} = fracción del estiércol de la especie o categoría de animales *i*, tratado con el sistema de manejo *j*, en la zona climática *k*

Cuadro 2.11. Valores de FCM para los sistemas de manejo del estiércol

| Sistema | Definición | Valores del FCM por clima % | | | Observaciones |
|---|--|-----------------------------|----------|----------|---|
| | | Frío | Templado | Cálido | |
| Praderas y pastizales | El estiércol de animales en pastoreo en pastizales y prados se deja como está, y no se maneja. | 1 | 1.5 | 2 | |
| Recolección y depósito diarios | Las heces y la orina se recogen por medios tales como el raspado. El residuo obtenido se esparce en los campos. | 0.1 | 0.5 | 1 | |
| Almacenamiento en estado sólido | Las heces y la orina se excretan en confinamiento. Los sólidos (con o sin residuos del lecho de paja) se recogen y almacenan en masa durante un período prolongado (meses) antes de ser vertidos, con o sin sus residuos líquidos, en un sistema de pozos. | 1 | 1.5 | 2 | |
| Manejo en parcelas secas | En climas secos, los animales pueden mantenerse en corrales de engorde no pavimentados, donde el estiércol se deja secar hasta que se retira periódicamente. Una vez recogido, el estiércol puede ser esparcido en los campos. | 1 | 1.5 | 5 | |
| Manejo en estado líquido/lechoso | Las heces y la orina se recogen y se transportan en estado líquido a tanques de almacenamiento. Los líquidos pueden almacenarse por largo tiempo (meses). Se les puede añadir agua para facilitar su manipulación. | 39 | 45 | 72 | Cuando los tanques de depósito de estiércol en estado lechoso se usan para almacenamiento de pienso/digestores, el valor del FCM debe calcularse de acuerdo con la ecuación 16. |
| Estanques anaeróbicos | Se caracteriza por sistemas de descarga de agua que se sirven de ésta para transportar el estiércol a los estanques. El estiércol permanece en el estanque por períodos de 30 a más de 200 días. El agua del estanque puede reciclarse como agua de descarga o destinarse al riego y la fertilización de los campos. | 0-100 | 0-100 | 0-100 | Debe subdividirse en diferentes categorías, tomando en cuenta el porcentaje de recuperación de biogás y la quema del biogás en antorcha. Se calcula utilizando la ecuación 16. |
| Almacenamiento en pozos debajo del lugar de confinamiento de los animales | Almacenamiento combinado de heces y orina debajo del lugar de confinamiento de los animales: <1 mes >1 mes | 0 39 | 0 45 | 30 72 | Cuando los pozos se usan como digestores o tanques de almacenamiento, el valor de los FCM debe calcularse de acuerdo con la ecuación 16. Téngase presente que para determinar las condiciones climáticas se debe utilizar la temperatura ambiente, no la del establo. |
| Digestor anaeróbico | Las heces y la orina en estado líquido/lechoso se recogen y digieren anaeróbicamente. El CH ₄ puede quemarse en antorcha o ventearse. | 0-100 | 0-100 | 0-100 | Debe subdividirse en diferentes categorías, considerando el volumen de recuperación de biogás, su quema en antorcha y el almacenamiento posterior a la digestión. |
| Quema como combustible | Las heces y la orina se excretan en los campos. Las tortas de estiércol secas por el sol se queman como combustible. | 10 | 10 | 10 | |

IPCC, 1996

Nota: Cuando el depósito del estiércol digerido se tapa con un sistema hermético a prueba de fugas de gas, se debe incluir también el gas producido durante el almacenamiento.

En México, González *et al.* (1999), y González Avalos y Ruiz Suárez (2007) establecieron factores de emisión de diferentes sistemas de manejo de excretas, incluyendo la simulación de la fermentación en un sistema de lechada para México, obteniendo valores para la producción máxima de metano provenientes de excretas producidas por ganado bovino de diferentes sistemas de producción y climas del territorio mexicano. En este estudio se establece que tiene la misma funcionalidad que los de la metodología actual del IPCC, pero ofrecen un conjunto de parámetros más amplio para estimar las emisiones de metano por excretas específicas para nuestro país. Además indica que los resultados de los factores de conversión de metano pueden ser hasta 17.3 veces menos que los sugeridos por el IPCC.

Del experimento de González *et al.* (1999), al conocer el número de moles de gas producido y la concentración de metano, con los cuales se calcularon el número de metano producido en cada una de las corridas del proceso completo de secado y fermentación. La cantidad de metano en el fermentador está asociado a la materia seca (MS) del estiércol que se puso a fermentar.

De acuerdo con González (1999), el cálculo del metano producido por la fermentación de excretas, en kg por cabezas al año, se obtiene por

$$\frac{kg CH_4}{cabezas \text{ año}} = \left(\frac{mg CH_4}{10^3 mg MS excretas frescas} \right) \left(\frac{kg excretas frescas}{cabeza día} \right) \left(\frac{\%MS}{100} \right) \left(\frac{365 días}{año} \right) \quad (18)$$

donde:

MS: materia seca del estiércol que se puso a fermentar

La ecuación de González et al, 1999 fue puesta para las pruebas de diferentes muestras de excretas considerando el tipo de animal (ganado vacuno lechero, de carne o de doble propósito), tipo de sistema (intensivo, semi intensivo o extensivo), tipo de clima (frío, templado o cálido) y tipo de alimentación.

En el Cuadro 2.12 se resumen los factores de emisión de metano del IPCC (1996) y del estudio de González *et al.* (1999), en kg de CH₄ animal año

Cuadro 2.12. Comparación entre los factores de emisión propuestos por el IPCC y González *et al.* (1999)

| Clima | Ganado lechero | | | Ganado en engorda | | |
|----------|----------------|---------------------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|-------------------|
| | IPCC | González <i>et al.</i> , (1999) | IPCC/ González | IPCC | González <i>et al.</i> , (1999) | IPCC/ González |
| Frío | 0 | 1.78×10^{-2} | 0 | 1 | 8.96×10^{-4} | 1116 |
| Templado | 1 | 5.92×10^{-2} | 17 | 1 | 3.96×10^{-1} | 3 |
| Cálido | 2 | 1.67×10^{-1} | 12 | 1 | 1.17×10^{-2} | 85 |

Considerando tanto la fermentación entérica como el manejo de excretas, entonces la relación de las emisiones de CH₄ de una vaca lechera y una vaca no lechera es de 2:1.

2.3. Inventario nacional de gases efecto invernadero (INGEI)

El Inventario Nacional de Gases efecto invernadero (INGEI) es el documento donde el gobierno de México da conocer el resultado cuantitativo de los gases efecto invernadero (GEI) que se emitieron en un periodo dado en nuestro país.

México ratificó el Protocolo de Kioto, en abril de 2000, como país de las Partes no-Anexo I de la “Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático”. De tal forma que nuestro país tiene la obligación, a través de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), de crear periódicamente un inventario de gases efecto invernadero. Así, con el INGEI se cumple este compromiso internacional.

El último INGEI publicado por la SEMARNAT fue en el año 2006, en donde se presenta las emisiones de GEI para el año 2002, así como las actualizaciones de los datos de los inventario para los años 1990, 1992, 1994, 1996, 1998 y 2000.

Como se mencionó en el apartado 2.3.1 del presente capítulo, de acuerdo con el INGEI, los factores de emisión utilizados para el cálculo de CH₄ proveniente del ganado lechero se presentan en el Cuadro 2.13.

Cuadro 2.13. Factores de emisión de CH₄ por ganado vacuno utilizados por el INGEI

| Fuente | Sistema | Factor de emisión kg/cabeza/año |
|-----------------------|--------------------------|--|
| Fermentación entérica | ganado vacuno lechero | 104.353 |
| | ganado vacuno no lechero | 47.409 |
| Manejo de excretas | ganado vacuno lechero | 0.694 |
| | ganado vacuno no lechero | 1.000 |

La contribución de la emisión de CH₄ entre la fermentación entérica y el manejo de excretas para un individuo del sistema de ganado vacuno lechero es de 99.34% y 0.66% respectivamente. En cuanto al ganado vacuno no lechero la relación es de 98% para fermentación entérica y 2% para manejo de excretas.

2.3.1. Emisiones de la agricultura del INGEI, 2005

Para el 2002, las emisiones de GEI del anexo A del Protocolo de Kioto (CO₂, CH₄, N₂O, HFC, PFC y SF₆) (ONU,1998) se estimaron en 643,183 Gg, en bióxido de carbono equivalente (CO₂ eq).

La contribución de las emisiones de los GEI de las diferentes categorías en términos de CO₂ eq, es la siguiente: energía 61%, con 389,497 Gg; uso de suelo, cambio de uso de uso de suelo y silvicultura (USCUSS) 14%, con 89,854 Gg; desechos 10%, con 65,584 Gg; procesos industriales 8%, con 52,102 Gg y agricultura 7% con 46,146 Gg.

El CH₄ contribuye con el 23% del total de las estimaciones de los GEI. En el Cuadro 2.14 y Figura 2.2 se presentan las emisiones estimadas del GEI en todas las categorías. y los porcentajes de contribución total por contaminante.

Cuadro 2.14. Emisiones por contaminante de acuerdo al Inventario de Emisiones de GEI 2002 en México

| GEI | Emisiones (Gg equivalentes de CO₂) |
|------------------|--|
| CO ₂ | 480,409 |
| CH ₄ | 145,586 |
| N ₂ O | 12,343 |
| otros GEI | 4,425 |
| Total | 642,763 |

Ordoñez-Díaz, 2005.

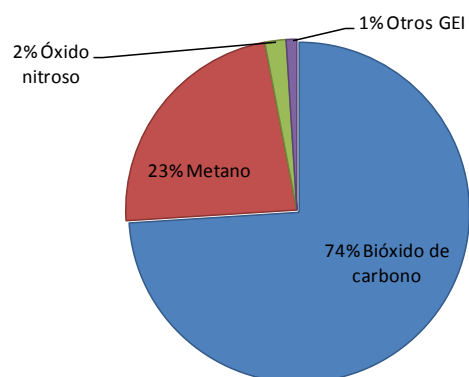


Figura 2.2. Porcentajes de emisiones por contaminante de acuerdo al Inventario de Emisiones de GEI 2002 en México

Considerando las emisiones totales de GEI por sector, de acuerdo con la Figura 2.3, la Agricultura aporta el 7% del total.

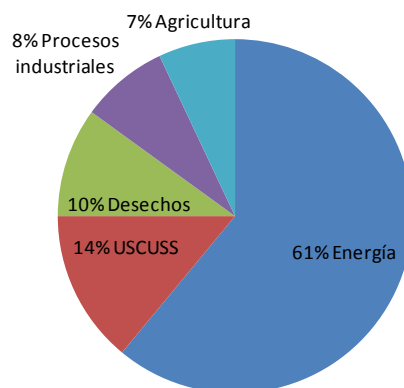


Figura 2.3. Porcentajes de emisiones por sector de acuerdo al Inventario de Emisiones de GEI 2002 en México

Analizando las emisiones en Gg de CO₂ equivalente de la categoría de agricultura, el aporte de metano (CH₄) representan el 84% y del oxido nitroso (N₂O) el 16%. En el Cuadro 2.15 se presentan las emisiones históricas de 1990 a 2002 del sector Agricultura.

Cuadro 2.15. Emisiones de CH₄ y N₂O de la categoría agricultura, Gg de CO₂ equivalente

| | 1990 | 1992 | 1994 | 1996 | 1998 | 2000 | 2002 |
|-----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| CH₄ | 40,568.8 | 39,670.7 | 38,958.9 | 37,439.8 | 38,290.7 | 37,983.9 | 38,974.4 |
| | 85% | 86% | 85% | 84% | 84% | 83% | 84% |
| N₂O | 7,133.9 | 6,666.4 | 6,824.5 | 6,942.3 | 7,479.3 | 7,835.2 | 7,486.4 |
| | 15% | 14% | 15% | 16% | 16% | 17% | 16% |
| Total | 47,702.7 | 46,337.0 | 45,783.4 | 44,382.1 | 45,770.0 | 45,819.0 | 46,460.7 |

(Ordoñez-Díaz, 2005)

Los resultados del INGEI de las emisiones promedio de metano por la subcategoría de ganadería, del periodo 1990-2002 fueron de 1,823 Gg. En el Cuadro 2.16 se presentan las cantidades estimadas de CH₄ en este periodo. Los valores son la suma de fermentación entérica y manejo de estiércol (Ordoñez-Díaz, 2005).

Cuadro 2.16. Emisiones de metano de la sección ganadera, expresadas en Gg, para el periodo 1990 – 2002 en México.

| Emisiones de metano | 1990 | 1992 | 1994 | 1996 | 1998 | 2000 | 2002 |
|-----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Ganado bovino - vacas leche | 156.19 | 161.78 | 170.01 | 177.90 | 190.51 | 217.92 | 227.55 |
| Ganado bovino - vacas carne | 1,551.72 | 1,508.33 | 1,459.57 | 1,384.56 | 1,415.77 | 1,377.20 | 1,414.72 |
| Búfalos | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Ovino - borregos | 30.04 | 31.44 | 33.19 | 31.78 | 29.83 | 31.07 | 32.98 |
| Cabras | 53.75 | 50.13 | 52.83 | 49.26 | 46.55 | 44.82 | 47.01 |
| Camellos | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| Caballos | 56.81 | 57.62 | 58.48 | 59.39 | 60.35 | 61.36 | 62.41 |
| Mulas y asnos | 27.09 | 26.05 | 24.95 | 23.80 | 22.60 | 21.35 | 20.04 |
| Cerdo - porcino | 25.76 | 23.33 | 27.61 | 26.10 | 25.37 | 26.08 | 25.62 |
| Aves | 1.97 | 2.00 | 2.79 | 3.24 | 3.42 | 3.65 | 4.01 |
| Total | 1,903.33 | 1,860.69 | 1,829.42 | 1,756.04 | 1,794.40 | 1,783.45 | 1,834.35 |

(Ordoñez-Díaz, 2005).

Si se toman en cuenta las emisiones de todos los animales considerados en el INGEI, el 89% de las emisiones de metano generadas corresponden al ganado de carne y doble propósito, el 10% al ganado lechero y el 1% restante a los demás animales.

Las emisiones promedio de CH₄ estimadas de la subcategoría ganadera en CO₂ equivalente fueron del orden de 34,241 Gg para el periodo comprendido entre los años 1990 – 2002, que equivalen al 88% del total de las emisiones de metano de todo el sector y el 12 % restante corresponde al N₂O. Ahora bien, dentro de dicha sección, las emisiones fueron generadas principalmente por el ganado bovino, donde el de carne y doble propósito produjeron el 89%, el lechero fue el responsable del 10% y los demás animales el 1% restante. Dentro de la subcategoría de ganado, el metano y el óxido nítrico aportan 38,285 y 6 Gg de CO₂ equivalente, lo cual representa un 99.98% y 0.02%, respectivamente.

3. TÉCNICAS *in vitro* PARA LA PRODUCCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE BIOGÁS.

El uso de técnicas para la producción de biogás por los rumiantes, es comúnmente utilizada para evaluar el desempeño productivo de los rumiantes evaluar en función del valor nutricional que consumen (Posada y Noguera, 2005). Además del valor nutricional de la dieta, puede utilizarse para estudiar la composición del biogás, como metano (CH₄) y bióxido de carbono (CO₂) principales productos de la fermentación, en condiciones anaerobias, por la actividad microbiana. El CH₄ y CO₂ son considerados como gases de efecto invernadero (ver Capítulo 2) (IPCC, 1996a). Sin embargo la producción controlada de CH₄, permite su uso como fuente alterna de energía. De tal forma que estudios *in vitro* de la producción de biogás, pueden ser enfocados para identificar los parámetros que eficiente la producción del CH₄, utilizando sustratos como lo son las excretas de animales rumiantes, como ganado bovino, cabras y borregos, y no rumiantes, como cerdos y gallinas. Además de estudiar la comparación de la fermentación entérica con relación a estos sustratos.

Tres aproximaciones para medir la producción de gas han sido usadas: 1) medir el volumen de gas a presión atmosférica constante, 2) medir la presión de gas a un volumen fijo, y 3) medir el número de incrementos de volumen requeridos para causar un pequeño cambio definido en la presión, una combinación de los métodos 1 y 2 (Posada y Noguera, 2005). La elección del método para medir la producción de gas depende del supuesto que los excesos de presión acumulada afectan el crecimiento microbiano (Schofield y Pell 1995a) y generan cambios en la solubilidad de los gases en el medio, lo cual puede generar errores en las mediciones (Getachew *et al.*, 1998)

Los estudios *in vivo* han sido de gran importancia, sin embargo, las simulaciones *in vitro* del medio ambiente ruminal son efectivas y eficientes por su rapidez y bajo costo de operación. Además, porque se pueden definir factores específicos, que en condiciones *in vivo*, pueden ocultarse por una gran complejidad de factores. Dentro de las técnicas más conocidas *in vitro* están la de Tilley y Terry implementada en 1963 y modificaciones de Goering y Van Soest (1970).

La técnica de producción de gases en un método *in vitro* permite determinar la extensión y la cinética de la degradación del alimento a través del volumen de gas producido durante el proceso fermentativo, bajo condiciones controladas. Una de las ventajas de este procedimiento radica en que, el tipo de fermentación y el papel de los componentes solubles pueden ser cuantificados, lo cual es particularmente evidente en los primeros horarios de incubación (Posada y Noguera, 2005). Otra ventaja de la técnica de producción acumulativa de gas están dadas por el bienestar animal, tamaño de la muestra, costo y descripción de la cinética de fermentación (Williams 2000).

Algunas desventajas de estos métodos son: largo tiempo requerido para realizar un análisis, gran cantidad de pasos y que la muestra no tiene flujo de recambio, además de que una limitación de la técnica es la falta de uniformidad en las metodologías, así como del reporte de unidades, lo que hace difícil comparar resultados entre grupos de investigación (Williams 2000).

Experimentos realizadas por Mauricio (1998) y Mauricio *et al.* (2001) con el fin de comparar líquido ruminal y heces como fuente de inóculo, mostraron que con la materia fecal se obtuvo mayores tiempos de colonización y una menor capacidad de fermentación, lo que posiblemente se deba a una menor actividad microbiana porque los microorganismos son originados principalmente en el ciego y el colon. La reducida fermentación en el ciego y el colon con respecto a la que ocurre en el rumen puede ser una combinación de diferentes factores, entre ellos, sustratos de más bajo valor nutritivo y más corto tiempo de retención, dando como resultado una más baja población de bacterias comparada con el líquido ruminal. La diferencia en la tasa de producción de gas entre el líquido ruminal y las heces también puede ser explicada por la diversidad de microorganismos presentes, ya que estudios preliminares han sugerido que el rango en el intestino grueso, y por lo tanto en las heces, parece ser menos diverso que en el contenido ruminal. Las diferencias entre ambos inóculos son debidas al menor tamaño y actividad de la población microbiana de las heces, el uso de un inóculo más concentrado o de mayor cantidad de inóculo fecal y el mejoramiento de la actividad fermentativa de los organismos fecales requiere de

investigación (Mauricio, 1998; Mauricio *et al.*, 2001). De la misma forma, caracterizar el biogás, de una manera sencilla y eficiente, requiere de estudios.

Tradicionalmente la caracterización del biogás se realiza con el uso de equipos complejos como lo es la cromatografía de gases, que requiere de un personal capacitado técnicamente, además de que no universal ya que puede requerir de diversos tipos de componentes para diferentes tipos de muestra a analizar, además de que deben establecerse métodos específicos por analito, destruye la muestra y la señal de respuesta es proporcional al número de carbonos, además de que es costoso.

Un problema en la producción de biogás, es que de los analitos de su composición, el metano es el único capaz de ser utilizado como energía. Así el reto es efficientar la producción de una alta proporción (>95%) de metano en el biogás. También, es requerido, limpiar el biogás del resto de los componentes para obtener así, metano puro y por lo tanto aprovechar al máximo el poder calorífico.

En los siguientes capítulos se cuantifica y caracteriza el biogás producido por diversas muestras de excretas de animales de granja, así como de líquido ruminal, considerando una técnica de producción de biogás sencilla, propuesta con un sistema biorreactor-trampa, y resultados confiables, debido a la medición instantánea a su producción.

4. EXPERIMENTO I. COMPARACIÓN DE BIOGÁS TOTAL Y METANO POR FERMENTACIÓN EN EXCRETAS DE GANADO VACUNO DE ENGORDA Y LECHERO, PORCINO, BORREGOS, CABRAS Y AVES DE CORRAL DE POSTURA.

4.1. Introducción

El material no digerido de aves, rumiantes y no rumiantes, se transforma en el colon en una masa semisólida por la reabsorción de agua hacia el organismo y finalmente es excretado. Las características de las excretas varían de un tipo de animal a otro, inclusive factores como edad del animal, especie, sistema de reproducción del animal, dieta (digestibilidad del alimento, el contenido de proteínas y de fibra) y exposición a medicamentos afectan las características del excremento. Los rumiantes que digieren alimento alto en celulosa producen cantidades menores de excremento (Stanogias y Pearce, 1978; Stewart, 1991) que los animales no rumiantes que no pueden digerir tales alimentos. Un estimado aproximado de la cantidad de estiércol de ganado lechero producida por día es el 8% del peso del animal (NRC, 1989; Martí Herrero, 2008). En el caso de las aves el material fecal es verdoso, frecuentemente mezclada con ácido úrico blanco. Este último es el principal componente de la excreción renal de las aves, ya que en ellas es el producto final del metabolismo proteico, al contrario de lo que ocurre en los mamíferos, en los que es la urea.

Debido a que muchos nutrientes se pierden por medio de las excretas, son material biológico fermentado por microorganismos arrastrados con éstos a través del tracto digestivo. Producto de esta fermentación es biogás emitido a la atmósfera (Menke y Steingass, 1988; Rymer *at al.*, 2005). Entre el contenido de éste biogás se tiene CO₂ y CH₄ que son considerados como gases de efecto invernadero.

En México se tiene la práctica común del almacenamiento de las excretas a cielo abierto, por lo que en este experimento se muestra las diferencias de producción de biogás total (BT), metano (CH₄) y bióxido de carbono (CO₂) de seis diferentes tipos de muestras de excretas de diferentes animales, bajo condiciones de presión y temperatura ambientales,

en los meses de mayo y junio, cuyas temperaturas promedio son cálidas en la zona de Texcoco, Estado de México.

4.2. Objetivo general

- Cuantificar la cantidad de biogás total y de CH₄ producido por la fermentación, de 100 g excretas de ganado vacuno lechero y de engorda, porcino, borregos, cabras y aves de corral de postura, a 0, 2, 4, 6, 10, 14, 18, 24, 36, 48 y 72 h bajo condiciones ambientales.

4.3. Objetivos particulares

- Estimar las emisiones de biogás total y CH₄ considerando el desplazamiento de la fase líquida de las trampas con agua y con NaOH 1N aplicando la ley de las presiones parciales y la ley de los gases ideales.
- Determinar las diferencias de pH de las muestras frescas y después de 72 h de fermentación, así como de la fase líquida de las trampas de NaOH.
- Cuantificar la cantidad de materia seca de las muestras frescas.
- Caracterizar la cantidad de materia inorgánica (ceniza), proteína, carbón orgánico, nitrógeno total, así como fibra total (fibra detergente neutro) y hemicelulosa (fibra detergente ácido) de cada muestra fresca.
- Estimar la concentración de bacterias por mL de las muestras frescas y después de 72 h de fermentación.
- Identificar la muestra de excretas con mayor producción de CH₄.

4.4. Hipótesis

- La producción de biogás y CH₄ es diferente entre las muestras de gallinaza, cerdaza, estiércol de ganado lechero y de engorda, así como excretas de cabras y borregos.

4.5. Materiales y métodos

4.5.1. Captura de CH₄ y CO₂

Recolección de muestras. Se recolectaron excretas frescas de ganado de carne y lechero, porcino, borregos, cabras y aves de corral de postura, de la granja experimental del

Colegio de Postgraduados. La muestra de excreta de ganado vacuno en engorda, se recolectó de una granja familiar aledaña a la zona de Cuatlinchán, Texcoco, Estado de México. El experimento se realizó en el traspatio del laboratorio de Microbiología Ruminal bajo condiciones ambientales.

Dispositivo experimental, como fermentadores, se utilizaron envases de refresco de PET de 600mL adaptados. A cada taparrosca del envase de refresco se le hizo un agujero de 1cm de diámetro con un sacabocado del N°6. A manera de septa cerrada se le colocó un tapón de hule del N°2 por la parte interna de la taparrosca. Se comprobó la hermeticidad de las taparroschas modificadas, introduciendo los frascos en una cubeta de agua. Se agregaron 100 g de cada muestra de excretas a los fermentadores, así como 100 mL de agua destilada como testigos de vapor de agua. Las repeticiones fueron por cuadruplicado.

Se utilizaron como trampas viales de vidrio serológicos (130 mL) llenos de agua o una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 1N para capturar biogás total (CH_4 y CO_2) o metano respectivamente. Se llenaron completamente los viales con H_2O destilada y NaOH 1N (por cuadruplicado) de tal forma que no quedara ningún espacio de aire dentro de la trampa. Se cerró cada vial con tapón de hule de 2 cm de diámetro y se selló con anillo de metal utilizando una engargoladora marca Wheaton.

Se introdujo una aguja amarilla en el tapón de hule de la trampa de agua como válvula de alivio, así como otra aguja para conectar la manguera. Con la finalidad de evitar el estrangulamiento de la manguera, se adaptaron las probetas recortando, en forma de triángulo, la parte superior de la probeta, de tal forma que descansa la aguja de conexión con la manguera hacia afuera de la probeta (Figura 4.1).

Se introdujo una aguja amarilla a la septa de la taparrosca y se cerraron los fermentadores con las excretas, así como de los testigos de agua. Se conectó la aguja de la taparrosca de los fermentadores con la manguera de cada trampa. También se conectaron los testigos del vapor de agua con su trampa. Se colocó la trampa de manera invertida en una probeta adaptada de 50 mL, evitando que se doblara la manguera y por lo tanto la

obstrucción del paso del gas, o que se regrese la fase líquida de la trampa. En la Figura 4.1 se ilustra el montaje de los sistemas fermentador- trampa de las dos fases.

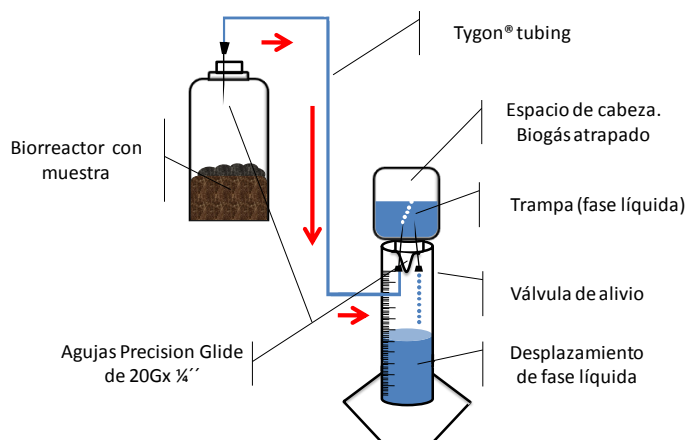


Figura 4.1. Sistema para la captación de biogás

Se midió la cantidad de agua desplazada, por la producción de biogás de cada muestra, a las 0, 2, 4, 6, 10, 14, 18, 24, 36, 48 y 72 h. En la última lectura del día, se estranguló la manguera (con ayuda de un gancho de ropa) con la finalidad de evitar el ingreso del H₂O o NaOH 1N de la trampa hacia el fermentador debido a la presión negativa que se genera por la temperatura en la madrugada (<20°C).

La producción del BT y del metano CH₄ producido de las seis muestras de excretas, se cuantificó con relación al desplazamiento de la fase líquida de las trampas de H₂O y NaOH 1N respectivamente. En las trampas con H₂O se capturó el BT y las trampas de NaOH se capturó únicamente CH₄. Además se consideró el CO₂ producido por la fermentación, disuelto parcialmente en el agua produciéndose ácido carbónico, así por cada mL de agua pura a una presión de 760 mm Hg y 25°C, se disuelven 0.759 mL de CO₂, entonces se calculó el CO₂ que se disolvió en el agua y se sumó a la cantidad atrapada en el espacio de cabeza de las trampas de H₂O.

4.5.2. Medición inicial y final de pH y conteo de bacterias

Se pesaron 10 g cada muestra de excretas frescas (pH y conteo inicial) y posteriormente fermentadas (pH y conteo final) en la balanza To-Rey Model EQ-5/10. Se

licuó la muestra fresca o fermentada con 90 mL de agua destilada, hasta tener una solución homogénea (1ª dilución). Se colocó la solución en un vaso de precipitados con capacidad de 50 mL y se dejó asentar la materia sólida durante 10 min. Se midieron los pH inicial y final, por cuadruplicado, de la solución con un potenciómetro marca ORION modelo 250A calibrado a dos puntos 7.0 y 4.0

Se tomaron 4 mL de la 1ª dilución y se agregó 1 mL de formaldehído (2ª dilución). De acuerdo con la concentración de bacterias en las muestras, en algunos casos se tuvieron que realizar una 3ª dilución (1 mL de la 2ª dilución mas 4 mL de agua destilada) o 4ª dilución (1 mL de la 2ª dilución mas 5 mL de agua destilada). Se contabilizaron las bacterias con una cámara Petroff-Hausser, en un microscopio Zeiss Axiostar a 1000 ampliaciones. Se contabilizaron las bacterias siguiendo el patrón de la Figura 4.2.

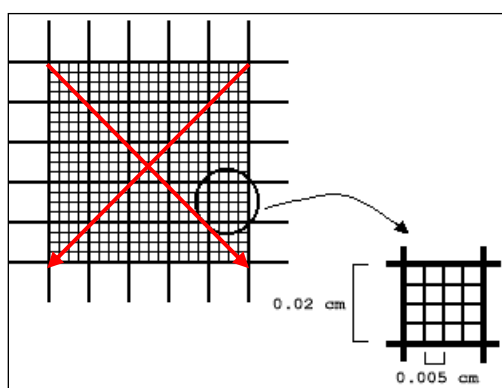


Figura 4.2. Red de conteo de la cámara Petroff-Hausser y dirección para contabilizar bacterias.

4.5.3. Medición de la materia seca total de las excretas frescas

Por duplicado se pesaron en una balanza marca To-Rey Model EQ-5/10 entre 40 a 50 g de cada excreta fresca. Las muestras se secaron a la estufa marca Riossa a 60°C entre 48 a 72 h. Se volvieron a pesar y por diferencia de peso inicial y final se calculó el porcentaje de materia seca (A.O.A.C., 2005, método: 934.01).

4.5.4. Determinación de cenizas

Se pesó 1 g de muestra seca por duplicado, y se depositaron en crisoles de porcelana previamente pesados. Las muestras se incineraron a 600°C en una Thermolyne modelo

M730 y se depositaron los crisoles en un desecador. Una vez a temperatura ambiente, se pesaron rápidamente para prevenir la absorción de humedad (A.O.A.C., 2005, método: 934.05). Cuando una muestra se somete a una temperatura entre 550 y 600°C, toda la materia orgánica se quema. La materia inorgánica, o cenizas, no se volatiliza a estas temperaturas por lo que queda como residuo.

4.5.5. Determinación de nitrógeno y proteína.

La cantidad de nitrógeno (N) y proteína se calcularon de acuerdo al método 984.13 (A.O.A.C., 2005). De las muestras previamente secas y trituradas, se pesaron en la balanza analítica, aproximadamente 0.3 g y se agregaron a un tubo de ensaye de vidrio de 19.5 cm de longitud por 2.3 cm de diámetro, por duplicado. Se agregó una pisco (la punta de una espátula) de catalizador proteína¹ y 3 mL de ácido sulfúrico al 98.08%. Se calentaron los tubos a 350°C, con ayuda de una parrilla eléctrica y dentro de una campana de extracción (debido a que se evapora trióxido de azufre), evitando que la mezcla de la reacción térmica inicial se desbordara. Una vez que empezó a desprenderse el gas, se dejó alrededor de 3h hasta a que cambió la mezcla a un color amarillo pálido transparente. Se dejaron enfriar los tubos hasta temperatura ambiente.

Se digestó y destiló la mezcla resultante, con ayuda de un aparato Macro-Kjeldahl, como sigue. A un matraz de 50 mL, se agregaron 6 mL de solución de ácido bórico al 4% con solución indicadora y se colocó en el tubo recolector, cuidando que el tubo de hule del refrigerante quedara sumergido) en el aparato de Macro-Kjeldahl. Se colocó la mezcla digestada en el cuello del aparato (entrada) y se enjuagó el tubo con agua destilada para limpiar todo el resto de la muestra añadiéndolo al aparato (hasta quedar sin restos de la muestra). Se agregaron 10 mL de solución NaOH al 40% y se dejó digerir por aproximadamente 5 min. Se recolectaron 30 mL de la muestra destilada en un matraz de 50 mL, el cual se observó un cambio de coloración rosa pálido de la solución de ácido bórico a una tonalidad de azul. Se dejó pasar el resto de la muestra y se limpió el digestor con agua destilada, para la próxima muestra. Se tituló la solución destilada con ácido clorhídrico al

¹ 96 g de sulfato de sodio, 3.5 g de sulfato de cobre y 0.5 g de selenio

0.1017N, cuyo vire es de azul a rosa pálido. Se anotó la cantidad del ácido requerido y se realizaron los cálculos correspondientes.

4.5.6. Determinación de fibra detergente ácido.

Se calculó la fibra detergente ácido (FDA) de acuerdo a la metodología de Van Soest (1963). Se pesó aproximadamente 0.3 g de cada muestra de excreta y se colocó en un tubo de ensaye de 19.5 cm de longitud por 2.3 cm de diámetro, por duplicado. Se le agregaron 30 mL de solución FDA². Se calentaron los tubos a 100°C, cuidando que la reacción inicial térmica no se desbordara por el tubo. Una vez que la ebullición fue constante, se mantuvo por 1 h. Al término se dejó enfriar la mezcla resultante. Se obtuvo el peso constante de papel filtro Whatman Schleicher & Schuell 541 dentro de la estufa a 60°C por 24h. Se colocó el papel filtro, previamente identificado, en el sistema de vacío múltiple para filtrar al vacío con ayuda de una bomba marca Narothon, enjuagándolas con agua caliente. Al final se enjuagó con un poco de acetona para arrastrar el exceso de ácido en la muestra y en el papel. Una vez que se eliminó el exceso de líquido, se dobló el papel de tal forma que quedara el número del papel visible y adentro toda la muestra. Se colocaron dentro de la estufa a 60°C por 24h. Con ayuda de unas pinzas se colocaron en un desecador y se pesaron en la balanza analítica.

4.5.7. Determinación de fibra detergente neutro.

Se calculó la fibra detergente neutro (FDN) de acuerdo a la metodología de Van Soest (1963). Para la preparación de la solución de FDN se pusieron 18.61 g de EDTA grado reactivo y 6.81 g de Na₂B₄O₇ 10H₂O (tetraborato de sodio dehidratado G.R.) en un vaso de precipitados de 250 mL y se le añadió aproximadamente 25 mL de agua destilada para calentar hasta que se disuelvan los reactivos agitándose ocasionalmente. Se le añadieron 30 g de lauril sulfato de sodio U.S.P. y 10 mL de etilglicol monoetil éter purificado. En otro vaso de precipitados, se agregaron 4.56 g de fosfato ácido disódico anhidro, se disolvió agregando agua destilada caliente y los otros reactivos. Se comprobó que el pH estuviera entre 6.9 y 7.1, mediante prueba de titulación. Se pesaron aproximadamente 0.5 g de la

²Ácido sulfúrico grado reactivo 1N (49.04g o 27.17mL de ácido sulfúrico concentrado/1L de H₂O de agua destilada a 20°C). Comprobar la normalidad titulando la solución y se agrega 20g de Bromuro de cetiltrimetil amonio (CTAB).

muestra a peso constante (previamente molida en una criba de 1 mm). Se colocó en un tubo ensaye de 19.5 cm de longitud por 2.3 cm de diámetro, por duplicado. Se le agregó 50 mL de la solución FDN a temperatura ambiente. Se le añadió 2 µL de decahidronaftaleno y 0.5 g de sulfito de sodio. Se calentó la solución y la muestra en un digestor hasta alcanzar la ebullición a 90°C por 1 h, evitando la formación de espuma regulando la temperatura. Se filtró la muestra a través de papel filtro Whatman Schleicher & Schuell 541, recuperando toda la muestra mediante lavado con agua caliente y finalmente con acetona. Se dobló el papel y secaron en la estufa a 70°C por 8 h, se pasaron a un desecador y finalmente se pesaron. Los rendimientos de la FDN recuperada se expresan como porcentaje de constituyentes de la pared celular.

4.5.8. Determinación analítica de carbón orgánico

Para la determinación de carbón orgánico (CO), se secaron las muestras y fueron desagregadas con un molino hasta hacer pasar la muestra por una malla de 2 mm; después de homogenizar completamente la muestra se tomó una submuestra de aproximadamente 5 g, se secaron en una estufa a 70-75°C. Se sacaron de la estufa y se colocan a enfriar en un desecador hasta el momento de su medición. Se utilizó una balanza analítica (con precisión de 0.0001 g) para pesar las muestras. La determinación de la concentración de carbono se hizo por combustión seca en un analizador automático de carbono total Shimadzu TOC 5000-A, provisto de una unidad para procesar muestras sólidas. Se asume que las muestras no contenían carbón inorgánico, el carbón medido con el analizador automático correspondió al C orgánico (Etchevers, *et al.* 2005).

4.5.9. Medición de ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases.

Se prepararon las muestras (repeticiones cuadruplicadas) para estimar la concentración molar de ácidos grasos volátiles (AGVs) por cromatografía de gases con un detector de ionización de flama (FID)³, se pesaron 10 g de cada muestra de excretas (fresca y fermentado al termino de 72 h) en la balanza analítica. Se licuaron la muestra con 90 mL de

³ Detector de ionización de flama (FID), carrusel para 82 muestras, Columna N9316353 fase elite FFAP, dimensiones largo 15 m, diámetro interno 0.32, diámetro externo 0.25, No. de serie 219134, Rango de temperatura 40-250 °C.

agua destilada hasta tener una solución homogénea. En un tubo EPPENDORF (2 mL), se agregaron 1.5 mL de la solución licuada a 0.375 mL de ácido meta fosfórico al 25%. En una centrífuga EPPENDORF 5810R⁴, se centrifugaron las muestras a 14,000 rpm (20,817 X g) durante 10 min. El sobrenadante recuperado fue usado para la determinación de AGV por Cromatógrafo de gases CLAURUS 500 Perkin Elmer, con automuestreador. Se utilizó N como gas acarreador y aire comprimido e hidrogeno para combustión de la flama (60-70 psi). La calibración se realizó de reemplazo con tres repeticiones. Las características y condiciones del método fueron: a) temperatura del horno: inicio 95°C/0.5min, rampa 15 °C/min, final 160 °C/1.5min; b) temperatura FID 250°C; c) temperatura del inyector 196 °C; d) volumen de inyección 1.0µL; e) flujo de inyección 15 µL/min; f) tiempo de detección del acetato 3.244min, de propionato 3.869min y butirato 4.549min) tiempo de determinación neta 6.33min por muestra. Los AGV determinados fueron acético, propiónico y butírico.

4.6. Resultados y discusión

4.6.1. Producción de biogás total y metano por desplazamiento de la fase líquida de las trampas

Considerando que la media del desplazamiento de los testigos de agua fue de 60 mL y la cantidad de humedad de cada una de las muestras, se calculó la cantidad de vapor de agua dentro de las trampas por cada muestra de acuerdo con:

$$Vapor_{H_2O} = H \cdot Tes_{H_2O} \quad \text{ecuación 1}$$

donde:

Vapor_{H₂O} = volumen de vapor de agua producido por la muestra.

H= % de humedad de la muestra.

Tes_{H₂O} = volumen del desplazamiento del testigo de agua (60 mL).

En el Cuadro 4. 1 se presentan el promedio del volumen de vapor de agua producido por las diferentes muestras.

⁴ Rotor eppendorf, max 14,000 rpm (00026), Fa 45-30-11, max 30x37.5 g, Ae 08

Cuadro 4.1. Vapor de agua generado por seis muestras de excretas fermentadas.

| Muestra de excreta | Humedad (%) | Vapor de agua (mL) |
|--------------------|-------------|--------------------|
| Gallinaza | 65.05 | 39.03 |
| Cabras | 60.07 | 36.04 |
| Cerdaza | 59.47 | 35.68 |
| Borrego | 29.02 | 17.41 |
| Lechero | 78.80 | 47.28 |
| Engorda | 80.04 | 48.02 |

Al restar el volumen del vapor de agua al volumen del biogás húmedo producido capturado en las trampas de H₂O, se obtiene el volumen en mL de la fase acuosa desplazado por la producción exclusivamente del BT.

$$BT = BTh - Vapor_{H_2O} \quad \text{ecuación 2}$$

donde:

BT = volumen de biogás total producido en promedio.

BTh = volumen de biogás húmedo promedio registrado en las trampas de solución de H₂O.

Vapor_{H₂O} = volumen de vapor de agua promedio (ecuación 1).

Los valores de BT y CH₄ producidos, se muestran en Cuadro 4.2. Al analizar la producción de BT y CH₄ acumulada, después de 72 h de fermentación, las muestras, de menor a mayor producción de de biogás, fueron: estiércol lechero, excretas de cabra, estiércol de engorda, cerdaza, excretas de borrego y finalmente gallinaza. El análisis de varianza (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2001) con Tukey. Este análisis arrojó que existen diferencias significativas (P 0.0001) entre la producción de BT y CH₄ en las seis muestras. Sin diferencias (P > 0.05) en la producción de BT y CH₄ de la cerdaza y las excretas de borrego, estas similitudes también son apreciadas en el comportamiento de las excretas de cabras y el estiércol del ganado lechero.

Cuadro 4.2. BT y CH₄ acumulado por 72 h de fermentación de 100 g de gallinaza, excretas de cabras, cerdaza, borregos y estiércol de ganado lechero y en engorda.

| Muestra | BT | CH₄ |
|----------------|---------------------|-----------------------|
| Gallinaza | 572.5 ^a | 8.25 ^e |
| Cabras | 242.25 ^c | 82.0 ^c |
| Cerdaza | 358.5 ^b | 166.25 ^a |
| Borregos | 387.2 ^b | 124.0 ^b |
| Lechero | 150.75 ^d | 35.0 ^{d,e} |
| Engorda | 270.0 ^c | 47.50 ^{c,d} |

^{a,b,c,d,e} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P<0.05).

La muestra con menor cantidad de CH₄ producido fue de la fermentación de la gallinaza. El volumen promedio de BT producido, por la gallinaza, fue de 572.3 mL, mientras que para la producción de CH₄ sólo fue de 8.3mL, de tal forma que se presupone que la cantidad de CH₄ es alrededor de 1.5% con relación al BT producido. Seguido esta del estiércol de ganado en engorda, en el que se midió una producción de BT de 268 mL y 50 mL de CH₄ que representa un 18.7%. En el volumen promedio de BT producido, por la fermentación de excretas de cabras, fue de 242.25 mL, mientras que el CH₄ producido fue de 82mL representando un 33.84% del BT producido. Para excretas de borregos el BT fue de 387.5 mL y de CH₄ de 124.5 mL representando un 33.2 %. En el estiércol de vacas lecheras, se cuantificó una producción de 35 mL de CH₄ representando un 23.2 % de los 150.7 mL de BT. Finalmente, la muestra que produjo una mayor cantidad de CH₄ fue la cerdaza con 166 mL que representa el 46.34 % de los 358.2 mL del BT. Es decir, presumiblemente el mayor generador de CH₄ de las seis muestras es la cerdaza y el menor es la gallinaza.

En las Figuras 4.3 “a” y “b” se grafican los resultados de la producción de BT y CH₄ acumulados, con respecto al tiempo. Se puede apreciar que el comportamiento de la producción de BT y CH₄ en las seis muestras fue similar. También se identifica que la

producción de biogás total fue mayor que la producción de CH₄ en todas las muestras de excretas, evidenciando que el CH₄ es una proporción en el biogás total.

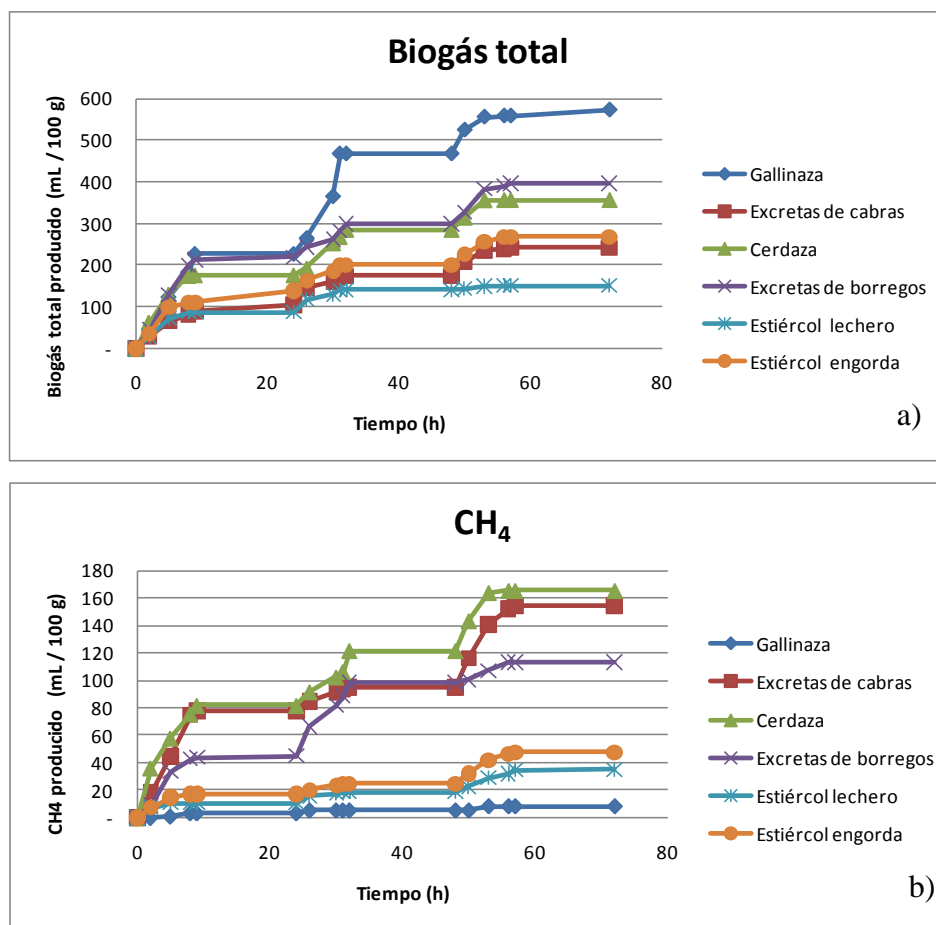


Figura 4.3. Comportamiento de la producción acumulado de a) BT y b) CH₄ con relación al tiempo.

La producción parcial de BT y CH₄, (2, 5, 8, 9, 24, 26, 30, 31, 32, 48, 50, 53, 56, 57 y 72 h) de las seis muestras (Cuadro 4.3) fue sometida a un análisis de varianza con parcelas divididas (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2001). Existen diferencias significativas (P<0.0001) entre los tiempos en que se tomaron para las lecturas del desplazamiento de la fase líquida de las trampas de H₂O y NaOH (ver Cuadros 4.3 “1” y “2”), es decir que a los diferentes tiempos se produjeron diferentes cantidades de biogás y CH₄ en todas las muestras de excretas. El análisis de Tukey arrojó que existen similitudes significativas en la producción parcial de biogás de las excretas de borrego y cerdaza, así como estiércol de ganado en engorda y las excretas de cabras. Por otro lado, para la producción de CH₄, se

tiene que las muestras produjeron diferentes ($P < 0.0001$) cantidades de CH_4 a los tiempos en que se tomó la lectura del desplazamiento de la trampa de NaOH. Sin embargo el análisis de Tukey arrojó que la producción parcial de CH_4 fue similar entre el estiércol de ganado lechero y de engorda, así como estiércol de ganado lechero y la gallinaza.

Cuadro 4.3 (1). Producción de BT y CH_4 parcial y registro de la temperatura ambiente e interna de las excretas, en la fermentación de seis muestras de excretas.

| Hora (LST) | Temp. Amb. °C | Tiem (h) | Gallinaza | | | Cabras | | | Borregos | | |
|------------|---------------|----------|-----------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------|-------------------------|
| | | | Vol parcial (ml) BT | Vol parcial (ml) CH_4 | Temp. Int °C | Vol parcial (ml) BT | Vol parcial (ml) CH_4 | Temp. Int °C | Vol parcial (ml) BT | Vol parcial (ml) CH_4 | Temp. Int °C |
| 11:00 | 33.5 | 2 | 28.5 ^c | 0.00 ^b | 36.3 ^{a,b} | 28.3 ^{a,b} | 14.0 ^{a,b} | 34.5 ^{b,c} | 45.8 ^{a,b,c} | 9.3 ^a | 35.0 ^{b,c,d} |
| 14:00 | 36.5 | 5 | 95.5 ^{a,b} | 1.00 ^{a,b} | 41.0 ^a | 36.3 ^{a,b} | 8.3 ^{c,d,e} | 39.3 ^{a,b} | 84.3 ^a | 26.3 ^a | 41.8 ^{a,b} |
| 17:00 | 34.0 | 8 | 59.7 ^{a,b,c} | 2.33 ^{a,b} | 42.0 ^a | 16.8 ^{a,b} | 20.0 ^a | 42.8 ^a | 70.0 ^{a,b} | 12.2 ^a | 42.8 ^a |
| 18:00 | 28.5 | 9 | 43.3 ^{a,b,c} | 0.00 ^b | 38.8 ^{a,b} | 8.3 ^{a,b} | 3.5 ^{d,e,f} | 39.3 ^{a,b} | 12.8 ^c | 13.8 ^a | 40.0 ^{a,b,c} |
| 09:00 | 18.0 | 24 | 0.00 ^c | 0.00 ^b | 13.8 ^d | 14.7 ^{a,b} | 0.0 ^f | 20.3 ^e | 6.5 ^c | 3.5 ^a | 21.0 ^g |
| 11:00 | 26.0 | 26 | 38.0 ^{a,b,c} | 2.00 ^{a,b} | 33.3 ^{b,c} | 41.2 ^a | 9.3 ^{b,c,d} | 28.5 ^{c,d} | 23.3 ^{b,c} | 19.3 ^a | 31.8 ^{d,e,f} |
| 14:00 | 29.0 | 30 | 100.0 ^a | 0.00 ^b | 40.5 ^a | 15.0 ^{a,b} | 10.5 ^{b,c} | 38.7 ^{a,b} | 19.5 ^{b,c} | 9.0 ^a | 42.5 ^a |
| 17:00 | 24.0 | 31 | 102.3 ^a | 0.00 ^b | 33.3 ^{b,c} | 11.8 ^{a,b} | 4.5 ^{c,d,e,f} | 41.0 ^{a,b} | 21.0 ^{b,c} | 7.3 ^a | 43.0 ^a |
| 18:00 | 27.0 | 32 | 0.00 ^c | 0.00 ^b | 33.0 ^{b,c} | 1.5 ^b | 0.0 ^f | 40.0 ^{a,b} | 16.3 ^{b,c} | 3.5 ^a | 35.0 ^{b,c,d} |
| 09:00 | 21.0 | 48 | 0.00 ^c | 0.00 ^b | 27.3 ^c | 0.0 ^b | 0.0 ^f | 29.8 ^{c,d} | 0.0 ^c | 0.0 ^a | 26.5 ^{f,g} |
| 11:00 | 25.0 | 50 | 57.0 ^{a,b,c} | 0.00 ^b | 33.3 ^{b,c} | 33.5 ^{a,b} | 3.5 ^{d,e,f} | 36.5 ^{a,b} | 27.0 ^{b,c} | 0.0 ^a | 34.3 ^{c,d,e} |
| 14:00 | 27.0 | 53 | 31.0 ^{b,c} | 3.00 ^a | 38.0 ^{a,b} | 28.5 ^{a,b} | 2.5 ^{d,e,f} | 41.3 ^a | 49.5 ^{a,b,c} | 5.0 ^a | 41.8 ^{a,b} |
| 17:00 | 24.0 | 56 | 2.67 ^c | 0.00 ^b | 39.5 ^{a,b} | 4.0 ^{a,b} | 2.3 ^{d,e,f} | 39.8 ^{a,b} | 5.5 ^c | 15.0 ^a | 38.0 ^{a,b,c,d} |
| 18:00 | 22.5 | 57 | 0.00 ^c | 0.00 ^b | 37.8 ^{a,b} | 2.5 ^b | 1.3 ^f | 36.5 ^{a,b} | 6.3 ^c | 0.0 ^a | 41.0 ^{a,b,c} |
| 09:00 | 20.5 | 72 | 14.3 ^c | 0.00 ^b | 27.3 ^c | 0.0 ^b | 2.5 ^{d,e,f} | 27.3 ^d | 0.0 ^c | 0.0 ^a | 27.3 ^{e,f,g} |

^{a,b,c,d,e,f,g} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

Cuadro 4.3 (2). Producción de BT y CH₄ y registro de la temperatura ambiente e interna de las excretas, en la fermentación de seis muestras de excretas.

| Hora (LST) | Temp. amb. °C | Tiem (h) | Cerdaza | | | Lechero | | | Engorda | | |
|------------|---------------|----------|---------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| | | | Vol parcial (mL) | | Temp. int °C | Vol parcial (mL) | | Temp. int °C | Vol parcial (mL) | | Temp. int °C |
| | | | BT | CH ₄ | | BT | CH ₄ | | BT | CH ₄ | |
| 11:00 | 33.5 | 2 | 65.0 ^a | 27.0 ^{a,b} | 39.05 ^{a,b,c,d} | 30.0 ^{a,b} | 7.3 ^a | 38.5 ^{b,c} | 35.5 ^{a,b} | 7.3 ^{a,b} | 37.0 ^{a,b} |
| 14:00 | 36.5 | 5 | 65.0 ^a | 4.0 ^{a,b} | 42.8 ^{a,b} | 42.25 ^a | 3.5 ^a | 40.5 ^{a,b,c} | 64.3 ^a | 7.5 ^{a,b} | 40.0 ^a |
| 17:00 | 34.0 | 8 | 43.5 ^{a,b} | 20.0 ^{a,b} | 42.0 ^{a,b} | 15.0 ^{a,b} | 0.0 ^a | 40.5 ^{a,b,c} | 10.0 ^b | 2.3 ^b | 39.5 ^a |
| 18:00 | 28.5 | 9 | 3.8 ^d | 8.8 ^{a,b} | 37.0 ^{b,c,d} | 0.0 ^b | 0.0 ^a | 36.8 ^{b,c} | 1.3 ^b | 0.0 ^b | 35.5 ^{a,b} |
| 09:00 | 18.0 | 24 | 0.00 ^d | 0.25 ^{a,b} | 20.5 ^g | 0.0 ^b | 0.0 ^a | 19.3 ^{e,f} | 27.8 ^{a,b} | 0.0 ^b | 15.0 ^d |
| 11:00 | 26.0 | 26 | 14.8 ^{c,d} | 28.3 ^a | 35.5 ^{c,d,e} | 30.3 ^{a,b} | 4.8 ^a | 28.3 ^d | 24.8 ^{a,b} | 3.0 ^{a,b} | 33.8 ^{a,b} |
| 14:00 | 29.0 | 30 | 62.5 ^{c,d} | 26.0 ^{a,b} | 40.5 ^{a,b,c,d} | 12.0 ^{a,b} | 2.0 ^a | 39.8 ^{a,b,c} | 22.3 ^{a,b} | 3.5 ^{a,b} | 39.5 ^a |
| 17:00 | 24.0 | 31 | 16.5 ^a | 3.0 ^{a,b} | 43.0 ^a | 10.8 ^{a,b} | 1.0 ^a | 41.8 ^{a,b} | 14.5 ^b | 1.3 ^b | 35.0 ^{a,b} |
| 18:00 | 27.0 | 32 | 14.0 ^{c,d} | 12.3 ^{a,b} | 35.0 ^{d,e} | 0.0 ^b | 0.0 ^a | 35.8 ^c | 0.0 ^b | 0.0 ^b | 32.8 ^{a,b} |
| 09:00 | 21.0 | 48 | 0.00 ^d | 8.5 ^{a,b} | 27.3 ^f | 0.0 ^b | 0.0 ^a | 23.8 ^{d,e} | 0.0 ^b | 0.0 ^b | 20.9 ^{c,d} |
| 11:00 | 25.0 | 50 | 29.0 ^{b,c} | 10.8 ^{a,b} | 32.3 ^{e,f} | 2.5 ^b | 4.0 ^a | 36.3 ^c | 25.0 ^{a,b} | 7.3 ^{a,b} | 35.5 ^{a,b} |
| 14:00 | 27.0 | 53 | 42.0 ^{a,b} | 16.0 ^{a,b} | 42.8 ^{a,b} | 6.5 ^b | 6.5 ^a | 41.0 ^{a,b,c} | 30.0 ^{a,b} | 10.0 ^a | 40.3 ^a |
| 17:00 | 24.0 | 56 | 1.00 ^d | 1.3 ^{a,b} | 38.35 ^{a,b,c,d} | 1.0 ^b | 3.0 ^a | 44.3 ^a | 12.8 ^b | 5.0 ^{a,b} | 34.0 ^{a,b} |
| 18:00 | 22.5 | 57 | 1.25 ^d | 0.0 ^b | 41.0 ^{a,b,c} | 0.5 ^b | 2.5 ^a | 28.2 ^d | 0.00 ^b | 1.0 ^b | 28.8 ^{b,c} |
| 09:00 | 20.5 | 72 | 0.00 ^d | 0.0 ^b | 17.0 ^g | 0.0 ^b | 0.5 ^a | 16.5 ^g | 0.00 ^b | 2.0 ^b | 21.8 ^{c,d} |

P < .0001 P < .0009 P < .0001 P < .0001 P < .0048 P < .0001 P < .0002 P < .0001 P < .0001

^{a,b,c,d,e,f,g} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05)

En los Cuadros 4.3 “1” y “2”, también se muestran las temperaturas ambientales e internas de las excretas que se registraron a lo largo de la fermentación para las seis muestras. Es conveniente indicar que los experimentos se realizaron en los meses de mayo y junio de 2008, en Texcoco, Estado de México, en la que la temperatura media normal es de 17.8-19.4 °C para mayo y 17.0-18.1°C para junio y considerada como temporada de lluvias, con una precipitación normal mensual de 47.8-52.3 y 108.3-113.0 mm respectivamente ⁵. Se observa una nula producción de gas durante la noche debido a que la

⁵ Datos de las estaciones climatológicas normales 00015021(SMN) y 00015170 (DGE) Chapingo, Texcoco, Estado de México

temperatura de la excretas desciende a valores menores a 15°C y la temperatura ambiente fue menor a 20°C (después de las 17:00 o 18:00 h). Sin embargo, Massé (2003) obtuvo evidencia de producción de CH₄ y CO₂, a temperaturas ambientales de 10 y 15°C de estiércol y cerdaza, pero la producción es mínima y casi imperceptible por las trampas al descender la temperatura.

En la Figura 4.4, se observa un descenso en la temperatura ambiental a partir de las 17 a 18 h, mientras que la temperatura máxima, en los tres días, se registró a las 14h. De la misma forma se puede identificar, que la temperatura interna de las muestras no es la misma que la temperatura ambiente, señal de la actividad fermentativa microbiana. Así, se observa que al ascender la temperatura ambiente, se incrementa la ganancia de calor de las excretas en las seis muestras, entre 2 y 5°C por encima de la temperatura ambiente. Al comienzo del descenso de la temperatura ambiente, la temperatura interna se conserva, y en algunos casos se incrementa, por lo cual podemos deducir que la fermentación y la actividad microbiana mantienen su actividad. Al descender aún más la temperatura (a partir de las 17h), se observa una pérdida de calor en la excretas a baja velocidad. Sin embargo, en la primera lectura del segundo y tercer día, se registraron temperaturas internas menores que la temperatura ambiente por efecto del descenso de la temperatura en la madrugada.

Los datos de temperatura interna fueron sometidos a un análisis estadístico de varianza con parcelas divididas (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2001), así se identificó que existen diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre la interacción de las temperaturas internas de las muestras de excretas con respecto al tiempo, debido a que fue sometido el experimento a condiciones ambientales. Sin embargo el comportamiento de las temperaturas internas fue similar ($P < 0.0001$) entre las excretas de las diferentes muestras, con excepción del estiércol del ganado lechero, aún así, la temperatura interna de esta muestra presentó similitudes con el estiércol de ganado lechero y la gallinaza.

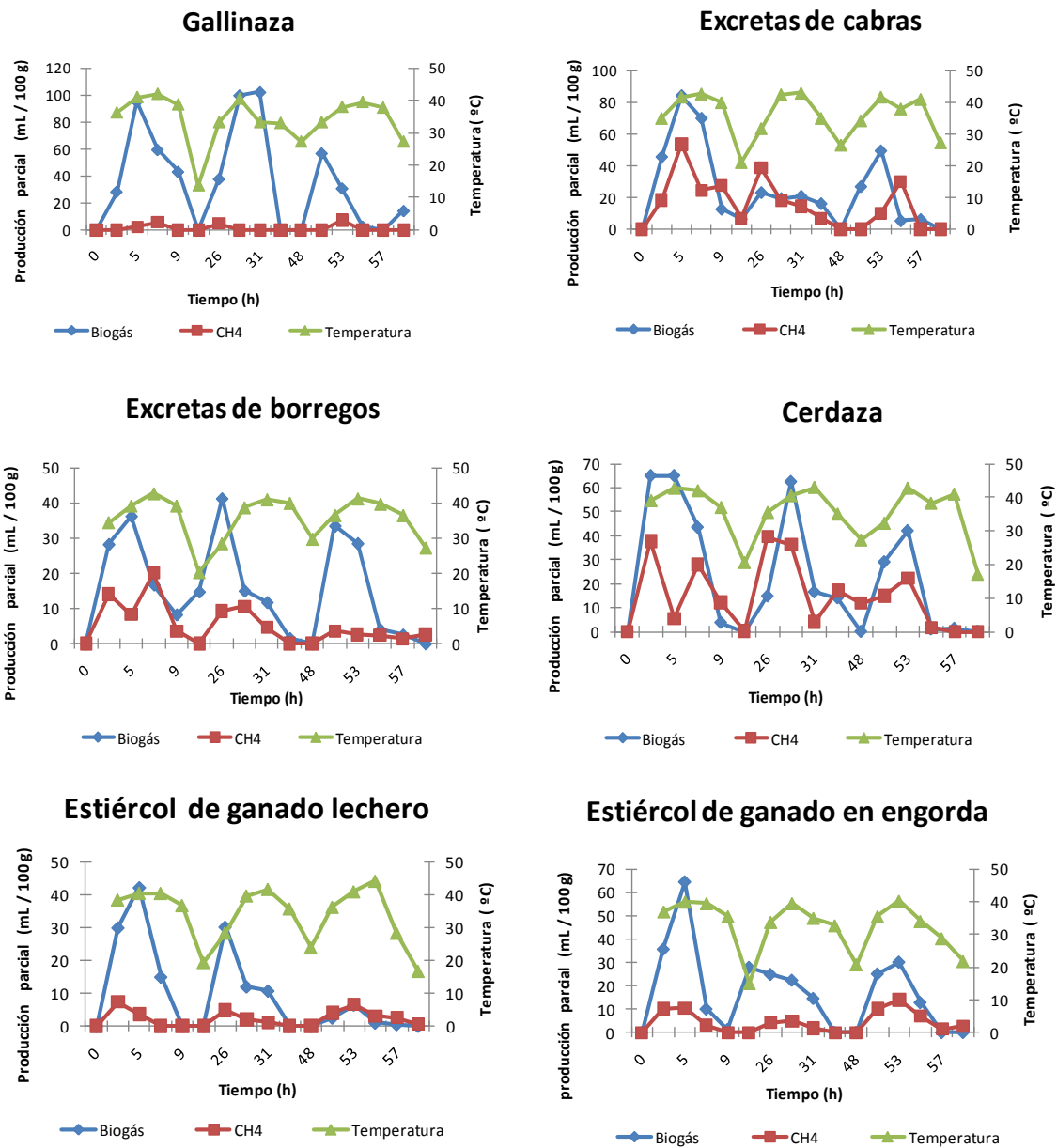


Figura 4.4. Comportamiento de la producción del BT y CH₄ con relación a las temperaturas internas de las muestras

Al analizar el comportamiento de la producción parcial de BT y CH₄ (por el desplazamiento de la fase líquida de las trampas) con relación a la temperatura, se puede observar que la tendencia es que al incrementar la temperatura, se incrementa la producción de BT y CH₄. Así como, al descender la temperatura, también hay un decremento de la producción del biogás y CH₄. Esta tendencia se observa en las seis muestras. El

comportamiento de la producción de BT y CH₄ con relación a la temperatura, da evidencia de la estrecha relación de la actividad microbiana con la temperatura.

4.6.2. CH₄ y CO₂ por desplazamiento de fases líquidas de trampas

La estimación de CH₄ y CO₂ fue calculado utilizando el desplazamiento de la fase líquida de las trampas de H₂O y NaOH, considerando que la válvula de alivio de las trampas para desplazar la fase líquida de la trampa, para equilibrar la presión exterior e interior de la trampa, por la acción del biogás acumulado en el espacio de cabeza. El registro del desplazamiento de la fase líquida en las trampas de H₂O, indicaron el volumen del biogás húmedo total (BThum) producido, mientras que el registro de la fase líquida de las trampas de NaOH 1N indicó el volumen del CH₄ producido. Considerando los datos mencionados, se calculó la cantidad de CO₂ producido, al restar del BThum, la cantidad de CH₄ registrado y el vapor de agua, de acuerdo a:

$$(CO_2) = BThum - Vapor_{H_2O} - CH_4 \quad \text{ecuación 3}$$

donde:

CO₂ = volumen total de bióxido de carbono producido.

BThum = volumen total húmedo producido y capturado en las trampas de H₂O.

Vapor_{H₂O} = volumen de vapor de agua producido (ecuación 1).

CH₄ = volumen total de bióxido de carbono producido y capturado en las trampas de NaOH 1N.

Aplicando la Ley de las Presiones Parciales, se calculó la presión que ejerce cada uno de los componentes del biogás, dentro del espacio de cabeza de las trampas. Considerando que el sistema biorreactor-trampa mantuvo una válvula de alivio, la presión total en el espacio de cabeza, se igual a la presión atmosférica, por lo que se considera, para fines de esta tesis, de 760mm Hg

$$P_T = P_{CH_4} + P_{CO_2} + P_{H_2O} \quad \text{ecuación 4}$$

donde:

P_T = presión total dentro del espacio de cabeza

P_{CH₄} = presión parcial ejercida por el CH₄

P_{CO_2} = presión parcial ejercida por el CO_2

P_{H_2O} = presión parcial ejercida por el vapor de H_2O

Conociendo que la presión del vapor de agua a $25^\circ C$ es de 23.8 mm Hg, sustituyendo y despejando de la ecuación 4, se tiene que:

$$P_{CO_2} + P_{CH_4} = 760 \text{ mm Hg} - 23.8 \text{ mm Hg} = 736.2 \text{ mm Hg} \quad \text{ecuación 5}$$

De acuerdo con los porcentajes calculados de CH_4 y CO_2 de cada muestra y con el desplazamiento de la fase líquida de las trampas se calculan la presión parcial del CH_4 y del CO_2 . Por lo tanto para el cálculo de la presión de CH_4 se tiene que:

$$P_{CH_4} = \frac{(\%CH_4) (736.2 \text{ mm Hg})}{100\%} \quad \text{ecuación 6}$$

donde:

P_{CH_4} = presión ejercida por el CH_4

$\%CH_4$ = proporción del CH_4 por el desplazamiento de la fase líquida de la trampa de solución salina

Por lo tanto, despejando de la ecuación 4, la presión del CO_2 se calcula:

$$P_{CO_2} = P_T - P_{H_2O} - P_{CH_4} \quad \text{ecuación 7}$$

Sustituyendo los valores en las ecuaciones 6 y 7, se calculó las presiones parciales del CH_4 y CO_2 en las seis muestras de excretas fermentadas, y que son presentados en el Cuadro 4.4.

Cuadro 4.4. Proporción, volumen y presión parcial del CH₄ y CO₂ por desplazamiento de la fase líquida de las trampas.

| Muestra | BT seco | | % humedad | Volumen desplazado final (mL) | | | | Presión (mm Hg) | |
|-----------|------------------|------------------|-----------|-------------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | %CH ₄ | %CO ₂ | | BThúmedo | H ₂ O | CH ₄ | CO ₂ | CH ₄ | CO ₂ |
| Gallinaza | 0.99 | 99.01 | 65.05 | 572.50 | 39.03 | 5.25 | 527.97 | 7.28 | 728.92 |
| Cabras | 40.41 | 59.59 | 60.07 | 242.25 | 36.04 | 82.00 | 124.21 | 297.47 | 438.73 |
| Borregos | 33.39 | 66.61 | 29.02 | 387.20 | 17.41 | 124.50 | 252.59 | 245.82 | 490.38 |
| Cerdos | 51.58 | 48.42 | 59.47 | 358.50 | 35.68 | 166.00 | 156.57 | 379.71 | 356.49 |
| Lechero | 34.69 | 65.31 | 78.80 | 150.75 | 47.28 | 35.00 | 68.47 | 255.41 | 480.79 |
| Engorda | 22.78 | 77.22 | 80.04 | 270.00 | 48.02 | 50.00 | 169.98 | 167.70 | 568.50 |

Al sustituir los valores en la ecuación 8, de la presión parcial y volumen de cada componente se obtienen los números de moles de CH₄ y CO₂ que se tienen en el espacio de cabeza. Los gramos se calculan con los moles producidos de cada excreta. Moles y gramos de CH₄ y CO₂ de cada muestra son listados en el Cuadro 4.5.

$$n = \frac{PV}{RT} \quad \text{ecuación 8}$$

donde:

n = número de moles de CH₄ ó CO₂

P = presión ejercida por CH₄ ó CO₂ en atmósferas

V = volumen en L Del CH₄ ó CO₂

R = constante de los gases ideales 0.0821 L • atm / (K• mol)

T = temperatura en K

Se sometieron los resultados de la concentración en moles y gramos del CH₄ y CO₂ a un análisis estadístico de varianza (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2001) con Tukey, mostrados en el Cuadro 4.5.

Cuadro 4.5. Concentración en moles y gramos del CH₄ y CO₂ por la fermentación de seis muestras de excretas considerando la proporción CH₄:CO₂ por desplazamiento.

| Muestra | Concentración/ 100g de muestra/ 72 h | | | |
|-----------|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | CH ₄ | | CO ₂ | |
| | moles | g | moles | g |
| Gallinaza | 2.52E-06 ^d | 4.03E-05 ^d | 2.07E-02 ^a | 9.11E-01 ^a |
| Cabras | 1.31E-03 ^{b,c} | 2.09E-02 ^{b,c} | 2.98E-03 ^{c,d} | 1.31E-01 ^{c,d} |
| Borregos | 1.70E-03 ^b | 2.72E-02 ^b | 6.77E-03 ^b | 2.98E-01 ^b |
| Cerdaza | 3.43E-03 ^a | 5.49E-02 ^a | 3.06E-03 ^{c,d} | 1.35E-01 ^{c,d} |
| Lechero | 4.95E-04 ^{c,d} | 7.92E-03 ^{c,d} | 1.82E-03 ^d | 8.01E-02 ^d |
| Engorda | 4.55E-04 ^{c,d} | 7.28E-03 ^{c,d} | 5.21E-03 ^{b,c} | 2.29E-01 ^{b,c} |
| | P<0.0001 | P<0.0001 | P<0.0001 | P<0.0001 |

^{a,b,c,d} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05)

Hay diferencias significativas (P < 0.05) en la producción de CH₄ entre la gallinaza y las excretas de cabras, borregos y cerdaza. Pero no hay diferencias significativas (P < 0.05) entre la producción de CH₄ por estiércol de ganado lechero y en engorda, es decir la tendencia en la producción de CH₄ por las excretas provenientes de animales rumiantes es similar. Para el caso de la producción de CO₂ hay diferencias significativas (P < 0.05) entre la gallinaza y el resto de las muestras, no así entre excretas de cabras, cerdaza y estiércol de ganado lechero y en engorda.

4.6.3. Ácidos grasos volátiles

Los resultados de las concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGVs): acetato, propionato y butirato al inicio y al final de la fermentación de las seis muestras de excretas, se presentan en el Cuadro 4.6.

Cuadro 4.6. Promedio y desviación estándar de la concentración de AGVs de seis diferentes muestras de excretas frescas y al término de 72 h de fermentación.

| Muestras | Acetato (mMol) | | Propionato(mMol) | | Butirato(mMol) | | Proporción acet:propio:but | |
|------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------|---------------------|----------------------------|---------|
| | Inicial | Final | Inicial | Final | Inicial | Final | Inicial | Final |
| Gallinaza | 0.00 ^e | 3.35 ^{b,c} | 0.00 ^c | 0.51 ^{b,c} | 0.00 ^b | 0.43 ^{a,b} | 0:0:0 | 78:12:0 |
| Cabras | 2.09 ^{c,d} | 4.80 ^{a,b} | 0.00 ^c | 1.49 ^{a,b} | 0.00 ^b | 0.06 ^b | 100:0:0 | 76:24:0 |
| Borregos | 4.33 ^{a,b} | 5.45 ^a | 1.42 ^{a,b} | 1.35 ^{a,b} | 0.00 ^b | 0.60 ^a | 75:25:0 | 74:18:8 |
| Cerdaza | 0.99 ^{d,e} | 3.20 ^{b,c} | 0.00 ^c | 0.44 ^{b,c} | 0.00 ^b | 0.25 ^{a,b} | 100:0:0 | 82:11:7 |
| Lechero | 1.60 ^{c,d,e} | 5.69 ^a | 0.00 ^c | 0.00 ^c | 0.00 ^b | 0.43 ^{a,b} | 100:0:0 | 93:0:7 |
| Engorda | 1.75 ^{c,d,e} | 3.36 ^{b,c} | 0.00 ^c | 1.79 ^a | 0.00 ^b | 0.00 ^b | 100:0:0 | 65:35:0 |
| | Pr <0.0001 | | Pr <0.0001 | | Pr <0.0001 | | | |

^{a,b,c,d,e} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

Los resultados del análisis de varianza con Tukey (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2001) mostrados en el Cuadro 4.6, indicó que existen diferencias significativas (P < 0.0001) entre la concentración de acetato inicial con relación al final, con excepción de la muestra de excretas de borrego. Por otro lado, a pesar de que existe producción de propionato y butirato después de 72 h de fermentación, no existen diferencias significativas (P < 0.0001) entre los resultados iniciales y finales de propionato, así como del butirato en las diferentes muestras.

Estas diferencias indican que la tendencia de la fermentación fue acetogénica. Después de 72 h hay producción de acetato y propionato en todas las muestras, con excepción de estiércol de ganado lechero, así como la producción de butirato en excretas de borregos, de estiércol de ganado lechero y en cerdaza.

4.6.4. Medición de pH

El pH de las muestras frescas y al final de las 72 h de fermentación y el análisis estadístico, se muestran en el Cuadro 4.7 (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2001). Se determinó una disminución significativa (P < 0.0001) del pH, al final de la fermentación en

las muestras de gallinaza, borregos y estiércol de ganado lechero, mientras que hay similitudes significativas ($P < 0.0001$) para la cerdaza, cabras y estiércol de ganado en engorda. Esto refleja la actividad microbiana en la fermentación de la muestra, sin embargo los pH finales de las muestras (con excepción del estiércol del ganado lechero) fueron adecuados para continuar con la fermentación. Es de sobresaltar, que de acuerdo al Cuadro 4.3, en las muestras de gallinaza, ganado lechero y ganado en engorda en las últimas 12 h, la producción de biogás y metano fue prácticamente nula, reflejándose también en la disminución de pH.

Cuadro 4.7. pH de las muestras frescas y al término de las 72 h de fermentación

| Muestra | pH inicial | pH final |
|-----------|---------------------|-----------------------|
| Gallinaza | 7.14 ^{b,c} | 6.49 ^d |
| Cabras | 8.43 ^a | 8.29 ^a |
| Borregos | 8.32 ^a | 7.23 ^{b,c} |
| Cerdaza | 7.06 ^{b,c} | 7.04 ^{b,c} |
| Lechero | 6.86 ^{c,d} | 4.86 ^e |
| Engorda | 7.46 ^b | 6.92 ^{b,c,d} |

Pr < 0.0001

^{a,b,c,d,e} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

4.6.5. Fibra detergente ácido, fibra detergente neutro, carbón orgánico, nitrógeno, proteína, cenizas y humedad.

En el Cuadro 4.8 se muestran el volumen de la producción de biogás y metano resultado de la fermentación de las muestras, así como los datos de la caracterización en porcentaje, de las muestras de fibra detergente ácido (FDA), fibra detergente neutro (FDN), carbón orgánico (CO), nitrógeno (N), proteína (Prot), cenizas (Cen) y humedad (Hum). Los resultados del análisis de varianza (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2001), arrojó las diferencias y similitudes significativas, entre las diferentes muestras. En éste se puede observar una tendencia de similitudes significativas del FDN, carbón, nitrógeno, proteína y cenizas de las muestras de los animales rumiantes (ganado lechero, en engorda, cabras y

borregos), y diferencias significativas con las muestras de no rumiantes, cerdos y aves de postura. Por otro lado para FDA, FDN, carbón, nitrógeno, proteína y cenizas no hay diferencias significativas ($P > 0.05$) para excretas de ganado lechero, engorda, cabras y borregos, por lo que se puede deducir que hay una diferencia en la digestibilidad entre las excretas de rumiantes con la gallinaza y la cerdaza.

Cuadro 4.8. Caracterización de seis muestras de excretas frescas.

| Muestras excretas | Parámetro | | | | | | | | |
|----------------------|---------------------|-------------------------------|----------------------|--------------------|-------------------|---------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| | BT (mL/100mg) | CH ₄ (mL/100mg) | %FDA | %FDN | % CO | %N | %PB | %C | %H |
| Gallinaza | 572.50 ^a | 8.25 ^e | 27.64 ^b | 22.73 ^c | 2.82 ^c | 5.31 ^a | 33.17 ^a | 26.38 ^a | 65.05 ^c |
| Cerdaza | 358.50 ^b | 166.25 ^a | 18.24 ^c | 25.57 ^c | 3.53 ^b | 2.85 ^b | 17.83 ^b | 29.49 ^a | 59.47 ^e |
| Lechero | 150.75 ^d | 35.00 ^{d,e} | 25.62 ^{b,c} | 40.71 ^b | 4.21 ^a | 2.12 ^{d,c} | 13.17 ^{d,c} | 14.98 ^b | 78.80 ^b |
| Engorda | 270.00 ^c | 47.50 ^{c,d} | 23.12 ^{b,c} | 42.88 ^b | 3.90 ^a | 2.19 ^{d,c} | 13.66 ^{d,c} | 15.97 ^b | 80.04 ^a |
| Cabras | 242.25 ^c | 82.00 ^c | 41.89 ^a | 51.37 ^a | 3.94 ^a | 1.89 ^d | 11.84 ^d | 17.78 ^b | 60.07 ^d |
| Borregos | 387.25 ^b | 124.00 ^b | 26.34 ^b | 40.56 ^b | 4.04 ^a | 2.32 ^c | 14.51 ^c | 15.65 ^b | 29.02 ^f |
| | P<0.0001 | P<0.0001 | P<0.0001 | P<0.0001 | P<0.0001 | P<0.0001 | P<0.0001 | P<0.0001 | P<0.0001 |

FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; CO: carbón orgánico; N: nitrógeno; PB: proteína bruta, C: cenizas y H: humedad.

^{a,b,c,d,e} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

De acuerdo con el ANOVA, no hay una diferencia significativa ($P < 0.0001$) entre los parámetros de biogás ($r^2=0.98$), CH₄ ($r^2=0.94$), FDA ($r^2=0.86$), FDN ($r^2=0.94$), carbón orgánico ($r^2=0.92$), nitrógeno ($r^2=0.98$), proteína ($r^2=0.98$), cenizas ($r^2=0.98$) y humedad ($r^2=0.99$), con relación a cada una de las muestras de excretas sometidas a fermentación por 72 h (PROC GLM, SAS ver 9.0, 2001).

La caracterización de las seis muestras de excretas se resume en el Cuadro 4.10. Considerando el porcentaje de humedad, se puede observar la muestra con mayor cantidad de agua es del estiércol de ganado engorda, 80.03%; seguido del estiércol del ganado lechero, 78.75%; gallinaza, 66.75%; excretas de cabra, 56.63%; cerdaza, 43.27% y finalmente el de borregos con tan solo 28.07% de agua.

Para determinar la correlación entre la producción de biogás total y producción de CH₄ con respecto a los parámetros en la caracterización de las muestras, se utilizó la herramienta estadística de “coeficientes de correlación de Pearson” (PROC CORR, SAS ver 9.0, 2001) donde se estipula la hipótesis nula como el coeficiente de correlación entre las variables como cero (Prob >/R/ suponiendo Ho:Rho = 0). En el Cuadro 4.11 se presentan los coeficientes de correlación y su nivel de significancia de la prueba de hipótesis, considerando los datos de las muestras de excretas de los cuatro animales rumiantes (cabras, borregos, ganado lechero y de engorda), con relación a la gallinaza y a la cerdaza.

Cuadro 4.9. Coeficientes de correlación de la caracterización de las muestras con relación a la producción de BT y CH₄.

| Muestra | Variable | FDA | FDN | CO | N | P | C | H |
|----------------|-----------------|------------|------------|-----------|----------|----------|----------|----------|
| Gallinaza | Biogás | 0.11954 | 0.51103 | -0.21068 | 0.04831 | 0.04106 | -0.19357 | -0.46724 |
| | Metano | 0.74528 | -0.21956 | -0.68825 | 0.72279 | 0.72922 | -0.8697 | -0.70327 |
| Cerdaza | Biogás | -0.79143 | -0.32178 | -0.55125 | 0.53297 | 0.52648 | 0.7529 | -0.49698 |
| | Metano | 0.13404 | -0.46369 | -0.37166 | 0.39223 | 0.39916 | 0.10188 | -0.07078 |
| Rumiantes | Biogás | -0.12736 | -0.12324 | -0.20144 | 0.50745 | 0.50574 | -0.05359 | -0.80944 |
| | Metano | 0.23205 | 0.01894 | -0.18325 | 0.18994 | 0.18686 | 0.14807 | -0.92824 |

FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; CO: carbón orgánico; N: nitrógeno; PB: proteína bruta, C: cenizas y H: humedad.

Con los datos del Cuadro 4.9, se puede observar que existe una correlación positiva entre la FDA, el nitrógeno y la proteína con relación a la producción de CH₄ en los tres conjuntos de muestras de animales, siendo más marcada en la gallinaza en los tres parámetros. Por otro lado la correlación del FDN, del carbón orgánico y humedad son negativos para la producción de CH₄ en los tres conjuntos de animales, mientras que las cenizas hay una correlación negativa para gallinaza pero positiva para la cerdaza y los rumiantes.

El comportamiento de la correlación de los parámetros de la caracterización de las muestras con relación a la producción de BT es diferente. En este caso se observa que la correlación es positiva para el caso del nitrógeno y proteína en los tres grupos de animales,

mientras que la correlación para carbón orgánico y humedad es negativa. En cambio, mientras que para la gallinaza la correlación de FDA y FDN son positivos con relación a la producción de BT, para la cerdaza y los rumiantes son negativos. Finalmente para ceniza la correlación es positiva solo en la cerdaza y negativa en la gallinaza y en los rumiantes.

Finalmente en el Cuadro 4.10 se muestran los resultados de la concentración de bacterias totales en las muestras frescas y al término de la fermentación de 72 h. El análisis de varianza (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2001) con Tukey, indican que no existen diferencias significativas ($P=0.6828$) entre la concentración de bacterias al inicio y al final de la fermentación, esto indica que no hubo una diferencia en la cantidad de población bacteriana. Sin embargo, debido a las diferencias en la producción de CH_4 y BT, se puede deducir que sí existió diferencia en el tipo de poblaciones bacterianas de cada muestra de excretas.

Cuadro 4.10. Concentración de la población bacteriana total de las muestras frescas y al término de la fermentación, de excretas de seis animales

| Muestra | Concentración (bacterias/g excretas) | |
|-----------|--------------------------------------|-----------------------|
| | Inicial | Final |
| Gallinaza | 1.17E+09 ^a | 7.63E+09 ^a |
| Cabras | 5.29E+09 ^a | 1.15E+10 ^a |
| Borregos | 1.41E+10 ^a | 1.19E+10 ^a |
| Cerdaza | 1.50E+10 ^a | 1.28E+10 ^a |
| Lechero | 9.65E+09 ^a | 1.43E+10 ^a |
| Engorda | 1.23E+10 ^a | 1.50E+10 ^a |

$P=0.6828$

^a Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P<0.05$).

4.7. Conclusiones

- Las seis muestras de excretas: gallinaza, excretas de cabra, cerdaza, excretas de borrego, estiércol de ganado lechero y estiércol de ganado en engorda, presentaron

desplazamiento de la fase líquida, tanto en trampas con H₂O como de NaOH 1N, por lo que se presume que en todas las muestras se tiene generación de CH₄.

- No existe generación de biogás en ambiente nocturno, cuando la temperatura ambiental desciende a temperaturas menores de 30°C y la temperatura interna de la muestra es menor a 35°C.
- La muestra con mayor desplazamiento de la fase líquida de H₂O fue la de gallinaza, por lo que se cree que esta generó la mayor cantidad de biogás en 72 h de fermentación.
- El estiércol de ganado lechero presentó la menor cantidad de biogás generado en 72 h de fermentación, de acuerdo con el volumen de H₂O desplazado.
- La cerdaza fue la muestra que presentó una mayor cantidad de NaOH desplazada, indicando que esta muestra tuvo una mayor cantidad de CH₄ producido en comparación al resto de las excretas.
- La gallinaza fue la que presentó, estadísticamente, el menor desplazamiento de NaOH, por lo que se presupone que fue la que generó la menor cantidad de CH₄.
- De acuerdo con los resultados del cromatógrafo de gases para cuantificar la cantidad de AGVs, las excretas presentaron una cantidad muy pequeña. Con tendencia a presentar, en las seis muestras, una proporción mayor de acetato que de propionato y butírico.
- En las seis muestras se observa en promedio, un crecimiento en la producción de AGVs de las excretas frescas con relación al término de las 72 h de fermentación, confirmando la degradabilidad de nutrientes y masa microbiana en las excretas.
- La muestra que presentó una mayor cantidad de materia seca parcial fueron las excretas de borrego, por lo que se deduce que la cantidad de agua solo presentó un 28.07%. Sin embargo, esta muestra fue la que presentó el segundo desplazamiento de H₂O y el tercero en el desplazamiento de NaOH.
- En la cerdaza, que presentó el tercer desplazamiento de H₂O y el primero en NaOH, se identificó un 43.27% de agua.
- El estiércol del ganado engorda y lechero, con un porcentaje de agua de 80.03% y 78.75% de agua respectivamente, presentaron el cuarto y último desplazamiento de H₂O y el cuarto y quinto en el NaOH, por lo que podría considerarse que la

producción de vapor de agua es una alta proporción del gas generado, así como una baja proporción de CH₄ con relación al CO₂, sin embargo estos datos deben ser comprobados con los datos arrojados por cromatografía de gases.

- Considerando el porcentaje de cenizas, se observa una alta cantidad en las muestras de gallinaza y cerdaza con 26.38% y 29.50% respectivamente. Mientras que el resto de las muestras fueron: estiércol de ganado lechero con 17.83%, excretas de cabra con 17.78%, excretas de borrego con 15.65% y el de estiércol de engorda con 13.12%
- La cuantificación de bacterias de las excretas frescas de la gallinaza y del estiércol lechero tienen una orden de 10⁹ bacterias/g excreta, mientras que para las excretas de cabra, cerdaza, excretas de borrego y estiércol de ganado lechero se presentan en una magnitud de 10¹⁰ bacterias/ g excretas.
- Prácticamente no hubo una diferencia en la cuantificación de las bacterias con respecto a las 72 h de fermentación, dado que la magnitud de la gallinaza quedó en 10⁹ bacterias / g excreta y de 10¹⁰ bacterias / g excreta en el resto de las muestras. Pero esa diferencia, fue suficiente para marcar la diferencia en la producción de metano entre la gallinaza, el ganado lechero y las demás muestras.

5. EXPERIMENTO II. COMPARACIÓN DE BIOGÁS TOTAL METANO Y BIÓXIDO DE CARBONO POR FERMENTACIÓN EN EXCRETAS DE GANADO VACUNO LECHERO, CERDAZA Y FERMENTACIÓN RUMINAL.

5.1. Introducción

De manera global, la actividad ganadera es responsable de 65 a 100 MTon / año de metano (CH₄), es decir con el 23% de las emisiones antropogénicas de este contaminante (US EPA 1994, citado por McCrabb, 1999).

Johnson y Johnson (1995) y Moss *et al.* (2000) indicaron que las emisiones de CH₄ de actividades ganaderas causan alrededor del 15 al 17% del calentamiento global. Kurihara *et al.* (1999) y Johnson y Johnson, (1995), señalaron que las emisiones de CH₄ por el ganado bovino, están estimadas en 58 MTon / año, lo que representa el 73 % del total de emisiones (80 MTon / año) de todas la especies domésticas.

Estos datos globales no establecen la contribución de la fermentación entérica con respecto al manejo de estiércol. De acuerdo con los factores de emisión propuestos por el IPCC en el nivel 1, la contribución de la emisión de CH₄ entre la fermentación entérica y el manejo de excretas para un individuo del sistema de ganado vacuno lechero es de 99.34% y 0.66% respectivamente. En cuanto al ganado vacuno no lechero la relación es de 98% para fermentación entérica y 2% para manejo de excretas (IPCC, 2006).

Por otro lado, los resultados del Experimento 1 de esta tesis, (Capítulo 4) se identificó a la cerdaza como la muestra de excretas con la mayor producción de CH₄, encontrándose diferencia significativas (<0.05) con respecto a la producción por estiércol de ganado lechero y en engorda. De igual forma, investigadores como Viñas-Alvarez *et al.* (1996), Flotats *et al.* (2001), Massé *et al.* (2003) y Forster-Carneiro *et al.* (2007) encontraron a la cerdaza como una fuente importante de CH₄.

Dado que la temperatura promedio de la cavidad gástrica, específicamente en el rumen, del ganado bovino se lleva la fermentación entérica a 39°C, en el presente experimento se

comparó la producción de CH₄ y CO₂, de cerdaza, estiércol de ganado lechero y su líquido ruminal, a una temperatura constante de 39°C por 72 h.

5.2. Objetivo general

- Comparar la cantidad de biogás total, CH₄ y CO₂ producido por la fermentación de 100 g del contenido de líquido ruminal de una vaca lechera con relación a 100 g de estiércol de la misma vaca y a 100 g de cerdaza, a 0, 4, 6, 18, 20, 24, 27, 29, 45, 48, 52, 69 y 72 h a temperatura constante de 39°C.

5.3 Objetivos particulares

- Montar los sistemas biorreactor-trampa, por cuadruplicado y una réplica, de una muestra de líquido ruminal de una vaca lechera, de su estiércol y de cerdaza.
- Estimar las emisiones de biogás total y de CH₄ considerando el desplazamiento de la fase líquida de las trampas con solución salina y con NaOH 1N aplicando la ley de las presiones parciales y la ley de los gases ideales.
- Analizar las diferencias de pH de las muestras frescas con relación al término de 72 h de fermentación, así como de la fase líquida de las trampas de NaOH.
- Cuantificar la cantidad de materia seca de las muestras frescas.
- Caracterizar la cantidad de materia inorgánica (ceniza), proteína, carbón orgánico, nitrógeno total, así como fibra total (fibra detergente neutro) y hemicelulosa (fibra detergente ácido) de cada muestra fresca.
- Analizar la concentración de bacterias de las muestras frescas con relación al término de las 72 h de fermentación.
- Identificar la muestra de excretas con mayor emisión de CH₄ por fermentación.

5.4. Hipótesis

- La emisión de CH₄ por la actividad microbiana en líquido ruminal es mayor que por la fermentación del estiércol y de cerdaza, bajo las mismas condiciones de temperatura.

5.5. Metodología y materiales

5.5.1. Captura de CH₄ y CO₂. Se recolectó estiércol directamente del recto y líquido ruminal de una vaca con fístula ruminal de la granja experimental del Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados. Las excretas frescas de ganado porcino en finalización, se colectaron de una granja ubicada en Cuatlinchan, Texcoco, Estado de México.

El material y metodología del sistema fermentador-trampa para la captura de biogás (CH₄ y CO₂) es similar al descrito en el punto 4.5.1. Pero en lugar de trampas de agua destilada, para cuantificar biogás total, se utilizaron trampas de solución salina saturada, 400 g de NaCl en 1 L de H₂O destilada, con pH 2, y 5 mL de indicador anaranjado de metilo al 20%. También se usaron trampas de NaOH 1N para cuantificación de CH₄. Las fermentaciones se realizaron por cuadruplicado por muestra. Se fermentaron los viales en un baño María a 39°C y se tomaron lecturas del desplazamiento de las fases líquidas de las trampas a 0, 4, 6, 18, 20, 24, 27, 29, 45, 48, 52, 69 y 72 h.

5.5.2 Medición inicial y final de pH y conteo de bacterias. La metodología para la medición de pH y conteo de bacterias, inicial y final, del estiércol y la cerdaza es la descrita en el punto 4.5.2. A diferencia de las excretas, el pH del líquido ruminal inicial y final se midió directamente. La primera dilución, para el conteo inicial y final de bacterias del líquido ruminal, fue 4 mL de formaldehído al 18.5% y 1 mL de líquido ruminal. Las mediciones se realizaron por cuadruplicado.

5.5.3. Medición de la materia seca total del líquido ruminal y las excretas frescas. Se siguió la metodología descrita en el punto 4.5.3 (A.O.A.C., 2005, método: 934.01).

5.5.4. Determinación de cenizas. Se siguió la metodología descrita en el punto 4.5.4 (A.O.A.C., 2005, método: 934.05). Las repeticiones se realizaron por duplicado.

5.5.5. Determinación de nitrógeno y proteína. Se siguió la metodología descrita en el punto 4.5.5 (A.O.A.C., 2005, método 984.13). Las repeticiones se realizaron por duplicado.

5.5.6. Determinación de fibra detergente ácido. Se determinó de acuerdo a la metodología descrita en el punto 4.5.6 (Van Soest, 1963). Las repeticiones se realizaron por duplicado.

5.5.7. Determinación de fibra detergente neutro. Se determinó de acuerdo a la metodología descrita en el punto 4.5.7 (Van Soest, 1963). Las repeticiones se realizaron por duplicado.

5.5.8. Determinación de carbón orgánico. Se determinó de acuerdo al punto 4.5.8 (Etchevers, *et al.* 2005). Las repeticiones se realizaron por duplicado.

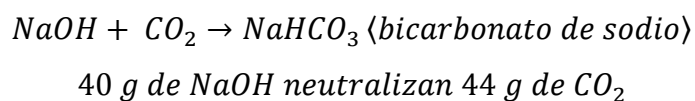
5.5.9. Medición de ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases. La metodología es la misma que la descrita en el punto 4.5.9. Sin embargo para la preparación de la muestra de líquido ruminal, se agregaron 1.5 mL de líquido ruminal directamente a 0.375 mL de ácido metafosfórico.

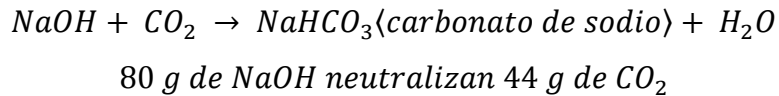
5.6. Resultados

5.6.1. Cuantificación de biogás total y metano por desplazamiento de la fase líquida de las trampas.

En esta sección se presentan los resultados del biogás total producido y sus componentes (CO₂, CH₄ y vapor de agua) utilizando el desplazamiento de la fase líquida de las trampas de solución salina y NaOH. Se utilizan los datos registrados de los testigos de agua para eliminar la proporción del vapor de agua generado.

En el espacio de cabeza de la trampa con solución salina, se capturó el biogás total (BT) producido por la fermentación de las diferentes muestras. Por otro lado en las trampas de NaOH 1N, se capturó el CH₄, debido a que el CO₂ producido reaccionó con el NaOH, formándose bicarbonato y carbonato de sodio de acuerdo con las siguientes reacciones:





El pH de la solución de NaOH 1N al inicio fue entre 13.2 y 13.5, manteniéndose en este rango al final de la fermentación, por lo se asume que el total de CO₂ producido reaccionó con el NaOH, dejando pasar hacia el espacio de cabeza solamente CH₄ y vapor de H₂O.

La media del desplazamiento de la fase líquida de la trampa de agua (100 mL) fue de 16.5 mL. Dado que en el testigo de agua no produjo CO₂ y CH₄ se asume que el volumen desplazado solo fue ejercido exclusivamente por la producción de vapor de agua, así entonces, las medias de humedad de cada muestra fueron: líquido ruminal 92.18%, estiércol 86.99% y cerdaza 77.96%. Se estimaron las cantidades de vapor de agua que se obtuvieron en el espacio de cabeza de las trampas, de acuerdo con:

$$Vapor_{H_2O} = (H) (T_{H_2O}) \quad \text{ecuación 1}$$

donde:

Vapor_{H₂O} = volumen de vapor de agua producido por la muestra.

H = % de humedad de la muestra.

T_{H₂O} = volumen del desplazamiento de H₂O (16.5 mL)

Al restar el desplazamiento debido al vapor de agua del volumen de biogás producido, se obtiene entonces el volumen del agua desplazado por la producción exclusiva de BT y CH₄, como sigue (ecuaciones 2 y 3)

$$BT = BTh - Vapor_{H_2O} \quad \text{ecuación 2}$$

donde:

BT = volumen de biogás total producido por muestra.

BTh = volumen de biogás húmedo registrado en las trampas de solución salina por muestra.

$Vapor_{H_2O}$ = volumen de vapor de agua producido por muestra (ecuación 1)

$$CH_4 = CH_4h - Vapor_{H_2O} \quad \text{ecuación 3}$$

donde:

CH_4 = volumen de metano producido por muestra.

CH_4h = volumen de metano húmedo registrado en las trampas de NaOH 1N por muestra.

$Vapor_{H_2O}$ = volumen de vapor de agua producido por muestra (ecuación 1).

De tal forma que la cantidad de biogás no metanico, considerado como CO_2 para los fines de esta tesis, se calculó restándole al biogás total del espacio de cabeza de las trampas de sal, las cantidades que se registraron del CH_4 capturado en las trampas de NaOH y del vapor de agua de los testigos de agua (ecuación 4).

$$BNM_{CO_2} = BT - CH_4 \quad \text{ecuación 4}$$

donde:

BNM_{CO_2} = volumen de biogás no metanico considerado como CO_2 por muestra.

BT = volumen de biogás total producido por muestra (ecuación 2).

CH_4 = volumen de metano producido por muestra (ecuación 3).

En el Cuadro 5.1 se presentan los resultados del volumen del BT, H_2O , CH_4 y CO_2 , considerando el desplazamiento de las trampas de NaOH y solución salina, así como los datos de los testigos de agua. También se presentan los porcentajes de CH_4 y CO_2 , sin considerar el vapor de agua.

Cuadro 5.1. Proporción de CH_4 y CO_2 considerando las trampas de NaOH y solución salina y volumen de los analitos del biogás producido.

| Muestra | % | | Vapor de H_2O (mL) | Volumen (mL/100g) | | |
|-----------|--------|--------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | CH_4 | CO_2 | | BT seco | CH_4 | CO_2 |
| LR | 73.5 | 26.5 | 15.1 | 355.2 ^b | 261.0 ^b | 94.16 ^b |
| Estiércol | 92.7 | 7.3 | 14.6 | 236.1 ^c | 217.7 ^b | 18.42 ^c |
| Cerdaza | 51.1 | 48.9 | 12.6 | 816.0 ^a | 417.0 ^a | 399 ^a |

^{a,b,c} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

El análisis de varianza con Tukey, del Cuadro 5.1 (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2002), arrojó que, al final de la fermentación por 72 h, hay diferencias significativas ($P < 0.0001$) en la producción de BT y CO_2 de las tres muestras. Sin embargo no hay diferencias significativas ($P > 0.05$) en la producción de CH_4 por la fermentación del LR y estiércol, pero si con la cerdaza ($P < 0.0001$).

5.6.2. Cálculo de la concentración en moles y gramos de CH_4 y CO_2

Para el cálculo de la concentración de número de moles de CH_4 y CO_2 producidos por los resultados del desplazamiento de la fase líquida de las trampas, se consideró las proporciones de CH_4 y CO_2 calculado (Cuadro 5.1) así como el volumen por vapor de agua. Aplicando la ley de las Presiones Parciales, se calculó la presión que ejerce cada uno de los componentes del biogás, dentro del espacio de cabeza de las trampas. Considerando que el sistema biorreactor-trampa mantuvo una válvula de alivio, la presión total en el espacio de cabeza, se iguala a la presión atmosférica, por lo que se considera, para fines de esta tesis, de 760 mm Hg.

$$P_T = P_{\text{CH}_4} + P_{\text{CO}_2} + P_{\text{H}_2\text{O}} \quad \text{ecuación 5}$$

donde:

P_T = presión total dentro del espacio de cabeza

P_{CH_4} = presión parcial ejercida por el CH_4

P_{CO_2} = presión parcial ejercida por el CO_2

$P_{\text{H}_2\text{O}}$ = presión parcial ejercida por el vapor de H_2O

Conociendo que la presión del vapor de agua a 25°C es de 23.8 mm Hg, sustituyendo y despejando de la ecuación 5, se tiene que:

$$P_{\text{CO}_2} + P_{\text{CH}_4} = 760 \text{ mm Hg} - 23.8 \text{ mm Hg} = 736.2 \text{ mm Hg} \quad \text{ecuación 6}$$

De acuerdo con los porcentajes calculados de CH_4 y CO_2 de cada muestra, de acuerdo con el desplazamiento de la fase líquida de las trampas se calculan la presión parcial del CH_4 y del CO_2 . Por lo tanto para el cálculo de la presión de CH_4 se tiene que:

$$P_{\text{CH}_4} = \frac{(\% \text{CH}_4) (736.2 \text{ mm Hg})}{100\%} \quad \text{ecuación 7}$$

donde:

P_{CH_4} = presión ejercida por el metano

%CH₄ = proporción del CH₄ por el desplazamiento de la fase líquida de la trampa de solución salina

Por lo tanto, despejando de la ecuación 4, la presión del CO₂ se calcula:

$$P_{CO_2} = P_T - P_{H_2O} - P_{CH_4} \quad \text{ecuación 8}$$

Sustituyendo los valores en las ecuaciones 6 y 7, se tiene que la presión del CH₄ por la fermentación de LR fue de 558.6 mm Hg mientras que para el CO₂ fue de 177.6 mm Hg. La presión del CH₄ y CO₂ para la muestra de estiércol fueron de 700.72 mm Hg y 35.48 mm Hg respectivamente y para la cerdaza la presión del CH₄ y CO₂ fueron 388.36 mm Hg y 347 mm Hg respectivamente.

Con los valores de los volúmenes del CH₄ y CO₂, y utilizando la ecuación de los gases ideales se calculó los moles producidos de CO₂ y CH₄:

$$n = \frac{PV}{RT} \quad \text{ecuación 9}$$

donde:

n = número de moles de CH₄ ó CO₂

P = presión ejercida por CH₄ ó CO₂ en atmósferas

V = volumen en L

R = constante de los gases ideales 0.0821 L • atm / (K• mol)

T = temperatura en K

Al sustituir los valores de la presión parcial y volumen de cada componente (Cuadro 5.1) se obtienen los números de moles de CH₄ y CO₂ que se tienen en el espacio de cabeza. Los gramos (g) se calculan con los moles producidos de cada molécula. Los moles y gramos producidos de CH₄ y CO₂ de cada muestra son listados en el Cuadro 5.2.

Cuadro 5.2. Comparación de la concentración en moles y gramos de CH₄ y CO₂ calculados por el desplazamiento de la fase líquida.

| Muestra | Concentración por 100 g de muestra | | | |
|-----------------|------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | CH ₄ | | CO ₂ | |
| | moles | g | moles | g |
| Líquido ruminal | 7.69E-04 ^b | 1.23E-02 ^b | 7.17E-05 ^b | 3.16E-03 ^b |
| Estiércol | 7.56E-04 ^b | 1.21E-02 ^b | 7.05E-07 ^c | 3.10E-05 ^c |
| Cerdaza | 8.25E-04 ^b | 1.32E-02 ^b | 7.00E-04 ^a | 3.08E-02 ^a |

^{a,b,c} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

Como se puede observar del Cuadro 5.2, del análisis de varianza Tukey (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2002), hay diferencias significativas (P < 0.05) (con excepción en LR para CH₄) entre la producción en moles de CH₄ y CO₂ entre los datos del desplazamiento de la fase líquida de las trampas con relación a los datos obtenidos por TCD de cromatografía de gases. Esta misma tendencia (P < 0.05) se observa en la producción en gramos de CH₄ y CO₂.

5.6.3. Producción parcial de BT, CO₂ y CH₄.

En el Cuadro 5.3 se muestran los promedios de la producción de biogás total (BT), biogás no metano considerado como CO₂ y CH₄, por la fermentación de 100 g de cada muestra para: líquido ruminal, estiércol de la misma vaca y de cerdaza, en los periodos de 0, 4, 6, 18, 20, 24, 27, 29, 45, 48, 52, 69 y 72 h de fermentación a una temperatura constante de 39°C. Los resultados del BT, CH₄ y CO₂ fueron sometidos a un análisis de varianza con Tukey (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2002).

Cuadro 5.3. BT, CH₄ y CO₂ producido, en mL, por la fermentación de 100 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a 39°C.

| Tiempo (h) | Líquido Ruminal | | | Estiércol | | | Cerdaza | | |
|---------------|--------------------------|--------------------------|-------------------|------------------------|------------------------|-------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
| | BT | CH ₄ | CO ₂ | BT | CH ₄ | CO ₂ | BT | CH ₄ | CO ₂ |
| 4 | 115.6 ^d | 94.4 ^g | 21.2 ^a | 52.4 ^f | 42.4 ^e | 10.0 ^a | 180.8 ^f | 161.3 ^d | 19.5 ^f |
| 6 | 132.6 ^{c,d} | 106.0 ^{f,g} | 26.6 ^a | 64.6 ^{e,f} | 53.0 ^{d,e} | 11.6 ^a | 222.9 ^f | 184.8 ^{c,d} | 38.2 ^{e,f} |
| 18 | 194.7 ^{b,c,d} | 141.8 ^{e,f,g} | 52.9 ^a | 85.0 ^{d,e} | 64.6 ^{d,e} | 20.4 ^a | 299.8 ^{e,f} | 239.9 ^{b,c,d} | 59.9 ^{d,e,f} |
| 20 | 238.2 ^{a,b,c,d} | 172.4 ^{d,e,f} | 65.8 ^a | 95.0 ^{d,e} | 72.6 ^{d,e} | 22.3 ^a | 456.5 ^{d,e} | 293.9 ^{a,b,c,d} | 162.6 ^{c,d,e} |
| 24 | 245.3 ^{a,b,c,d} | 181.5 ^{c,d,e} | 63.8 ^a | 111.9 ^{c,d,e} | 88.3 ^{c,d,e} | 23.6 ^a | 477.8 ^{c,d,e} | 308.0 ^{a,b,c} | 169.8 ^{c,d,e} |
| 27 | 260.3 ^{a,b,c} | 192.9 ^{b,c,d,e} | 67.3 ^a | 122.9 ^{c,d,e} | 104.1 ^{c,d,e} | 18.8 ^a | 513.0 ^{b,c,d} | 323.8 ^{a,b} | 189.2 ^{c,d} |
| 29 | 271.8 ^{a,b,c} | 203.5 ^{a,b,c,d} | 68.2 ^a | 146.5 ^{b,c,d} | 119.8 ^{b,c,d} | 26.8 ^a | 541.6 ^{b,c,d} | 337.9 ^{a,b} | 203.7 ^{b,c,d} |
| 45 | 312.3 ^{a,b} | 232.6 ^{a,b,c,d} | 79.6 ^a | 177.8 ^{a,b,c} | 156.2 ^{a,b,c} | 21.6 ^a | 647.5 ^{a,b,c} | 376.8 ^{a,b} | 270.8 ^{a,b,c} |
| 48 | 314.3 ^{a,b} | 235.5 ^{a,b,c,d} | 78.8 ^a | 194.5 ^{a,b} | 175.5 ^{a,b} | 19.0 ^a | 671.5 ^{a,b} | 381.0 ^a | 290.5 ^{a,b,c} |
| 52 | 320.5 ^{a,b} | 243.6 ^{a,b,c} | 76.9 ^a | 200.6 ^{a,b} | 183.8 ^{a,b} | 16.8 ^a | 697.1 ^{a,b} | 395.8 ^a | 301.4 ^{a,b,c} |
| 69 | 341.7 ^a | 254.2 ^{a,b} | 87.5 ^a | 217.6 ^a | 202.5 ^a | 15.2 ^a | 763.8 ^a | 411.1 ^a | 352.7 ^{a,b} |
| 72 | 355.2 ^a | 261.0 ^a | 94.2 ^a | 236.1 ^a | 217.7 ^a | 18.4 ^a | 816.0 ^a | 417.0 ^a | 399.0 ^a |

P < 0.0001 P < 0.0001 P = 0.0878 P < 0.0001 P < 0.0001 P = 1.0 P < 0.0001 P < 0.0001 P < 0.0001
^{a,b,c,d,e} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

De acuerdo con las Figuras 5.1, 5. 2 y 5.3, el comportamiento de la producción de biogás total, CH₄ y CO₂ acumulado presenta una fase de adaptabilidad en las primeras 12 h de fermentación en las tres muestras. En las tres muestras se observa una alta producción de CH₄ con relación al CO₂ calculado, así en líquido ruminal el CH₄ producido representó el 73.5% y el CO₂ con el 22.2%, y 4.3% de vapor de H₂O. Para el caso del estiércol, de la misma vaca fistulada, se tiene que el 92.2% corresponde a CH₄, mientras que el CO₂ corresponde a 1.6%, el resto fue presencia de vapor de H₂O. En tanto a la cerdaza registró un 51.1% de CH₄, 47.3% de CO₂ y el resto de vapor de H₂O.

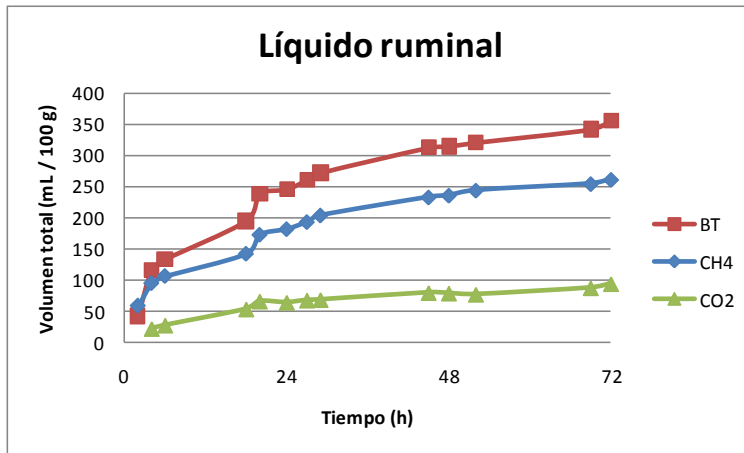


Figura 5.1. Comportamiento de la producción de BT, CH₄ y CO₂ de líquido ruminal a 39°C

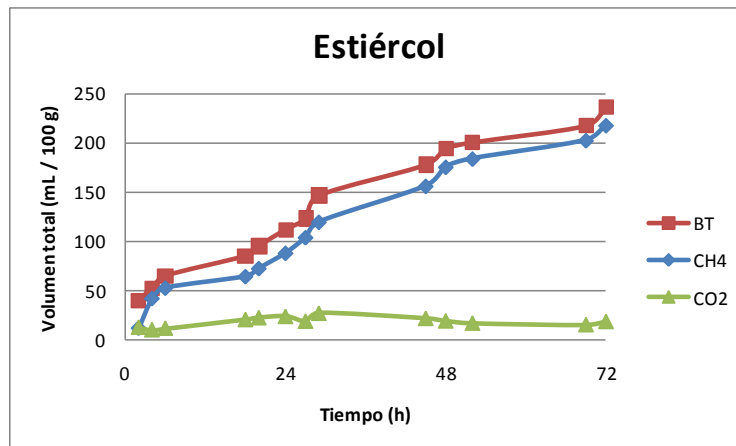


Figura 5.2. Comportamiento de la producción de BT, CH₄ y CO₂ de estiércol a 39°C

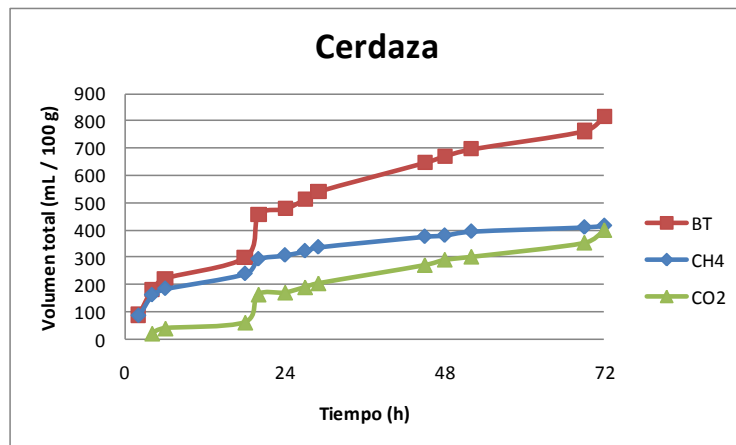


Figura 5.3. Comportamiento de la producción de BT, CH₄ y CO₂ de cerdaza a 39°C

Las arqueobacterias metanogénicas son anaerobias obligadas, por lo que la fermentación constante a 39°C teóricamente favoreció el crecimiento de este tipo de bacterias, debido a que la mayoría de las metanogénicas son mesófilas (temperatura óptima de crecimiento comprendida entre 20°C y 45°C) (Madignan *et al.*, 2004). Las metanogénicas tienen un tipo de metabolismo que puede usar el H₂ como fuente de energía y el CO₂ como fuente de carbono para su crecimiento, así el producto final, gas CH₄, se acumuló dentro de los biorreactores, deduciendo que el ambiente dentro de éstos, al final de las 72 h de fermentación, fue totalmente anaerobio.

5.6.4. Caracterización de las muestras.

En el Cuadro 5.5 se presentan las características químicas de las muestras frescas del líquido ruminal, el estiércol y la cerdaza, que se usaron para la producción de biogás (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2002) con Tukey. Para FDA, FDN, carbón orgánico y humedad se observa que hay diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre las tres muestras. Sin embargo hay similitudes significativas ($P > 0.012$) de cenizas, nitrógeno y proteína.

Cuadro 5.4. Caracterización de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.

| Muestra | %FDA | %FDN | % CO | %N | %P | %C | %H |
|-----------|--------------------|--------------------|-------------------|---------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| LR | 28.68 ^b | 40.70 ^b | 3.65 ^a | 2.78 ^{a,b} | 17.36 ^{a,b} | 15.77 ^b | 91.72 ^a |
| Estiércol | 41.34 ^a | 53.21 ^a | 4.12 ^a | 2.25 ^b | 14.07 ^b | 16.63 ^b | 87.75 ^b |
| Cerdaza | 10.25 ^c | 25.80 ^c | 4.16 ^a | 3.58 ^a | 22.40 ^a | 22.63 ^a | 76.18 ^c |
| | $P < 0.0001$ | $P < 0.0001$ | $P < 0.2737$ | $P < 0.012$ | $P < 0.012$ | $P < 0.0002$ | $P < 0.0001$ |

FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; CO: carbón orgánico; N: nitrógeno; PB: proteína bruta, C: cenizas y H: humedad.

^{a,b,c} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

De acuerdo con registros en manuales para la preparación de composta por digestión anaerobia, la relación C:N de estiércol fresco es de 25:1, mientras que para la cerdaza es de 13:1 (Martí Herrero, 2008). En contraparte, la caracterización de las tres muestras, indica en este caso que la proporción C:N del LR (1.4:1), estiércol (1.8:1) y cerdaza (1.2:1)

corresponden a una concentración muy pobre de carbono y muy alta de nitrógeno en las tres muestras.

Los resultados de los parámetros de la caracterización de las muestras frescas fueron sometidos al análisis de Pearson (PROC CORR, SAS, 2002) para identificar la correlación que existe entre los parámetros de cada muestra y la producción de BT, CH₄ y CO₂. Los coeficientes de correlación de Pearson, así como el nivel de significancia son mostrados en el Cuadro 5.5.

Considerando que un coeficiente de correlación de +1 identifica una correlación completa y directamente proporcional entre las dos variables, de 0 donde existe nula correlación y de -1 cuando la correlación es inversamente proporcional, mientras que el nivel de significancia indica la probabilidad de tomar la decisión de rechazar la hipótesis cuando ésta es verdadera. Se observa así (Cuadro 5.5), coeficientes de correlación positivos de 0.99 a 0.86, entre FDN, carbón orgánico, nitrógeno y proteína con relación a la producción de BT, CH₄ y CO₂ por la fermentación del LR. En esta misma muestra, se observa una correlación negativa entre -0.98 y -0.72, con FDA y cenizas. Finalmente no se observa una correlación baja y no bien definida para la humedad y la producción de biogás, así para BT y CO₂ se tiene una correlación positiva de 0.07 y 0.22 respectivamente, mientras que para CH₄ se tiene una correlación de -0.14.

Cuadro 5.5. Coeficientes de correlación Pearson de la producción de BT, CH₄ y CO₂ a 39°C con relación a los parámetros de caracterización de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.

| Muestra | Variable | FDA | FDN | CO | N | PB | C | H | |
|-----------------|-----------------|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Líquido Ruminal | Biogás | ^a | -0.97549 | 0.94412 | 0.92162 | 0.99893 | 0.99900 | -0.87400 | 0.07078 |
| | | ^b | 0.0245 | 0.0559 | 0.0784 | 0.0011 | 0.0010 | 0.1260 | 0.9292 |
| | CH ₄ | ^a | -0.98504 | 0.96428 | 0.77415 | 0.95861 | 0.95837 | -0.98425 | -0.14565 |
| | | ^b | 0.0150 | 0.0357 | 0.2258 | 0.0414 | 0.0416 | 0.0157 | 0.8543 |
| | CO ₂ | ^a | -0.89885 | 0.86178 | 0.96702 | 0.95817 | 0.9548 | -0.72864 | 0.22852 |
| | | ^b | 0.1012 | 0.1382 | 0.0330 | 0.0418 | 0.0415 | 0.2714 | 0.7715 |
| Estiércol | Biogás | ^a | -0.75591 | -0.84493 | -0.48371 | 0.58716 | 0.59899 | 0.24186 | 0.45864 |
| | | ^b | 0.2441 | 0.1551 | 0.5163 | 0.4128 | 0.4010 | 0.7581 | 0.5414 |
| | CH ₄ | ^a | 0.57889 | 0.46092 | 0.81165 | -0.73699 | -0.72448 | 0.20120 | 0.03457 |
| | | ^b | 0.4211 | 0.5391 | 0.1884 | 0.2630 | 0.2755 | 0.7988 | 0.9654 |
| | CO ₂ | ^a | -0.82628 | -0.74384 | -0.95479 | 0.91928 | 0.91138 | -0.10878 | 0.12878 |
| | | ^b | 0.1737 | 0.2562 | 0.0452 | 0.0807 | 0.0886 | .08912 | 0.8712 |
| Cerdaza | Biogás | ^a | -0.01322 | 0.15129 | -0.26493 | -0.32174 | -0.32138 | -0.27785 | 0.77990 |
| | | ^b | 0.9868 | 0.8487 | 0.7351 | 0.6783 | 0.6786 | 0.7222 | 0.2201 |
| | CH ₄ | ^a | -0.72898 | 0.67952 | -0.75778 | -0.93795 | -0.93612 | -0.93213 | 0.34485 |
| | | ^b | 0.2710 | 0.3205 | 0.2422 | 0.0621 | 0.0639 | 0.0679 | 0.6552 |
| | CO ₂ | ^a | 0.83947 | -0.65960 | 0.65047 | 0.81058 | 0.80877 | 0.84262 | 0.28715 |
| | | ^b | 0.1605 | 0.3404 | 0.3495 | 0.1894 | 0.1912 | 0.1574 | 0.7129 |

^a coeficiente de correlación entre las variables.

^b nivel de significancia de la prueba de hipótesis.

FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; CO: carbón orgánico; N: nitrógeno; PB: proteína bruta; C: cenizas y H: humedad.

Para el caso de la producción del biogás por la fermentación del estiércol, no se tuvo una correlación definida con los respectivos parámetros, ya que existe una correlación positiva en la producción de CH₄ con relación a FDA (0.057), FDN (0.46), carbón orgánico (0.81), cenizas (0.20) y prácticamente nula con humedad (0.03), pero es negativa

para nitrógeno (-0.73) y proteína (-0.72). Sin embargo para la producción de BT y CO₂ la correlación es negativa con FDA (-0.75 y -0.82), FDN (-0.84 y -0.74) y carbón orgánico (-0.48 y -0.95), caso contrario es con humedad dado que se presentaron correlaciones positivas de 0.45 para el BT y de 0.12 para CO₂.

Finalmente para la correlación entre la producción de biogás de la cerdaza y los parámetros de la caracterización de la muestra fresca, la humedad fue el único parámetro con todas las correlaciones positivas para BT (0.77) CH₄ (0.34) y CO₂ (0.28), mientras que para el resto de los parámetros hubo diferencias entre correlaciones positivas y negativas, sin embargo es consistente la correlación positiva para la producción de CO₂ con FDA (0.83), carbón orgánico (0.65), nitrógeno (0.81), proteína (0.80) y cenizas (0.19), mientras que la correlación es negativa para BT (-0.013, -0.26, -0.32, -0.32 y -0.27) y CH₄ (-0.72, -0.75, -0.93, -0.93 y -0.93) para estos mismos parámetros.

Al realizar el análisis agrupando los resultados del líquido ruminal y del estiércol de la misma vaca para correlacionar con análisis de Pearson (PROC CORR, SAS, 2002) la producción de BT, CH₄ y CO₂ con los parámetros de la caracterización de las muestras frescas, se observa en el Cuadro 5.5 que existe una correlación positiva en la producción de BT, CH₄ y CO₂ con el nitrógeno (0.94, 0.68 y 0.90), con proteína (0.94, 0.68 y 0.90) y humedad (0.69, 0.49 y 0.66). Caso contrario es el comportamiento de la correlación con FDA, FDN y cenizas, debido a que es negativo con la producción de BT, CH₄ y CO₂.

5.6.5. Variación de pH.

El análisis estadístico de análisis de varianza, Tukey (PROC ANOVA, SAS, 2002) se identificó que hay similitudes significativas ($P < 0.0004$) entre los pH de las muestras frescas de las tres muestras, así también no hay diferencias significativas ($P < 0.0004$) en los pH al final de la fermentación de las tres muestras. Sin embargo entre el pH inicial y el pH final del LR así como en la cerdaza, sí hay diferencias significativas ($P < 0.0004$), no así entre los pH inicial y final del estiércol, por lo que pudiera suponer que el pH fuese adecuado para continuar con la fermentación y por lo tanto para la producción del biogás (Cuadro 5.6).

Cuadro 5.6. Variación de pH de las muestras frescas y al término de las 72 h de fermentación.

| Muestra | pH inicial | pH final |
|-----------------|---------------------|-----------------------|
| Líquido ruminal | 7.41 ^a | 6.88 ^c |
| Estiércol | 7.36 ^a | 7.08 ^{a,b,c} |
| Cerdaza | 7.12 ^{a,b} | 6.64 ^c |

P < 0.0004

^{a,b,c} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

En cuanto a la cuantificación de bacterias totales (Cuadro 5.7), el análisis estadístico de varianza con Tukey (PROC ANOVA, SAS, 2002), indica que no existen diferencias significativas (P < 0.0001) entre la concentración de bacterias inicial y final del líquido ruminal y del estiércol. Considerando éstos resultados, junto con los valores de los pH finales de las muestras, se estima que la fermentación del sustrato continuó para estas muestras. Sin embargo, sí existen diferencias significativas (P < 0.0001) entre las tres muestras frescas, lo cual indica que pudiera haber diferencias entre el tipo de bacterias que se encuentran en cada muestra.

Cuadro 5.7. Concentración de bacterias totales de líquido ruminal, estiércol y cerdaza al inicio y final de la fermentación

| Muestra | Concentración [bacterias/g excretas] | |
|------------------------|---|-----------------------|
| | Inicial | Final |
| Líquido ruminal | 2.39E+09 ^c | 1.31E+09 ^c |
| Estiércol | 1.08E+10 ^b | 7.43E+09 ^b |
| Cerdaza | 2.59E+10 ^a | 1.04E+10 ^b |

P < 0.0001

^{a,b,c} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

Finalmente para el caso de los ácidos grasos volátiles (AGV's), y de acuerdo al análisis de varianza (PROC ANOVA, SAS, 2002) con Tukey, se determinaron diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre el acetato, propionato y butirato inicial y al final de la fermentación de las tres muestras, con excepción en el estiércol para propionato y butirato. Se identificó que la actividad microbiana favoreció la producción de acetato en las tres muestras, con menor producción de propionato y butirato para líquido ruminal y cerdaza, mientras que fue mínima a nula la producción de acetato, propionato y butirato, respectivamente, para el estiércol.

Cuadro 5.8. Variación en la producción de ácidos grasos volátiles en las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza y al final de la fermentación.

| Muestras | Acetato (mMol) | | Propionato(mMol) | | Butirato(mMol) | | Proporción acet:propio:but | |
|------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------------------|----------|
| | Inicial | Final | Inicial | Final | Inicial | Final | Inicial | Final |
| LR | 25.66 ^b | 61.55 ^a | 9.34 ^{c,d} | 28.28 ^a | 2.55 ^b | 6.56 ^a | 68:25:7 | 64:29:7 |
| Estiércol | 1.51 ^e | 4.26 ^c | 0.00 ^e | 1.18 ^{d,e} | 0.00 ^c | 0.05 ^c | 100:0:0 | 78:21:1 |
| Cerdaza | 7.16 ^{d,e} | 16.89 ^c | 4.92 ^d | 12.89 ^b | 2.21 ^b | 7.10 ^a | 50:34:15 | 46:35:19 |
| | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | | | |

^{a,b,c,d,e} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

5.7. Conclusiones

- La estimación en la producción de CH₄ y CO₂ calculados con las trampas de NaOH 1N y solución salina, son viables y los resultados son confiables.
- La cerdaza presentó la mayor producción de BT, CH₄ y CO₂, con respecto al estiércol y LR, a temperatura constante de 39°C.
- No hay diferencias significativas (<0.05) en la producción de CH₄ y CO₂ en la fermentación de estiércol y líquido ruminal de la misma vaca, bajos las condiciones de este experimento.
- La relación C:N del LR (1.4:1), estiércol (1.8:1) y cerdaza (1.2:1) indican una concentración muy pobre de carbono y muy alta de nitrógeno en las tres muestras, por

lo que la actividad microbiana podría resultar ineficiente para la degradación del sustrato.

- Existe evidencia de una relación directamente proporcional entre el N, Proteína y Cenizas, e inversamente proporcional entre FDA, FDN y humedad con respecto a la producción de BT, CH₄ y CO₂.

6. EXPERIMENTO III. COMPARACIÓN DE BIOGÁS TOTAL, METANO Y BIÓXIDO DE CARBONO POR FERMENTACIÓN DE EXCRETAS DE GANADO VACUNO LECHERO, CERDAZA Y FERMENTACIÓN RUMINAL A 20, 30, 40 y 50°C.

6.1. Introducción

En la degradación anaerobia, la temperatura es un factor determinante en la actividad microbiana, debido a que esta, afecta la velocidad de crecimiento microbiano y su actividad metabólica. Temperaturas por debajo de la temperatura mínima de la actividad microbiana (propia de cada especie de microorganismo), la membrana de la pared celular se gelifica disminuyendo el transporte de compuestos y por lo tanto disminuye la actividad para el mantenimiento de la célula y su crecimiento (Madignan *et al.*, 2004). De forma contraria una temperatura mayor a la actividad microbiana (propia de cada especie de microorganismo), existe una desnaturalización de proteínas, rompimiento de la membrana y lisis térmica (Madignan *et al.*, 2004). Por tanto, la temperatura óptima permite asegurar que reacciones microbianas enzimáticas se den a una velocidad constante y se logre la máxima eficiencia para la producción de biogás.

En la degradación anaerobia de sustratos, las propiedades físicas como la viscosidad y la tensión superficial cambian con la temperatura, así también cambia la transferencia de masa y la velocidad de degradación. Bajo condiciones termófilas, el tratamiento anaeróbico parece ser más inestable e ineficiente que en el rango mesófilo (Mackie y Bryant, 1995; Viñas Alvarez, *et al.*, 1996; Forster-Carneiro, *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2010), mientras que bajo condiciones psicrófilas la degradación es más lenta e ineficiente (Massé *et al.*, 2003).

En este experimento se evaluó la producción de metano (CH₄) y bióxido de carbono (CO₂) a partir de cerdaza, estiércol y líquido ruminal (LR), a cuatro diferentes temperaturas.

6.2. Objetivo general

- Determinar la temperatura 20, 30, 40 y 50°C idónea para producir la mayor cantidad de CH₄ a partir de la fermentación de 30 g de líquido ruminal de una vaca lechera, 30 g de estiércol de la misma vaca o 30 g de cerdaza.

6.3 Objetivos particulares.

- Estimar las emisiones de biogás, a diferentes temperaturas, 20, 30, 40 y 50°C a partir del desplazamiento de la fase líquida de trampas con solución salina aplicando la ley de las presiones parciales y la ley de los gases ideales.
- Cuantificar en el biogás la proporción CH₄:CO₂ del espacio de cabeza de las trampas de solución salina, por cromatografía de gases y un detector de conductividad térmica.
- Analizar las diferencias de pH de las muestras frescas con relación al término de 72 h de fermentación.
- Cuantificar la cantidad de materia seca, materia inorgánica, nitrógeno, proteína, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido de las muestras frescas.
- Analizar la concentración de bacterias por mL, de las muestras frescas y después de 72 h de fermentación.

6.4. Hipótesis

- La mayor producción de CH₄, se da a temperaturas mesofílicas, por la condición óptima de la actividad microbiana, independientemente del tipo de muestra.

6.5. Metodología y materiales

6.5.1. Captura de CH₄ y CO₂. Se recolectó líquido ruminal de una vaca fistulada en rumen de la granja experimental del Programa de Ganadería del Colegio de Postgraduados, así como estiércol vía rectal de la misma vaca. Las excretas frescas de ganado porcino en finalización se recolectaron de una granja ubicada en Cuatlinchán, Texcoco, Estado de México.

El material y metodología del sistema fermentador-trampa para la captura de biogás (CH₄ y CO₂) es prácticamente el mismo que el descrito en el punto 4.5.1. Solo se utilizaron

trampas de solución salina saturada, 400g de NaCl en 1L de H₂O destilada, con pH 2 y 5 mL de indicador anaranjado de metilo al 20%. Muestras de las misma excreta fueron fermentadas, en diferentes baños María a 20, 30, 40 y 50°C al mismo tiempo. Se tomaron lecturas del desplazamiento de la fase líquida de las trampas a 0, 4, 14, 24, 42, 48, 66, 72 y 110 h. Las fermentaciones se realizaron por cuadruplicado por muestra y por cada temperatura.

6.5.2 Medición inicial y final de pH y conteo de bacterias. La metodología para la medición de pH y conteo de bacterias, inicial y final, del estiércol y la cerdaza es la descrita en el punto 4.5.2. A diferencia de las excretas, el pH del líquido ruminal inicial y final se midió directamente. La primera dilución, para el conteo inicial y final de bacterias del líquido ruminal, fue 4 mL de formaldehído al 18.5% y 1 mL de líquido ruminal. Las mediciones se realizaron por cuadruplicado.

6.5.3. Medición de la materia seca total del líquido ruminal y las excretas frescas. Se siguió la metodología descrita en el punto 4.5.3 (A.O.A.C., 2005, método: 934.01).

6.5.4. Determinación de cenizas. Se siguió la metodología descrita en el punto 4.5.4 (A.O.A.C., 2005, método: 934.05). Las repeticiones se realizaron por duplicado.

6.5.5. Determinación de nitrógeno y proteína. Se siguió la metodología descrita en el punto 4.6.5 (A.O.A.C., 2005, método 984.13). Las repeticiones se realizaron por duplicado.

6.5.6. Determinación de fibra detergente ácido. Se determinó de acuerdo a la metodología descrita en el punto 4.5.6 (Van Soest, 1963). Las repeticiones se realizaron por duplicado.

6.5.7. Determinación de fibra detergente neutro. Se determinó de acuerdo a la metodología descrita en el punto 4.5.7 (Van Soest, 1963). Las repeticiones se realizaron por duplicado.

6.5.8. Determinación de carbón orgánico. Se determinó de acuerdo al punto 4.5.8 (Etchevers, *et al.*, 2005). Las repeticiones se realizaron por duplicado.

6.5.9. Medición de ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases. La metodología es la misma que la descrita en el punto 4.5.9. Sin embargo para la preparación de la muestra de líquido ruminal, se agregaron 1.5 mL de líquido ruminal directamente a 0.375mL de ácido metafosfórico.

6.5.10. Medición de biogás (CH₄ y CO₂) por cromatografía de gases. Del biogás atrapado en las trampas de solución salina (repeticiones cuadruplicadas), se sometieron a conductividad térmica (TCD)⁶ por cromatografía de gases, con Helio (He) como gas acarreador, en un Cromatógrafo de gases CLAIRUS 500 Perkin Elmer. Se inyectó 0.1 µL la muestra, de manera manual, utilizando una micro jeringa de 2.5 mL de capacidad (N9302259, Syringe-GT 1002, 277561). Las características y condiciones del método fueron a) temperatura de la rampa en el horno inicio 28°C / 1 min, rampa 2.5°C / min, final 35°C / 0.5 min; b) temperatura del inyector TCD 130°C; c) volumen de inyección 0.1 µL; d) flujo del gas acarreador 23.5 mL / min, y e) tiempo de detección del CH₄ 1 min ± 0.05 y de CO₂ de 2 min ± 0.05.

6.6. Resultados y discusión

6.6.1. Cuantificación de biogás total y metano por desplazamiento de la fase líquida de las trampas.

La media del registro de desplazamiento de la fase líquida de la trampa de agua (30 mL) por cada temperatura se presenta en el Cuadro 6.1.

⁶ Detector de conductividad térmica (TCD), Columna PE 6'x1/8 ODSS: Parapak 080/100, Temp máx. 250 °C
MOAT SEN 1#9675

Cuadro 6.1. Vapor de agua generado de los testigos a diferentes temperaturas.

| Temperatura | Volumen promedio (mL) |
|--------------------|------------------------------|
| 20°C | 2.8 |
| 30°C | 5.0 |
| 40°C | 11.3 |
| 50°C | 18.0 |

Dado que en el testigo de agua no se produjo CO₂ y CH₄ se asume que el volumen desplazado solo fue ejercido exclusivamente por la presión del vapor de agua. Considerando la media del contenido de humedad de cada muestra, dadas por: líquido ruminal, 89.02%; estiércol, 87.60%, y cerdaza de 70.80%; se estimó la cantidad de vapor de agua en el espacio de cabeza de las trampas, de acuerdo a la ecuación 1.

$$Vapor_{H_2O} = H \cdot Tes_{H_2O} \quad \text{ecuación 1}$$

donde:

Vapor_{H₂O} = volumen de vapor de agua producido por la muestra.

H = % de humedad de la muestra.

Tes_{H₂O} = volumen del desplazamiento del testigo de agua (30 mL).

Los resultados del volumen del vapor de agua generado por cada muestra a las diferentes temperaturas se presentan en el Cuadro 6.2.

Cuadro 6.2. Vapor de agua generado por cada muestra a diferentes temperaturas.

| Muestra | Vapor de H₂O (mL / 30 g) | | | |
|------------------|--|-------------|-------------|-------------|
| | 20°C | 30°C | 40°C | 50°C |
| LR | 2.45 | 4.45 | 10.01 | 16.02 |
| Estiércol | 2.41 | 4.38 | 9.86 | 15.77 |
| Cerdaza | 1.95 | 3.54 | 7.97 | 12.74 |

Al restar el valor promedio del desplazamiento por el vapor de agua al volumen del biogás producido capturado en las trampas salinas, se obtiene el volumen desplazado exclusivamente por el biogás producido total (ecuación 2).

$$BT = BTh - Vapor_{H_2O} \quad \text{ecuación 2}$$

donde:

BT = volumen de biogás total producido por la muestra.

BTh = volumen de biogás húmedo registrado en las trampas de solución salina por la muestra.

Vapor_{H₂O} = volumen de vapor de agua producido por la muestra (ecuación 1).

Los resultados del biogás total acumulado por la fermentación de cada muestra a las diferentes temperaturas por tiempos parciales se presentan en el Cuadro 6.3, así como los resultados del análisis de varianza con Tukey (PROC ANOVA, SAS, 2002).

Cuadro 6.3. Biogás total acumulado por la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.

| Tiempo (h) | Biogás total (mL / 30 g de muestra) | | | | | | | | | | | |
|---------------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|
| | Líquido ruminal | | | | Estiércol | | | | Cerdaza | | | |
| | 20°C | 30°C | 40°C | 50°C | 20°C | 30°C | 40°C | 50°C | 20°C | 30°C | 40°C | 50°C |
| 4 | 20.8 ^{m,n} | 12.5 ⁿ | 19.7 ^{m,n} | 24.8 ^{l,m,n} | 1.3 ^l | 0.3 ^l | 1.4 ^l | 2.3 ^l | 37.8 ^{q,r} | 36.3 ^r | 104.3 ^{m,n,o,p} | 94.8 ^{o,p} |
| 14 | 23.5 ^{l,m,n} | 28.8 ^{l,m} | 51.3 ^{f,g,h,i} | 49.3 ^{f,g,h,i} | 5.0 ^l | 5.3 ^{k,l} | 15.0 ^{i,j,k} | 22.0 ^{g,h,i} | 76.5 ^p | 72.8 ^{p,q} | 206.5 ^{e,f} | 133.0 ^{j,k,l,m} |
| 24 | 25.3 ^{l,m} | 33.5 ^{j,k,l} | 75.0 ^e | 55.3 ^{f,g} | 5.0 ^l | 8.5 ^{j,k,l} | 23.5 ^{g,h,i} | 24.8 ^{g,h,i} | 88.0 ^{o,p} | 91.5 ^{o,p} | 244.0 ^d | 140.5 ^{h,i,j,k,l} |
| 42 | 39.8 ^{i,j,k} | 41.0 ^{h,i,j,k} | 94.5 ^{c,d} | 61.5 ^f | 5.0 ^l | 16.5 ^{i,j} | 43.8 ^f | 45.0 ^f | 100.0 ^{n,o,p} | 114.5 ^{l,m,n,o} | 296.5 ^c | 146.5 ^{h,i,j,k,l} |
| 48 | 41.5 ^{h,i,j} | 43.8 ^{g,h,i,j} | 100.5 ^{b,c} | 75.0 ^e | 5.0 ^l | 20.8 ^{h,i} | 53.5 ^{e,f} | 57.8 ^{d,e} | 112.3 ^{l,m,n,o} | 176.5 ^{e,f,g,h} | 322.8 ^c | 160.0 ^{h,i,j,k,l} |
| 66 | 43.0 ^{g,h,i,j} | 47.3 ^{g,h,i} | 108.3 ^b | 84.0 ^{d,e} | 5.0 ^l | 27.5 ^{g,h} | 72.3 ^{b,c} | 65.3 ^{c,d} | 130.3 ^{k,l,m,n} | 200.5 ^{e,f,g} | 358.8 ^b | 163.3 ^{h,i,j,k} |
| 72 | 43.0 ^{g,h,i,j} | 48.8 ^{g,h,i} | 112.3 ^{a,b} | 89.3 ^{c,d} | 5.0 ^l | 31.3 ^g | 78.8 ^b | 69.5 ^{b,c} | 137.0 ^{i,j,k,l,m} | 208.5 ^e | 369.5 ^b | 166.0 ^{g,h,i,j} |
| 110 | 43.0 ^{g,h,i,j} | 53.0 ^{f,g,h} | 121.0 ^a | 100.3 ^{b,c} | 5.0 ^l | 50.3 ^{e,f} | 96.0 ^a | 77.8 ^b | 167.5 ^{g,h,i,j} | 252.5 ^d | 408.0 ^a | 170.8 ^{f,g,h,i} |
| | P < 0.0001 | | | | P < 0.0001 | | | | P < 0.0001 | | | |

Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

Las tres muestras sometidas presentaron diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre los diferentes tiempos y temperaturas (20, 30, 40 y 50°C) medias. Es de resaltar que a 40°C se presentó la mayor cantidad de biogás, en las tres muestras, así como la mayor diferencia significativa entre el biogás acumulado a las 110 h de fermentación. La temperatura con menor cantidad de biogás generado fue a 20°C. El volumen del biogás acumulado a través del tiempo a 20°C y 30°C del líquido ruminal fueron similares ($P > 0.05$). Sin embargo, resultados de Massé *et al.* (2003), y González Ávalos (1994), señalan emisiones de CH₄ a temperaturas de 10 y 15°C, tanto para estiércol de ganado bovino como en cerdaza.

En la Figura 6.1 se ilustra el comportamiento de la producción de biogás total (BT) en volumen por la fermentación de los 30 g del líquido ruminal a las diferentes temperaturas. Es claro que la mayor producción se observa a los 40°C, siendo a los 20°C la temperatura con menor producción de BT. Estos resultados son análogos a lo esperado en la producción máxima de biogás, dado que la temperatura en el interior del rumen es alrededor de los 39°C, condición adecuada para el buen funcionamiento de la actividad microbiana.

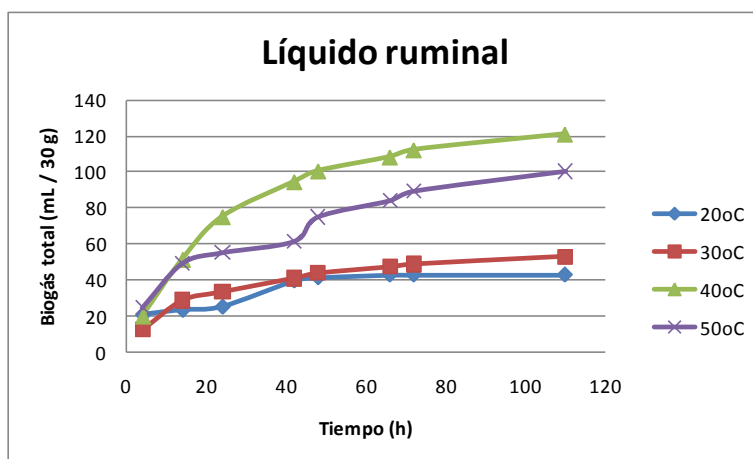


Figura 6.1. Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 30 g de líquido ruminal a 20, 30, 40 y 50°C

En las Figuras 6.2 y 6.3 se muestra la producción de BT del estiércol y la cerdaza, respectivamente. Al igual que en el LR, la mayor producción de BT se registró a los 40°C. Asimismo, al igual que en el LR, a 50°C el estiércol presentó la 2ª producción de BT, siendo a 20°C la menor producción. Este comportamiento similar entre LR y estiércol, se

debe que parte de la población microbiana del rumen es arrastrada al tracto digestivo posterior y excretada con las heces de manera intacta (Stanogias y Pearce, 1978). Sin embargo se puede apreciar una mayor producción de BT en el LR que en el estiércol.

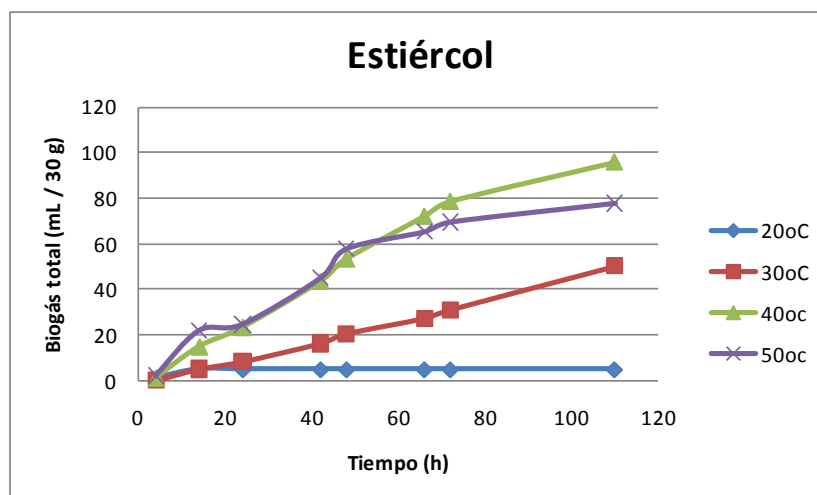


Figura 6.2. Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 30 g de estiércol a 20, 30, 40 y 50°C

En la producción de BT producida por los 30 g de cerdaza, a diferencia del estiércol y del LR, la 2ª temperatura con mayor producción de BT fue a los 30°C. Esta diferencia puede deberse a una diferencia en la población microbiana de las excretas de animales rumiantes y animales monogástricos.

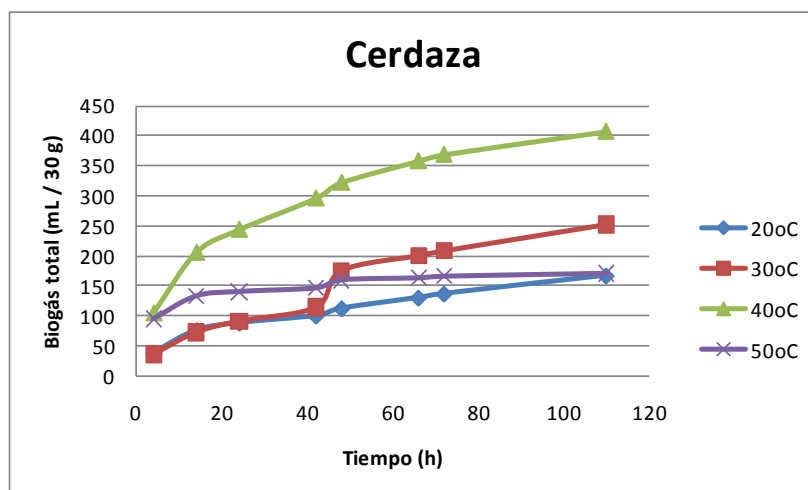


Figura 6.3. Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 30 g de cerdaza a 20, 30, 40 y 50°C

6.6.2. Cuantificación de biogás total y bióxido de carbono por cromatografía de gases.

Para el análisis del biogás contenido en el espacio de cabeza de las trampas de solución salina, por conductividad térmica (TCD) y cromatografía de gases, se identificaron las proporciones de CH₄ y CO₂. Considerando estas proporciones y la cantidad de vapor de agua (ecuación 1) por muestra, se calculó el volumen parcial de cada uno de los componentes del biogás (CH₄ y CO₂).

Se analizó el comportamiento de la producción de biogás y sus componentes CH₄ y CO₂ a las diferentes temperaturas. En los Cuadros 6.4, 6.5 y 6.6, se muestra la proporción calculada de cada analito (CH₄ y CO₂) considerando el peso promedio de cada analito resultado del cromatógrafo

De acuerdo con el análisis de Tukey (PROC ANOVA, SAS, 2002) la producción del biogás total, el CH₄ y CO₂ (Cuadro 6.4) de la fermentación de líquido ruminal fueron diferentes ($P < 0.0001$) a 20, 30, 40 y 50°C. Siendo el CH₄, a una temperatura de 40°C, el tratamiento que presentó la máxima producción (72.6% del biogás total). También hubo producción de CH₄ y CO₂ a 30 y 50°C. Sin embargo hubo producción nula de estos analitos a 20°C, por lo que se puede deducir que el biogás capturado en el espacio de cabeza de las trampas está compuesto por otros analitos.

Cuadro 6.4. Proporción y volumen de los analitos del biogás producido por la fermentación de 30 g de líquido ruminal a diferentes temperaturas.

| Temp. | BT mL / 30 g | Líquido ruminal | | | |
|-------|--------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|
| | | CH ₄ | | CO ₂ | |
| | | % | (mL / 30 g) | % | (mL / 30 g) |
| 20°C | 43.0 ^c | 0.0 | 0.0 ^d | 0.0 | 0.0 ^c |
| 30°C | 53.0 ^c | 42.4 | 22.5 ^c | 57.6 | 30.5 ^b |
| 40°C | 121.0 ^a | 72.6 | 87.8 ^a | 27.4 | 33.2 ^b |
| 50°C | 100.3 ^b | 46.8 | 46.9 ^b | 53.2 | 53.4 ^a |
| | | P < 0.0001 | P < 0.0001 | P < 0.0001 | |

^{a,b,c,d} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

La fermentación de estiércol (Cuadro 6.5) tuvo la misma tendencia que en la fermentación del líquido ruminal. Así la máxima producción de CH₄ se presentó a una temperatura de 40°C, mientras que a 30 y 50°C el analito con mayor presencia fue el CO₂, y a 20°C no hubo producción de ninguno de estos analitos, inclusive se puede observar que la producción registrada de biogás total es despreciable (5 mL). El análisis de varianza y Tukey (PROC ANOVA, SAS, 2002) reveló que hay diferencias significativas (P < 0.0001) entre la producción de CH₄ y CO₂ a 30 y 40°C, sin embargo, como puede verse en el cuadro 6.5, hay similitudes (P < 0.0001) en la producción de estos analitos a 50°C, ya que presentan una diferencia porcentual del volumen producido de 4.5 del CH₄ respecto al CO₂.

Cuadro 6.5. Proporción y volumen de los analitos del biogás producido por la fermentación de 30 g de estiércol a diferentes temperaturas.

| Temperatura | BT (mL / 30 g) | Estiércol | | | |
|-------------|-------------------|-----------------|-------------------|-----------------|---------------------|
| | | CH ₄ | | CO ₂ | |
| | | % | (mL / 30 g) | % | (mL / 30 g) |
| 20°C | 5.0 ^d | 0.0 | 0.0 ^d | 0.0 | 0.0 ^c |
| 30°C | 50.3 ^c | 37.2 | 18.7 ^c | 62.8 | 31.6 ^b |
| 40°C | 96.0 ^a | 56.2 | 53.9 ^a | 43.8 | 42.1 ^a |
| 50°C | 77.8 ^b | 48.8 | 38.0 ^b | 51.2 | 39.8 ^{a,b} |
| | | P < 0.0001 | P < 0.0001 | P < 0.0001 | |

^{a,b,c,d} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

Finalmente la producción de CH₄ y CO₂ de la cerdaza obtenida (Cuadro 6.6) (PROC ANOVA, SAS, 2002) indica que la producción de CH₄ fue considerablemente menor que la producción de CO₂, por lo que no hay diferencias significativas (P < 0.0001) en la producción de CH₄ a 20, 30 y 50°C. Sin embargo es de resaltar, a diferencia del comportamiento de la fermentación de líquido ruminal y de estiércol en las que no hubo producción de CH₄ y CO₂ a 20°C, que la fermentación de cerdaza a 20°C se comportó de manera similar (P < 0.0001) que a 50°C.

Cuadro 6.6. Proporción y volumen de los analitos del biogás producido por la fermentación de 30 g de cerdaza a diferentes temperaturas.

| Temperatura | Cerdaza | | | | |
|-------------|--------------------|------|--------------------------------|------|--------------------------------|
| | BT (mL / 30 g) | % | CH ₄ (mL / 30 g) | % | CO ₂ (mL / 30 g) |
| 20°C | 167.5 ^c | 7.9 | 13.3 ^c | 92.1 | 154.2 ^c |
| 30°C | 252.5 ^b | 13.2 | 33.4 ^b | 86.8 | 219.1 ^b |
| 40°C | 408.0 ^a | 21.3 | 86.9 ^a | 78.7 | 321.1 ^a |
| 50°C | 170.8 ^c | 15.3 | 26.1 ^{b,c} | 84.7 | 144.7 ^c |
| | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | | P < 0.0001 |

a,b,c. Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

Al observar gráficamente la producción por BT, CH₄ y CO₂ (Figuras 6.1, 6.2 y 6.3), se observa claramente que la mejor temperatura de fermentación en los diferentes tiempos evaluados para la producción de estos gases es a 40°C para los tres tipos de muestras.

En la Figura 6.4, se muestra que la máxima producción de biogás total fue a 40°C en las tres muestras. La cerdaza es la muestra con la mayor producción de biogás total en las diferentes temperaturas, seguido del líquido ruminal y finalmente el estiércol.

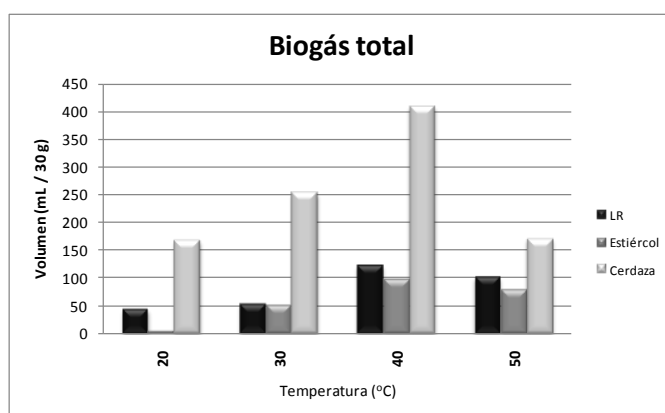


Figura 6.4. Biogás total producido por la fermentación de 30 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes temperaturas.

Sin embargo al analizar el biogás por sus componentes, en este caso CH_4 y CO_2 , se determinó que el líquido ruminal a 40°C , produjo la mayor cantidad de CH_4 (Figura 6.5). Mientras que el líquido ruminal presentó la mayor cantidad a 50°C . La cerdaza fue la muestra con mayor producción de CH_4 a 20 y 30°C . Por lo que se deduce que los tipos de bacterias productoras de CH_4 son diferentes entre los rumiantes, y los monogástricos (Madignan *et al.*, 2004).

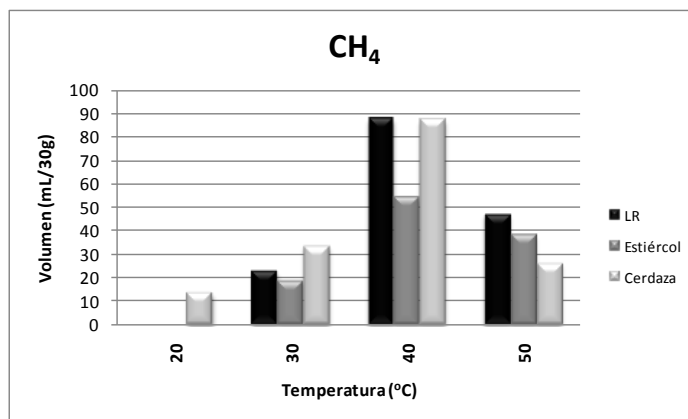


Figura 6.5. CH_4 producido por la fermentación de 30 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes temperaturas.

Para el caso del CO_2 , se observa claramente en la Figura 6.6, que la cerdaza es la muestra predominante en la producción de CO_2 en las diferentes temperaturas elevadas. Así, a 40°C se logró la máxima producción de este compuesto, seguido de 30°C . Pese a las temperaturas extremas de este experimento, 20 y 50°C , existe una considerable producción de CO_2 en las excretas de cerdo.

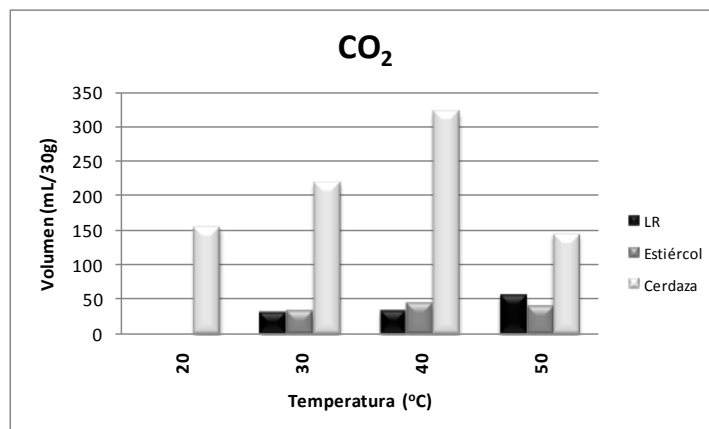


Figura 6.6. CO₂ producido por la fermentación de 30 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes temperaturas.

Hasta ahora se han analizado los resultados del BT, CH₄ y CO₂ considerando el volumen capturado por las trampas de solución salina en el sistema biorreactor-trampa. En la sección siguiente se calcula la concentración en moles y gramos de CH₄ y CO₂ de la fermentación de 30 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a 20, 30, 40 y 50°C.

6.6.3. Cuntificación de masa de CH₄ y CO₂

Para el cálculo de la concentración de número de moles de CH₄ y CO₂ se identificaron las proporciones de éstos analitos, se consideraron los resultados de TCD por cromatografía de gases (Cuadros 6.4, 6.5 y 6.6) a las diferentes temperaturas, así como el volumen por vapor de agua. Aplicando la ley de las Presiones Parciales, ecuación 4, se calculó la presión que ejerce cada uno de los componentes del biogás, dentro del espacio de cabeza de las trampas. Considerando que el sistema biorreactor-trampa mantuvo una válvula de alivio, la presión total en el espacio de cabeza, se iguala a la presión atmosférica, por lo que se considera, para fines de esta tesis, de 760 mm Hg.

$$P_T = P_{CH_4} + P_{CO_2} + P_{H_2O} \quad \text{ecuación 4}$$

donde:

P_T = presión total dentro del espacio de cabeza

P_{CH₄} = presión parcial ejercida por el CH₄

P_{CO₂} = presión parcial ejercida por el CO₂

P_{H₂O} = presión parcial ejercida por el vapor de H₂O

Conociendo la presión del vapor de agua a las diferentes temperaturas, se sustituye estos valores en la ecuación 4, de tal forma que la presión ejercida por el CH₄ y el CO₂. De acuerdo con los porcentajes calculados de CH₄ y CO₂ (Cuadro 6.s 4, 5 y 6) de cada muestra, considerando los resultados de TCD por cromatografía de gases, se calculan la presión parcial del CH₄ y del CO₂. Por lo tanto para el cálculo de la presión de CH₄ se tiene que:

$$P_{CH_4} = \frac{(\%CH_4) (P_{CH_4+CO_2})}{100\%} \quad \text{ecuación 5}$$

donde:

P_{CH_4} = presión ejercida por el metano.

$\%CH_4$ = proporción del CH₄ por el desplazamiento de la fase líquida de la trampa de solución salina.

$P_{CH_4 + CO_2}$ = presión ejercida por el metano y bióxido de carbono (ver Cuadro 6.7).

Por lo tanto, despejando de la ecuación 4, la presión del CO₂ se calcula por:

$$P_{CO_2} = P_T - P_{H_2O} - P_{CH_4} \quad \text{ecuación 6}$$

Sustituyendo los valores en las ecuaciones 5 y 6, se calculó la presión por analito del CH₄ y CO₂ de la fermentación de LR, estiércol y cerdaza a 20, 30, 40 y 50°C, se presentan en el Cuadro 6.7.

Cuadro 6.7. Presión de vapor de agua y presión por CH₄ y CO₂ en el espacio de cabeza de las trampas producido por la fermentación de 3 muestras a diferentes temperaturas.

| Temp. (°C) | Vapor de H ₂ O (mm Hg) | CH ₄ y CO ₂ (mm Hg) | Líquido ruminal | | Estiércol | | Cerdaza | |
|---------------|---|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | | CH ₄ (mm Hg) | CO ₂ (mm Hg) | CH ₄ (mm Hg) | CO ₂ (mm Hg) | CH ₄ (mm Hg) | CO ₂ (mm Hg) |
| 20 | 17.54 | 742.46 | 0.00 | 742.46 | 0.00 | 742.46 | 58.86 | 683.60 |
| 30 | 31.8 | 728.20 | 314.68 | 413.52 | 276.14 | 452.06 | 98.21 | 629.99 |
| 40 | 55.3 | 704.70 | 538.74 | 165.96 | 416.95 | 287.75 | 158.06 | 546.64 |
| 50 | 92.5 | 667.50 | 347.28 | 320.22 | 362.55 | 304.95 | 113.34 | 554.16 |

Con los valores de los volúmenes (mL) del CH₄ y CO₂ (Cuadros 6.4, 6.5 y 6.6) y utilizando la ecuación de los gases ideales se calculó el número de moles producidos de CO₂ y CH₄:

$$n = \frac{PV}{RT} \quad \text{ecuación 8}$$

donde:

n = número de moles de CH₄ ó CO₂.

P = presión ejercida por CH₄ ó CO₂ en atmósferas.

V = volumen en litros.

R = constante de los gases ideales 0.0821 L • atm/(K • mol)

T = temperatura en K

Los moles (mol) de cada analito se calcularon al sustituir los valores correspondientes de presión y volumen de CH₄ y CO₂ de cada muestra a las diferentes temperaturas. La masa se calcula con los gmol de cada molécula. Moles y masa de CH₄ y CO₂ de cada muestra a las diferentes temperaturas son mostrados en el Cuadro 6.8 donde se puede observar claramente que la concentración de CH₄, a las diferentes temperaturas, del líquido ruminal y estiércol es mayor que lo producido en cerdaza. Se observa que a 40°C, se produjo la mayor cantidad de CH₄ en las tres muestras, mientras que a 20°C no hubo producción de biogás en líquido ruminal y estiércol, mientras que en cerdaza fue en la que hubo menor producción de CH₄.

Cuadro 6.8. Masa de CH₄ y CO₂ en 110 h de fermentación de 30 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.

| Temperatura (°C) | CH ₄ (g) | | | CO ₂ (g) | | |
|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | Líquido ruminal | Estiércol | Cerdaza | Líquido ruminal | Estiércol | Cerdaza |
| 20 | 0.0000 ¹ | 0.0000 ¹ | 0.0030 ^{h,i} | 0.0000 ^c | 0.0000 ^c | 1.0931 ^a |
| 30 | 0.0211 ^e | 0.0154 ^f | 0.0098 ^g | 0.1034 ^c | 0.1171 ^c | 1.1318 ^a |
| 40 | 0.1166 ^a | 0.0554 ^b | 0.0339 ^c | 0.0374 ^c | 0.0821 ^c | 1.1902 ^a |
| 50 | 0.0342 ^c | 0.0290 ^d | 0.0062 ^{g,h} | 0.0988 ^c | 0.0702 ^c | 0.4635 ^b |
| P < 0.0001 | | | P < 0.0001 | | | |

^{a,b,c,d,e,f,g,h} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

6.6.4 Caracterización de las muestras.

Para el caso de la caracterización de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza, se observa del Cuadro 6.9, (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2002) con análisis de Tukey que existen diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre los porcentajes de FDA, FDN, carbón orgánico, nitrógeno, proteína, cenizas y humedad entre las tres muestras. Hay similitudes significativas ($P < 0.0001$) en el porcentaje de cenizas entre las muestras de estiércol y cerdaza.

Cuadro 6.9. Características químicas de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.

| Muestra | %FDA | %FDN | % CO | %N | %P | %C | %H |
|-----------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| LR | 26.27 ^b | 37.33 ^b | 3.65 ^a | 2.18 ^b | 13.65 ^b | 33.28 ^a | 90.55 ^a |
| Estiércol | 42.39 ^a | 68.35 ^a | 4.12 ^a | 1.42 ^c | 8.88 ^c | 12.92 ^b | 87.74 ^b |
| Cerdaza | 17.67 ^c | 31.34 ^c | 4.16 ^a | 4.64 ^a | 29.03 ^a | 14.40 ^b | 70.81 ^c |

P < 0.0001 P < 0.0001 P > 0.2737 P < 0.0001 P < 0.0001 P < 0.0001 P < 0.0001

FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; CO: carbón orgánico; N: nitrógeno; PB: proteína bruta, C: cenizas y H: humedad.

^{a,b,c} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Los datos de la caracterización de las muestras frescas fueron sometidos a un análisis de correlación de Pearson (PROC CORR, SAS, 2002), para identificar los parámetros que se correlacionan con la producción de biogás total (BT), CH₄ y CO₂ a las diferentes temperaturas en que se expusieron las muestras a fermentar.

En los Cuadros 6.10, 6.11, 6.12 y 6.13 se presentan los coeficientes de correlación entre las variables químicas (FDA, FDN, carbón orgánico, nitrógeno, proteína, ceniza y humedad) con la producción de BT, CH₄ y CO₂ a 20, 30, 40 y 50°C, así también se presenta el nivel de significancia de la prueba de hipótesis.

Cuadro 6.10. Coeficientes de correlación Pearson entre la producción de BT, CH₄ y CO₂ a 20°C y características químicas de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.

| Muestra | Variable | | FDA | FDN | CO | N | P | C | H |
|-----------------|-----------------|---|------|------|-------|-------|-------|--------|--------|
| Líquido Ruminal | Biogás | a | 0.80 | 0.02 | 0.72 | 0.19 | 0.11 | -0.029 | 0.67 |
| | | b | 0.19 | 0.97 | 0.27 | 0.80 | 0.88 | 0.97 | 0.32 |
| | CH ₄ | a | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | b | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | CO ₂ | a | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | b | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| Estiércol | Biogás | a | 0.37 | 0.73 | 0.26 | 0.32 | 0.33 | 0.65 | 0.99 |
| | | b | 0.62 | 0.26 | 0.73 | 0.67 | 0.66 | 0.34 | <.0001 |
| | CH ₄ | a | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | b | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | CO ₂ | a | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | | b | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| Cerdaza | Biogás | a | 0.74 | 0.30 | -0.33 | -0.82 | -0.79 | -0.77 | -0.57 |
| | | b | 0.25 | 0.69 | 0.66 | 0.17 | 0.20 | 0.22 | 0.42 |
| | CH ₄ | a | 0.74 | 0.30 | -0.33 | -0.82 | -0.79 | -0.77 | -0.57 |
| | | b | 0.25 | 0.69 | 0.66 | 0.17 | 0.20 | 0.22 | 0.42 |
| | CO ₂ | a | 0.74 | 0.30 | -0.33 | -0.82 | -0.79 | -0.77 | -0.57 |
| | | b | 0.25 | 0.69 | 0.66 | 0.17 | 0.20 | 0.22 | 0.42 |

^a coeficiente de correlación entre las variables, ^b nivel de significancia de la prueba de hipótesis.

FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; CO: carbón orgánico; N: nitrógeno; PB: proteína bruta, C: cenizas y H: humedad.

En los datos del Cuadro 6.10 se puede observar una clara correlación en la producción de BT en el líquido ruminal y estiércol, con relación a los parámetros de la caracterización de las muestras. Sin embargo no se pueden relacionar los diferentes parámetros con CH₄ y CO₂ debido a la nula producción de estos. Así mismo se presentó una correlación negativa del carbón, nitrógeno, proteína, cenizas y humedad de la cerdaza en la producción de BT,

CH₄ y CO₂. Estos resultados indican que a 20°C no es una buena condición para la producción de BT, CH₄ y CO₂ en las tres muestras,

Cuadro 6.11. Coeficientes de correlación Pearson entre la producción de BT, CH₄ y CO₂ a 30°C y características químicas de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.

| Muestra | Variable | FDA | FDN | CO | N | P | C | H | |
|-----------------|-----------------|--------------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|
| Líquido Ruminal | Biogás | ^a | 0.68 | -0.94 | 0.66 | -0.91 | -0.91 | -0.95 | 0.80 |
| | | ^b | 0.32 | 0.06 | 0.34 | 0.09 | 0.09 | 0.05 | 0.20 |
| | CH ₄ | ^a | 0.68 | -0.94 | 0.66 | -0.91 | -0.91 | -0.95 | 0.80 |
| | | ^b | 0.32 | 0.06 | 0.34 | 0.09 | 0.09 | 0.05 | 0.20 |
| | CO ₂ | ^a | 0.68 | -0.94 | 0.66 | -0.91 | -0.91 | -0.95 | 0.80 |
| | | ^b | 0.32 | 0.06 | 0.34 | 0.09 | 0.09 | 0.05 | 0.20 |
| Estiércol | Biogás | ^a | -0.58 | 0.69 | 0.97 | 0.78 | 0.78 | -0.39 | 0.25 |
| | | ^b | 0.42 | 0.31 | 0.03 | 0.22 | 0.22 | 0.61 | 0.75 |
| | CH ₄ | ^a | -0.58 | 0.68 | 0.97 | 0.78 | 0.78 | -0.39 | 0.25 |
| | | ^b | 0.42 | 0.32 | 0.03 | 0.22 | 0.22 | 0.61 | 0.75 |
| | CO ₂ | ^a | -0.58 | 0.69 | 0.97 | 0.78 | 0.78 | -0.39 | 0.25 |
| | | ^b | 0.42 | 0.31 | 0.03 | 0.22 | 0.22 | 0.61 | 0.75 |
| Cerdaza | Biogás | ^a | -0.71 | 0.79 | 0.47 | -0.06 | -0.07 | 0.66 | -0.53 |
| | | ^b | 0.29 | 0.21 | 0.53 | 0.94 | 0.93 | 0.34 | 0.47 |
| | CH ₄ | ^a | -0.71 | 0.79 | 0.47 | -0.06 | -0.07 | 0.66 | -0.53 |
| | | ^b | 0.29 | 0.21 | 0.53 | 0.94 | 0.93 | 0.34 | 0.47 |
| | CO ₂ | ^a | -0.71 | 0.79 | 0.47 | -0.06 | -0.07 | 0.66 | -0.53 |
| | | ^b | 0.29 | 0.21 | 0.53 | 0.94 | 0.93 | 0.34 | 0.47 |

^a coeficiente de correlación entre las variables, ^b nivel de significancia de la prueba de hipótesis.

FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; CO: carbón orgánico; N: nitrógeno; PB: proteína bruta, C: cenizas y H: humedad.

A diferencia de la correlación a 20°C, los coeficientes de correlación de los parámetros de la caracterización de las muestras con relación a la producción de BT, CH₄ y CO₂ a una

temperatura de 30°C (Cuadro 6.11) se puede observar correlaciones positivas con FDN, carbón orgánico y humedad para el caso de líquido ruminal, FDN, carbón orgánico, nitrógeno y proteína para el caso del estiércol y finalmente con FDN, carbón orgánico y cenizas para la muestra de cerdaza.

Se puede deducir que las muestras presentan una variación de microorganismos diferentes, que utilizan diferentes sustratos para la fermentación, cuya temperatura a 30°C, presenta una condición más favorable para la degradación de los nutrientes y por lo tanto la producción de biogás, CH₄ y CO₂.

En el Cuadro 6.12, se presentan los coeficientes de Pearson para la fermentación de las muestras sometidas a 40°C.

De los datos del Cuadro 6.12, se puede observar una mayor claridad de correlación entre la producción de BT, CH₄ y CO₂. Así para el líquido ruminal, se puede observar una correlación positiva con la mayoría de los parámetros, con excepción de FDN, nitrógeno y cenizas. Sin embargo esta correlación es pequeña, es decir con un rango de 0 a 1, donde 1 es una absoluta correlación y 0 una nula correlación, éstos parámetros presentaron correlaciones alrededor de 0.03 a 0.4.

Mientras que para el estiércol se observa una correlación positiva con el carbón orgánico, nitrógeno y proteína, cuyos índices de correlación oscilan entre 0.2 y 0.5, mientras que hay una correlación negativa con FDA, FDN, ceniza y humedad.

Finalmente para la cerdaza se ve una fuerte correlación positiva (0.85) con la FDN, así como con FDA (0.38). Sin embargo presentó una correlación negativa con el resto de los parámetros de la caracterización de la cerdaza.

Cuadro 6.12. Coeficientes de correlación Pearson entre la producción de BT, CH₄ y CO₂ a 40°C y características químicas de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.

| Muestra | Variable | FDA | FDN | CO | N | P | C | H | |
|------------------------|-----------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Líquido Ruminal | Biogás | ^a | 0.40 | -0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.03 | -0.07 | 0.34 |
| | | ^b | 0.60 | 0.97 | 0.97 | 1.00 | 0.97 | 0.93 | 0.66 |
| | CH₄ | ^a | 0.40 | -0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.03 | -0.07 | 0.34 |
| | | ^b | 0.60 | 0.97 | 0.97 | 1.00 | 0.97 | 0.93 | 0.66 |
| | CO₂ | ^a | 0.40 | -0.03 | 0.04 | 0.00 | 0.03 | -0.07 | 0.35 |
| | | ^b | 0.60 | 0.97 | 0.96 | 1.00 | 0.97 | 0.93 | 0.65 |
| Estiércol | Biogás | ^a | -0.70 | -0.17 | 0.53 | 0.23 | 0.23 | -0.80 | -0.68 |
| | | ^b | 0.30 | 0.83 | 0.47 | 0.77 | 0.77 | 0.20 | 0.32 |
| | CH₄ | ^a | -0.70 | -0.17 | 0.53 | 0.23 | 0.23 | -0.80 | -0.68 |
| | | ^b | 0.30 | 0.83 | 0.47 | 0.77 | 0.77 | 0.20 | 0.32 |
| | CO₂ | ^a | -0.70 | -0.17 | 0.53 | 0.23 | 0.23 | -0.80 | -0.68 |
| | | ^b | 0.30 | 0.83 | 0.47 | 0.77 | 0.77 | 0.20 | 0.32 |
| Cerdaza | Biogás | ^a | 0.38 | 0.85 | -0.38 | -0.95 | -0.95 | -0.45 | -0.98 |
| | | ^b | 0.62 | 0.15 | 0.62 | 0.05 | 0.05 | 0.55 | 0.02 |
| | CH₄ | ^a | 0.39 | 0.85 | -0.38 | -0.95 | -0.95 | -0.45 | -0.98 |
| | | ^b | 0.61 | 0.15 | 0.62 | 0.05 | 0.05 | 0.55 | 0.02 |
| | CO₂ | ^a | 0.38 | 0.85 | -0.38 | -0.95 | -0.95 | -0.45 | -0.98 |
| | | ^b | 0.62 | 0.15 | 0.62 | 0.05 | 0.05 | 0.55 | 0.02 |

^a coeficiente de correlación entre las variables, ^b nivel de significancia de la prueba de hipótesis.

FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; CO: carbón orgánico; N: nitrógeno; PB: proteína bruta, C: cenizas y H: humedad.

Cuadro 6. 13. Coeficientes de correlación Pearson entre la producción de BT, CH₄ y CO₂ a 50°C y características químicas de las muestras frescas de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.

| Muestra | Variable | FDA | FDN | CO | N | P | C | H | |
|-----------------|-----------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Líquido Ruminal | Biogás | ^a | 0.94 | -0.65 | 1.00 | -0.52 | -0.58 | -0.69 | 0.96 |
| | | ^b | 0.06 | 0.35 | 0.00 | 0.48 | 0.42 | 0.31 | 0.04 |
| | CH ₄ | ^a | 0.94 | -0.65 | 1.00 | -0.52 | -0.59 | -0.69 | 0.96 |
| | | ^b | 0.06 | 0.35 | 0.00 | 0.48 | 0.42 | 0.31 | 0.04 |
| | CO ₂ | ^a | 0.94 | -0.65 | 1.00 | -0.51 | -0.58 | -0.69 | 0.96 |
| | | ^b | 0.06 | 0.35 | 0.00 | 0.49 | 0.42 | 0.31 | 0.04 |
| Estiércol | Biogás | ^a | -0.68 | 0.44 | -0.17 | 0.65 | 0.64 | -0.57 | -0.05 |
| | | ^b | 0.32 | 0.56 | 0.83 | 0.35 | 0.36 | 0.43 | 0.95 |
| | CH ₄ | ^a | -0.68 | 0.44 | -0.17 | 0.65 | 0.64 | -0.57 | -0.05 |
| | | ^b | 0.32 | 0.56 | 0.83 | 0.35 | 0.36 | 0.43 | 0.95 |
| | CO ₂ | ^a | -0.68 | 0.44 | -0.17 | 0.65 | 0.64 | -0.57 | -0.05 |
| | | ^b | 0.32 | 0.56 | 0.83 | 0.35 | 0.36 | 0.43 | 0.95 |
| Cerdaza | Biogás | ^a | -0.93 | 0.16 | 0.95 | 0.56 | 0.58 | 0.92 | 0.16 |
| | | ^b | 0.07 | 0.84 | 0.05 | 0.44 | 0.42 | 0.08 | 0.84 |
| | CH ₄ | ^a | -0.93 | 0.16 | 0.95 | 0.56 | 0.58 | 0.92 | 0.16 |
| | | ^b | 0.07 | 0.84 | 0.05 | 0.44 | 0.42 | 0.08 | 0.84 |
| | CO ₂ | ^a | -0.93 | 0.16 | 0.95 | 0.56 | 0.58 | 0.92 | 0.17 |
| | | ^b | 0.07 | 0.84 | 0.05 | 0.44 | 0.42 | 0.08 | 0.84 |

^a coeficiente de correlación entre las variables, ^b nivel de significancia de la prueba de hipótesis.

FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; CO: carbón orgánico; N: nitrógeno; PB: proteína bruta, C: cenizas y H: humedad.

Finalmente, la producción del BT, CH₄ y CO₂ por la cerdaza a 50°C, se observa una correlación con distintas tendencias. Es resaltar la fuerte correlación que presentaron el carbón orgánico (0.94) y las cenizas (0.92) con la producción del biogás en estudio. El único parámetro con el que se presentó una correlación negativa (-0.93) fue con el FDA.

Se puede deducir del análisis de las diferentes correlaciones entre la producción del BT; CH₄ y CO₂ con relación a los parámetros de la caracterización de las tres muestras, que la FDA, FDN, carbón orgánico, nitrógeno, proteína cenizas y la humedad se comportan de manera distinta de acuerdo al líquido ruminal, estiércol y la cerdaza, a las diferentes temperaturas de fermentación. Con lo que se presume que el tipo de bacterias o su actividad metabólica es distinta y depende de las condiciones del medio.

Al realizar un análisis de la correlación (PROC CORR, SAS, 2002) entre los datos conjuntos de las tres muestras, y sus respectiva producción de BT, CH₄ y CO₂ a diferente temperatura se puede observar (Cuadro 6.14) una correlación positiva del carbón orgánico (0.3-0.4), nitrógeno (> 0.95) y proteína (> 0.95) de las tres muestras en la fermentación a los 20, 30 y 40°C. El FDA, FDN las cenizas y humedad presentaron correlaciones negativas a los 20 y 30°C.

Por otro lado las correlaciones de la fermentación de las muestras a los 50°C fueron diferentes, debido a que resultó contraria a lo obtenido a 20, 30 y 40°C las correlaciones del mismo parámetro con la producción del BT, CH₄ y CO₂ de las diferentes muestras. Así pues, mientras que para el BT y el CO₂ el FDA (-0.89) y FDN (-0.78) tienen una correlación negativa, para el caso del CH₄ (0.41 y 0.22 respectivamente) estos mismos parámetros presentaron una correlación positiva.

Finalmente en el Cuadro 6.15 se muestran los resultados de los potenciales de hidrógeno (pH) de las muestras frescas de LR, estiércol y cerdaza, así como al final de la fermentación en cada temperatura. Así también se muestran los resultados del análisis estadístico de varianza (PROC ANOVA, SAS, 2002) con Tukey.

Cuadro 6.14. Coeficientes de Pearson de la correlación del biogás producido y la caracterización en conjunto de las tres muestras

| Muestra | Variable | FDA | FDN | CO | N | P | C | H | |
|---------|-----------------|--------------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|
| 20°C | Biogás | ^a | -0.87 | -0.77 | 0.35 | 0.98 | 0.98 | -0.23 | -0.92 |
| | | ^b | 0.00 | 0.00 | 0.27 | <.0001 | <.0001 | 0.46 | <.0001 |
| | CH ₄ | ^a | -0.75 | -0.61 | 0.46 | 0.96 | 0.96 | -0.44 | -0.98 |
| | | ^b | 0.00 | 0.03 | 0.13 | <.0001 | <.0001 | 0.15 | <.0001 |
| | CO ₂ | ^a | -0.75 | -0.61 | 0.46 | 0.96 | 0.96 | -0.44 | -0.98 |
| | | ^b | 0.00 | 0.03 | 0.13 | <.0001 | <.0001 | 0.15 | <.0001 |
| 30°C | Biogás | ^a | -0.77 | -0.63 | 0.50 | 0.97 | 0.97 | -0.43 | -0.98 |
| | | ^b | 0.00 | 0.03 | 0.10 | <.0001 | <.0001 | 0.17 | <.0001 |
| | CH ₄ | ^a | -0.87 | -0.76 | 0.45 | 0.96 | 0.96 | -0.20 | -0.88 |
| | | ^b | 0.00 | 0.00 | 0.14 | <.0001 | <.0001 | 0.54 | 0.00 |
| | CO ₂ | ^a | -0.76 | -0.62 | 0.50 | 0.97 | 0.97 | -0.44 | -0.99 |
| | | ^b | 0.00 | 0.03 | 0.10 | <.0001 | <.0001 | 0.15 | <.0001 |
| 40°C | Biogás | ^a | -0.81 | -0.68 | 0.44 | 0.99 | 0.99 | -0.38 | -0.98 |
| | | ^b | 0.00 | 0.02 | 0.15 | <.0001 | <.0001 | 0.23 | <.0001 |
| | CH ₄ | ^a | -0.92 | -0.97 | -0.19 | 0.66 | 0.66 | 0.56 | -0.35 |
| | | ^b | <.0001 | <.0001 | 0.56 | 0.02 | 0.02 | 0.06 | 0.26 |
| | CO ₂ | ^a | -0.75 | -0.60 | 0.49 | 0.97 | 0.97 | -0.47 | -0.99 |
| | | ^b | 0.01 | 0.04 | 0.10 | <.0001 | <.0001 | 0.13 | <.0001 |
| 50°C | Biogás | ^a | -0.89 | -0.78 | 0.40 | 0.99 | 0.99 | -0.22 | -0.92 |
| | | ^b | 0.00 | 0.00 | 0.20 | <.0001 | <.0001 | 0.50 | <.0001 |
| | CH ₄ | ^a | 0.41 | 0.23 | -0.57 | -0.77 | -0.77 | 0.77 | 0.94 |
| | | ^b | 0.19 | 0.47 | 0.05 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | <.0001 |
| | CO ₂ | ^a | -0.84 | -0.71 | 0.44 | 0.99 | 0.99 | -0.33 | -0.96 |
| | | ^b | 0.00 | 0.01 | 0.15 | <.0001 | <.0001 | 0.30 | <.0001 |

^a coeficiente de correlación entre las variables, ^b nivel de significancia de la prueba de hipótesis.

FDA: fibra detergente ácido; FDN: fibra detergente neutro; CO: carbón orgánico; N: nitrógeno; PB: proteína bruta, C: cenizas y H: humedad.

6.6.5. Variación del pH.

Los pH's (Cuadro 6.15) finales son menores que los iniciales en las tres muestras a las diferentes temperaturas a las que fueron sometidas, sin embargo no existen diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre éstos a 20, 30 y 50°C, con excepción del estiércol a 50°C. Por otro lado sí existen diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre los pH de las muestras inicial y al final de la fermentación a 40°C, ya que presentan reducciones en el pH del 5.3%, 12.2% y 3.7%, para LR, Estiércol y Cerdaza, respectivamente. Estos resultados son coherentes con el comportamiento de la producción de BT, CH₄ y CO₂ a las diferentes temperaturas (Figuras 6.4, 6.5 y 6.6), registrándose un máximo en la producción a los 40°C, y menor para 20, 30 y 50°C.

Cuadro 6.15. Variación de pH de las muestras al inicio y al final de la fermentación por LR, estiércol y cerdaza a 20, 30, 40 y 50 °C

| Muestra | 20°C | | 30°C | | 40°C | | 50°C | |
|------------------|-------------------|-------------------|---------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| | pH inicial | pH final | pH inicial | pH final | pH inicial | pH final | pH inicial | pH final |
| LR | 6.44 ^b | 6.42 ^b | 6.44 ^c | 6.29 ^{c,d} | 6.44 ^c | 6.10 ^{d,e} | 6.44 ^b | 6.39 ^b |
| Estiércol | 7.64 ^a | 7.30 ^a | 7.64 ^a | 7.22 ^{a,b} | 7.64 ^a | 6.71 ^b | 7.64 ^a | 6.36 ^b |
| Cerdaza | 6.15 ^b | 6.17 ^b | 6.15 ^{c,d} | 5.99 ^d | 6.15 ^d | 5.92 ^e | 6.15 ^c | 6.13 ^c |
| | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | |

^{a,b,c,d} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Con relación a la concentración de bacterias al inicio y al final de la fermentación, el análisis estadístico de varianza (PROC ANOVA, SAS, 2002) con Tukey, indica que no existen diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre la concentración inicial y final de bacterias a las diferentes temperaturas evaluadas. Sin embargo sí existen diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre diferentes temperaturas. Es de resaltar que el LR presentó una concentración de bacterias con magnitud de E+09, mientras que el estiércol y cerdaza fue de E+10, por lo que esta diferencia puede ser la causante de las diferencias entre la producción de BT y CH₄ del LR con relación a las excretas. En el caso del estiércol y la cerdaza, se observa una disminución en la concentración de bacterias de 55.6% y 23.0%,

respectivamente, que puede explicarse por la actividad microbiana. La humedad de las muestras frescas es mayor en LR que en estiércol y cerdaza.

Cuadro 6.16. Concentración de bacterias de las muestras al inicio y al final de la fermentación por líquido ruminal, estiércol y cerdaza a 20, 30, 40 y 50 °C

| Muestra | 20°C | | 30°C | | 40°C | | 50°C | |
|------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| | [bact/g excretas] inicial | [bact/g excretas] final | [bact/g excretas] inicial | [bact/g excretas] final | [bact/g excretas] inicial | [bact/g excretas] final | [bact/g excretas] inicial | [bact/g excretas] final |
| LR | 2.51E+09 ^c | 3.13E+09 ^c | 2.51E+09 ^{c,d} | 1.21E+09 ^d | 2.51E+09 ^c | 2.69E+09 ^c | 2.51E+09 ^c | 1.31E+09 ^c |
| Estiércol | 2.07E+10 ^a | 6.95E+09 ^c | 2.07E+10 ^a | 1.05E+10 ^b | 2.07E+10 ^a | 9.20E+09 ^{b,c} | 2.07E+10 ^a | 8.65E+09 ^b |
| Cerdaza | 2.09E+10 ^a | 1.29E+10 ^b | 2.09E+10 ^a | 7.2E+09 ^{b,c} | 2.09E+10 ^a | 1.61E+10 ^b | 2.09E+10 ^a | 1.08E+10 ^b |
| | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | |

^{a,b,c} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

6.7. Conclusiones

- La temperatura con mejor producción de CH₄ y CO₂, fue de 40°C en las tres muestras, lo que coincide con las temperaturas óptimas de crecimiento de las bacterias metanogénicas, en el rango mesófilo (Madignan *et al.*, 2004).
- La emisión de CH₄ y CO₂ en LR y estiércol a 20°C fue imperceptible, sin embargo sí hay evidencia de BT, por lo que se deduce solo se atrapó vapor de agua.
- Existe mayor emisión de CH₄ a temperatura de 50°C, dentro del rango termófilo, que a 20°C, en el rango psicrofílico, para las tres muestras.
- No existe diferencia significativa (<0.05) entre la producción de CH₄ del LR y la cerdaza a 40°C.
- La cerdaza fue la muestra con mejor producción de CH₄ a 30°C, mientras que el LR lo fue a 40°C y 50°C.
- La cerdaza fue la muestra con mayor producción de CO₂ en todas las temperaturas sometidas, siendo a 40°C la máxima producción y a 50°C la que menor CO₂ produjo de esta muestra.
- Existe diferencia significativa (<0.05) en la producción de moles de CH₄ entre las diferentes temperaturas, para LR y estiércol, pero no así para cerdaza. Esta misma tendencia se observa en la producción de CO₂.

- Hay diferencias significativas (<0.05) entre la producción de moles de CH_4 y CO_2 para las tres muestras a las diferentes temperaturas, con excepción de 20°C para LR y estiércol.
- La relación C:N de las muestras frescas de las tres muestras, presenta una baja concentración de C y alta concentración de N, y no coincide con las proporciones recomendadas teóricamente (Prasad *et al.*, 1974).
- Hay similitudes significativas ($P < 0.05$) en los pH al inicio de la fermentación y al final de la misma de las tres muestras a las diferentes temperaturas sometidas.

7. EXPERIMENTO IV. COMPARACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS TOTAL, METANO Y BIÓXIDO DE CARBONO POR FERMENTACIÓN EN EXCRETAS DE GANADO VACUNO LECHERO, CERDAZA Y FERMENTACIÓN RUMINAL CON DIFERENTE CONTENIDO DE HUMEDAD.

7.1. Introducción

De manera teórica, para la producción de biogás, tratamiento de los efluentes y operación de un biodigestor a gran escala (para la producción de más de 300 m³ de biogás/día) no es conveniente que la carga a degradar este muy concentrada ni muy diluida, se recomienda una concentración de 5-12% de la excreta (Monroy and Viniegra, 1990). Sobre la base de sólidos totales de la carga pueden calcularse la concentración de los lodos, la cantidad de agua que se habrá de agregar y las proporciones de los componentes. Las excretas sólidas contienen en promedio 15% de materia seca, y en manuales de operación de biodigestores se recomienda que éstas, ingresen al biodigestor como una suspensión de agua con aproximadamente 3% de materia seca, esto implica una mezcla de cuatro partes de agua por una parte de estiércol fresco. Sin embargo algunos investigadores, (Forster-Carneiro *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2010), indican mejores resultados de producción de CH₄ de estiércol de ganado bovino fresco sin humedad adicional.

Considerando que la temperatura con mayor rendimiento en la producción de CH₄ en el experimento 3 (Capítulo 6) fue a 40°C, en este experimento se analizan la producción de biogás total, CH₄ y CO₂ de la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a esa temperatura por 120 h, considerando proporciones de muestra fresca:agua de 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4.

7.2. Objetivo general

- Determinar el contenido óptimo de humedad para lograr la máxima producción de CH₄ durante la fermentación de mezclas muestra fresca:agua: 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4 de estiércol, cerdaza ó líquido ruminal a 40°C.

7.3. Objetivos particulares

- Montar los sistemas biorreactor-trampa, por cuadruplicado, para la fermentación de mezclas de muestra fresca:agua de estiércol de ganado lechero, cerdaza y líquido ruminal (1:0, 1:1, 1:2 y 1:4), a 40°C.
- Cuantificar la proporción CH₄:CO₂ del espacio de cabeza, utilizando cromatografía de gases y un detector de conductividad térmica (TCD).
- Estimar las emisiones de CH₄ y CO₂, a diferentes contenidos de humedad, considerando las proporciones por TCD, el desplazamiento de la fase líquida de las trampas con solución salina y aplicando la ley de las presiones parciales, así como la ley de los gases ideales.
- Analizar las diferencias de pH de las muestras frescas con relación al término de 120h de fermentación.
- Cuantificar la cantidad de materia seca de las muestras frescas.
- Cuantificar la cantidad de materia inorgánica, por medio de cenizas, de cada muestra fresca.
- Analizar la concentración de bacterias por ml, de las muestras frescas con relación al término de las 120 h de fermentación.
- Identificar la proporción muestra fresca:agua con la mayor emisión de CH₄ y CO₂ por fermentación a 40°C.

7.4. Hipótesis

- La proporción 1:4 de muestra fresca:agua, es la mezcla con mayor producción de CH₄.

7.5. Metodología y materiales.

7.5.1. Captura de metano CH₄ y CO₂

Se recolectó líquido ruminal de una vaca fistulada de la granja experimental del Colegio de Postgraduados, así como estiércol vía rectal de la misma vaca. Se recolectaron excretas frescas de ganado porcino en finalización de una granja ubicada en Cuatlinchán, Texcoco, Estado de México.

El material y metodología del sistema biorreactor-trampa para la captura de biogás (CH_4 y CO_2) es prácticamente el mismo que el descrito en el punto 4.5.1. Solo se utilizaron trampas de solución salina saturada, 400 g de NaCl en 1 L de H_2O destilada, con pH 2 y 5 mL de indicador anaranjado de metilo al 20%. Se fermentaron los viales a 40°C en un baño María, considerando una proporción muestra fresca:agua de 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4. Se tomaron lecturas del desplazamiento de la fase líquida de las trampas a 0, 4, 18, 24, 48, 72 y 120h. Las fermentaciones se realizaron por cuadruplicado por muestra y por cada proporción muestra fresca:agua.

7.5.2 Medición inicial y final de pH y conteo de bacterias. La metodología para la medición de pH y conteo de bacterias, inicial y final del estiércol y la cerdaza es la descrita en el punto 4.5.2. Sin embargo, el pH del líquido ruminal inicial y final se midió directamente. La primera dilución para el conteo de bacterias del líquido ruminal inicial y final, fue 4 mL de formaldehído al 18.5% y 1mL de líquido ruminal. Las mediciones se realizaron por cuadruplicado.

7.5.3. Medición de la materia seca total del líquido ruminal y las excretas frescas. Se siguió la metodología descrita en el punto 4.5.3 (A.O.A.C., 2005, método: 934.01).

7.5.4. Medición de biogás (CH_4 y CO_2) por cromatografía de gases (TCD). El método y los pasos para la cuantificación del biogás es la misma descrita en el punto 6.5.10. Las mediciones se realizaron para cada repetición.

7.6. Resultados y discusión.

7.6.1. Producción de biogás total, bióxido de carbono y metano.

El porcentaje de humedad de las muestras base húmeda (frescas) fueron 89.5% para el líquido ruminal, 88% del estiércol y 75% para la cerdaza.

Dado que el peso total de los biorreactores, con las muestras frescas y el agua agregada, fue de 50 g en todos los biorreactores, el porcentaje real de H_2O se calculó utilizando la ecuación 1.

$$H = (H_2O_m + H_2O^+) \cdot 2 \quad \text{ecuación 1}$$

donde:

H = % de H₂O real de la muestra.

H₂O_m = humedad (mL) de la muestra fresca.

H₂O⁺ = agua (mL) agregada.

La cantidad media del desplazamiento de los testigos con 50 mL agua, fue de 11 mL con un coeficiente de variación de 7.42. Considerando el volumen de vapor de agua del testigo, se calculó el vapor de agua en el espacio de cabeza de las trampas, generado por cada muestra en los biorreactores, de acuerdo con la ecuación 2.

$$Vapor_{H_2O} = H \cdot Tes_{H_2O} \quad \text{ecuación 2}$$

donde:

Vapor_{H₂O} = volumen de vapor de agua producido por la muestra.

H = % de humedad de la muestra.

Tes_{H₂O} = volumen del desplazamiento del testigo de agua (11 mL).

Las cantidades de muestra y agua, en proporción base húmeda y seca de las muestras, así como el porcentaje de H₂O real (ecuación 1) y el vapor de H₂O generado (ecuación 2) se muestran en el Cuadro 7.1.

Al restar el valor promedio del desplazamiento por el vapor de agua al volumen del biogás producido y capturado en las trampas salinas, se identifica entonces el volumen de la parte líquida desplazado por la producción exclusivamente de biogás total (ecuación 3)

$$BT = BTh - Vapor_{H_2O} \quad \text{ecuación 3}$$

donde:

BT = volumen de biogás total producido por muestra.

BTh = volumen de biogás húmedo registrado en las trampas de solución salina por la muestra.

Vapor_{H₂O} = volumen de vapor de agua producido por muestra (ecuación 1).

Cuadro 7.1. Proporción de sólidos:agua base húmeda y seca de líquido ruminal, estiércol y cerdaza con diferentes cantidades de agua.

| Muestra | Muestra fresca | | | H ₂ O + (mL) | Proporción base húmeda | | Proporción base seca | | % humedad real | Vapor _{H₂O} (mL) |
|-----------------|-----------------|-------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|--------------------|----------------------|------------------|----------------|--------------------------------------|
| | Base húmeda (g) | Sólidos (g) | H ₂ O (mL) | | Sólidos | H ₂ O + | Sólidos | H ₂ O | | |
| Líquido ruminal | 50.0 | 5.25 | 44.75 | 0.0 | 1 | 0 | 1 | 8.95 | 89.5 | 9.85 |
| | 25.0 | 2.65 | 22.35 | 25.0 | 1 | 1 | 1 | 17.9 | 94.7 | 10.42 |
| | 16.7 | 1.80 | 14.90 | 33.3 | 1 | 2 | 1 | 27.0 | 96.4 | 10.60 |
| | 10.0 | 1.55 | 8.95 | 40.0 | 1 | 4 | 1 | 56.0 | 97.9 | 10.77 |
| Estiércol | 50.0 | 6.0 | 44.00 | 0.0 | 1 | 0 | 1 | 7.33 | 88.0 | 9.68 |
| | 25.0 | 3.0 | 22.00 | 25.0 | 1 | 1 | 1 | 15.7 | 94.0 | 10.34 |
| | 16.7 | 2.0 | 14.70 | 33.3 | 1 | 2 | 1 | 24.0 | 95.9 | 10.55 |
| | 10.0 | 1.2 | 8.80 | 40.0 | 1 | 4 | 1 | 40.7 | 97.6 | 10.74 |
| Cerdaza | 50.0 | 12.5 | 37.5 | 0.0 | 1 | 0 | 1 | 7.33 | 75.0 | 8.25 |
| | 25.0 | 6.25 | 18.75 | 25.0 | 1 | 1 | 1 | 15.66 | 87.5 | 9.63 |
| | 16.7 | 4.16 | 12.54 | 33.3 | 1 | 2 | 1 | 24.03 | 91.5 | 10.07 |
| | 10.0 | 2.50 | 7.50 | 40.0 | 1 | 4 | 1 | 40.66 | 95.0 | 10.45 |

Así, los resultados del biogás total acumulado por la fermentación de cada muestra a las diferentes proporciones de muestra fresca:agua, por tiempos parciales se presentan en el Cuadro 7.2, así como los resultados del análisis de varianza (PROC ANOVA, SAS, 2002) por Tukey.

Cuadro 7.2. Biogás total acumulado por la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.

| Tiempo (h) | Biogás total (mL / 50 g de muestra) | | | | | | | | | | | |
|------------|--------------------------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | Líquido ruminal | | | | Estiércol | | | | Cerdaza | | | |
| | 1:0 | 1:1 | 1:2 | 1:4 | 1:0 | 1:1 | 1:2 | 1:4 | 1:0 | 1:1 | 1:2 | 1:4 |
| 4 | 17.8 ^{g,h} | 5.7 ^{i,j} | 2.7 ^{i,j} | 1.1 ^j | 17.5 ^{g,h,i} | 5.7 ^{k,l,m} | 3.3 ^m | 3.9 ^{l,m} | 35.8 ^{l,m,n,o} | 17.5 ^{m,n,o} | 5.4 ^o | 6.9 ^{n,o} |
| 18 | 39.3 ^{d,e} | 13.0 ^{h,i} | 2.7 ^{i,j} | 1.1 ^j | 52.4 ^{c,d} | 14.2 ^{h,i,j,k} | 4.8 ^{l,m} | 4.7 ^{l,m} | 122.3 ^{e,f,g} | 79.0 ^{h,i,j} | 49.4 ^{j,k,l,m} | 31.7 ^{l,m,n,o} |
| 24 | 47.1 ^{c,d} | 21.3 ^{g,h} | 4.2 ^{i,j} | 1.1 ^j | 60.5 ^c | 18.6 ^{g,h} | 7.8 ^{j,k,l,m} | 4.7 ^{l,m} | 156.0 ^{d,e} | 99.9 ^{h,g} | 66.4 ^{i,j,k,l} | 43.7 ^{k,l,m,n} |
| 48 | 57.3 ^{b,c} | 24.0 ^{f,g,h} | 5.1 ^{i,j} | 1.9 ^{i,j} | 80.8 ^b | 24.3 ^{f,g} | 12.5 ^{i,j,k,l} | 9.0 ^{j,k,l,m} | 230.8 ^c | 144.4 ^{e,d,f} | 96.8 ^{h,g} | 71.5 ^{h,i,j,k} |
| 72 | 61.8 ^b | 26.3 ^{f,g} | 5.8 ^{i,j} | 2.4 ^{i,j} | 86.8 ^b | 30.3 ^f | 18.0 ^{g,h,i} | 16.0 ^{g,h,i,j} | 291.3 ^b | 170.9 ^d | 116.6 ^{f,g} | 86.5 ^{g,h,i} |
| 120 | 76.7 ^a | 34.3 ^{e,f} | 12.7 ^{h,i} | 5.6 ^{i,j} | 101.9 ^a | 50.1 ^d | 39.5 ^e | 20.6 ^{g,h} | 368.8 ^a | 214.8 ^c | 145.6 ^{e,d,f} | 100.0 ^{h,g} |

P < 0.0001

P < 0.0001

P < 0.0001

Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

La mayor producción de biogás total fue con relación a la proporción muestra:agua 1:0, en las tres muestras en un periodo de 120 h, presentando diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre las diferentes proporciones al final de la fermentación.

Sin embargo al analizar los resultados de manera parcial (tiempos de fermentación), se puede ver que no hay diferencias significativas ($P > 0.05$) de la producción de biogás entre el inicio y al final de la fermentación para el líquido ruminal en las proporciones 1:2 y 1:4. Esta misma tendencia se observa en las primeras 48 h para el estiércol y la cerdaza con las mismas proporciones. Por tanto se puede deducir que la fase de estabilización es más larga cuando la cantidad de agua es mayor al 95%, y por lo tanto no existe actividad microbiana. Se observa una ligera producción de biogás total en las últimas 48 h en la proporción 1:2 y 1:4 en las muestras de estiércol y cerdaza, por lo que podría haber una estabilización a más de 120 h de fermentación.

En el Cuadro 7.1 y en las Figuras 7.1, 7.2 y 7.3 se presentan los resultados obtenidos de la producción de biogás, a las diferentes proporciones muestra fresca:agua 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4, para líquido ruminal, estiércol y cerdaza respectivamente. Se observa claramente que la proporción 1:0 fue la que mayor cantidad de producción de biogás total produjo en las tres muestras, mientras que la proporción 1:4 fue la que menor rendimiento obtuvo. En otro sentido se puede observar que, a 120h de fermentación, la proporción 1:0 tuvo un periodo de estabilización más corto, por lo que las proporciones 1:1, 1:2 y 1:4 presentaron una estabilización más larga, sin embargo se plantea la hipótesis, de que a mayor tiempo pudiera haber una fase de producción alta de BT.

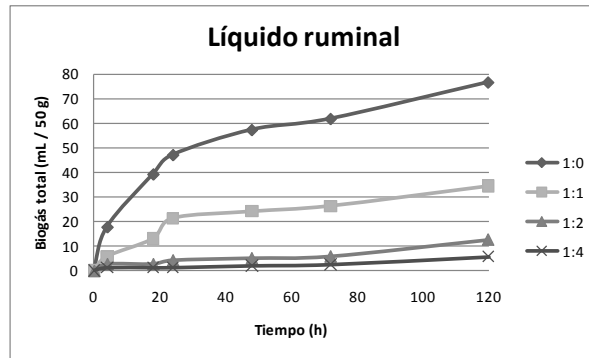


Figura 7.1. Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 50 g de líquido ruminal con una proporción de muestra fresca:agua 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4 a 40°C

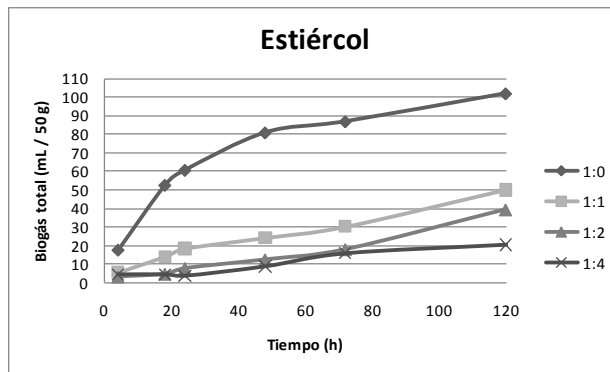


Figura 7.2. Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 50 g de estiércol con una proporción de muestra fresca:agua 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4 a 40°C

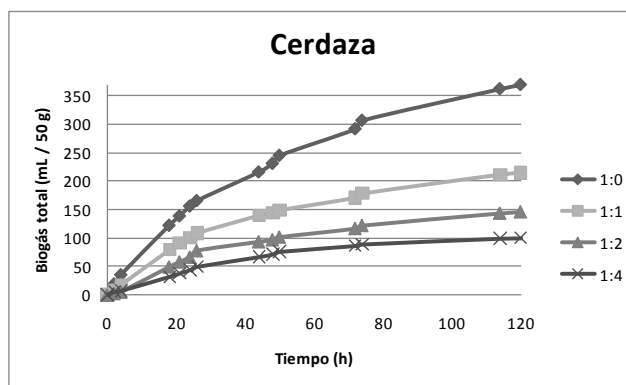


Figura 7.3. Comportamiento de la producción de BT por la fermentación de 50 g de cerdaza con una proporción de muestra fresca:agua 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4 a 40°C

Cabe notar que, bajo las condiciones experimentales de este trabajo, la cerdaza tuvo la mayor producción de BT de las tres muestras, seguida del estiércol y por último del líquido ruminal.

El análisis del BT capturado en el espacio de cabeza de las trampas de solución salina por cromatografía de gases, se determinó la proporción de CH₄ y CO₂ de cada muestra. En el Cuadro 7.3 se observa el líquido ruminal tuvo una producción de CO₂ ligeramente mayor (0.17 veces) que el CH₄ en la proporción 1:0 de muestra fresca:agua y de 0.37 para 1:1. La proporción de CO₂ aumenta en el resto de las proporciones de manera considerable. Para la proporción 1:2 el CO₂ es el doble que CH₄, y para 1:4 casi se triplica. Lo anterior indica que las bacterias metanogénicas inhiben su actividad metabólica al aumentar la cantidad de agua. Sin embargo, al someter la cantidad de BT producido con estas proporciones, y despreciando la producción de otro tipo de biogás, no hay diferencias significativas en la concentración de CH₄ y CO₂ entre la misma proporción. Siendo la de 1:0 la proporción con mayor producción de CH₄ y la de 1:4 de menor producción de CH₄. Estos resultados son coherentes con los presentados por Kumar, *et al.*, (2010), quienes determinaron en muestras de estiércol con una proporción 1:0, 1:1 y 1:2 de muestra fresca:agua a 35 y 55°C, la muestra sin humedad agregada, fue la que mejores resultados de producción de CH₄ obtuvo.

Por otro lado sí hay diferencias significativas en la concentración de CH₄ y CO₂ entre las proporciones 1:0 y 1:1 pero no en las proporciones 1:2 y 1:4, por lo que se puede deducir que a partir de una doble cantidad de agua en una muestra fresca de estiércol la producción de CH₄ disminuye. Esto implica que existe una disminución en el número de microorganismos

Cuadro 7.3. Contenido de CH₄, CO₂ y BT producido por la fermentación de 50 g de líquido ruminal a 40°C y a diferentes proporciones de muestra fresca:agua.

| Muestra fresca:agua | Líquido Ruminal | | | | |
|------------------------|----------------------|-------|--------------------------------|-------|--------------------------------|
| | BT (mL / 50 g) | % | CH ₄ (mL / 50 g) | % | CO ₂ (mL / 50 g) |
| 1:0 | 76.70 ^a | 45.93 | 35.23 ^a | 54.07 | 41.47 ^a |
| 1:1 | 34.30 ^b | 42.02 | 14.41 ^{b,c} | 57.98 | 19.89 ^b |
| 1:2 | 12.70 ^{c,d} | 32.28 | 4.10 ^{c,d} | 67.72 | 8.60 ^c |
| 1:4 | 5.60 ^d | 26.32 | 1.47 ^d | 73.68 | 4.13 ^c |
| | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | | P < 0.0001 |

^{a,b,c,d} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

Los resultados de las proporciones de CH₄ y CO₂, para el caso del estiércol, se presentan en el Cuadro 7.4.

Cuadro 7.4. Contenido de CH₄, CO₂ y BT producido por la fermentación de 50 g de estiércol a 40°C y a diferentes proporciones de muestra fresca:agua.

| Muestra fresca:agua | BT (mL / 50 g) | Estiércol | | | |
|------------------------|----------------------|-----------|--------------------------------|-------|--------------------------------|
| | | % | CH ₄ (mL / 50 g) | % | CO ₂ (mL / 50 g) |
| 1:0 | 101.92 ^a | 44.56 | 45.33 ^a | 55.44 | 56.59 ^a |
| 1:1 | 50.09 ^{b,c} | 35.60 | 17.80 ^b | 64.40 | 32.28 ^b |
| 1:2 | 39.53 ^{c,d} | 35.47 | 13.78 ^b | 64.53 | 25.75 ^b |
| 1:4 | 20.58 ^{e,f} | 18.80 | 3.89 ^c | 81.20 | 16.69 ^c |
| | P < 0.0001 | | P < 0.0001 | | P < 0.0001 |

^{a,b,c,d} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

Para el caso de la cerdaza, a diferencia del líquido ruminal y del estiércol, el porcentaje de CH₄ es mucho menor que el CO₂ para las cuatro proporciones de agua. Otra diferencia es que la muestra fresca:agua que tuvo una mayor cantidad de CH₄ fue con 1:4, esto es atribuido a que la cerdaza fresca está prácticamente seca, y al agregar humedad extra, las

bacterias metanógenicas tuvieron en mejores condiciones que en proporciones de humedad menores.

Cuadro 7.5. Contenido de CH₄, CO₂ y BT producido por la fermentación de 50 g de cerdaza a 40°C y a diferentes proporciones de muestra fresca:agua.

| Muestra fresca:agua | BT (mL / 50 g) | Cerdaza | | | |
|---------------------|---------------------|-----------------|--------------------|-----------------|---------------------|
| | | CH ₄ | | CO ₂ | |
| | | % | (mL / 50 g) | % | (mL/50g) |
| 1:0 | 368.75 ^a | 4.37 | 16.13 ^a | 95.63 | 352.62 ^a |
| 1:1 | 214.77 ^b | 12.51 | 27.63 ^a | 87.49 | 187.14 ^b |
| 1:2 | 145.58 ^c | 17.06 | 24.72 ^a | 82.94 | 120.86 ^c |
| 1:4 | 99.91 ^d | 24.21 | 24.15 ^a | 75.79 | 75.76 ^d |

^{a,b,c,d} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).
 P < 0.0001 P > 0.05 P < 0.0001

En la Figura 7.7, se compara la producción del BT de las tres muestras. Se observa claramente que la cerdaza es la muestra con la mayor cantidad de BT producido en la proporción 1:0, inclusive es notorio esta tendencia en todas las relaciones muestra fresca:agua. El estiércol y el líquido ruminal fresco (1:0) apenas representan el 28% y 21% de lo producido por la cerdaza fresca. La menor producción de BT se observa en la proporción 1:4 en cerdaza, estiércol y finalmente el líquido ruminal, con 27%, 6% y 2%, respectivamente, respecto a la mayor producción de BT.

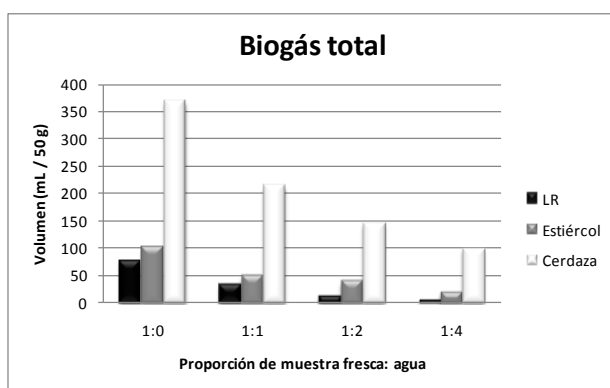


Figura 7.4. Biogás total producido por la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a proporciones de muestra fresca:agua: 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4.

Al analizar por analito la producción de CH₄ y CO₂, se identificó (Figura 7.5) que la mayor producción de CH₄ se da por el estiércol (100%) y líquido ruminal (78%) en la proporción 1:0, es decir en la muestra sin humedad extra. Sin embargo la cerdaza con humedad extra agregada (1:1, 1:2 y 1:4) presentan un 61%, 55% y 53% de producción con respecto al estiércol sin humedad agregada. Esto puede deberse a que la cerdaza (sin humedad agregada) presentó únicamente el 75% de humedad intrínseca, mientras que para la proporción 1:1 la humedad fue de 87.5%, en 1:3 de 91.5% y finalmente en 1:4 de 95%. El líquido ruminal presentó el 89.5% y el estiércol el 88% de humedad intrínseca.

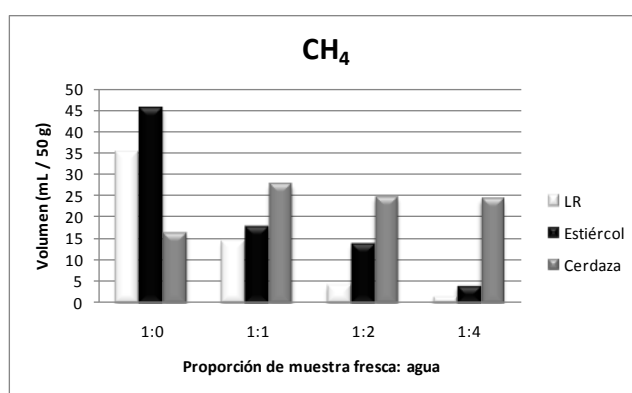


Figura 7.5. CH₄ producido por la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a proporciones de muestra fresca:agua: 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4.

Finalmente para el caso de la producción de CO₂, la cerdaza en las diferentes proporciones, es la muestra con mayor producción de este biogás. Siendo la proporción de 1:0 la que mejor producción se tiene. La producción de CO₂ por el LR y el estiércol, en la proporción 1:0, solo representa el 12 y 16% en relación a la de la cerdaza en estas condiciones. La proporción 1:4 solo representó el 1%, 5% y 22% de producción de CO₂ por LR, estiércol y cerdaza respectivamente, en comparación al máximo registrado.

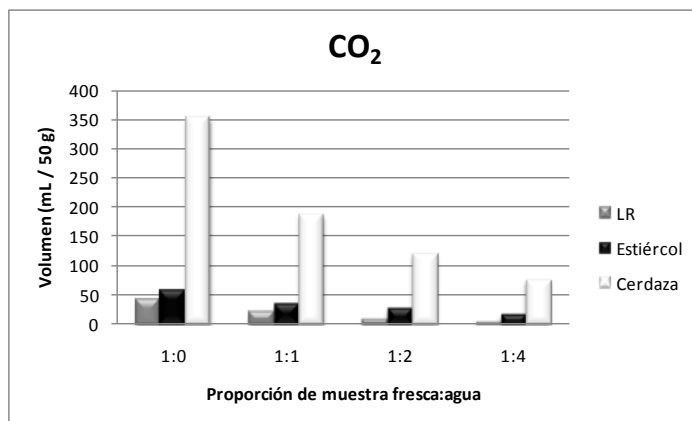


Figura 7.6. CO₂ producido por la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a proporciones de muestra fresca:agua: 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4.

Para el cálculo de la concentración en gramos de CH₄ y CO₂ se identificaron las proporciones de éstos analitos, determinados por cromatografía de gases (Cuadros 7.4, 7.5 y 7.6) a las diferentes proporciones de muestra fresca:agua, así como el volumen por vapor de agua. Aplicando la ley de las presiones parciales, ecuación 4, se calculó la presión que ejerce cada uno de los componentes del biogás, dentro del espacio de cabeza de las trampas. Considerando que el sistema biorreactor-trampa mantuvo una válvula de alivio, la presión total en el espacio de cabeza, se iguala a la presión atmosférica, por lo que se considera, para fines de esta tesis, de 760 mm Hg.

$$P_T = P_{CH_4} + P_{CO_2} + P_{H_2O} \quad \text{ecuación 4}$$

donde:

P_T = presión total dentro del espacio de cabeza

P_{CH₄} = presión parcial ejercida por el CH₄

P_{CO₂} = presión parcial ejercida por el CO₂

P_{H₂O} = presión parcial ejercida por el vapor de H₂O

Conociendo la presión total de 760 mm Hg y del vapor de agua a 40°C de 55.3 mm Hg, se sustituye estos valores en la ecuación 4, de tal forma que la presión ejercida por el CH₄ y el CO₂ es de 704.7 mm Hg. De acuerdo con los porcentajes calculados de CH₄ y CO₂ (Cuadros 7.4, 7.5 y 7.6) de cada muestra, de acuerdo con los resultados de TCD por

cromatografía de gases, se calculan la presión parcial del CH₄ y del CO₂. Por lo tanto para el cálculo de la presión de CH₄ se tiene que:

$$P_{CH_4} = \frac{(\%CH_4)(P_{CH_4+CO_2})}{100\%} \quad \text{ecuación 5}$$

donde:

P_{CH₄} = presión ejercida por el metano.

%CH₄ = proporción del CH₄ por el desplazamiento de la fase líquida de la trampa de solución salina.

P_{CH₄} y CO₂ = presión ejercida por el metano y bióxido de carbono.

Por lo tanto, despejando de la ecuación 4, la presión del CO₂ se calcula:

$$P_{CO_2} = P_T - P_{H_2O} - P_{CH_4} \quad \text{ecuación 6}$$

Sustituyendo los valores en las ecuaciones 5 y 6, se calculó la presión por analito del CH₄ y CO₂ de la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a la proporción de muestra fresca:agua. Las presiones calculadas de CH₄ y CO₂ se muestran en el Cuadro 7.6.

Cuadro 7.6. Presión por CH₄ y CO₂ en el espacio de cabeza de las trampas producido por la fermentación de tres muestras a diferentes proporciones de temperatura.

| Muestra fresca:agua | LR | | Estiércol | | Cerdaza | |
|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | CH ₄ (mm Hg) | CO ₂ (mm Hg) | CH ₄ (mm Hg) | CO ₂ (mm Hg) | CH ₄ (mm Hg) | CO ₂ (mm Hg) |
| 1:0 | 322.72 | 381.98 | 314.05 | 390.65 | 30.78 | 673.92 |
| 1:1 | 291.37 | 413.33 | 250.86 | 453.84 | 88.16 | 616.54 |
| 1:2 | 235.87 | 468.83 | 249.95 | 454.75 | 120.23 | 584.47 |
| 1:4 | 183.25 | 521.45 | 132.50 | 572.20 | 170.60 | 534.10 |

Con los valores de los volúmenes (mL) del CH₄ y CO₂ (Cuadro 7.4, 7.5 y 7.6) y utilizando la ecuación de los gases ideales se calcularon los moles producidos de CO₂ y CH₄.

$$n = \frac{PV}{RT} \quad \text{ecuación 7}$$

donde:

n = número de moles de CH₄ ó CO₂.

P = presión ejercida por CH₄ ó CO₂ en atmósferas.

V = volumen en litros.

R = constante de los gases ideales 0.0821 L • atm/(K • mol)

T = temperatura en K

Así, los moles (mol) de cada analito se calcularon al sustituir los valores correspondientes de presión y volumen de CH₄ y CO₂ de cada muestra a las diferentes temperaturas. Los gramos se calculan con los moles de cada molécula. La masa en gramos de CH₄ y CO₂ de cada muestra a las diferentes temperaturas son mostrados en el Cuadro 7.8 (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2002) con Tukey, donde se puede observar claramente que la concentración de CH₄, en la proporción 1:0, es decir en las muestras sin humedad adicional, fue mayor en estiércol. La cerdaza fresca no produjo una concentración de CH₄ elevada en comparación a estiércol y LR, sin embargo al agregar agua adicional, se observa un aumento.

Cuadro 7.7. Masa de CH₄ y CO₂ en 120 h de fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza con diferentes proporciones de humedad.

| Muestra fresca:agua | Líquido ruminal | CH ₄ (g) | | Líquido ruminal | CO ₂ (g) | |
|------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| | | Estiércol | Cerdaza | | Estiércol | Cerdaza |
| 1:0 | 0.0279 ^{a,b} | 0.0351 ^a | 0.0012 ^c | 0.1076 ^e | 0.1499 ^{d,e} | 1.6113 ^a |
| 1:1 | 0.0101 ^c | 0.0110 ^c | 0.0060 ^c | 0.0570 ^e | 0.0993 ^e | 0.7823 ^b |
| 1:2 | 0.0026 ^c | 0.0085 ^c | 0.0073 ^c | 0.0262 ^e | 0.0794 ^e | 0.4790 ^c |
| 1:4 | 0.0006 ^c | 0.0013 ^c | 0.0102 ^{b,c} | 0.0146 ^e | 0.0648 ^e | 0.2744 ^d |
| P < 0.0001 | | | | P < 0.0001 | | |

^{a,b,c,d,e} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

Del Cuadro 7.7, se puede observar que hay diferencias significativas (P < 0.05) entre la composición muestra fresca:agua 1:0 del estiércol y líquido ruminal con el resto de las

composiciones de las muestras. Se observa claramente que estas composiciones son las que produjeron una mayor cantidad de CH₄. Para el caso del CO₂ producido por la cerdaza con las diferentes composiciones muestra fresca:agua hay diferencias significativas (P < 0.05), y hay similitudes (P > 0.05) en la producción del CO₂ de las diversas composiciones de líquido ruminal y estiércol fresco con agua agregada.

7.6.2. Medición de pH

Analizando las variaciones de pH de las muestras frescas, con respecto al pH después de 120 h de fermentación, se determinó acidificación del biorreactor, debido a la actividad microbiana sobre el sustrato. En el Cuadro 7.9 se presentan los resultados de pH antes y después de la fermentación (PROC ANOVA, SAS ver 9.0, 2002) para “pH”, donde se observa que existen diferencias significativas (<0.0001) entre el pH inicial con relación al pH final de todas las proporciones de muestra fresca:agua, debido a la actividad microbiana después de 120h. Sin embargo se tiene similitudes significativas de los pH finales entre las diferentes proporciones de muestra fresca:agua, estableciendo que la fermentación microbiana se realiza de la misma forma independientemente de la cantidad de humedad en el medio.

Los pH inicial de las diferentes proporciones muestra fresca:agua de líquido ruminal, estiércol y cerdaza no presentan diferencias significativas (P > 0.05), por lo que en el Cuadro 7.8, se presenta la media de los pH medidos al inicio de la fermentación.

Cuadro 7.8. Variación de pH de las muestras al inicio y final de la fermentación a diferentes proporciones de muestra fresca:agua

| pH | Muestra | | |
|----------------|---------------------|-------------------|---------------------|
| | LR | Estiércol | Cerdaza |
| Inicial | 6.84 ^a | 7.18 ^a | 6.85 ^a |
| 1:0 | 6.03 ^{b,c} | 6.23 ^b | 6.20 ^b |
| 1:1 | 6.23 ^b | 6.36 ^b | 5.93 ^{b,c} |
| 1:2 | 6.33 ^c | 6.41 ^b | 5.82 ^{b,c} |
| 1:4 | 6.46 ^b | 5.85 ^c | 5.74 ^c |
| | P < 0.0001 | P < 0.0001 | P < 0.0001 |

^{a,b,c} Media con diferente superíndice dentro de las columnas indican diferencias significativas (P < 0.05).

7.7. Conclusiones

- Se rechaza la hipótesis nula, debido a que bajo las condiciones en que se realizó el experimento, la muestra con mayor producción de CH₄, fue la de estiércol en una proporción 1:0, es decir sin agua a la muestra fresca, con un 12% de materia sólida. Mientras que con una proporción de 1:4 (correspondiente a 2.4% de materia sólida), la producción de gas fue prácticamente por vapor de agua.
- La cerdaza tuvo la mayor producción de CH₄, en comparación con el LR y estiércol, en las proporciones 1:1, 1:2 y 1:4, es decir con 12, 8 y 5% de materia sólida, sin embargo esta producción representa el 61%, 55% y 53% de la mayor producción de CH₄ por el estiércol fresco. El porcentaje de materia seca en la muestra fresca de cerdaza fue de 25%, por lo que una cantidad menor a 75% de agua, no es recomendable para realizar la hidrólisis en el proceso de fermentación.
- Hay diferencias significativas de la producción de biogás total al inicio y al final de la fermentación en las proporciones 1:0 (muestra sin humedad agregada) de líquido ruminal, estiércol y cerdaza.
- Hay diferencias significativas en la producción de biogás total entre las diferentes proporciones de muestra fresca:agua: 1:0, 1:1, 1:2 y 1:4 a las 120 h de fermentación del líquido ruminal, estiércol y cerdaza.
- Con respecto a la producción de CO₂, la cerdaza fue la muestra con el mayor porcentaje de producción, siendo la muestra fresca (sin humedad agregada) la que tuvo la mayor producción, y el líquido ruminal el que menos CO₂ produce.

8. INCERTIDUMBRE DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS

8.1. Generalidades

Incertidumbre es un parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que pudieran ser atribuidos razonablemente al mesurando (EURACHEM 2000).

Propuesta ISO. La estrategia propuesta por la Organización Internacional para la Estandarización (ISO), también conocida como aproximación “bottom-up, está basada en identificar, cuantificar y combinar todas las fuentes de incertidumbre del procedimiento analítico (EURACHEM, 2000). Así, esta aproximación se basa en identificar, cuantificar y combinar todas las fuentes de incertidumbre del procedimiento analítico. La Figura 8.1. muestra las cuatro etapas diferenciadas propuestas por la ISO para calcular la incertidumbre.

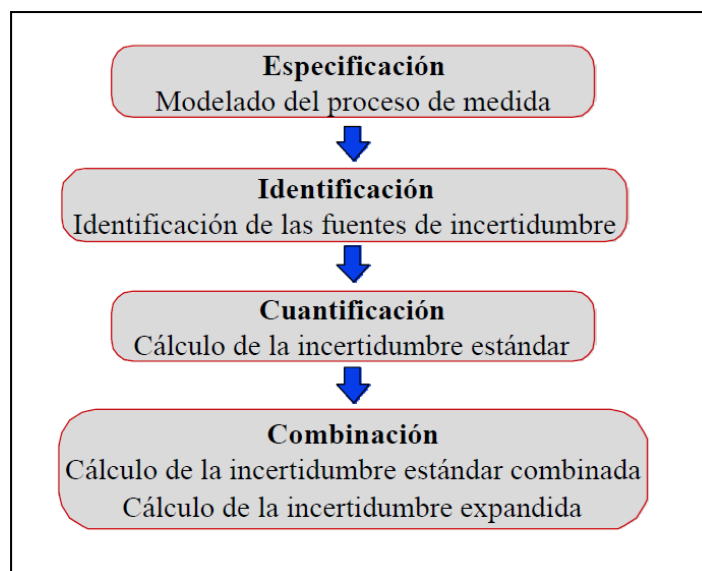


Figura 8.1. Etapas a seguir para el cálculo la incertidumbre según el método de la ISO

Por lo tanto, el objetivo de este capítulo es reportar la metodología que se realizó para el cálculo de la incertidumbre, bajo el esquema propuesto por la ISO, (EURACHEM, 2000), así como los resultados de la incertidumbre de los cuatro experimentos (Capítulos 4, 5, 6 y 7) realizados para la cuantificación de biogás total (BT) y metano (CH₄) por la fermentación de “x” cantidad de excretas y/o líquido ruminal.

8.2. Metodología

8.2.1. Especificación:

Considerando la Figura 4.1 (Capítulo 4), en donde se ilustra el montaje de los sistemas biorreactor- trampa de las dos fases utilizado en los cuatro experimentos, como objeto en el cálculo de incertidumbre. Se consideró que las mediciones de la producción de biogás y metano que se realizaron en este método son intrínsecamente dependientes del mismo, es decir, no fueron previstas para la obtención de un resultado predeterminado teóricamente, de modo que pudieran haber sido independientes del método seleccionado. Se trata entonces de un método empírico, que por su misma naturaleza depende, entre otras, de las condiciones bajo las cuales se realiza el experimento de validación.

8.2.2. Identificación de fuentes de incertidumbre

Una vez establecida la relación entre el resultado analítico y los parámetros, deben identificarse todas las fuentes de incertidumbre. En los cuatro experimentos para la producción de BT y CH₄, las fuentes de incertidumbre están asociadas a:

- a) **Aleatoriedad de las muestras de excretas o líquido ruminal:** Las muestras de excretas o líquido ruminal empleadas en el experimento son aleatoriamente diferentes unas de otras en cuanto a la producción de BT o CH₄ (de acuerdo a la trampa empleada), de acuerdo a que no son totalmente homogéneas, por lo que en cada corrida se tendrá una función de distribución ligeramente diferente, pero cuantificable a través de la repetibilidad.
- b) **Masa de las muestras de excretas:** La masa de excretas depende del error de la balanza digital, determinado por el fabricante +/-5 g.
- c) **Error de la probeta:** El volumen del BT o CH₄ medido directamente, depende del error estándar de la probeta de 50 mL establecido por el fabricante +/-1mL
- d) **Efecto de fugas:** Se comprobó la hermeticidad del sistema, sin embargo se consideró que pudo haber fugas en: la septa del biorreactor, septa de la trampa, conexión de la aguja con la tubería en el biorreactor, conexión de la aguja con la tubería en la trampa y en la aguja como válvula de alivio
- e) **Efectos del operador:** Para la acumulación del BT o CH₄ producido en el interior del biorreactor, se estranguló la manguera con una pinza, misma que era retirada para dejar

libre el desplazamiento del ésto al interior de la trampa y dejar desplazar la fase líquida de la trampa hacia la probeta para medir el volumen por parte del operador. Los errores inminentes atribuidos por el operador son: en el tiempo entre la liberación de paso del BT o CH₄ en un sistema +/-10min de una repetición a otra y en el error visual en la lectura en la probeta

f) **Corrección por blancos:** Registro del vapor de agua por los testigo.

8.2.3. Relación funcional de las fuentes de incertidumbre.

En esta etapa debe modelarse el proceso de medida, es decir, se establece cuál es la relación que hay entre el resultado analítico y los parámetros de los que depende. Así la cuantificación de la producción de biogás total (BT_x) y metano (CH_{4x}) de cada muestra de excreta o líquido ruminal es el volumen de biogás (V_b) o metano (V_{CH₄}) por cantidad de excretas (E_x) o líquido ruminal (LR_x). Para obtener la incertidumbre en BT_x o CH_{4x} es necesario establecer la relación matemática entre el mesurando y los parámetros del cual depende, y por tanto, se debe establecer la relación funcional que hay entre las fuentes. Considerando que la producción se expresa como:

$$BT_x = \frac{V_b}{P_{Ex}}, \left[\frac{mL}{g} \right] \quad \text{ecuación 1}$$

ó

$$CH_{4x} = \frac{V_{CH_4}}{P_{Ex}}, \left[\frac{mL}{g} \right] \quad \text{ecuación 2}$$

De acuerdo a las ecuaciones 1 y 2, la incertidumbre en B_{Tx} ó CH_{4x} depende de las siguientes fuentes:

- I. Variación en el volumen de biogás o metano:
 1. Volumen de biogás total o metano (V_{bR} o V_{CH_{4R}}) obtenida por repetibilidad en el experimento.
 2. Volumen de vapor de agua (V_{H₂O}) obtenida por los testigos (corrección por blancos).
 3. Error de la probeta (E_{Pb}) reportado por el fabricante +/-1mL
 4. Fugas intrínsecas (F_i) en el sistema (mL)

5. Error del operador: tiempo de retardo de liberación (E_{TR1}) de paso del biogás o metano en un sistema +/-10min de una repetición a otra y error visual (E_V) en la medición del volumen directo en la probeta (tiempo).

II. Variación del peso de las muestras:

1. Error de la balanza digital (E_{bd}) determinado por el fabricante +/-5 g.
2. Error del operador: tiempo de retardo (E_{TR2}) en embasar las repeticiones de las muestras.

La dependencia entre parámetros se muestra en la Figura 8.2.

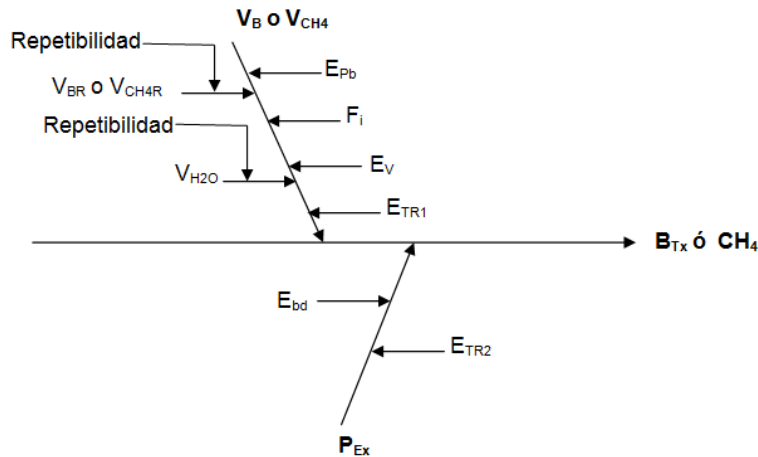


Figura 8.2. Incertidumbres en la producción de biogás total y metano.

De acuerdo a la Figura 8.2, la relación funcional de la incertidumbre en la producción de biogás total o metano se escribe como (ecuaciones 3 y 4):

$$B_{Tx} = B_{Tx} \left\{ V_{BR}, V_{H_2O}, \left[E_{Pb}, F_i, E_V, E_{TR1} \right], \left[E_{bd}, E_{TR2} \right] \right\} \quad \text{ecuación 3}$$

ó

$$CH_4 = CH_4 \left\{ V_{CH_4}, V_{H_2O}, \left[E_{Pb}, F_i, E_V, E_{TR1} \right], \left[E_{bd}, E_{TR2} \right] \right\} \quad \text{ecuación 4}$$

Entonces, las ecuaciones para la producción del BT y CH_4 están dados por:

$$B_{Tx} = V_{BR} - V_{H_2O} + \frac{(E_{Pb} + F_i + E_V) \cdot E_{TR1}}{E_{bd} \cdot E_{TR2}} \quad \text{ecuación 5}$$

$$CH_4 = V_{CH_4} - V_{H_2O} + \frac{(E_{Pb} + F_i + E_V) \cdot E_{TR1}}{E_{bd} \cdot E_{TR2}}$$

ecuación 6

Con base en las ecuaciones 5 y 6, el análisis dimensional está dado por:

$$[B_{Tx}] = \left[\frac{V_B}{P_{Ex}} \right] = \frac{mL}{g} + \frac{(mL + mL + mL) \cdot \min}{g \cdot \min} = \frac{mL}{g} + \frac{mL}{g} = \frac{mL}{g}$$

ecuación 7

8.2.4. Cuantificación

En esta etapa deben cuantificarse todas las fuentes de incertidumbre identificadas en la etapa anterior. Hay dos formas de cuantificar las fuentes de incertidumbre:

- a) Experimentalmente, es decir, haciendo replicados en el laboratorio.
- b) Usando información disponible: certificados de calibración, tolerancias del material volumétrico, manuales de instrumentos, etc.

Es importante señalar que todas las componentes de incertidumbre deben expresarse como incertidumbre estándar. En el caso de que la incertidumbre se determine experimentalmente, la incertidumbre estándar se obtiene calculando la desviación estándar de los replicados.

Cálculo de la incertidumbre combinada. Partiendo de los valores numéricos de los parámetros y sus incertidumbres, el cálculo de la incertidumbre combinada, siguiendo la aproximación de Kragten, se obtiene como sigue:

En la expresión para la incertidumbre $u(y(x_1, x_2, \dots, x_n))$, dada por:

$$u(y(x_1, x_2, \dots, x_n)) = \sqrt{\left(\sum_{i=1, n} \left(\frac{\partial y}{\partial x_i} \cdot u(x_i) \right)^2 + \sum_{i, k=1, n} \left(\frac{\partial y}{\partial x_i} \cdot \frac{\partial y}{\partial x_k} \cdot u(x_i, x_k) \right) \right)}$$

ecuación 8

Se requiere que $y(x_1, x_2, \dots, x_n)$ sea lineal respecto a las x_i , o que $u(x_i)$ sea pequeña comparada con x_i , para que las diferenciales parciales $\partial y / \partial x_i$ puedan ser aproximadas mediante la expresión:

$$\frac{\partial y}{\partial x_i} \approx \frac{y(x_i + u(x_i)) - y(x_i)}{u(x_i)}$$

ecuación 9

Multiplicando (9) por $u(x_i)$ se obtiene que la incertidumbre $u(y, x_i)$ en y , debido a la incertidumbre en x_i , está dada por:

$$u(y, x_i) \approx y(x_1, x_2, \dots, (x_i + u(x_i)), \dots, x_n) - y(x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_n)$$

ecuación 10

Por tanto, $u(y, x_i)$ dada por la ecuación 10 es justamente la diferencia entre los valores de “ y ” calculados para $(x_i + u(x_i))$ y x_i , respectivamente.

8.3. Resultados de la incertidumbre

8.3.1. Experimento I.

Incertidumbre combinada. Considerando las ecuaciones 8, 9 y 10 se realizó la hoja de cálculo, común para todas las muestras, para el procesamiento de los datos de la incertidumbre de la producción de BT (Cuadro 8.1) y CH_4 (Cuadro 8.2) por la fermentación de seis muestras de excretas.

Cuadro 8.1. Esquema de la hoja de cálculo de incertidumbre combinada de BT

| Parámetro | $u(V_{BR})$ | $u(V_{H2O})$ | $u(E_{Pb})$ | $u(F_i)$ | $u(E_v)$ | $u(E_{TR1})$ | $u(E_{bd})$ | $u(E_{TR2})$ |
|---|--|---|--|---|---|---|--|--|
| V_{BR} | $V_{BR} + u(V_{BR})$ | V_{BR} | V_{BR} | V_{BR} | V_{BR} | V_{BR} | V_{BR} | V_{BR} |
| V_{H2O} | V_{H2O} | $V_{H2O} + u(V_{H2O})$ | V_{H2O} | V_{H2O} | V_{H2O} | V_{H2O} | V_{H2O} | V_{H2O} |
| E_{Pb} | E_{Pb} | E_{Pb} | $E_{Pb} + u(E_{Pb})$ | E_{Pb} | E_{Pb} | E_{Pb} | E_{Pb} | E_{Pb} |
| F_i | F_i | F_i | F_i | $F_i + u(F_i)$ | F_i | F_i | F_i | F_i |
| E_v | E_v | E_v | E_v | E_v | $E_v + u(E_v)$ | E_v | E_v | E_v |
| E_{TR1} | E_{TR1} | E_{TR1} | E_{TR1} | E_{TR1} | E_{TR1} | $E_{TR1} + u(E_{TR1})$ | E_{TR1} | E_{TR1} |
| E_{bd} | E_{bd} | E_{bd} | E_{bd} | E_{bd} | E_{bd} | E_{bd} | $E_{bd} + u(E_{bd})$ | E_{bd} |
| E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | $E_{TR2} + u(E_{TR2})$ |
| $B_{Tx} = f(V_{BR}, \dots, E_{TR2})^*$ | $B_{Tx} = f(V_{BR}', \dots)$ | $B_{Tx} = f(\dots, V_{H2O}', \dots)$ | $B_{Tx} = f(\dots, E_{Pb}', \dots)$ | $B_{Tx} = f(\dots, F_i', \dots)$ | $B_{Tx} = f(\dots, E_v', \dots)$ | $B_{Tx} = f(\dots, E_{TR1}', \dots)$ | $B_{Tx} = f(\dots, E_{bd}', \dots)$ | $B_{Tx} = f(\dots, E_{TR2}')$ |
| | $u(B_{Tx}, V_{BR}) = f(V_{BR}', \dots) - f(V_{BR}, \dots)$ | $u(B_{Tx}, V_{H2O}) = f(\dots, V_{H2O}', \dots) - f(\dots, V_{H2O}, \dots)$ | $u(B_{Tx}, E_{Pb}) = f(\dots, E_{Pb}', \dots) - f(\dots, E_{Pb}, \dots)$ | $u(B_{Tx}, F_i) = f(\dots, F_i', \dots) - f(\dots, F_i, \dots)$ | $u(B_{Tx}, E_v) = f(\dots, E_v', \dots) - f(\dots, E_v, \dots)$ | $u(B_{Tx}, E_{TR1}) = f(\dots, E_{TR1}', \dots) - f(\dots, E_{TR1}, \dots)$ | $u(B_{Tx}, E_{bd}) = f(\dots, E_{bd}', \dots) - f(\dots, E_{bd}, \dots)$ | $u(B_{Tx}, E_{TR2}) = f(\dots, E_{TR2}') - f(\dots, E_{TR2}, \dots)$ |
| $u(B_{Tx}) = \text{SQRT}(u(B_{Tx}, V_{BR})^2 + \dots + u(B_{Tx}, E_{TR2})^2)$ | $u(B_{Tx}, V_{BR})^2$ | $u(B_{Tx}, V_{H2O})^2$ | $u(B_{Tx}, E_{Pb})^2$ | $u(B_{Tx}, F_i)^2$ | $u(B_{Tx}, E_v)^2$ | $u(B_{Tx}, E_{TR1})^2$ | $u(B_{Tx}, E_{bd})^2$ | $u(B_{Tx}, E_{TR2})^2$ |

Cuadro 8.2. Esquema de la hoja de cálculo de incertidumbre combinada de CH₄

| Parámetro | $u(V_{CH4})$ | $u(V_{H2O})$ | $u(E_{Pb})$ | $u(F_i)$ | $u(E_v)$ | $u(E_{TR1})$ | $u(E_{bd})$ | $u(E_{TR2})$ |
|--|---|---|--|---|---|---|--|--|
| V_{CH4} | $V_{CH4} + u(V_{CH4})$ | V_{CH4} | V_{CH4} | V_{CH4} | V_{CH4} | V_{CH4} | V_{CH4} | V_{CH4} |
| V_{H2O} | V_{H2O} | $V_{H2O} + u(V_{H2O})$ | V_{H2O} | V_{H2O} | V_{H2O} | V_{H2O} | V_{H2O} | V_{H2O} |
| E_{Pb} | E_{Pb} | E_{Pb} | $E_{Pb} + u(E_{Pb})$ | E_{Pb} | E_{Pb} | E_{Pb} | E_{Pb} | E_{Pb} |
| F_i | F_i | F_i | F_i | $F_i + u(F_i)$ | F_i | F_i | F_i | F_i |
| E_v | E_v | E_v | E_v | E_v | $E_v + u(E_v)$ | E_v | E_v | E_v |
| E_{TR1} | E_{TR1} | E_{TR1} | E_{TR1} | E_{TR1} | E_{TR1} | $E_{TR1} + u(E_{TR1})$ | E_{TR1} | E_{TR1} |
| E_{bd} | E_{bd} | E_{bd} | E_{bd} | E_{bd} | E_{bd} | E_{bd} | $E_{bd} + u(E_{bd})$ | E_{bd} |
| E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | E_{TR2} | $E_{TR2} + u(E_{TR2})$ |
| $CH_4 = f(V_{CH4}, \dots, E_{TR2})^*$ | $CH_4 = f(V_{CH4}', \dots)$ | $CH_4 = f(\dots, V_{H2O}', \dots)$ | $CH_4 = f(\dots, E_{Pb}', \dots)$ | $CH_4 = f(\dots, F_i', \dots)$ | $CH_4 = f(\dots, E_v', \dots)$ | $CH_4 = f(\dots, E_{TR1}', \dots)$ | $CH_4 = f(\dots, E_{bd}', \dots)$ | $CH_4 = f(\dots, E_{TR2}')$ |
| | $u(CH_4, V_{CH4}) = f(V_{CH4}', \dots) - f(V_{CH4}, \dots)$ | $u(CH_4, V_{H2O}) = f(\dots, V_{H2O}', \dots) - f(\dots, V_{H2O}, \dots)$ | $u(CH_4, E_{Pb}) = f(\dots, E_{Pb}', \dots) - f(\dots, E_{Pb}, \dots)$ | $u(CH_4, F_i) = f(\dots, F_i', \dots) - f(\dots, F_i, \dots)$ | $u(CH_4, E_v) = f(\dots, E_v', \dots) - f(\dots, E_v, \dots)$ | $u(CH_4, E_{TR1}) = f(\dots, E_{TR1}', \dots) - f(\dots, E_{TR1}, \dots)$ | $u(CH_4, E_{bd}) = f(\dots, E_{bd}', \dots) - f(\dots, E_{bd}, \dots)$ | $u(CH_4, E_{TR2}) = f(\dots, E_{TR2}') - f(\dots, E_{TR2}, \dots)$ |
| $u(CH_4) = \text{SQRT}(u(CH_4, V_{CH4})^2 + \dots + u(CH_4, E_{TR2})^2)$ | $u(CH_4, V_{CH4})^2$ | $u(CH_4, V_{H2O})^2$ | $u(CH_4, E_{Pb})^2$ | $u(CH_4, F_i)^2$ | $u(CH_4, E_v)^2$ | $u(CH_4, E_{TR1})^2$ | $u(CH_4, E_{bd})^2$ | $u(CH_4, E_{TR2})^2$ |

En el Cuadro 8.3 se presentan los valores e incertidumbres de las 6 muestras de excretas, la incertidumbre del volumen de vapor de agua generado por la cantidad de humedad de las muestras frescas. Mientras que en el Cuadro 8.4 se muestran las incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema.

Cuadro 8.3. Valores de V_{BR} , V_{CH_4} y V_{H_2O} e incertidumbres $u(x)$ de seis muestras de excretas (Experimento I).

| Muestra | Repetibilidad en | | Repetibilidad en | | Volumen de vapor de agua V_{H_2O} (mL) | |
|-----------|------------------|-------|------------------|-------|--|------|
| | V_{BR} (mL) | | V_{CH_4} (mL) | | Valor x | u(x) |
| | Valor x | u(x) | Valor x | u(x) | | |
| Gallinaza | 611.36 | 33.56 | 47.36 | 1.53 | 39.03 | 1.5 |
| Borregos | 413.66 | 20.21 | 130.66 | 22.29 | 17.41 | 1.5 |
| Cerdaza | 392.01 | 17.78 | 201.68 | 20.85 | 35.68 | 1.5 |
| Cabras | 278.29 | 35.97 | 118.04 | 25.66 | 36.04 | 1.5 |
| Engorda | 316.02 | 8.29 | 95.52 | 11.39 | 48.02 | 1.5 |
| Lechero | 198.03 | 12.66 | 82.28 | 4.97 | 47.28 | 1.5 |

Cuadro 8.4. Valores e incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema (Experimento I).

| Descripción | Valor x | u(x) |
|--|---------|------|
| Error de la probeta E_{Pb} (mL) | 1 | 0.5 |
| Fugas intrínsecas F_i (mL) | 10 | 15 |
| Error visual E_V (mL) | 3 | 14 |
| Tiempo de retardo de liberación E_{TR1} (min) | 10 | 12 |
| Error de la balanza digital E_{bd} (g) | 5 | 1 |
| Tiempo de retardo de llenado de muestras E_{TR2} (min) | 20 | 18 |

La Figura 8.3, muestra la diferencia de incertidumbres de los parámetros en común en el sistema biorreactor-trampa del Experimento I.

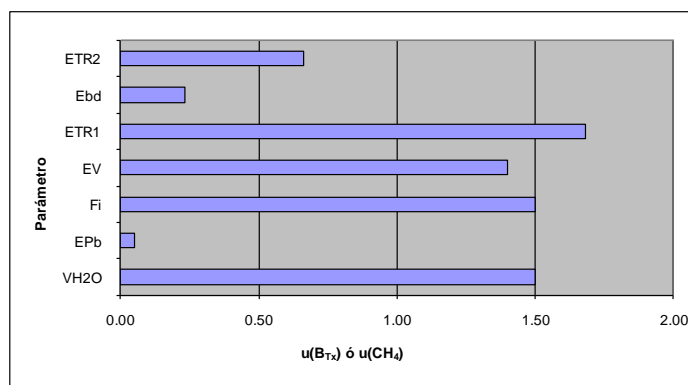


Figura 8.3. Comparación de incertidumbres de los parámetros en común en los sistemas biorreactor-trampa del Experimento I.

Los resultados de la incertidumbre en la repetibilidad de la producción de biogás $u(\text{BTX})$ y metano $u(\text{CH}_4)$, de la fermentación de seis muestras de excretas, se presentan en el Cuadro 8.5.

Cuadro 8.5. Comparación de incertidumbre combinada en el Experimento I. Producción de BT y CH_4 de la fermentación de 100 g de seis diferentes muestras de excretas a condiciones ambientales por 72 h.

| Muestras | Biogás total (mL / g) | | | Metano (mL / g) | | |
|-------------------|-----------------------|--------------------|-------|-----------------|------------------|-------|
| | B_{TX} | $u(B_{\text{TX}})$ | % | CH_4 | $u(\text{CH}_4)$ | % |
| Gallinaza | 573.73 | ±33.71 | 5.87 | 9.73 | ±3.14 | 32.26 |
| Cabras | 243.65 | ±36.10 | 14.82 | 83.40 | ±25.85 | 31.00 |
| Cerdaza | 357.73 | ±18.05 | 5.05 | 167.40 | ±21.08 | 12.59 |
| Borregos | 397.65 | ±20.45 | 5.14 | 114.65 | ±22.51 | 19.64 |
| Ganado lechero | 152.15 | ±13.04 | 8.57 | 36.40 | ±5.87 | 16.12 |
| Ganado en engorda | 269.40 | ±8.86 | 3.29 | 48.90 | ±11.81 | 24.15 |

Incertidumbre expandida. Finalmente, para el cálculo de la incertidumbre expandida se considera una “t de student” de $k = 2$, para un nivel de confianza del 95.45 %, por lo que la incertidumbre expandida de B_{TX} y CH_4 se dan por las ecuaciones 11 y 12:

$$U = 2 \cdot u(V_{Bx}) \quad \text{ecuación 11}$$

$$U = 2 \cdot u(V_{CH_4}) \quad \text{ecuación 12}$$

Por tanto, considerando la incertidumbre expandida, la producción de biogás y metano se presenta en el Cuadro 8. 6.

Cuadro 8. 6. Comparación de incertidumbre expandida en el Experimento I. Producción de BT y CH₄ de la fermentación de 100g de 6 diferentes muestras de excretas a condiciones ambientales por 72h

| Muestras | Biogás total (mL / g) | | Metano (mL / g) | |
|-------------------|-----------------------|---------------------|-----------------|---------------------|
| | B _{TX} | U(B _{TX}) | CH ₄ | U(CH ₄) |
| Gallinaza | 573.73 | ±67.42 | 9.73 | ±6.28 |
| Cabras | 243.65 | ±72.2 | 83.4 | ±51.7 |
| Cerdaza | 357.73 | ±36.1 | 167.4 | ±42.16 |
| Borregos | 397.65 | ±40.9 | 114.65 | ±45.02 |
| Ganado lechero | 152.15 | ±26.08 | 36.4 | ±11.74 |
| Ganado en engorda | 269.4 | ±17.72 | 48.9 | ±23.62 |

8.3.2. Experimento II.

Incertidumbre combinada. Considerando el esquema de los Cuadros 8.2 y 8.3, en el Cuadro 8.7 se presentan los valores e incertidumbres de la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza, así como la incertidumbre del volumen de vapor de agua generado por la cantidad de humedad de las muestras frescas. Mientras que en el Cuadro 8.8 se muestran las incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema.

Cuadro 8.7. Valores de V_{BR}, V_{CH₄} y V_{H₂O} e incertidumbres u(x) de muestras de líquido ruminal, estiércol y cerdaza (Experimento II).

| Muestra | Repetibilidad en | | Repetibilidad en | | Volumen de vapor | |
|-----------------|----------------------|-------|----------------------------------|-------|--|------|
| | V _{BT} (mL) | | V _{CH₄} (mL) | | de agua V _{H₂O} (mL) | |
| | Valor x | u(x) | Valor x | u(x) | Valor x | u(x) |
| Líquido Ruminal | 370.34 | 17.21 | 276.14 | 17.17 | 15.14 | 1.5 |
| Estiércol | 250.68 | 14.01 | 217.7 | 21.98 | 14.58 | 1.5 |
| Cerdaza | 828.62 | 35.51 | 429.62 | 24.26 | 12.62 | 1.5 |

Cuadro 8.8. Valores e incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema (Experimento II).

| Descripción | Valor x | u(x) |
|--|---------|------|
| Error de la probeta E_{pb} (mL) | 1 | 0.5 |
| Fugas intrínsecas F_i (mL) | 10 | 13 |
| Error visual E_V (mL) | 3 | 11 |
| Tiempo de retardo de liberación E_{TR1} (min) | 10 | 12 |
| Error de la balanza digital E_{bd} (g) | 5 | 1 |
| Tiempo de retardo de llenado de muestras E_{TR2} (min) | 20 | 18 |

La Figura 8.4, muestra la diferencia de incertidumbres de los parámetros en común en el sistema biorreactor-trampa, del Experimento II.

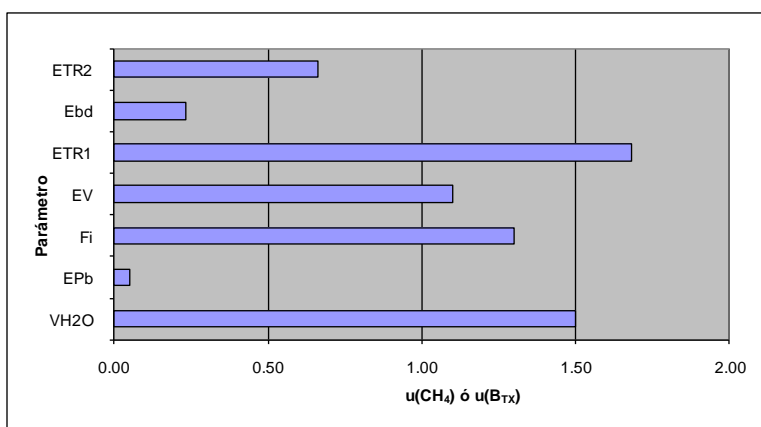


Figura 8.4. Comparación de incertidumbres de los parámetros en común en los sistemas biorreactor-trampa del Experimento II.

Los resultados de la incertidumbre en la repetibilidad de la producción de biogás $u(B_{TX})$ y metano $u(CH_4)$, de la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza, se presentan en el Cuadro 8.9.

Cuadro 8.9. Comparación de incertidumbre combinada en el Experimento II. Producción de biogás total y CH₄ de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a temperatura constante de 39°C por 120 h.

| Muestras | Biogás total (mL / g) | | | Metano (mL / g) | | |
|-----------|-----------------------|---------------------|------|-----------------|---------------------|-------|
| | B _{TX} | u(B _{TX}) | % | CH ₄ | u(CH ₄) | % |
| LR | 356.60 | ±17.46 | 4.90 | 262.40 | ±17.42 | 6.64 |
| Estiércol | 237.50 | ±14.31 | 6.03 | 204.52 | ±22.17 | 10.84 |
| Cerdaza | 817.40 | ±35.63 | 4.36 | 418.40 | ±24.43 | 5.84 |

Incertidumbre expandida. Para el cálculo de la incertidumbre expandida de B_{TX} y CH₄ se calcula por las ecuaciones 11 y 12. Por tanto, la producción de biogás y metano se presenta en el Cuadro 8.10.

Cuadro 8.10. Comparación de incertidumbre expandida en el Experimento II. Producción de biogás total y CH₄ de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a temperatura constante de 39°C por 120 h.

| Muestras | Biogás total (mL / g) | | Metano (mL / g) | |
|-----------------|-----------------------|---------------------|-----------------|---------------------|
| | B _{TX} | U(B _{TX}) | CH ₄ | U(CH ₄) |
| Líquido Ruminal | 356.60 | ±34.92 | 262.40 | ±34.84 |
| Estiércol | 237.50 | ±28.62 | 204.52 | ±44.34 |
| Cerdaza | 817.40 | ±71.26 | 418.40 | ±48.86 |

8.3.3. Experimento III.

Incertidumbre combinada. Considerando el esquema de los Cuadro 8.2 y 8.3, en el Cuadro 8.11 se presentan los valores e incertidumbres de la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza, así como la incertidumbre del volumen de vapor de agua generado por la cantidad de humedad de las muestras frescas, a diferentes temperaturas. Mientras que en el Cuadro 8.12 se muestran las incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema.

Cuadro 8.11. Valores de V_{BR} y V_{H_2O} e incertidumbres $u(x)$ de muestras de líquido ruminal, estiércol y cerdaza (Experimento III).

| Muestra | Temp. (°C) | Repetibilidad en V_{BR} (mL) | | Volumen de vapor de agua V_{H_2O} (mL) | |
|-----------------|------------|--------------------------------|--------|--|--------|
| | | Valor x | $u(x)$ | Valor x | $u(x)$ |
| Líquido Ruminal | 20 | 45.45 | 2.58 | 2.45 | 0.50 |
| | 30 | 57.45 | 4.90 | 4.45 | 0.00 |
| | 40 | 131.01 | 3.74 | 10.01 | 1.26 |
| | 50 | 116.27 | 2.99 | 16.02 | 0.82 |
| Estiércol | 20 | 5.00 | 1.41 | 2.41 | 0.50 |
| | 30 | 50.25 | 5.56 | 4.38 | 0.00 |
| | 40 | 96.00 | 5.94 | 9.89 | 1.26 |
| | 50 | 77.75 | 4.03 | 15.79 | 0.82 |
| Cerdaza | 20 | 169.45 | 24.69 | 1.95 | 0.50 |
| | 30 | 256.04 | 13.10 | 3.54 | 0.00 |
| | 40 | 416.97 | 6.58 | 7.97 | 1.26 |
| | 50 | 183.49 | 7.68 | 12.74 | 0.82 |

Cuadro 8.12. Valores e incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema (Experimento III).

| Descripción | Valor x | $u(x)$ |
|--|---------|--------|
| Error de la probeta E_{Pb} (mL) | 1 | 0.5 |
| Fugas intrínsecas F_i (mL) | 10 | 10 |
| Error visual E_v (mL) | 3 | 8 |
| Tiempo de retardo de liberación E_{TR1} (min) | 10 | 12 |
| Error de la balanza digital E_{bd} (g) | 5 | 1 |
| Tiempo de retardo de llenado de muestras E_{TR2} (min) | 20 | 14 |

La Figura 8.5, muestra la diferencia de incertidumbres de los parámetros en común en el sistema biorreactor-trampa, del Experimento III.

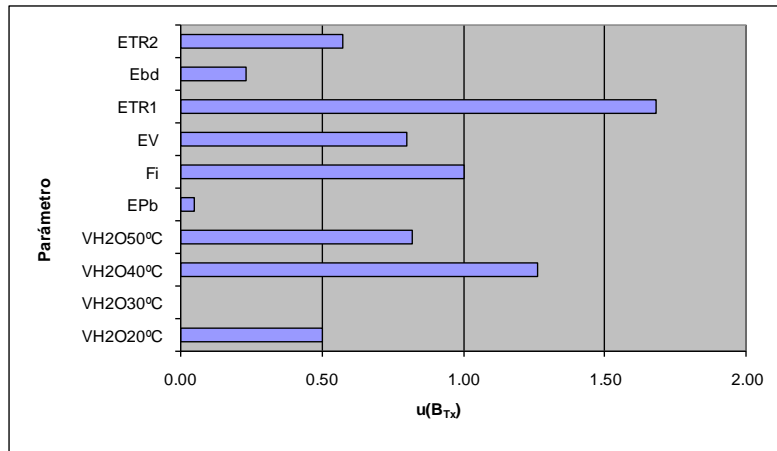


Figura 8.5. Comparación de incertidumbres de los parámetros en común en los sistemas biorreactor-trampa del Experimento III.

Los resultados de la incertidumbre en la repetibilidad de la producción de biogás $u(B_{TX})$ de la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza, se presentan en el Cuadro 8. 13.

Incertidumbre expandida. Para el cálculo de la incertidumbre expandida de B_{TX} (ecuaciones 11 y 12) la producción de biogás se presenta en el Cuadro 8.14.

Cuadro 8.13. Comparación de incertidumbre combinada en el Experimento III. Producción de biogás total de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes temperaturas por 120 h.

| Muestras | Temp. | Biogás total (mL / g) | | |
|-----------|-------|-----------------------|---------------------|-------|
| | °C | B _{TX} | u(B _{TX}) | % |
| LR | 20 | 44.40 | ±3.43 | 7.73 |
| | 30 | 54.40 | ±5.37 | 9.87 |
| | 40 | 122.40 | ±4.52 | 3.69 |
| | 50 | 101.65 | ±3.80 | 3.74 |
| Estiércol | 20 | 3.99 | ±2.66 | 66.73 |
| | 30 | 47.27 | ±5.98 | 12.65 |
| | 40 | 87.55 | ±6.46 | 7.38 |
| | 50 | 63.38 | ±4.67 | 7.36 |
| Cerdaza | 20 | 168.90 | ±24.79 | 14.68 |
| | 30 | 253.90 | ±13.29 | 5.23 |
| | 40 | 410.40 | ±7.05 | 1.72 |
| | 50 | 172.15 | ±8.03 | 4.66 |

Cuadro 8.14. Comparación de incertidumbre expandida en el Experimento III. Producción de biogás total de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes temperaturas por 120 h.

| Muestras | Temp.°C | Biogás total (mL / g) | |
|-----------------|---------|-----------------------|---------------------|
| | | B _{Tx} | U(B _{Tx}) |
| Líquido Ruminal | 20 | 3.43 | ± 6.86 |
| | 30 | 5.37 | ±10.74 |
| | 40 | 4.52 | ±9.04 |
| | 50 | 3.80 | ±7.6 |
| Estiércol | 20 | 2.66 | ±5.32 |
| | 30 | 5.98 | ±11.96 |
| | 40 | 6.46 | ±12.92 |
| | 50 | 4.67 | ±9.34 |
| Cerdaza | 20 | 24.79 | ±49.58 |
| | 30 | 13.29 | ±26.58 |
| | 40 | 7.05 | ±14.1 |
| | 50 | 8.03 | ±16.06 |

8.3.4. Experimento IV.

Incertidumbre combinada. Considerando el esquema de los Cuadros 8.2 y 8.3, en el Cuadro 8.15 se presentan los valores e incertidumbres de la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza, así como la incertidumbre del volumen de vapor de agua generado por la cantidad de humedad a diferentes proporciones, y temperatura constante de 40°C. Mientras que en el Cuadro 8.16 se muestran las incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema.

Cuadro 8.15. Valores de V_{BR} y V_{H_2O} e incertidumbres $u(x)$ de muestras de líquido ruminal, estiércol y cerdaza (Experimento IV).

| Muestra | Muestra fresca:agua | Repetibilidad en V_{BR} (mL) | | Volumen de vapor de agua V_{H_2O} (mL) | |
|-----------------|---------------------|--------------------------------|--------|--|--------|
| | | Valor x | $u(x)$ | Valor x | $u(x)$ |
| Líquido Ruminal | 1:0 | 86.51 | 11.18 | 9.85 | 0.82 |
| | 1:1 | 44.74 | 4.53 | 10.42 | 0.82 |
| | 1:2 | 23.27 | 3.12 | 10.60 | 0.82 |
| | 1:4 | 16.34 | 1.99 | 10.77 | 0.82 |
| Estiércol | 1:0 | 111.60 | 6.79 | 9.68 | 0.82 |
| | 1:1 | 60.43 | 5.21 | 10.34 | 0.82 |
| | 1:2 | 50.08 | 3.55 | 10.55 | 0.82 |
| | 1:4 | 31.32 | 4.77 | 10.74 | 0.82 |
| Cerdaza | 1:0 | 377.00 | 20.36 | 8.25 | 0.82 |
| | 1:1 | 224.40 | 14.08 | 9.63 | 0.82 |
| | 1:2 | 155.65 | 17.48 | 10.07 | 0.82 |
| | 1:4 | 110.36 | 1.94 | 10.45 | 0.82 |

Cuadro 8.16. Valores e incertidumbres de los parámetros en común de cada sistema (Experimento IV).

| Descripción | Valor x | $u(x)$ |
|--|---------|--------|
| Error de la probeta E_{pb} (mL) | 1 | 0.5 |
| Fugas intrínsecas F_i (mL) | 10 | 9 |
| Error visual E_v (mL) | 3 | 5 |
| Tiempo de retardo de liberación E_{TR1} (min) | 10 | 9 |
| Error de la balanza digital E_{bd} (g) | 5 | 1 |
| Tiempo de retardo de llenado de muestras E_{TR2} (min) | 20 | 10 |

La Figura 8.6, muestra la diferencia de incertidumbres de los parámetros en común en el sistema biorreactor-trampa, del Experimento IV.

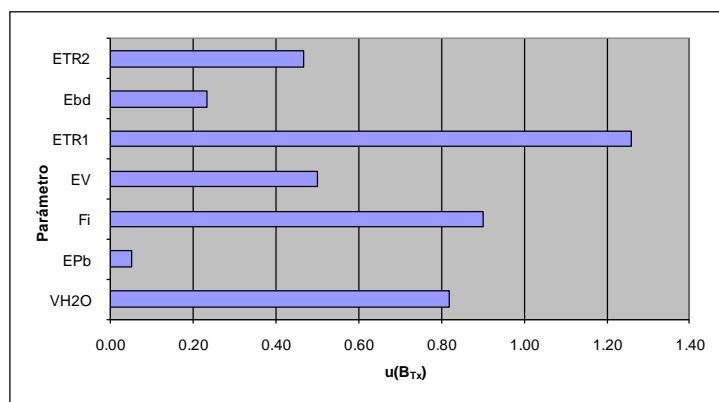


Figura 8.6. Comparación de incertidumbres de los parámetros en común en los sistemas bioreactor-trampa del Experimento IV.

Los resultados de la incertidumbre en la repetibilidad de la producción de biogás $u(B_{TX})$ de la fermentación de líquido ruminal, estiércol y cerdaza, se presentan en el Cuadro 8.17.

Cuadro 8.17. Comparación de incertidumbre combinada en el Experimento IV. Producción de biogás total de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes proporciones de muestra fresca:agua a temperatura constante de 40°C por 120 h

| Muestras | Muestra fresca:agua | Biogás total (mL / g) | | |
|-----------------|---------------------|-----------------------|-------------|-------|
| | | B_{TX} | $u(B_{TX})$ | % |
| Líquido ruminal | 1:0 | 78.06 | ±11.34 | 14.53 |
| | 1:1 | 35.72 | ±4.91 | 13.76 |
| | 1:2 | 14.07 | ±3.65 | 25.92 |
| | 1:4 | 6.97 | ±2.75 | 39.42 |
| Estiércol | 1:0 | 103.32 | ±7.05 | 6.82 |
| | 1:1 | 51.49 | ±5.55 | 10.78 |
| | 1:2 | 40.93 | ±4.02 | 9.83 |
| | 1:4 | 21.98 | ±5.13 | 23.34 |
| Cerdaza | 1:0 | 370.15 | ±20.45 | 5.52 |
| | 1:1 | 216.17 | ±14.21 | 6.57 |
| | 1:2 | 146.98 | ±17.58 | 11.96 |
| | 1:4 | 101.31 | ±2.72 | 2.68 |

Incertidumbre expandida. Finalmente, para el cálculo de la incertidumbre expandida se considera una “t de student” de $k = 2$, para un nivel de confianza del 95.45 %, por lo que la incertidumbre expandida de B_{Tx} se dan por las ecuaciones 11 y 12. Por tanto, considerando la incertidumbre expandida, la producción de biogás se presenta en el Cuadro 8.18.

Cuadro 8.18. Comparación de incertidumbre expandida en el Experimento IV. Producción de biogás total y CH_4 de la fermentación de 50 g de líquido ruminal, estiércol y cerdaza a diferentes proporciones de humedad y temperatura constante de 40°C por 120 h.

| Muestras | Muestra fresca: agua | Biogás total (mL / g) | |
|-----------------|----------------------|-----------------------|-------------|
| | | B_{Tx} | $U(B_{Tx})$ |
| Líquido Ruminal | 1:0 | 78.06 | 156.12 |
| | 1:1 | 35.72 | 71.44 |
| | 1:2 | 14.07 | 28.14 |
| | 1:4 | 6.97 | 13.95 |
| Estiércol | 1:0 | 103.32 | 206.64 |
| | 1:1 | 51.49 | 102.97 |
| | 1:2 | 40.93 | 81.85 |
| | 1:4 | 21.98 | 43.96 |
| Cerdaza | 1:0 | 370.15 | 740.30 |
| | 1:1 | 216.17 | 432.34 |
| | 1:2 | 146.98 | 293.97 |
| | 1:4 | 101.31 | 202.62 |

8.4. Conclusiones

- Fue posible calcular la incertidumbre combinada y expandida para los experimentos I, II, III y IV, con la metodología propuesta por el ISO.
- Los parámetros que más contribuyeron en el cálculo de la incertidumbre, para los cuatro experimentos, fueron los atribuidos al montaje y manejo del sistema biorreactor-trampa, siendo el tiempo de retardo de liberación (E_{TR1}) el parámetro con la mayor incertidumbre.

- Se observó una mayor incertidumbre E_{TR1} $u(x)$ en el primer experimento, disminuyendo en los experimentos subsecuentes. Lo anterior se atribuye a la experiencia y habilidad adquirida en el transcurso del desarrollo de los experimentos.
- Las fugas intrínsecas es otro parámetro con alta incertidumbre atribuida al sistema biorreactor-trampa, observándose una disminución en el montaje del sistema entre experimentos.
- La incertidumbre expandida más alta se observó en el Experimento I, en la producción de CO_2 de 14.82% (excretas de cabras); y para CH_4 de 32.26% (gallinaza).
- En el experimento IV, se observó la incertidumbre expandida menor para el biogás total, de hasta 2.68% para la cerdaza en la proporción 1:4.
- Las diferencias entre las incertidumbres del Experimento I al Experimento IV se atribuye a la experiencia y habilidad adquirida en el manejo de los parámetros de tiempo de retardo de liberación E_{TR1} y tiempo de retardo de llenado de muestras E_{TR2} .

9. CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES

El uso del sistema biorreactor-trampa, fue eficaz para la cuantificación de biogás total de la fermentación líquido ruminal y de excretas de diferentes especies de animales. El uso de solución salina y de NaOH como fases líquidas en las trampas, son efectivas para cuantificar el biogás total y CH₄ respectivamente, producido en tiempo real por la fermentación de la muestra. La diferencia entre lo capturado entre la trampa de solución salina y NaOH es la cantidad de bióxido de carbono (CO₂) producido. Así, las emisiones de biogás, constituido de CH₄ y CO₂, a partir de estiércol de ganado bovino lechero y de engorda, de cerdaza, gallinaza, excretas de borrego y de cabras son confiables. La producción de biogás usando las trampas de agua y solución salina y de CH₄ con la trampa de NaOH 1N, es confiable y se confirmó al medir la concentración por conductividad térmica (TCD) en un cromatógrafo de gases (Clarus 500, Perkin Elmer).

Con los experimentos realizados (Capítulos 4, 5, 6 y 7), se comprobó que la cerdaza y el estiércol de ganado bovino, son buenos sustratos para la generación de CH₄, bajo condiciones atmosféricas (con temperaturas oscilantes entre 18 y 33°C a lo largo del día). Pero cuando estos sustratos son fermentados a temperatura mesófila constante de 39°C, se observa una menor producción de CH₄; 417 mL y 217 mL por cada 100 g cerdaza ó estiércol respectivamente.

Los resultados obtenidos de la fermentación de 30g de líquido ruminal, estiércol ó cerdaza a diferentes temperaturas (20, 30, 40 y 50°C, Experimento III), indican que la temperatura de 40°C, es la más adecuada para una producción de CH₄, siendo el líquido ruminal y la cerdaza las que tuvieron mayor producción 87.8 mL y 86.9 mL respectivamente y finalmente el estiércol con 53.9 mL. La presencia de CH₄ a 30 y 50°C establece que estas temperaturas se encuentran dentro de las temperaturas cardinales inferior y máxima, para el crecimiento de las bacterias metanogénicas.

Asimismo, se demostró que 50 g de muestra de líquido ruminal y estiércol en una relación 1:0 muestra fresca:agua, que equivale a un contenido de humedad de 89 y 88%

respectivamente, produjeron la mayor cantidad de CH₄, 41.47 mL y 56.59 mL respectivamente, a una temperatura constante de 40°C. Las muestras con humedad mayor al 97%, relación muestra fresca-humedad agregada de 1:4, de líquido ruminal y estiércol, registraron únicamente 1.47 mL y 3.89 respectivamente de producción de CH₄, deduciéndose que más del 80% del biogás es prácticamente vapor de agua.

Con respecto a la caracterización de las muestras de los diferentes experimentos, se observó una correlación positiva de la producción de CH₄ con el contenido de FDA, nitrógeno y proteína en todas las muestras de excretas que se fermentaron. El porcentaje de cenizas, tiene una correlación positiva con las muestras de cerdaza y de las excretas de los animales rumiantes, esto corresponde con la correlación que se reporta teóricamente en la producción de los sólidos suspendidos volátiles (SSV) en relación a la producción de CH₄.

Los parámetros que más contribuyeron en el cálculo de la incertidumbre fue el tiempo de retardo de liberación del paso del biogás del biorreactor hacia la trampa, así como las fugas en el sistema, siendo más evidentes en el primer experimento. Como resultado de la habilidad adquirida y de la estabilidad del sistema, estas incertidumbres son menores en el último experimento.

Finalmente las recomendaciones al seguimiento de los resultados de esta tesis, para posteriores estudios son:

- La cuantificación de CH₄ y CO₂ caracterizados a lo largo del tiempo, utilizando trampas de solución salina y NaOH 1N por cada periodo de tiempo. Así se estudiaría la cinética de la formación de cada analito a lo largo de la fermentación.
- La estimación de CH₄ y CO₂ por unidad de sólidos suspendidos volátiles (SSV) de la muestra.
- La formulación de un modelo teórico, a partir de la formación de ácidos grasos volátiles de la fermentación de excretas, para la predicción de la producción de CH₄.

10. LITERATURA CITADA

- AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients, 1990. Nutritive Requirements of Ruminant Animals: Energy. Rep. 5, CAB International, Wallingford, Reino Unido
- Albritton, D.L. y Meira, L.G. 2001. Technical Summary: A report accepted by Working Group I of the IPCC.
- Anderson, R.C. and Rasmussen, M.A. 1998. Use of a novel nitrotoxinmetabolizing bacterium to reduce ruminal methane production. *Bioresource Technology*. 64: 89-95
- A.O.A.C. International. 2005. Official Methods of Analysis, 18th ed. A.O.A.C. International, Gaithersburg, MD USA.
- Bamualim, A. y Kartiarso, 1985. "Nutrition of draught animals with special reference to Indonesia." En: *Draught Animal Power for Production*. J.W. Copland (ed.). Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), Actas, Serie No. 10. ACIAR, Canberra, A.C.T., Australia.
- Blaxter, K. L. and Clapperton, J.L. 1969. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *Br. J. Nutr.* 19, 511-522.
- Bryant, M.P., Tzeng, S.F., Robinson, I.M. and Joyner, A.E. 1971. Nutrient requirements of methanogenic bacteria. In Gould (editor). *Anaerobic Biological Treatment Processes*. *Advances in Chemistry Series 105*. American Chemical Society, Washington, D.C. pp.23-40
- Carmona, J.C., Bolívar, D.M. y Giraldo, L.A. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev Col Cienc Pec.*18:1 49-63.
- CMCC -Convención Marco sobre el Cambio Climático-, 2005 Cuidar el clima Guía de la Convención Marco sobre el Cambio Climático y el Protocolo de Kioto. Editores adjuntos: Joanna Depledge y Robert Lamb. UNFCCC, Alemania, 43pp
- Cuatecontzi, D.H. y Gasca, J. 2004. Los gases regulados por la convención marco de las naciones unidas sobre el cambio climático. En *Cambio Climático una visión desde México*. Compiladores: Julia Martínez y Adrián Fernández. SEMARNAT-INE

- DeRamus, H.A., Clement, T.C., Giampola, D.D. and Dickison, P.C. 2003. Methane emissions of beef cattle on forages: efficiency of grazing management systems. *Journal Environ Qual*; 32: 269-277.
- Etchevers, B.J.D., Monreal, M.C., Hidalgo, M.C., Acosta, M.M., Padilla, C.J. y López, R.R.M. 2005. "Manual para la determinación de carbono en la parte aérea y subterránea de sistemas de producción en laderas". Colegio de Postgraduados, México.
- EURACHEM/CITAC. 2000. Quantifying uncertainty in analytical measurement, Guide, 2nd Edition. Version electronic <http://www.eurachem.bam.de/>
- Flotats, X., Campos, E., Palatsi, J. y Bonmatí, X. 2001. Digestión anaerobia de purines de cerdo y codigestión con residuos de la industria alimentaria. *Porci*; Monografías de actualidad, 65: 51-65.
- Forster-Carneiro, T., Pérez, M., Romero, L.I. and Sales, D. 2007. Dry thermophilic anaerobic digestion of organic fraction of the municipal solid waste: focusing on the inoculum sources. *Bioresource Technology*. 98 (17): 3195-3203.
- González Ávalos, Eugenio. 1994. Inventario de emisiones de metano por actividades pecuarias. El caso de los desechos de ganado bovino y su relación con los climas actuales y futuros en México. Facultad de Ciencias. UNAM. Tesis Maestría. 208 pp. México.
- González Ávalos, Eugenio. 1999. Determinación experimental de los factores de emisión de metano por excretas de bovino en México. Colegio de Ciencias y Humanidades. UNAM. Tesis Doctoral. 155 pp. México.
- González-Avalos, E. and Ruiz-Suárez L.G. 2001. Methane emissions factors from cattle manure in Mexico. *Bioresource Technology*. 80:63-71.
- González-Avalos, E. and Ruiz-Suárez L.G. 2007. Methane conversion factors from cattle manure in México. *Atmósfera* 20(1): 83-92.
- Goering, H. K. and Van Soest, P. J. 1970. Forage fiber analysis. *Agriculture Handbook* N^o. 379, Agricultural Research Service-USDA, Washington, D.C.
- Howden, S.M. and Reyenga, P.J. 1999. Methane emissions from Australian livestock: implications of Kyoto Protocol. *Aust. J. Agric. Res.* 50:1285-1291.

- IPCC -Intergovernmental Panel on Climate Change-, 1996a. Climate Change 1995: The Scientific Basis. Group I, 2nd Assessment Report. Cambridge: WMO-UNEP. Cambridge University Press.
- IPCC -Intergovernmental Panel on Climate Change-, 1996b. Revised 1996 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories: Reference Manual
- IPCC -Intergovernmental Panel on Climate Change-, 1996c. Directrices del IPCC para los inventarios de gases de efecto invernadero, versión revisada en 1996, cuaderno de trabajo, volumen 2. Editores: J.T. Houghton, L.G. Meira Filho, B. Lim., K. Tréanton, I. Mamaty, Y. Bonduki, D.J. Griggs and B.A. Callander. IPCC/OCDE/AIE
- IPCC -Intergovernmental Panel on Climate Change-. 2001. Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Technical Summary Cambridge: WMO-UNEP. Cambridge University Press.
- IPCC -Intergovernmental Panel on Climate Change-. 2002. Orientación del IPCC sobre las buenas prácticas y la gestión de la incertidumbre en los inventarios nacionales de gases de efecto invernadero. Capítulo 4. Agricultura. Mosier, A. y Cróese, C. IPCC/OCDE
- IPCC -Intergovernmental Panel on Climate Change-. 2006. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories.
- Getachew, G. Blümmel, M. Makkar, H.P. and Becker, K. 1998. *In vitro* measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. Animal Feed Science and Technology. 72: 261-281.
- Johnson, K.A. and Johnson, D.E. 1995. Methane emissions from cattle. J Anim Sci, 73: 2483-2492.
- Jurgen, M.H., 1988. Animal Feeding and Nutrition, Sixth Edition, Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, Iowa, EE.UU.
- Kumar, J.A., Junguo, H., Jianzheng, L. and Guocheng, Z. 2010. Effect of Substrate Concentration on Methane Fermentation of Cattle Dung. Challenges in Environmental Science and Computer Engineering (CESCE), International Conference on. Print ISBN: 978-0-7695-3972-0. 6-7 March 2010. 2:512-515.

- Kurihara, M., Magner, T., McCrabb, H. and McCrabb, G. 1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *British Journal of Nutrition*, 81: 227-234.
- Lawrence, P.R. 1985. "A review of nutrient requirements of draught oxen." En: *Draught Animal Power for Production*. J.W. Copland (ed.). ACIAR (Australian Centre for International Agricultural Research) Actas, Serie No. 10. ACIAR, Canberra, A.C.T., Australia.
- Madignan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J. 2004. *Brock Biología de los Microorganismos*. 10ª edición. Pearson Prentice Hall. España.
- Mackie, R.I. and Bryant, M.P. 1995. Anaerobic digestion of cattle waste at mesophilic and thermophilic temperaturas. *Appl Microbiol Biotechnol*. 43:346-350.
- Martí Herrero. J. 2008. *Biodigestores familiares: Guía de diseño y manual de instalación*. Cooperación Técnica Alemana -GTZ-Energía. Bolivia.
- Massé, D.I., Croteau, F., Patni, N.K. and Masse, L. 2003. "Methane emissions from dairy cow and swine manure slurries stored at 10°C and 15°C". *Canadian Biosystems Engineering*. 45: 6.1-6.6.
- Mauricio, R.M. 1999. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an *in vitro* gas production technique for evaluating forage. Ph.D. Thesis. The University of Reading, Reading, UK, pp. 281.
- Mauricio, R.M., Owen, E., Mould, F.L., Givens, I., Theodorou, M. K., France, J., Davies, D.R. and Dhanoa, M.S. 2001. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an *in vitro* gas production technique for evaluating forages. *Animal Feed Science and Technology*. 89: 33-48.
- McCaughey, W., Wittenberg, K. and Corrigan, D. 1997. Methane production by steers on pasture. *Can J An Sc*, 76 (3): 519-524.
- McCaughey, W., Wittenberg, K. and Corrigan, D. 1999. Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. *Can J An Sc*; 79 (2): 221-226.
- McCrabb, G.J and Hunter, R.A. 1999. Prediction of methane emissions from beef cattle in tropical production systems. *Aust. J. Agric. Res*. 50:1335-1339.
- Monroy, O. y Viniegra, G. 1990. *Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos*. México, AGT Editor, pp. 65-95.

- Moss, A.R., Jouany, J.P. and Newbold, J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. INRA EDP Sciences. Ann Zootech, 49: 231-253.
- Moss, A.R. and Givens, D.I. 2002. The effect of supplementing grass silage with soya bean meal on digestibility, in sacco degradability rumen fermentation and methane production in sheep. Animal Feed Science and Technology, 97:127-143.
- NRC -National Research Council-, 1989. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, National Academy Press, Washington, D.C., EE.UU.
- NRC -National Research Council, 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle, National Academy Press, Washington, D.C., EE.UU.
- Ordoñez-Díaz, J.A. y Hernández –Tejeda, T. 2005. Inventario Nacional de Gases de Efecto Invernadero 2005. Parte 4. Sector Agricultura. Preparado para el Instituto Nacional de Ecología. México.
- Posada, S. y Noguera, R. 2005. Técnica *in vitro* de producción de gases: una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. Livestock Research for Rural Development. 17:4, Revisado en Marzo, 2009, en <http://www.lrrd.org/lrrd17/4/posa17036.htm>.
- ONU -Organización de las Naciones Unidas-. 1998. Protocolo de Kioto de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el cambio climático.
- Prasad, C.R., Krishna Prasad, K. and Reddy, A. 1974. Biogas plants: prospects, problems and tasks. Economic and Political Weekly Special number august, pp 1347-1364.
- Rymer, C., Huntington, J.A., Williams, B.A. and Givens, D.I. 2005. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. An. Feed Sci. and Tech. 123–124; 9-30
- Ruiz Suarez, L.G. and González Ávalos, E. 1997. Modeling methane emissions from cattle in México. The Science of the Total Environment. 206:177-186.
- Ruiz Suárez, L.G., González Ávalos, E. y Báez Pedrajo, E. 1999. Factores de emisión de gases de efecto invernadero por sistemas vivos en el centro de México; factores de emisión de metano para bovinos del centro de México: Proyecto MEX/95/G31/NIG/99. México D. F. Instituto Nacional de Ecología y Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. 222 p.

- Schofield, P. and Pell, A.N. 1995. Validity of using accumulated gas pressure readings to measure forage digestion in vitro: a comparison involving three forages. *Journal of Dairy Science*. 78: 2230-2238.
- SEMARNAT-INE. 2006. México. Tercera Comunicación Nacional ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático.
- Stanogias, G. and Pearce, G.R. 1978. Digestibility by cattle of diets. *Animal Feed Science and Technology* 3:155-161.
- Stewart, C.S. 1991. The rumen bacteria. In: Journal, JP. Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. INRA editions, Paris, France; 15-26.
- Tilley, J.M.A. and Terry, R.A. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *British Grassland Society* 18:104-111.
- US EPA-Environmental Protection Agency- 1994. International Anthropogenic Methane Emissions: Estimates for 1990. EPA 230-R-93-010. Washington, DC: Office of Policy, Planning and Evaluation, US EPA
- Van Soest, P.J. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J. Ass. Offic. Agr. Chem.* 46:829-35.
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Second edition. Cornell University Press, 476 p.
- Viñas-Alvarez, M. Rubio-Alvarez, N. y García-Dorta, R. 1996. Tecnología para el tratamiento y aprovechamiento de residuales porcinos. In: AIDIS. Memorias: tratamiento de aguas residuales, vol.1. México, D.F, AIDIS, 707-714
- Weimer P.J. 1998. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. *J Anim Sci*, 76: 3114 – 3122.
- Williams, B.A. 2000. Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. In: Givens D I, Owen E, Omed H M and Axford R F E (editors). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. Wallingford (UK). CAB International. 475 p.
- Wolin M.J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*. 43: 1452-1459.