



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIAPAS
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CAMPUS IV

UN · A · CH
BIBLIOTECA CENTRAL UNIVERSITARIA

**CARACTERIZACIÓN DE LAS CONDICIONES
DE OPERACIÓN DE UN BIOREACTOR PILOTO
PARA EL TRATAMIENTO DE CERDAZA.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA

MARIA ANGELA OLIVA LLAVEN

DIRECTOR DE TESIS

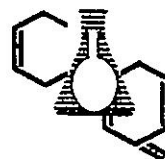
MC. SAMUEL ENCISO SAENZ

Tapachula de Córdova y Ordóñez, Chiapas; México.
Mayo del 2003

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA



D I R E C C I Ó N
UN. A. CH. / CAMPUS IV

OFICIO N° DFCQ/CIP 05/2003

TAPACHULA, CHIAPAS
01 DE ABRIL DE 2003

C. MARIA ANGELA OLIVA LLAVEN
PASANTE DE LA MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA
PRESENTE

De acuerdo a la respuesta que emitieron los sinodales que revisaron su Tesis, titulada:

"CARACTERIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN DE UN BIOREACTOR PILOTO PARA EL TRATAMIENTO DE CERDAZA", me es grato informarle que se le autoriza la impresión de la misma.

Así también el Jurado para su Examen de Grado, queda integrado de la siguiente manera:

M. en C. SAMUEL ENCISO SAENZ
DR. MIGUEL SALVADOR FIGUEROA
M. en C. LUCIA MA. CRISTINA VENTURA CANSECO
M en C. EVARISTO JULIO BALLINAS DÍAZ
DRA. MARIA DE LOURDES ADRIANO ANAYA

PRESIDENTE
SECRETARIO
VOCAL
SUPLENTE
SUPLENTE

ATENTAMENTE

"POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SERVIR"



MTRO. MARCO ANTONIO JIMENO ZAVALA
DIRECTOR

c. c. p. Servicios Escolares
c. c. p. Archivo
c. c. p. Minutario
MAJZ/ajrv

CARRETERA A PUERTO MADERO Km. 2 CP. 30700 TEL. 6-25-15-55 FAX 6-26-24-61 TAPACHULA CHIAPAS

AGRADECIMIENTOS

Al SIBEJ-CONACYT, por haber apoyado económicamente la realización del presente trabajo, mediante el proyecto de investigación denominado “Optimización de la producción de cerdaza para rumiantes”, registrado bajo el número 19990505006.

Al Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, por las facilidades otorgadas para la realización del presente trabajo.

Al Dr. Miguel Salvador Figueroa Coordinador de Investigación y Posgrado del Campus IV, de la U.N.A.CH., por el apoyo brindado para la realización del presente trabajo.

A la Dra. María de Lourdes Adriano Anaya (UNACH), gracias por las sugerencias para la realización del presente trabajo.

Al M. en C. Samuel Enciso Saenz (ITTG), por su dirección y asesoría para el desarrollo de la investigación.

A la M. en C. Lucía María Cristina Ventura Canseco (ITTG), por su asesoría para el desarrollo del presente trabajo.

Al M. en C. Evaristo Julio Ballinas Díaz (ITTG), por su colaboración para el desarrollo del presente trabajo.

Al M. en C. David Velasco Ruíz, por su apoyo, orientación y asesoría para el desarrollo del presente trabajo.

A mis profesores de la Maestría por su enseñanza.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
Índice de Figuras	i
Índice de Cuadros	ii
Resumen	iii
1. Introducción	1
2. Antecedentes	4
3. Objetivos	12
4. Materiales y Métodos	13
4.1 Materias primas	13
4.2 Mezcla a fermentar	14
4.3 Inóculo	14
4.4 Análisis fisicoquímico	15
4.5 Análisis microbiológico	15
4.6 Construcción y operación del fermentador	16
4.7 Diseño experimental	16
4.7.1. Variables	16
4.8 Análisis estadístico	18
5. Resultados y Discusión	19
5.1 Caracterización de los componentes de la mezcla a fermentar	19
5.1.1. Análisis químico proximal de las excretas de cerdo	23
5.1.2. Análisis microbiológico de las excretas de cerdo	23
5.1.2.1. <i>Escherichia coli</i>	23
5.1.2.2. <i>Shigella y Salmonella</i>	23
5.1.2.3. Enterobacterias	23
5.1.3. Análisis químico proximal de las materias primas usadas para preparar la mezcla a fermentar	24
5.1.3.1. Análisis químico proximal del rastrojo de sorgo	25
5.1.3.2. Análisis químico proximal de la mezcla a fermentar	25
5.2. Efecto de las variables de operación del biorreactor	25
5.3. Análisis químico proximal de la mezcla fermentada	30
5.4. Análisis microbiológico de la mezcla fermentada	32
6. Conclusiones	36
7. Bibliografía	37

8. Anexos

8.1. Cambios del pH y temperatura de los tratamientos	44
8.1.1. Cambios del pH y temperatura del tratamiento 1	44
8.1.2. Cambios del pH y temperatura del tratamiento 2	45
8.1.3. Cambios del pH y temperatura del tratamiento 3	46
8.1.4. Cambios del pH y temperatura del tratamiento 4	47
8.1.5. Cambios del pH y temperatura del tratamiento 5	48
8.1.6. Cambios del pH y temperatura del tratamiento 6	49
8.1.7. Cambios del pH y temperatura del tratamiento 7	50
8.1.8. Cambios del pH y temperatura del tratamiento 8	51
8.2. Detalles del fermentador utilizado para la fermentación de la cerdaza	53

LISTA DE CUADROS

	PÁGINA
Cuadro 1. Factores y niveles usados para implementar el diseño experimental	16
Cuadro 2. Diseño de los tratamientos de las unidades experimentales	17
Cuadro 3. Análisis químico proximal de las excretas de cerdo	19
Cuadro 4. Análisis químico proximal del rastrojo de sorgo	24
Cuadro 5. Análisis químico proximal de la mezcla a fermentar	25
Cuadro 6. Análisis de resultados por el método de Yates	28
Cuadro 7. Análisis químico proximal de la mezcla fermentada	31
Cuadro 8. Comparaciones en parejas del análisis químico proximal	32

LISTA DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Tiempo al cual la cerdaza alcanza un pH de 4.0 en los diferentes tratamientos	27
Figura 2. Cajas petri conteniendo diferentes medios de cultivo inoculadas a diferentes tiempos	34
Figura 3. Cajas petri conteniendo diferentes medios de cultivo inoculadas al inicio de la fermentación	34
Figura 4. Cajas petri conteniendo diferentes medios de cultivo inoculadas con la mezcla fermentada cuando alcanzó un pH de 4.0	35
Figura 5. Cajas petri conteniendo diferentes medios de cultivo inoculadas con la mezcla fermentada cuando alcanzó un pH de 4.1	35
Figura 6. Cambios del pH y la temperatura obtenidos en el tratamiento 1	44
Figura 7. Cambios del pH y la temperatura obtenidos en el tratamiento 2	45
Figura 8. Cambios del pH y la temperatura obtenidos en el tratamiento 3	46
Figura 9. Cambios del pH y la temperatura obtenidos en el tratamiento 4	47
Figura 10. Cambios del pH y la temperatura obtenidos en el tratamiento 5	48
Figura 11. Cambios del pH y la temperatura obtenidos en el tratamiento 6	49
Figura 12. Cambios del pH y la temperatura obtenidos en el tratamiento 7	50
Figura 13. Cambios del pH y la temperatura obtenidos en el tratamiento 8	51

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue determinar las condiciones de operación de un reactor tubular no convencional para eliminar la carga microbiana nociva de las excretas de cerdo. Se utilizó un diseño factorial completo con tres factores, dos niveles y tres repeticiones para evaluar la influencia de la agitación, hermeticidad y aislamiento del biorreactor. El contenido inicial de *E. coli*, *Salmonella-Shigella* y Enterobacterias en las excretas de cerdo fue de 10.5×10^6 , 2.5×10^6 y 8.4×10^6 UFC/g de cerdaza, respectivamente. Al final de la fermentación, cuando las unidades experimentales alcanzaron un pH de 4.0 ya no se detectaron estos microorganismos. El análisis químico proximal efectuado al inicio y al final de la fermentación demostró que el proceso permitió cambios cuantitativos en los diferentes componentes. El cambio más relevante fue la proteína cruda de 11.7% a 15%. Las condiciones de operación más adecuadas del biorreactor fueron: tanque abierto, no-aislado y agitado, con estas condiciones, el tiempo al cual se alcanzó el valor de pH de 4.0 fue de 16 horas.

ABSTRACT

The objective of this work was determined the operation conditions of no-conventional tubular reactor for remove the harmful microbial contents of the swine waste. For evaluating the influence of agitation, hermetical and isolation of bioreactor, a complete factorial design with three factors, two levels and three repetitions was used. The initial content of *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* and enteric bacilli was 10.5×10^6 , 2.5×10^6 y 8.4×10^6 UFC/g of swine waste, respectively. At fermentation end, when the experimental units reach a pH 4.0, these microorganisms were not detected. The proximal chemical analysis carry out at begin and finish the fermentation demonstrated that process allow quantitative changes in the different components,. More relevant change was raw protein from 11.7% at 15%. The operation conditions more adequate for the bioreactor were: open tank, non-isolated and stirred. With these conditions, the fermentation mixture reached a pH 4.0 in a time of 16 hours.

1. INTRODUCCIÓN

En el estado de Chiapas, se tienen registradas 160 granjas porcícolas y se calcula que existen otro tanto no registradas que generan aproximadamente 1,200 empleos directos y 5,800 indirectos. Adicionalmente existe la porcicultura de subsistencia, también llamada de traspatio, la cual se practica en las zonas suburbanas de las ciudades y en el medio rural. En materia de producción la piara semi y tecnificada es de 8,000 vientres que aportan el 20 por ciento de las carnes producidas en el estado (Camus y Bonifaz, 2001).

La porcicultura enfrenta muchos problemas de distinta índole, entre los que destacan; Bajos precios en pie y en carne, escasos canales de comercialización, altos precios de los insumos para el alimento, bajos controles para la sanidad animal, y falta de alternativas para cumplir los límites máximos permisibles de contaminantes básicos en las descargas (Bazan, 2001).

La Norma Oficial Mexicana (NOM-001ECOL-1996) establece un máximo permisible para grasas y aceites, sólidos suspendidos totales, Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅), nitrógeno total, fósforo total, pH y coliformes fecales. En el caso de este último factor, la descarga no debe superar un valor de 1000 como número más probable (NMP) por cada 100 mililitros.

Los principales contaminantes de las granjas de cerdos son las excretas (heces y orina), agua, alimento desperdiciado, suelo y otras partículas presentes en los corrales de los

animales. Las excretas son materiales complejos, el aporte contaminante de estas excretas depende de la etapa en que se encuentre el cerdo. Las tasas de excreción de heces y orina están relacionados con la edad del animal, su madurez fisiológica, la cantidad y calidad del alimento ingerido, el volumen de agua consumida, el clima y otros factores menos importantes (Azebedo y Stout 1974). Adicionalmente a los desechos digestivos, los animales excretan algunos forrajes no digeridos y las excretas pueden mezclarse con materiales extraños presentes en el ambiente (Adriano, 1995). Las deyecciones se pueden cuantificar en términos de cantidades excretadas por día y por peso vivo del cerdo (Smith, 1986). Taigandes et al., (1996) con base en ocho diferentes fuentes, establecieron tasas diarias de excreción de 6.17 Kg de heces y orina por cada 100 Kg de peso vivo, para diferentes poblaciones animales en una granja de ciclo completo.

Normalmente la disposición de los desechos se hace confinándolas a fosas o dejándolas al aire libre provocando lixiviación a los mantos acuíferos y problemas de olores. También se aplican al suelo para que sirva como abono orgánico, sin embargo, este uso provoca pérdidas de amonio que puede ser de hasta un 81 %. La volatilización del amonio incrementa la lluvia ácida y en Europa se ha reportado que es la principal causa de la acidificación de los suelos (Dendooven et al., 1998a). Para reducir la volatilización del amonio se han inyectado al suelo los desechos semi-sólidos, esto aunque reduce las pérdidas de amonio en más del 50 %, incrementa las tasas de desnitrificación y las pérdidas de óxido de nitrógeno, se crean zonas anaeróbicas calientes en el suelo y se inhibe la difusión de oxígeno a la vez que se incrementa el consumo de oxígeno debido al aumento en la actividad microbiana provocada por la presencia de mayor materia orgánica (Dendooven et al., 1998b).

Las excretas contienen nutrimentos que los cultivos pueden utilizar, pero también poseen altas concentraciones de coliformes fecales que producen enfermedades infecciosas, por lo que es necesario darles un tratamiento que elimine estos agentes infecciosos antes de utilizarlos en los cultivos (Soria et al., 2001). En la biodigestión las bacterias lácticas, utilizan los nutrimentos contenidos en las excretas, disminuyendo la carga orgánica a la vez que se eliminan los coliformes fecales debido a la disminución del pH que se presenta como consecuencia de la producción de ácido láctico (McCaskey y Anthony 1979). Se ha reportado que para eliminar los coliformes se necesitó de 50 días en el caso de las excretas líquidas (Soria et al., 2001) y de 4.5 días para las excretas sólidas (Iñiguez et al., 1989). Sin embargo, debido a que la producción de desechos en una granja se presenta de manera semi-continua (la limpieza de las granjas se hace generalmente cada 12 horas), una limitante importante para la aplicación de cualquier proceso de tratamiento es el tiempo de fermentación, por lo que es necesario optimizar el proceso, con la finalidad de disminuir el tiempo de en el cual se eliminan los coliformes presentes en las excretas.

2. ANTECEDENTES

Los tratamientos que pueden usarse para convertir las excretas en ingredientes de forrajes y mejorar sus propiedades de manejo, se dividen en físicos, químicos y biológicos. Los tratamientos físicos incluyen separaciones líquido / sólido y deshidratación para lograr un producto que pueda almacenarse (Diggs et al., 1965). Tradicionalmente, las excretas se han secado ya sea de manera natural al aire libre o utilizando aire calentado a propósito. Alternativamente, Iñiguez et al., (1990 b) demostraron que a las excretas se les puede disminuir el contenido de humedad al mezclarla con esquilmos agrícolas para poder ser fermentada.

Los tratamientos químicos, que son los menos usados, incluyen el mezclado con bactericidas biodegradables y el uso de solventes para extraer proteínas.

Los tratamientos biológicos se pueden dividir en anaeróbicos y aeróbicos. En los procesos microaerofílicos, se puede promover la fermentación homoláctica o heteroláctica en función de la proporción de ácido láctico producido. Los procesos aeróbicos, tipo composteo promueven la mineralización de la materia orgánica y se ha utilizado para producir abono ya sea como producto final o como materia prima para producir vermicomposta (Knight et al., 1977).

En el proceso microaerofílico es necesario que se promueva el crecimiento de bacterias lácticas, para lo cual se deben presentar en condiciones óptimas los siguientes factores:

a).- Temperatura. Las bacterias mesófilas completan su ciclo biológico entre 15 y 40 °C y las bacterias termófilas entre 35 y 60 °C.

b).- Hermetismo. Para que el proceso de fermentación se lleve a cabo en forma eficiente, el biorreactor debe estar herméticamente cerrado.

c).- Presión. Se ha considerado como óptima la presión de 0.0058 atm dentro del biorreactor.

d).- Tiempo de retención. Tiene un papel importante en la composición química del producto obtenido.

e).- Relación carbono/nitrógeno. Para la biodigestión de las excretas líquidas de cerdo, se ha reportado que una relación óptima C/N es de 30:1.

f).- Porcentaje de sólidos. El porcentaje óptimo de sólidos en la mezcla a digerir es de 7 a 9.

Con la finalidad de incrementar la producción de ácido láctico y de esta manera disminuir el pH. Lacey et al., (1980) reportaron que la adición de glucosa provocó una disminución en el pH de la mezcla. Se encontró que cuando se adicionó mayor cantidad de glucosa, se detectaron menores valores de pH debido a que se incrementó la producción de ácidos orgánicos. El valor más bajo de pH fue de 5.6 y se encontró a las 48 horas de fermentación, cuando se le adicionó 11.0 g/L de glucosa. Cuando no se adicionó glucosa el valor final de pH fue de 6.4.

También para obtener valores bajos de pH a menores tiempos de fermentación de las excretas de cerdo, se ha buscado mezclar a las excretas con fuentes de carbohidratos de fácil disponibilidad y costos accesibles. Por ejemplo maíz molido, Naugle et al., (1980), usaron una jarra de 1 L como recipiente para la fermentación. La jarra se llenó a $\frac{3}{4}$ de su capacidad, se tapó y se colocó en una cámara con control de temperatura. El pH inicial de las mezclas varió de 7.1 a 6.1, esto se debió a que el pH del maíz molido es de alrededor de 6.5, estos valores son importantes porque el pH final de la mezcla se encontró que fue influenciado por el pH inicial. También otras condiciones experimentales influyeron en los valores de pH obtenidos. Se encontró que el 10 por ciento de excretas en la mezcla fue la proporción óptima, mayores porcentajes provocaron que el pH disminuyera muy lentamente, alcanzando un valor de 4.6 pero después de una semana de proceso. La temperatura también fue un parámetro importante, a 39 °C el pH disminuyó hasta 4.6 en dos días, sin embargo a 21 °C se alcanzó este mismo valor pero a los siete días. Otro factor

importante fue el contenido de humedad de la mezcla a fermentar, a 50% de humedad se logró un pH de 4.4 después de 2 días de fermentación a 39 °C.

Con la finalidad de implementar un proceso semicontínuo, Weiner (1980) reportó la adición de excretas diluidas y maíz molido a un biorreactor conteniendo excretas y bacterias lácticas. El experimento consistió en evaluar el número de bacterias lácticas, el número de bacterias coliformes fecales y el pH a diferentes tiempos de alimentación (48, 72 y 96 horas). El estudio se realizó completando varios ciclos para cada tiempo. Se encontró que hubo diferencias entre los tiempos de alimentación y entre los ciclos de cada tiempo. Por ejemplo con la alimentación efectuada a cada 48 horas, a los 9 ciclos las bacterias lácticas fueron las que predominaron. Durante los ciclos las bacterias coliformes fecales disminuyeron en número desde los niveles iniciales de 10^6 por gramo de muestra seca hasta ser cero al final del ciclo número cuatro. Las levaduras incrementaron en número a través de los ciclos y el pH de la mezcla disminuyó a través de los ciclos y en el cuarto ciclo, se obtuvo pH más bajo del proceso que fue de 4.16. Cuando el esquema de alimentación se cambió a intervalos de 72 horas, las bacterias lácticas también alcanzaron y mantuvieron niveles más altos que con la alimentación a 48 y 98 horas y las bacterias coliformes fecales se mantuvieron en niveles bajos en el ciclo 2 y 3, pero el número de estas bacterias se incrementó posteriormente en los siguientes ciclos. En los ciclos 2 y 3 el pH se mantuvo alrededor de 4, pero en los ciclos posteriores se elevó hasta alcanzar un valor de 7.24. El comportamiento fue similar cuando la alimentación se realizó a cada 96 horas. De estos estudios se concluye que los ácidos (principalmente ácido láctico), producidos por las bacterias lácticas contribuyeron significativamente a disminuir el

número de bacterias coliformes fecales. Sin embargo otros autores (Gilliland y Speck, 1977; Hamdan y Mikolajeik, 1974), reportaron que las bacterias lácticas también inhibieron el crecimiento de otros organismos y que esta inhibición estuvo asociada con la producción de ácido láctico pero también con la síntesis de ácidos grasos de cadena corta, peróxidos y antibióticos. Los datos sugieren que aunque es el ácido láctico el responsable principal de la muerte de las bacterias coliformes fecales, el ácido por sí solo no puede efectuar la eliminación completa de estos organismos sobre todo cuando las bacterias se presentan en números excesivos. Al parecer la eliminación de las bacterias coliformes fecales está relacionada con la presencia de sustancias inhibitorias del crecimiento, presentes en la mezcla fermentativa y que son solubles en acetona-metanol. Los datos sugieren la necesidad de experimentar para determinar la naturaleza y origen de estas sustancias inhibidoras del crecimiento y para determinar las condiciones que favorezcan su producción con la finalidad de llevar a cabo procesos fermentativos que eliminen eficazmente las bacterias coliformes fecales de las excretas porcinas.

•

Con respecto a los tipos de biorreactores usados, los más comunes son los tubulares que funcionan con flujo pistón. Floyd y Hawkes (1986), reportaron la operación de un digestor tubular a escala laboratorio para tratar desechos de granjas porcícolas.

Los digestores de flujo pistón son reactores alargados en los cuales los desechos se mueven por un proceso de desplazamiento a medida que los desechos son digeridos. Funcionan sin agitación debido a que no requieren partes móviles o gasto de energía para lograr el mezclado, y su construcción es barata (Hills y Walker, 1982). Estos digestores se

producen comercialmente para tratar excretas animales en los ranchos de los EU y al parecer operan exitosamente a excepción de que sufren problemas de taponamientos que muchas veces bloquean el digestor (Martín et al., 1983). Los taponamientos ocurren cuando las partículas sólidas se acumulan en la interfase gas / líquido y dicha interfase puede ser minimizada si el digestor se inclina (Karim, et al., 1993).

Se han hecho trabajos para diseñar digestores de flujo pistón de tipo inclinado que utilizan excretas de cerdo con bajo contenido de sólidos (1% de sólidos totales) (Hawkes et al., 1981). Aunque se refieren comúnmente como digestores de flujo pistón, es poco probable que ocurra el verdadero flujo pistón debido a que la materia se mueve secuencialmente a través del reactor, por lo que es más apropiado referirse como "biorreactores tubulares". Fanfoni et al., 1978, no encontraron diferencias entre los patrones del movimiento de las fracciones líquidas y sólidas, ambas fracciones mostraron un flujo pistón altamente disperso. Hawkes et al., 1981, realizaron un estudio comparativo del funcionamiento de los biorreactores tubulares con los biorreactores convencionales de tanque agitado y encontraron que los resultados justifican el diseño de los biorreactores tubulares para usarse en el tratamiento de excretas animales.

Cabe mencionar que el trabajo que reporta la fermentación en la cual se logra la eliminación de las bacterias coliformes fecales en menor tiempo es el que utiliza un biorreactor tubular rotatorio cilíndrico a escala piloto con una capacidad de 3.41 m³. Iñiguez (1989), logró disminuir el pH hasta 4.2. En este estudio, los sólidos recuperados de las excretas de cerdo se combinaron con sorgo molido utilizando la proporción 55:45

respectivamente y se fermentaron. Periódicamente, se hicieron mediciones de pH y de coliformes fecales como controles de calidad del producto fermentado. Después de un tiempo de retención total de 4.5 días en el fermentador de tres cámaras, los coliformes fecales murieron y el producto fermentado tuvo un pH de 4.0. Los contenidos de las tres cámaras tuvieron un pH de 4.2, 4.0 y 4.0, respectivamente. Los sólidos recuperados tuvieron un pH de 6.5 antes de la fermentación. El producto obtenido presentó una consistencia manejable y no tuvo olores fecales.

3.- OBJETIVOS

3.1. GENERAL

Determinar las condiciones de operación de un reactor tubular no convencional que permita eliminar la carga microbiana nociva de las excretas de cerdo en menor tiempo.

3.2. PARTICULARES

3.2.2. Caracterización microbiológica de las excretas de cerdo.

3.2.3. Caracterización físico - química de las excretas de cerdo, las materias primas y el producto de la fermentación.

3.2.3.- Determinar el pH y la temperatura a diferentes tiempos de la mezcla a fermentar bajo diferentes condiciones de operación.

4. MATERIALES Y METODOS:

4.1. Materias primas

Los sólidos de excretas de cerdo se obtuvieron en la granja "MUNDET" ubicada en el municipio de Suchiapa, Chiapas que se encuentra ubicado en las siguientes coordenadas geográficas: 16°38' N, 93°06' W. Este municipio está situado en la región central del Estado. La granja tiene 300 cerdos en promedio. Los cerdos tienen entre 25 y 105 Kg de peso y se mantienen con dietas basadas en sorgo y complemento vitamínico. Se eligió esta granja debido a que las instalaciones, la prevención de enfermedades y la alimentación tienen un grado de tecnificación por encima del promedio de las granjas que se encuentran en Chiapas. Otra razón es que el número de cerdos de la granja es el adecuado para hacer el estudio porque el volumen de excretas generadas abastece para la capacidad del fermentador piloto.

La recolección de las excretas se hizo directamente de los encierros, antes de aplicar agua con la finalidad de no incrementar la humedad. Las excretas se mezclaron con rastrojo de sorgo en una proporción de 59:26 para obtener el contenido de humedad deseado.

La melaza como fuente principal del carbono, con una densidad de 1.4 g/mL, se obtuvo de la Unión Ganadera Local (Suchiapa) y proviene del Ingenio Azucarero "La Fé", ubicado en el municipio de Venustiano Carranza, Chiapas.

En base a investigaciones realizadas por Hrubant et al., (1978), y Sutton et al., (1987) se eligió rastrojo de sorgo (y/o rastrojo de maíz) como sustrato sólido para facilitar la fermentación y fue proporcionado por el mismo propietario de la granja "Mundet". Este rastrojo fue molido usando un molino de martillos y se hidrató con agua (1.4 L de agua por 1 Kg de rastrojo molido). El suero de leche fue adquirido de la misma granja cuidando de que fuera obtenido del mismo día. Las ventajas de utilizar estas materias primas son la disponibilidad y los bajos costos.

4.2. Mezcla a fermentar

Se realizó de la siguiente manera: melaza, cerdaza y rastrojo de sorgo mezclados en la siguiente proporción en peso: 15: 59: 26 (Vázquez, 2002).

4.3. Inóculo

Se empleo el protocolo descrito por Vázquez (2002), que consistió en tres etapas:

Etapa 1: se pesaron 10 g de cerdaza. A esta cerdaza se le adicionó 90 mL del medio de cultivo que se describe posteriormente y se dejó incubando a temperatura ambiente durante 27 horas.

Etapa 2: se utilizaron 80 mL del inóculo obtenido en la etapa 1, adicionándole 504 mL del medio de cultivo más 216 g de la mezcla a fermentar y se dejó incubando a temperatura ambiente durante 27 horas.

Etapa 3: se usaron 2160 mL del medio de cultivo, 5040 g de la mezcla a fermentar y se le adicionó 800 mL del inóculo obtenido en la segunda etapa.

El medio de cultivo se preparó en base al medio no selectivo para el cultivo de bacterias del rumen (Church, 1974) adicionando 5.00 g de azúcar; 0.50 g de almidón de yuca; 7.00 g de sal mineral; 200.00 mL de suero de leche; y agua destilada para ajustar a un volumen total de 1 L.

4. 4. Análisis fisicoquímicos

Las pruebas que se efectuaron a las materias primas y al producto de la fermentación fueron: humedad, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda, cenizas y extracto libre de nitrógeno (AOAC, 1981).

4.5. Análisis microbiológico

A 20 gramos del producto fermentado se le adicionaron 180 ml de agua (1:10), mezclándola en un agitador Waring por 5 min. El filtrado se usó para los análisis microbiológicos. El conteo en placa de las bacterias totales y el conteo de los coliformes totales se estimaron en el filtrado obtenido en las determinaciones anteriores usando los siguientes medios de cultivo: agar - azul de metileno-eosina, agar-Shigella y Salmonela y agar-McConkey.

4.6. Construcción y operación del fermentador

En base a investigaciones realizadas por Iñiguez et al. 1989, se construyó un fermentador piloto de PVC de 68.58 cm de largo y 15.24 cm de diámetro, con cuatro deflectores de 3 cm de ancho colocados a un ángulo de 60° a lo largo del reactor y tapas localizadas en los

extremos que permiten el paso de la mezcla excretas-rastrojo a través del fermentador. La mezcla a fermentar, ocupó 2/3 del volumen nominal del fermentador.

El fermentador funcionó sobre ruedas ancladas a flechas impulsoras en paralelo (se emplearon tres juegos de poleas con su respectiva banda para ajustar a la velocidad deseada). La potencia de la flecha la proporcionó un motor de velocidad variable 1/8 hp (Anexo 2).

4. 7. Diseño experimental

4.7.1. Variables

Para analizar el efecto de las variables de operación del biorreactor, se utilizó un diseño factorial completo con tres factores a dos niveles (2^3) utilizando los siguientes factores: condiciones de aislamiento térmico, velocidad de agitación y condiciones de hermeticidad. En el Cuadro 1 se presentan los factores analizados así como sus correspondientes niveles.

Cuadro 1. Factores y niveles del diseño experimental

Factor A	Factor B	Factor C
Agitación	Condiciones de hermeticidad	Aislamiento
(+) agitado	(+) cerrado	(+) aislado
(-) no agitado	(-) abierto	(-) no aislado

4. 7. 2. Diseño de tratamientos: En el Cuadro 2 se presenta la descripción de los diferentes tratamientos implementados para analizar el efecto de los factores y niveles de acuerdo al diseño experimental factorial completo.

Cuadro 2. Diseño de tratamientos de las unidades experimentales

Tratamiento	Notación	Descripción
1	- - -	No agitado, abierto y no aislado
2	+ - -	Agitado, abierto y no aislado
3	- + -	No agitado, cerrado y no aislado
4	+ + -	Agitado, cerrado y no aislado
5	- - +	No agitado, abierto y aislado
6	+ - +	Agitado, abierto y aislado
7	- + +	No agitado, cerrado y aislado
8	+ + +	Agitado, cerrado y aislado

Nota: El número de tratamientos fueron 8 con tres repeticiones, por lo que se generaron 24 unidades experimentales.

4.7.3. Variables

Las variables fueron: pH; temperatura; análisis químico proximal y análisis microbiológico (cualitativo) del producto final.

4.8. Análisis estadístico

Para comparar los diferentes tratamientos de fermentación, se realizó un ANAVA utilizando el método de Yates (Box et al.). Para efectuar la comparación de los parámetros del análisis químico proximal antes y después de la fermentación, se efectuaron pruebas de hipótesis de comparaciones apareadas utilizando la estadística de prueba t de Student con $n-1$ grados de libertad y $\alpha = 0.05$ (Wayne 1992). En este caso la hipótesis nula y alternativa fueron las siguientes:

$$H_0: \mu_d \geq 0$$

$$H_A: \mu_d < 0$$

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Caracterización de los componentes de la mezcla a fermentar:

En el Cuadro 3 se muestran los resultados del análisis químico proximal efectuado a las excretas de cerdo colectadas en la granja "Mundet".

Cuadro 3. Análisis químico proximal de las excretas de cerdo

PARÁMETRO	% Base seca	σ
Humedad	68.92	± 1.425
Cenizas	12.45	± 0.490
Extracto etéreo	0.45	± 0.020
Fibra cruda	10.63	± 0.300
Proteína cruda	20.60	± 0.595
Extracto libre de nitrógeno	55.87	± 0.380
Materia seca	31.08	± 0.820

En el Cuadro 3 se puede observar que para cenizas los reportes son muy divergentes, por ejemplo Iñiguez et al., en 1989 obtuvieron (9.3 %), Hilliard et al., (1979) obtuvieron dos valores 10.0% y 28.0% mientras que Kornegay et al., (1977) reportaron 15.3 %. La justificación de las divergencias es que éste y los demás parámetros están determinados en gran medida por la dieta y la edad de los cerdos que generaron las

excretas. Específicamente las cenizas dependen en gran medida de los minerales incluidos en la alimentación.

Con respecto al extracto etéreo, los reportes indican valores muy por encima de los obtenidos en el presente trabajo (Cuadro 3). Hilliard et al., (1979) reportan valores de 2.0 y 9.0% y Kornegay et al., (1977) obtuvo un valor de 8.0%. El resultado inferior se puede explicar en función de que la granja Mundet de la cual se obtuvieron las muestras utiliza alimento con poca cantidad de grasa.

La fibra cruda obtenida (Cuadro 3) se encuentra dentro de los valores reportados. 7.0 % y 23.0% (Hilliard et al., 1979); 14.8% (Kornegay et al., 1977) y 15.0% (Smith y Weeler, 1979).

Los valores promedio de la proteína cruda obtenido (Cuadro 3) es muy cercano a lo reportado por Kornegay et al., (1977) 23.5 %, Hilliard et al., (1979) 24.0% y Sutton et al., (1988) 25.7 %.

El valor obtenido de extracto libre de nitrógeno fue alto en comparación con el valor reportado por Kornegay et al., (1977) que fue 38.3%. Debido a que este parámetro se calcula considerando la suma de todos los valores de los demás parámetros, su valor refleja de manera global la influencia de la raza, edad y régimen alimenticio de los cerdos. Las excretas se obtuvieron de cerdos en crecimiento, etapa en la cual tienen el mayor porcentaje de asimilación de nutrientes. En la granja "Mundet", los cerdos son alimentados con dietas

de alto contenido de carbohidratos y posiblemente por esta razón, el extracto libre de nitrógeno de las excretas fue alto. Esta consideración deberá retomarse en la discusión de los resultados de la fermentación, debido a que la cerdaza forma parte de la mezcla que finalmente sirve como fuente de nutrientes de las bacterias fermentativas.

Pearse (1979) discutió que el contenido de nutrientes y la calidad de las excretas cambiaron en función de (a) la composición y la naturaleza física de la dieta de los animales donadores, (b) el nivel de alimentación, y (c) la raza y edad de los grupos de cerdos. También puntualizó que el valor nutricional de las excretas es afectado por varios factores de manejo tales como la adición de material distinto a las excretas, el almacenaje y el tratamiento antes de la utilización. De estos factores, la cantidad de energía disponible es de importancia crítica y está directamente relacionada con la cantidad de los carbohidratos vegetales sin digerir. Smith et al., (1980), así como Pearse (1979) enfatizaron que no solamente la cantidad de fibra sino también su naturaleza son los factores que afectan su biodegradabilidad. Los cerdos tienen una limitada capacidad para digerir la fibra dietética y utilizan ciertos componentes de la pared celular mejor que otros componentes (Keys et al., 1969). La fibra presente en las excretas de los cerdos se origina a partir de una variedad de ingredientes de los alimentos y debido a que las fibras de diferentes fuentes tienen diferentes propiedades, se espera que influya en las características nutricionales de las excretas. Los reportes que evidencian la gran variabilidad en la composición y en el valor nutricional de las excretas de cerdo confirman la argumentación anterior (Orr, (1973); Kornegay et al., (1977); Hilliard et al., (1979)). En el trabajo reportado por Stanogias et al., (1980) se encontró que el tipo y el nivel de la fibra en las dietas de los cerdos en

crecimiento tuvieron una gran influencia sobre la composición de las excretas. Por ejemplo, los contenidos de proteína cruda varió en el rango de 3.3 hasta 20.4 %, la fibra cruda varió en el rango de 10.7 hasta 48.1, y el extracto libre de nitrógeno varió desde 9.1 hasta 74.2 % y otros componentes tuvieron una variación similar.

En el trabajo de Stanogias et al., (1980) se menciona que las proporciones de los componentes de la fibra, particularmente celulosa y hemicelulosa fueron suficientes para proporcionar diferentes cantidades de energía para la proliferación de los microorganismos. Debido a la limitada capacidad de los cerdos para digerir los componentes de la pared celular, las dietas que contienen niveles considerables de estas fracciones podría esperarse que generen heces con altas concentraciones de energía para los microorganismos celulolíticos. Sin embargo, la facilidad con que los microorganismos digieran la pared celular depende no solamente de las proporciones relativas de los diferentes componentes sino también de la naturaleza de las asociaciones de la celulosa y hemicelulosa con otros componentes de la pared celular tales como lignina, cutina, taninos y minerales (Van Soest, 1975).

La cantidad de proteína cruda de las heces es un factor todavía más importante que la fibra porque las proteínas pueden ser usadas directamente por los microorganismos no-celulolíticos tales como las bacterias lácticas que son tan importantes en la fermentación de la cerdaza. Las proteínas son fuente de nitrógeno, carbono y energía directamente metabolizable. Las excretas usadas en el presente estudio fueron de calidad nutricional excelente debido a su alto contenido de proteína cruda. Sin embargo, debido a que estas

excretas se mezclaron con otras materias primas tales como melaza y rastrojo de sorgo, la composición de la mezcla es la que se debe considerar para el análisis nutricional.

5.1.2. Análisis microbiológico de las excretas de cerdo.

5.1.2.1. *Escherichia coli*. Los análisis cualitativos evidenciaron la presencia de estos microorganismos, debido a que las colonias mostraron un color verde metálico con centro oscuro cuando las muestras se incubaron en medio EMB. En este mismo medio se cuantificó que el número de bacterias correspondientes a *E. coli* fue de 10.5×10^6 microorganismos/ g.

5.1.2.2. *Shigella* y *Salmonella*. Se demostró que estos microorganismos se encontraban presentes en las excretas, ya que las colonias presentaron un color grisáceo opaco y algunas también presentaban centro negro cuando las muestras se incubaron en el medio SS. En este mismo medio se cuantificó que el número de bacterias correspondientes a *Shigella* y *Salmonella* fue de 2.5×10^6 microorganismos/ g.

5.1.2.3. Enterobacterias. Se evidenció la presencia de estos microorganismos en las excretas, ya que las colonias mostraron un color rosa intenso cuando las muestras se incubaron en el medio McConkey. En este mismo medio se cuantificó que el número de enterobacterias fue de 8.4×10^6 microorganismos/ g.

Los valores anteriores se pueden comparar con los reportados por Weiner (1980), quien obtuvo valores de $3.5 \pm 4.4 \times 10^6$, microorganismos/g de peso seco de coliformes fecales en muestras de cerdaza los cuales no son tan diferentes.

5.1.3.- Análisis químico proximal de las materias primas usadas para preparar la mezcla a fermentar.

En el Cuadro 4 se presentan los resultados obtenidos del análisis químico proximal efectuado al rastrojo de sorgo y en el Cuadro 5 se tienen los resultados del análisis efectuado a la mezcla a fermentar que contenía sorgo, excretas de cerdo, melaza.

Cuadro 4. Análisis químico proximal del rastrojo de sorgo.

PARÁMETRO	% base seca	σ
Humedad	80.82	± 1.710
Cenizas	11.71	± 0.580
Extracto etéreo	1.45	± 0.040
Fibra cruda	35.53	± 0.470
Proteína cruda	8.63	± 0.110
Extracto libre de nitrógeno	42.68	± 0.040
Materia seca	19.18	± 0.710

Cuadro 5.- Análisis químico proximal de la mezcla a fermentar.

PARÁMETRO	% base seca	σ
Humedad	78.79	± 1.450
Cenizas	16.56	± 0.048
Extracto etéreo	12.05	± 0.060
Fibra cruda	8.32	± 0.570
Proteína cruda	11.70	± 0.220
Extracto libre de nitrógeno	51.37	± 1.400
Materia seca	21.21	± 0.650

5.2. Efecto de las variables de operación del biorreactor.

En la Figura 1 se muestra el tiempo (horas) en que la mezcla fermentada alcanzó un pH de 4.0 en cada uno de los tratamientos probados de acuerdo al diseño experimental factorial completo. Los resultados son el promedio de tres repeticiones. Se observa que los tratamientos 2 y 6 es en donde se logró que el pH de 4.0 se alcanzara en el menor tiempo posible (16 horas). En ambos tratamientos el biorreactor se trabajó abierto y con 0.6 rpm. La diferencia fue que en el tratamiento 2 el biorreactor se recubrió para tratar de mantener una temperatura constante y en el tratamiento 6 el biorreactor no fue aislado. En el anexo 1 se incluyen las Figuras con el comportamiento del pH y de la temperatura para cada tratamiento efectuado.

A través del análisis de resultados mediante el método de Yates (Cuadro 6) se encontró que el factor que tuvo mayor influencia para que el pH disminuyera con rapidez fue la hermeticidad, ya que al pasar de la condición de abierto a cerrado se incrementa el tiempo de fermentación; el otro factor que influyó fue la interacción hermeticidad-agitación, ya que al pasar de agitado a no agitado se reduce el tiempo del proceso. Estos resultados indican que la fermentación requiere condiciones micro-aerofílicas más que condiciones anaeróbicas. El resultado es interesante debido a que la mayoría de los estudios relativos al diseño de reactores para el tratamiento de la cerdaza se han enfocado a las condiciones anaeróbicas (Sweeten, 1980). La operación del reactor de forma abierta permitió que se lograran condiciones micro-aerofílicas. Estas condiciones posiblemente permitieron que se produjera mayor concentración de ácidos orgánicos los cuales a su vez provocaron la disminución del pH a mayor velocidad que con las condiciones anaeróbicas (con el reactor cerrado).

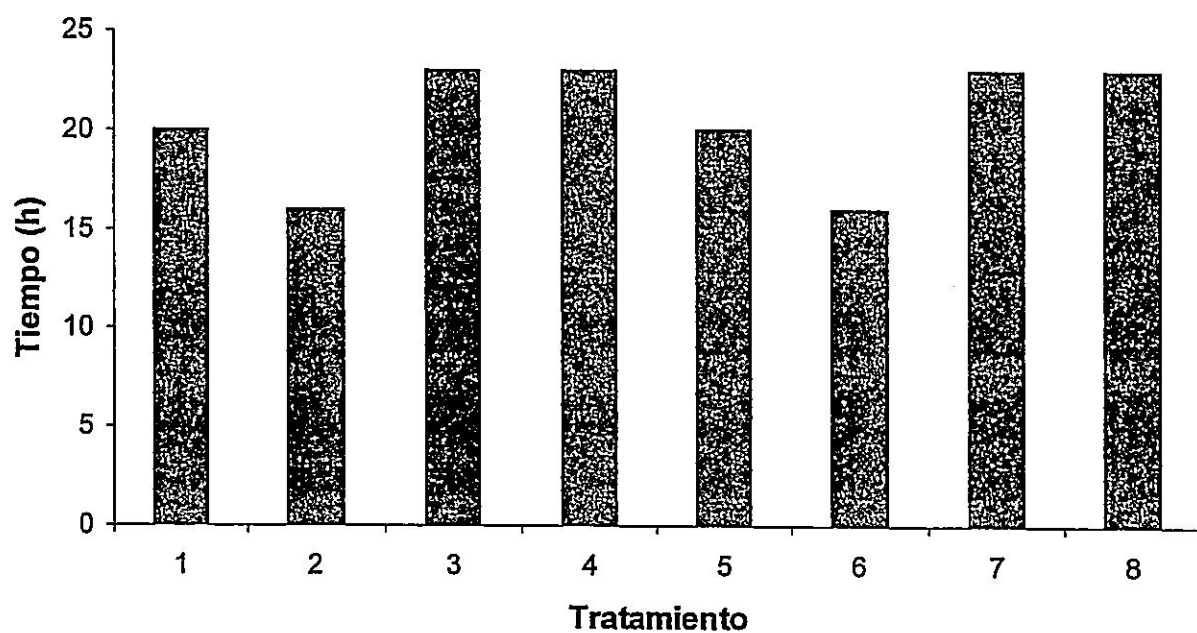


Fig 1.- Tiempo al cual la cerdaza alcanza un pH de 4.0 en los diferentes tratamientos.

Cuadro 6. Análisis de Resultados por el método de Yates

Tratamiento	A	B	C	Y	Interacciones	1	2	3	Efecto	3 ² /8
1	-	-	-	20	1	36	82	164	-	-
2	+	-	-	16	A	46	82	-8	2	8
3	-	+	-	23	B	36	-4	20	5	50
4	+	+	-	23	AB	46	-4	8	2	8
5	-	-	+	20	C	-4	10	0	0	0
6	+	-	+	16	AC	0	10	0	0	0
7	-	+	+	23	BC	-4	4	0	0	0
8	+	+	+	23	ABC	0	4	0	0	0

El análisis de varianza de los resultados demostró que ni la agitación ni la interacción agitación – hermeticidad fueron significativas ($F_T = 7.71 @ \alpha = 0.05$) mientras que la hermeticidad fue altamente significativa ($F_T = 15.42 @ \alpha = 0.01$).

El efecto de la interacción de los factores agitación y hermeticidad, aunque no significativos, se puede analizar con respecto a las condiciones que provocan dentro del biorreactor en relación con el intercambio gaseoso dentro de la mezcla. Las condiciones de operación a tanque abierto permitieron que existiera aireación superficial a través de la superficie libre, factor que también es importante en muchos procesos industriales que

utilizan fermentadores de escurrimiento como principio de operación, por ejemplo, en la producción de vinagre y en el tratamiento de desechos acuosos.

Se ha estudiado con detalle la transferencia de masa hacia adentro y hacia fuera de la película de líquido (Bailey y Ollis, 1997) sin embargo, hace falta todavía más información cuando se trata de explicar lo que sucede cuando participan las células y es que se deben de incluir los aspectos bioquímicos en el análisis. Evidentemente, los factores que hacen la diferencia entre una actividad aeróbica y una anaeróbica dependen de la concentración de oxígeno dentro de la mezcla a fermentar, del coeficiente de difusión de oxígeno (que depende en gran parte de la viscosidad y densidad de la mezcla) y de la velocidad de respiración o de consumo del oxígeno por los microorganismos. De acuerdo a las condiciones experimentales que se emplearon en el presente trabajo, muy probablemente sea la concentración de oxígeno el factor que controla el proceso de tratamiento de la cerdaza ya que este depende de las condiciones de hermeticidad y de agitación del biorreactor. Refuerza aún más el hecho de que se encontró que la interacción tanque no-hermético y agitación a 0.6 rpm fue favorable para disminuir el pH con más celeridad, debido a que la agitación permite que el oxígeno se distribuya de forma más homogénea y por lo tanto que el metabolismo microaerofílico sea dominante sobre el anaeróbico.

Por otro lado, en las condiciones en que se operó el biorreactor y las características de viscosidad y contenido de sólidos de la mezcla a fermentar, lo más probable es que se hayan generado condiciones microaerofílicas (Bailey y Ollis, 1997).

La disminución del pH se debe probablemente a la producción de ácidos orgánicos, ya que, en trabajos previos, se ha reportado que es el ácido láctico el que se produce en mayor proporción. En los microorganismos el lactato se forma normalmente a partir del piruvato, la reacción también se produce en las células de los organismos superiores cuando la cantidad de oxígeno disponible es limitada, como ocurre en el músculo durante la actividad intensa (Stryer, 1995). Este conocimiento se aprovecha a nivel industrial para maximizar la producción de ácido láctico manipulando la concentración de oxígeno disuelto en el medio de fermentación. Por ejemplo, en el estudio cinético para evaluar la conversión de diferentes substratos a ácido láctico usando *Lactobacillus bulgaricus*, que es una bacteria anaeróbica facultativa, se determinó el efecto de la presencia del oxígeno sobre el crecimiento microbiano y la formación de ácido láctico. Se encontró que el microorganismo no creció bajo condiciones aeróbicas, sin embargo bajo condiciones microaerofílicas, se encontró la mayor velocidad específica de crecimiento (Burgos-Rubio, 2000).

5.3. Análisis químico proximal de la mezcla fermentada.

Los resultados del análisis químico proximal de las mezclas fermentadas se muestran en el cuadro 7. Al comparar los valores de los cuadros 5 y 7 y realizando la prueba de hipótesis de comparaciones apareadas con $\alpha = 0.05$ en la cual se acepta la H_0 para los parámetros de fibra cruda, proteína cruda y extracto etéreo; en los parámetros de humedad, extracto libre de nitrógeno, materia seca y cenizas se acepta la H_A (Cuadro 8). Iñiguez (1990) encontró que después del proceso de fermentación el contenido de proteína cruda se

incrementó de 11.7%, al inicio de la fermentación a 12.1 % (incremento del 3.4%), mientras que en el presente trabajo se obtuvo un incremento de 28,2%. La diferencia observada pudo deberse al empleo de un inóculo más “rico” ya que en el presente trabajo el suero de leche pudo haber aportado una microbiota rica en bacterias lácticas.

Con respecto a el extracto etéreo, los valores reportados por Iñiguez et al (1990) son más bajos (3.13 %) que los obtenidos en este trabajo (13.91 %). Con respecto al contenido de fibra cruda no se observaron diferencias significativas (7.3 % versus 7.06 %).

Cuadro 7. Análisis químico proximal de la mezcla fermentada.

Parámetro	% Base seca	σ
Humedad	78.27	± 2.085
Cenizas	15.32	± 0.720
Extracto etéreo	13.91	± 0.030
Fibra cruda	7.06	± 0.040
Proteína cruda	15.00	± 0.530
Extracto libre de nitrógeno	48.71	± 1.400
Materia seca	21.73	± 0.590

Cuadro 8. Comparaciones en parejas del análisis químico proximal (antes y después de la fermentación).

Parámetro	t calculada	t tabla con $\alpha = 0.05$
Humedad	2.2500	2.9200
Cenizas	2.5876	2.9200
Extracto etéreo	8.5400	2.9200
Fibra cruda	8.0600	2.9200
Proteína cruda	11.3592	2.9200
Extracto libre de nitrógeno	1.1600	2.9200
Materia seca	2.2516	2.9200

GL = 2

5.4. Análisis microbiológico de la mezcla fermentada

En la Figura 2 se presentan las fotografías de las cajas de Petri inoculadas con la mezcla fermentada a diferentes tiempos. Se observó que al tiempo cero el número de colonias pertenecientes a coliformes totales, *Salmonella*, y *Shigella* fueron incontables (Figura 3) sin embargo, conforme la fermentación avanza dicha concentración disminuye y cuando el proceso alcanza valores de pH igual o inferior a 4.0 (Figura 4) no se detectó ningún microorganismo en los diferentes medios selectivos EMB, SS y McConkey. Estos resultados difieren ligeramente con lo reportado por Itigüez et al. (1990), ya que dichos

autores no detectan los microorganismos mencionados anteriormente a pH de 4.2 (Figura 5).

Es importante el percatarse de la presencia de los microorganismos potencialmente patógenos presentes en las excretas debido a que este parámetro es un indicador de la eficiencia del proceso fermentativo y porque así lo exige la Norma Oficial Mexicana (NOM-ECOL 001-1996), la cuál determina un cero por ciento de coliformes totales para productos con calidad de suplemento alimenticio.

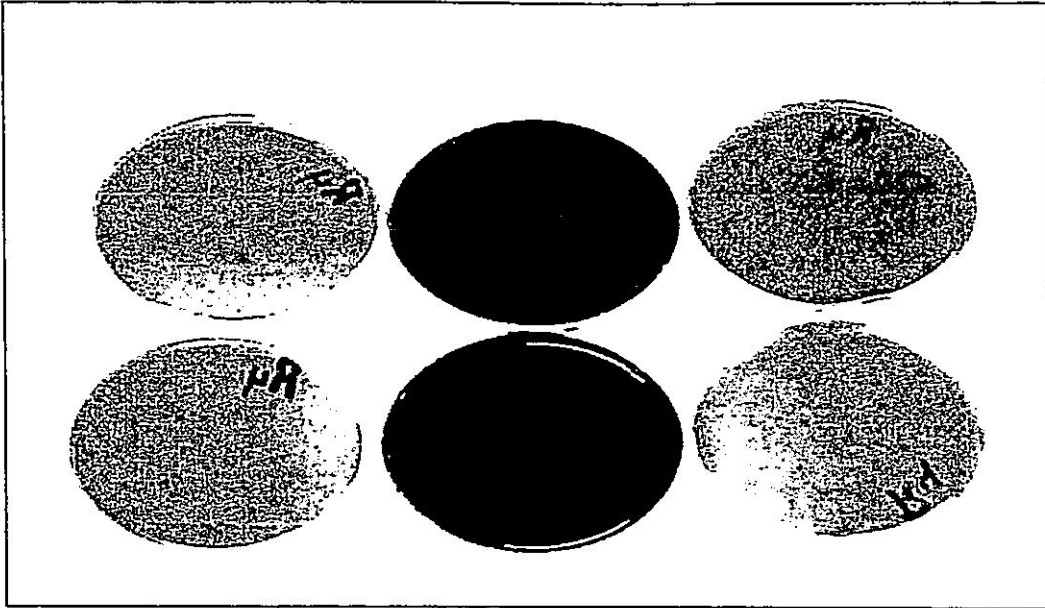


Figura 4.- Cajas Petri conteniendo diferentes medios de cultivo inoculados al final de la fermentación.

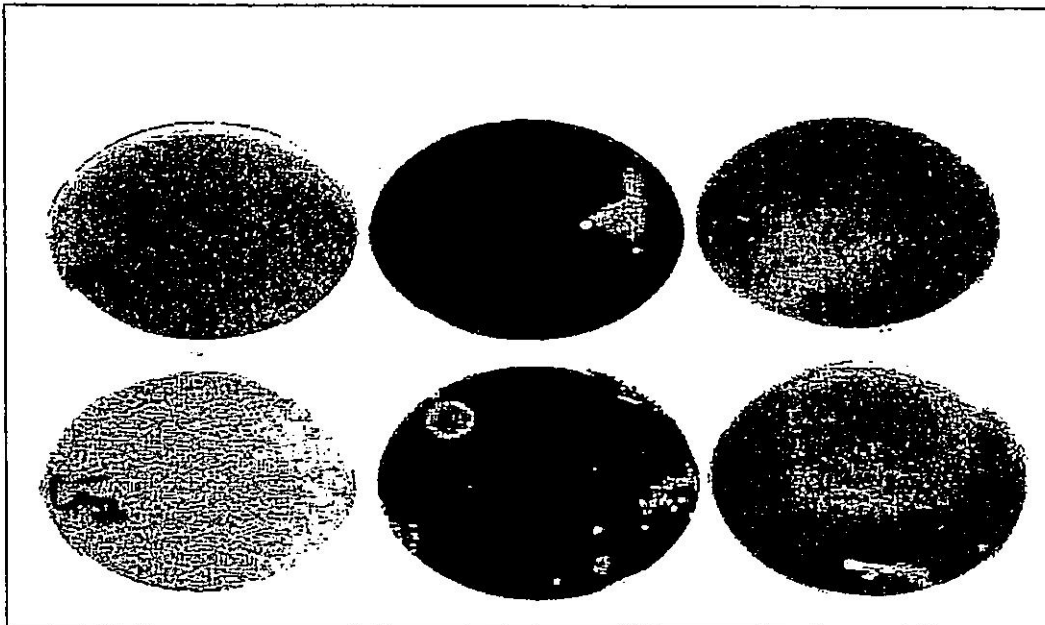


Figura 5.- Cajas Petri conteniendo diferentes medios de cultivo inoculados a pH 4.1.

6. CONCLUSIONES

Las excretas de cerdo empleadas en este estudio contienen microorganismos potencialmente patógenos a niveles de 10.5×10^6 , 2.5×10^6 y 8.4×10^6 UFC/g de cerdaza, de *E. coli* *Salmonella* - *Shigella* y Enterobacterias, respectivamente.

Al final de la fermentación, cuando las unidades experimentales alcanzaron un pH de 4.0 no se detectaron bacterias coliformes totales, *Salmonella*, *Shigella* y *E. coli*.

El análisis químico proximal de la mezcla inicial y la mezcla fermentada demostró que el proceso de fermentación, bajo las condiciones de operación experimentadas, permite cambios cuantitativos en los diferentes componentes, siendo el cambio más relevante el de proteína cruda que varió de 11.7% a 15%.

De las variables estudiadas la que influyó de una manera decisiva a disminuir más rápidamente el pH de la mezcla a fermentar fue la condición de hermeticidad, ya que los tiempos más pequeños se encontraron cuando el fermentador se operó en condición abierta.

Las condiciones de operación más adecuadas del biorreactor empleado en este estudio fueron a tanque abierto, no-aislado y agitado, con esto el tiempo al cual se alcanzó el valor de pH igual a 4.0 fue de 16 horas.

7.- BIBLIOGRAFIA

Adriano DC (1985). Chemical characteristics of beef feedlot manures as influenced by housing type. In: Proc. Third Int. Sym. On Livestock Wastes. Amer. Soc. Agr. Eng., St. Joseph, MI USA. p. 347.

AOAC (1980). Official Methods of Analysis, 12th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.

APHA (1976). Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods, 1st ed. American Public Health Association, Washington DC.

Arndt DL, Day DL and Hatfield EE (1979). Processing and handling of animal excreta per refeeding. J Anim. Sci. 48 (1),157-62.

ASAE STANDARDS (1988). American Society of Agricultural Engineering, St Joseph, MI, p 427.

Azebedo J and Stout PR (1974). Farm animal manures. Manual 44, University of California Agricultural Experimental Station, Davis, CA.

Bailey JE and Ollis DF (1977). Biochemical Engineering Fundamentals. Clark BJ, Tokay B y Bradley JW ed. Mc Graw Hill. Kogakusha, LTD.

Bazan JA (2001). Control de las aguas residuales en las granjas porcícolas. Proyectos Integrales de Investigación. Informe de los Foros Regionales de Chiapas, Guerrero y Oaxaca, Toledo Flores J. y Luna Pérez E. Ed. SIBEJ-CONACYT p 26-29.

Box PG, Connor RL, Himsworth RF, Sillitto GP, Cousins WR and Owen LD (1979). The desing and analysis of industrial experiments. Owen L Davies. Ed. London and New York p 262-265.

- Burgos-Rubio C, Okos MR and Wankat PC (2000).** Kinetic study of the conversion of different substrates to lactic acid using *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnol Prog.* 16, 305-314.
- Camus BR y Bonifaz EM (2001).** Situación actual de la porcicultura Chiapaneca. *Proyectos Integrales de Investigación. Informe de los Foros Regionales de Chiapas, Guerrero y Oaxaca.* Toledo Flores J. y Luna Pérez E. Ed. SIBEJ-CONACYT p 10-14.
- Church DC (1974).** Fisiología digestiva y nutrición de los rumiantes, Vol 1. Fisiología. Acribia, España.p 90.
- Dendooven L, Bonhomme E. and Merckx R (1998).** N dynamics and sources of N₂O production following pig slurry application to a loamy soil. *Biol Fertil Soils*, 26,224-228.
- Dendooven L, Bonhomme E, Merckx R and Vlassak K (1998).** Injection of pig slurry and its effects on dynamics of nitrogen and carbon in a loamy soil under laboratory conditions. *Biol Fertil Soils*, 27, 5-8.
- Deng MYI and Cliver DO (1992).** Inactivation of poliovirus type 1 in mixed human and swine wastes and by bacteria from swine manure. *Applied and Environmental Microbiology* 58 (6), 2016-2021.
- Diggs BG, Baker B Jr and James FG (1965).** Value of pig faeces in swine finishing rations. *J. Anim Sci.*, 24, 291.
- Fanfoní KJ, Hayes T and Jewell WJ (1978).** In *Anaerobic Fermentation of agricultural residue: Potential for improvement and implementation.* USA. Dept. of Energy, Washington, pp 73-161.
- Floyd IRS and Hawkes RF (1986).** Operation of a laboratory-scale tubular digester on piggery waste. *Agricultural Wastes* 18, 39-60.

Gilliland SE and Speck ML (1977). Antagonistic activity of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and food borne pathogens in associative cultures. J Food Prot. 40, 820-823.

Hamdan IY and Mikolajcik EM (1974). Acidolin: An antibiotic produced by *Lactobacillus acidophilus*. J Antibiotic. 27, 631-636.

Hawkes FR, Floy JRS and Hawkswes DL (1981). Operation of a laboratory-scale plug-flow type of digester on pig manure. In Proc. 1st EC conference on Energy from Biomass. Paltz, W, Chartier P and Hall DO Eds. Applied Science, London, pp 398-405.

Hilliard EP, Beard J and Pearce GR (1979). Utilization of piggery waste. 1. The chemical composition and in vitro organic matter digestibility of pig faeces from commercial piggeries in south-eastern Australia. Agric Environ. 4, 171.

Hills DJ and Walker RD (1982). Methane gas production from dairy-manure and field-crop residues. In Livestock Waste: A Renewable Resource Proceedings 4th International Symposium on Livestock Wastes. Published by American Society of Agricultural Engineers, Michigan USA.

Hrubant GR and Rhodes RA and Sleneker JH (1978). Specific composition of representative feedlot wastes; a chemical and microbial profile. U.S. Dept. Agr, Science and Education Administration. SE-NC-50. Northern Regional Research Laboratory. Peoria, IL, USA.

Hrubant GR and Rhodes RA (1989). Death of fecal coliforms and *Mycobacterium paratuberculosis* during fermentation of corn and feedlot wastes. Agricultural Wastes, 29, 139-52.

- Iñiguez CG, Cuarón IJA, Pérez GP, De la Torre MM and Magaña PI (1990b).** Fermentation characteristics, digestibility and performance of ensiled swine waste, wheat straw and cane molasses fed to sheep. *Biological Wastes*, **34**, 281-99.
- Iñiguez CG, De la Torre MM, Cuarón IJA, Pérez GP and Magaña PI (1990a).** Fermentation characteristics of swine waste ensiled with wheat straw and cane molasses. *Biological Wastes*, **34**, 227-39.
- Iñiguez CG, Franco GMJ and Alba FJ (1989).** Estudio preliminar para la fermentación continua en sustrato sólido de sólidos recuperados de estiércol de cerdo y sorgo. Primer ciclo de conferencias sobre microbiología pecuaria. Univ. Aut. de Chapingo, México, pp 85-100.
- Iñiguez CG, Franco GMJ, Peña RM and Ciurlizza GA (1986).** Evaluation of the protein quality of solids recovered from hog manure slurry. *Agricultural Wastes*, **16**(2), 113-20.
- Keys JEr, PJ Van Soest and EP Young (1969).** Comparative study of the digestibility of forage cellulose and hemicellulose in ruminants and non ruminants. *J Anim Sci* **29**, 11-15.
- Knight EF, McCaskey TA, Anthony WB and Walters JC (1977).** Microbial population changes and fermentation characteristics of ensiled bovine manure-blended rations. *J. Dairy Sci.* **60**, 416.
- Kornegay ET, Holland MR, Webb KE Jr, Bovard KP and Hedges JD (1977).** Nutrient characterization of swine fecal waste and utilization of these nutrients by swine, *J Anim Sci.* **44**, (4) 606-608.
- Lacey RE, Ross IJ, Taraba JL and Walton LR (1980).** Nutrient changes in poultry manure during batch liquid phase anaerobic fermentation. En *Livestock Waste: A*

Renewable Resource. Proceedings 4th International Symposium on Livestock Wastes. Published by American Society of Agricultural Engineers, Michigan USA.

Martin JH Jr, Leohr RC and Pilbeam TE (1983). Animal manures as feedstuff: nutrient characterists. *Agricultural Wastes*, **6**: 131.

McCastey TA and Anthony WB (1979). Human and animal health aspects of feeding livestock excreta. *J. Anim Sci.* **48**, 163.

McCaskey TA and Shehane JE (1980). Lactic acid fermentation reduces risk of mycobacteria transmission by bovine manure-formulated rations. *En Livestock Waste: A Renewable Resource. Proceedings 4th International Symposium on Livestock Wastes.* Published by American Society of Agricultural Engineers, Michigan USA.

Naugle BI, Ross IJ, Taraba JL and Cromwell GL (1980). The dynamics of the ensiling of swine waste with ground shelled corn. *En Livestock Waste: A Renewable Resource. Proceedings 4th International Symposium on Livestock Wastes.* Published by American Society of Agricultural Engineers, Michigan USA.

Orr DE (1973). Swine waste as a nutrient source for finishing pigs. *Rpt Swine Research.* Mich State Univ., Lansing AHSW-73 **19**, 81-87.

Pearse GR (1979). Quality aspects of livestock wastes in relation to their utilization. *Agric Wastes* **1**. 223-236.

Rhodes RA and Orton WL (1975). Solid substrate fermentation of feedlot waste combined with feed grains, *Trans Am Soc. Agr. Eng.* **18**, 728.

Saviozzi A, Levi-Minzi R, Riffaldi R and Vanni G (1997). Role of chemical constituents of wheat straw and pig slurry on their descomposition in soil. *Biol Fertil Soils*, **25**, 401-406.

- Shutt JW, White RK, Taiganides EP and Mota CR (1975).** Evaluation of solids separation devices. In *Managing Livestock Wastes. Proc 3rd Int Symp on Livestock Wastes*, ASAE, St Joseph, MI, 463-7.
- Smith RE (1986).** Role of animal weight in sizing a waste management system. In *Managing Livestock Wastes. Proc 3rd Int Symp on Livestock Wastes Paper No 86,4053*. ASAE, St Joseph, MI., 468-472.
- Smith LW and Weeler WE (1986).** Nutritional and economic value of animal excreta. *J. Anim Sci* 48, (1). 144.
- Soria FMJ, Ferrera CR, Etchevers BJ, Alcantar GG, Trinidad SJ, Borges GL and Pereyda PG (2001).** Biodigestion of hog slurry to produce biomanure. *Terra* 19, pp353-362.
- Stanogias G, M Tjandraatmadja, GR Pearse, and AC Dunkin (1980).** Effects of the composition of pig diets on the biodegradation characteristics of piggery waste. In *Livestock Waste: A Renewable Resource. Proceedings 4th International Symposium on Livestock Wastes*. Published by American Society of Agricultural Engineers, Michigan USA.
- Stryer L (1995).** *Bioquímica*. Cuarta Edición. Editorial Reverté, S.A. Barcelona, España. p 495-498.
- Sutton SL, Kelly DT and Perry TW (1987).** Performance of lambs fed diets containing whole corn plant ensiled with swine manure solids. *Journal Paper No. 11007* pp 32-38. Purdue University Agricultural Experiment Station.

Sweeten JM (1980). Waste treatment: State of the art. En *Livestock Waste: A Renewable Resource*. Proceedings 4th International Symposium on Livestock Wastes. Published by American Society of Agricultural Engineers, Michigan USA

Taigandes EP, Pérez R y Sánchez EG (1996). Manual para el manejo y control de aguas residuales y excretas porcinas en México, Consejo Mexicano de Porcicultura, A.C., México; pp 42-52.

Van Soest PJ (1975). Physico-chemical aspects of fibre digestión p 351 En **IW McDonald y ACI Warner** (Ed): Proceedings of the IV international symposium of ruminant physiology. The University of New England Publishing Unit, Armidale NSW 2351, Australia.

Vázquez SR (2002). Reducción del contenido de microorganismos patógenos presentes en la cerdaza por vía fermentativa, Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chiapas, México.

Wayne WD (1992). Bioestadística. Tercera Edición. Editorial Limusa, S.A. México D.F. pp254-258.

Weiner BA (1980). Semicontinuous fermentation of swine waste-corn by feedback inoculum to diminish coliform numbers. En *Livestock Waste: A Renewable Resource*. Proceedings 4th International Symposium on Livestock Wastes. Published by American Society of Agricultural Engineers, Michigan USA.

8. ANEXOS

8.1. Cambios de pH registrados en los diferentes tratamientos.

8.1.1. Tratamiento 1 (Tanque no agitado abierto y no aislado).- En este tratamiento la mezcla a fermentar tuvo un valor inicial de pH de 5.04 y conforme fue transcurriendo el tiempo de fermentación, este valor fue disminuyendo de tal manera que a las 20 horas se registró el valor más bajo de la fermentación, que fue de 3.99. La temperatura presentó un comportamiento variable con un valor inicial de 32 °C, a las 10 horas la mezcla a fermentar presentó un valor de 36° C, manteniéndose en este valor hasta las 16 horas de fermentación. Después de este tiempo se registró un valor de 35 °C, manteniéndose en este valor hasta el final de la fermentación (Figura 6).

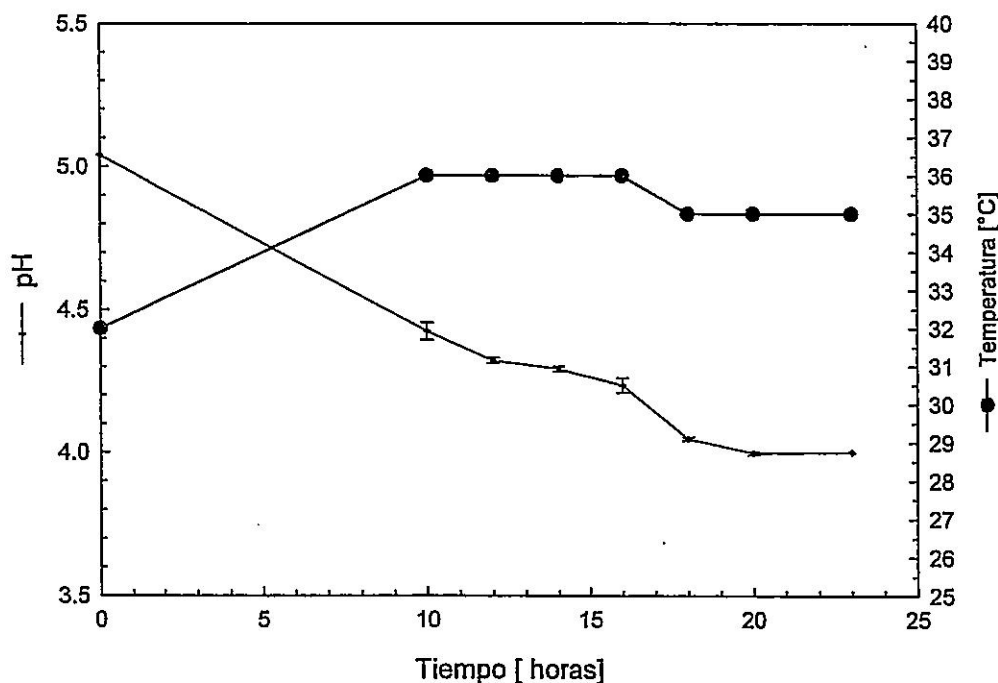


Figura 6. Cambios en el pH y la temperatura encontrados en el biorreactor no agitado, abierto y no aislado (tratamiento 1).

8.1.2. Tratamiento 2 (agitado, abierto y no aislado 0.6 rpm).- En la Figura 7 se observa que la mezcla a fermentar presentó un pH inicial de 5.0. En las primeras 10 horas de fermentación se observó una disminución gradual hasta llegar a un valor de 4.5. Después de las 10 horas, la disminución del pH fue más marcada con lo que a las 14 horas la mezcla alcanzó un valor de 4.1. El pH siguió disminuyendo hasta alcanzar un pH de 4.0 a las 16 horas y un valor final de 3.8 a las 20 horas manteniéndose estable hasta las 23 horas. Con respecto a la temperatura, se observó un comportamiento variable. Al inicio de la fermentación la temperatura fue de 32 °C. Este valor se incrementó hasta alcanzar 36 °C a las 10 horas. Después de este tiempo y después de un periodo estable de dos horas, la temperatura descendió a un valor de 34° C, manteniéndose estable durante 2 horas para posteriormente aumentar a 36 °C y disminuir a un valor de 33 °C hacia el final de la fermentación.

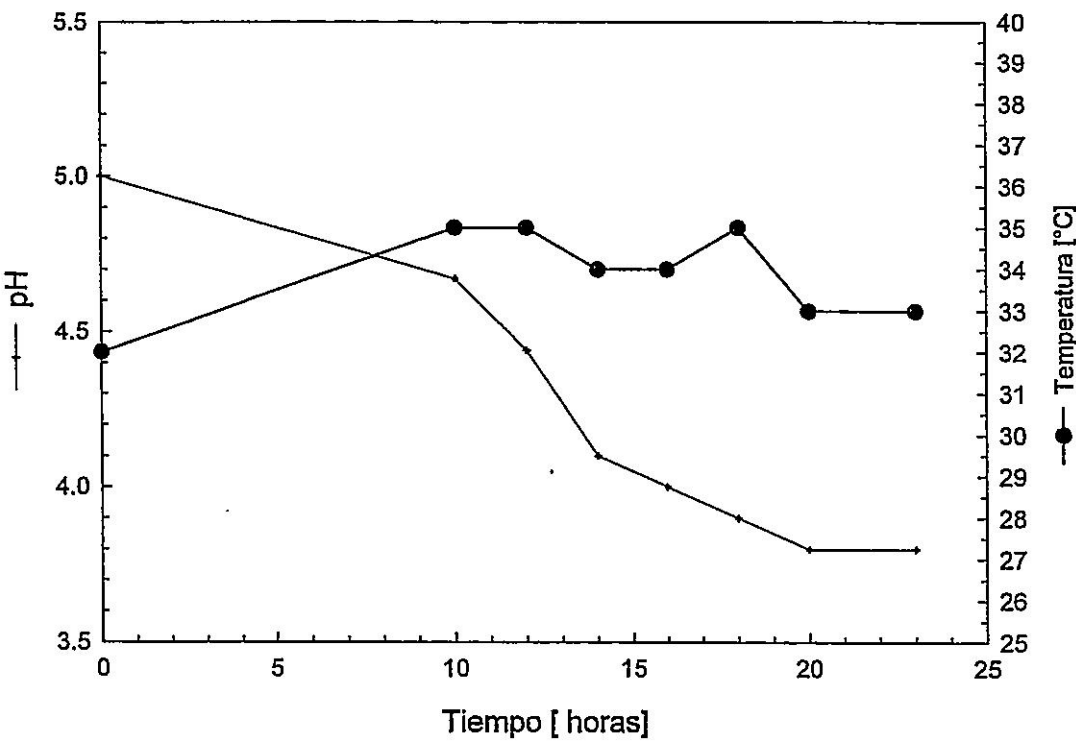


Figura 7. Cambios en el pH y la temperatura encontrados en el biorreactor agitado, abierto y no aislado (tratamiento 2).

8.1.3. Tratamiento 3 (no agitado, cerrado y no aislado).- La Figura 8 muestra que la mezcla a fermentar tuvo un valor de pH inicial de 5.09. La disminución del pH fue muy rápida hasta alcanzar un valor de 4.30 a las 12 horas. Después de este tiempo, el pH siguió disminuyendo pero a una velocidad menor que la que presentó al inicio de la fermentación. El valor final registrado fue de 4.02. El valor inicial de la temperatura fue de 32 °C. Este valor fue aumentando hasta alcanzar 35 °C a las 10 horas de la fermentación. Posteriormente se observó un comportamiento fluctuante, pero en general hubo una disminución y al final de la fermentación la mezcla alcanzó un valor de 33 °C. (Figura 9).

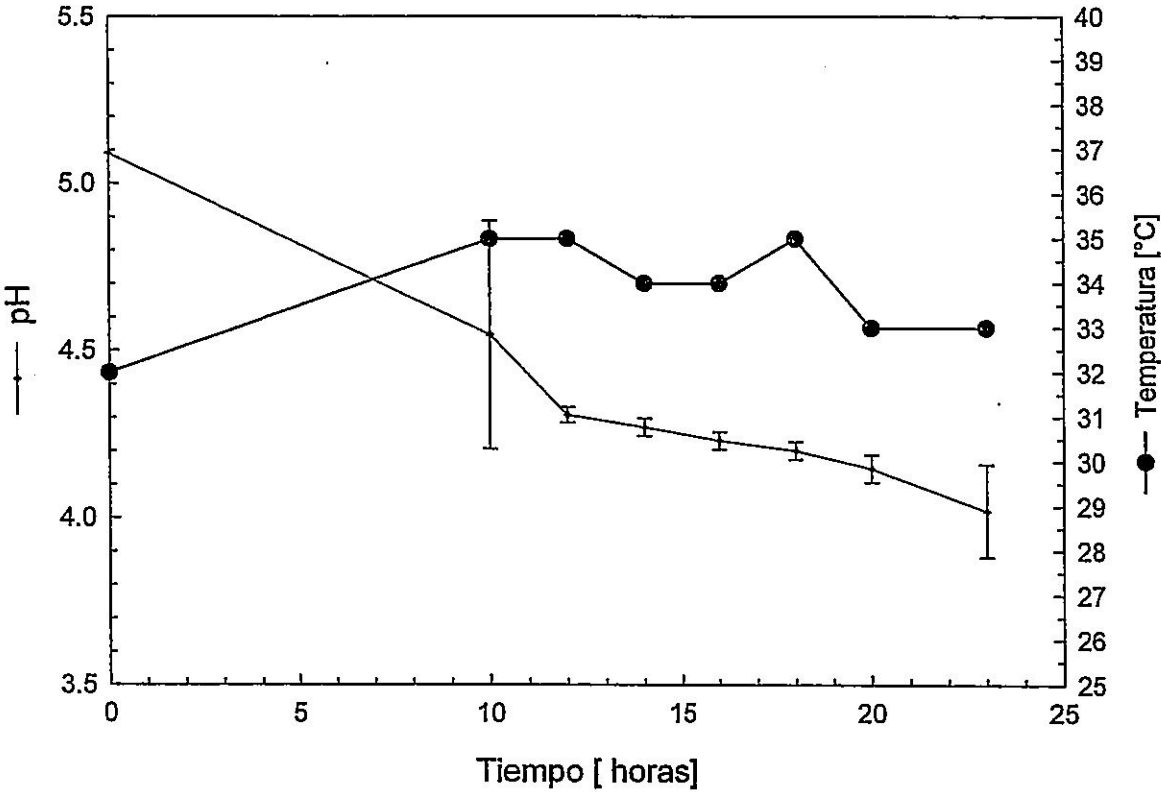


Figura 8. Cambios en el pH y la temperatura encontrados en el biorreactor no agitado, cerrado y no aislado (tratamiento 3).

8.1.4. Tratamiento 4 (agitado, cerrado y no aislado).- En la Figura 9 se observa que a diferencia de los demás tratamientos, el pH se mantuvo prácticamente constante en las primeras 10 horas de la fermentación. Después de este tiempo hubo una disminución rápida hasta alcanzar un valor final de 4.0 a las 23 horas de la fermentación. La temperatura se elevó desde un valor de 32 °C hasta llegar a 37 °C a las 12 horas, manteniéndose en un periodo estable hasta las 18 horas. Después de este tiempo, la temperatura descendió a un valor de 35° C y este valor se mantuvo hacia el final de la fermentación.

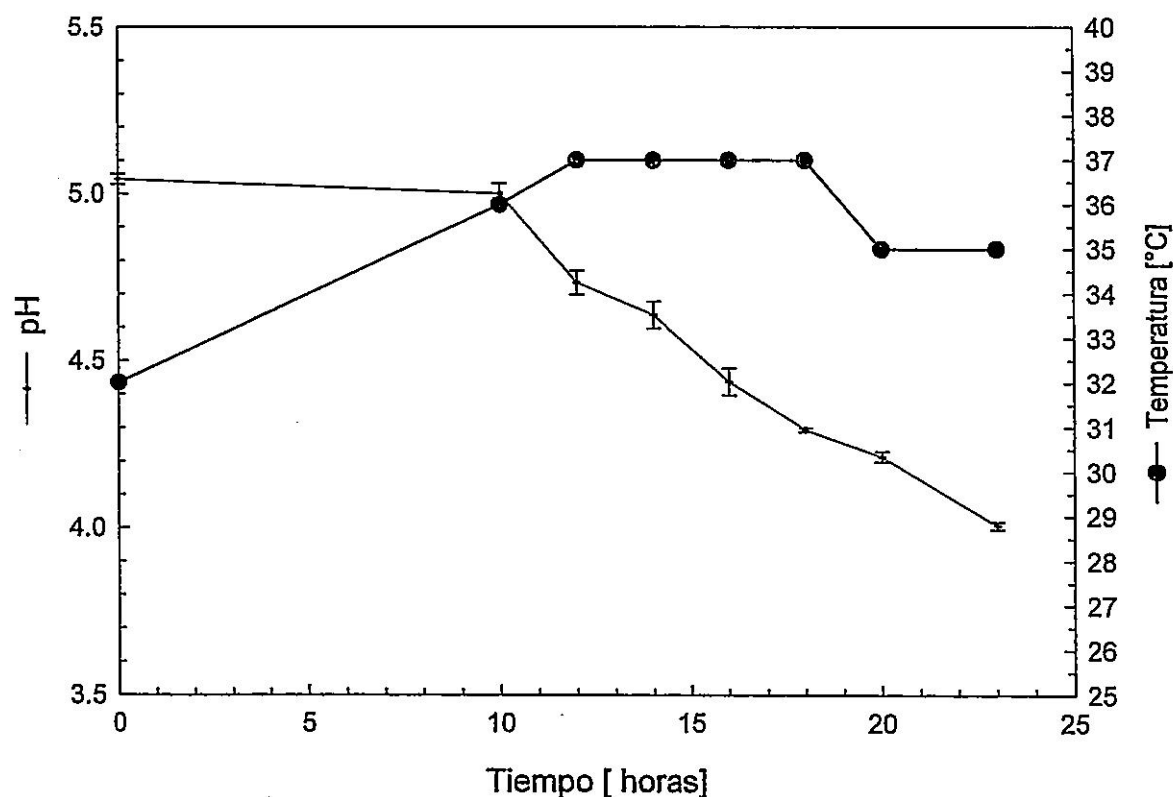


Figura 9. Cambios en el pH y la temperatura encontrados en el biorreactor agitado, cerrado y no aislado (tratamiento 4).

8.1.5. Tratamiento 5 (no agitado, abierto y aislado). En la Figura 10 se observa que el pH de la mezcla a fermentar presentó un valor inicial de 5.04 para después descender a 4.0 a las 20 horas de la fermentación. Este valor se mantuvo estable hacia el final de la fermentación. La temperatura inicial fue de 32° C, este valor se elevó hasta 34 °C a las 10 horas de la fermentación manteniéndose constante hasta las 20 horas. Después de este tiempo descendió a 33° C.

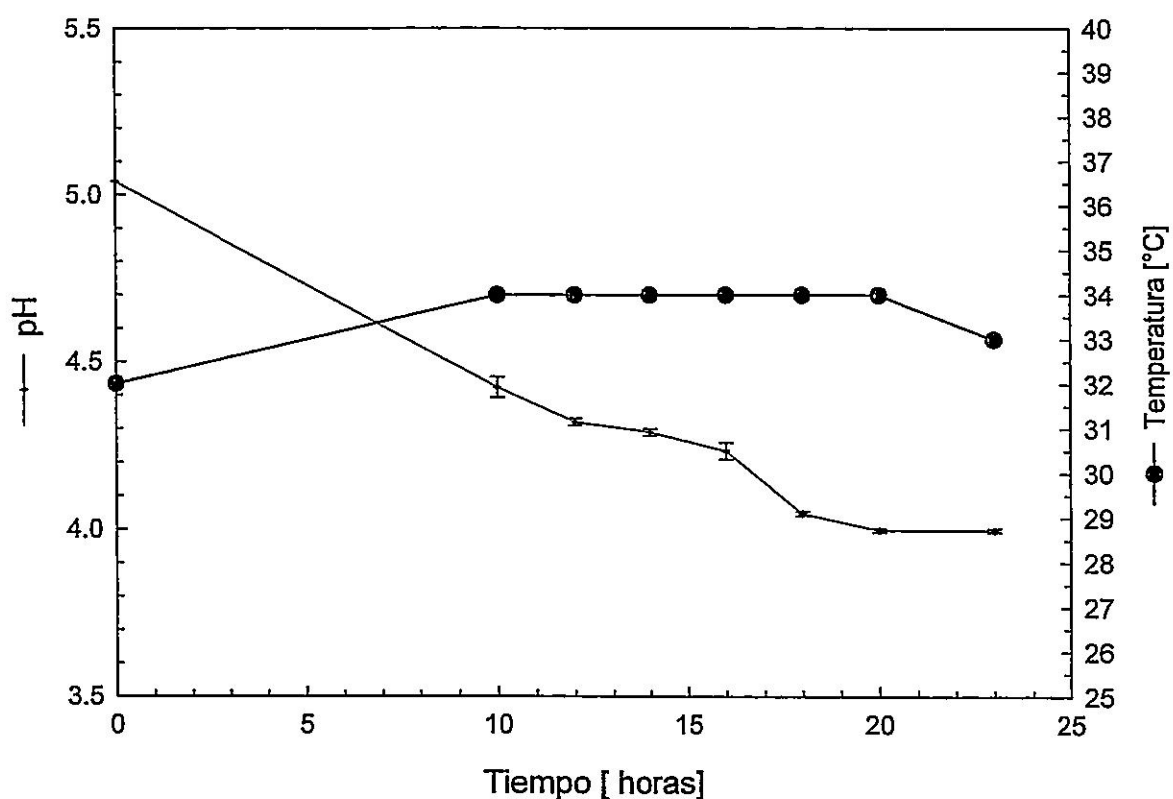


Figura 10. Cambios en el pH y la temperatura encontrados en el biorreactor no agitado, abierto y aislado 0.0 rpm (tratamiento 5).

8.1.6. Tratamiento 6 (agitado, abierto y aislado). En la figura 11 se observa que el pH inicial de la mezcla a fermentar fue de 5.00 y posteriormente descendió a un pH de 4.00 a las 16 horas, posteriormente siguió presentando una disminución hasta el final de la fermentación, obteniéndose un valor de 3.8 a las 23 horas. La temperatura inicial fue de 29° C , este valor se elevó hasta 31° C a las 10 horas de la fermentación, posteriormente descendió a 30° C este valor se mantuvo entre las 12 y 14 horas elevándose a las 16 horas a 31° C, manteniéndose constante hasta el final de la fermentación.

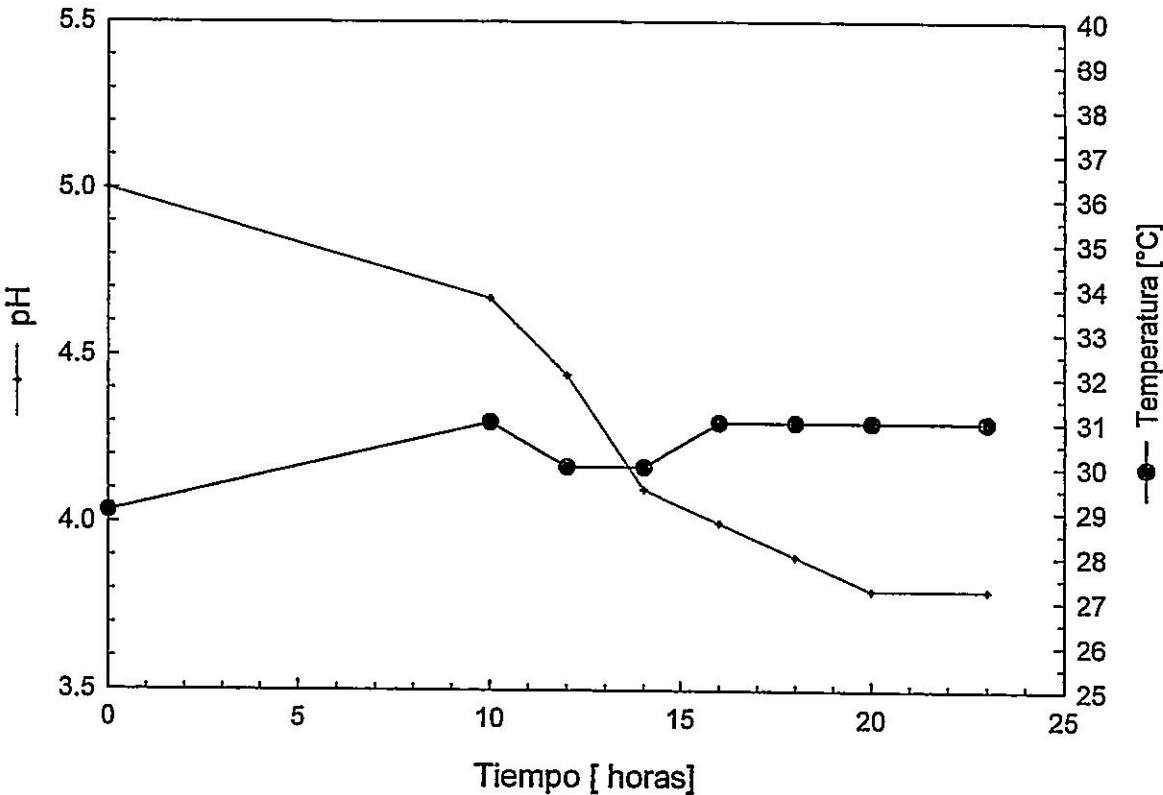


Figura 11. Cambios en el pH y la temperatura encontrados en el biorreactor agitado, abierto y aislado (tratamiento 6).

8.1.7. Tratamiento 7 (no agitado, cerrado y aislado). En la Figura 12 se observa que el pH desciende rápidamente desde un valor inicial de 5.09 hasta alcanzar 3.9 a las 23 horas de la fermentación. En este tratamiento se observa que la temperatura inicialmente se elevó hasta alcanzar un valor de 35° C a las 12 horas de la fermentación, después de este tiempo el valor descendió a un valor de 32 °C, manteniéndose constante hacia el final de la fermentación.

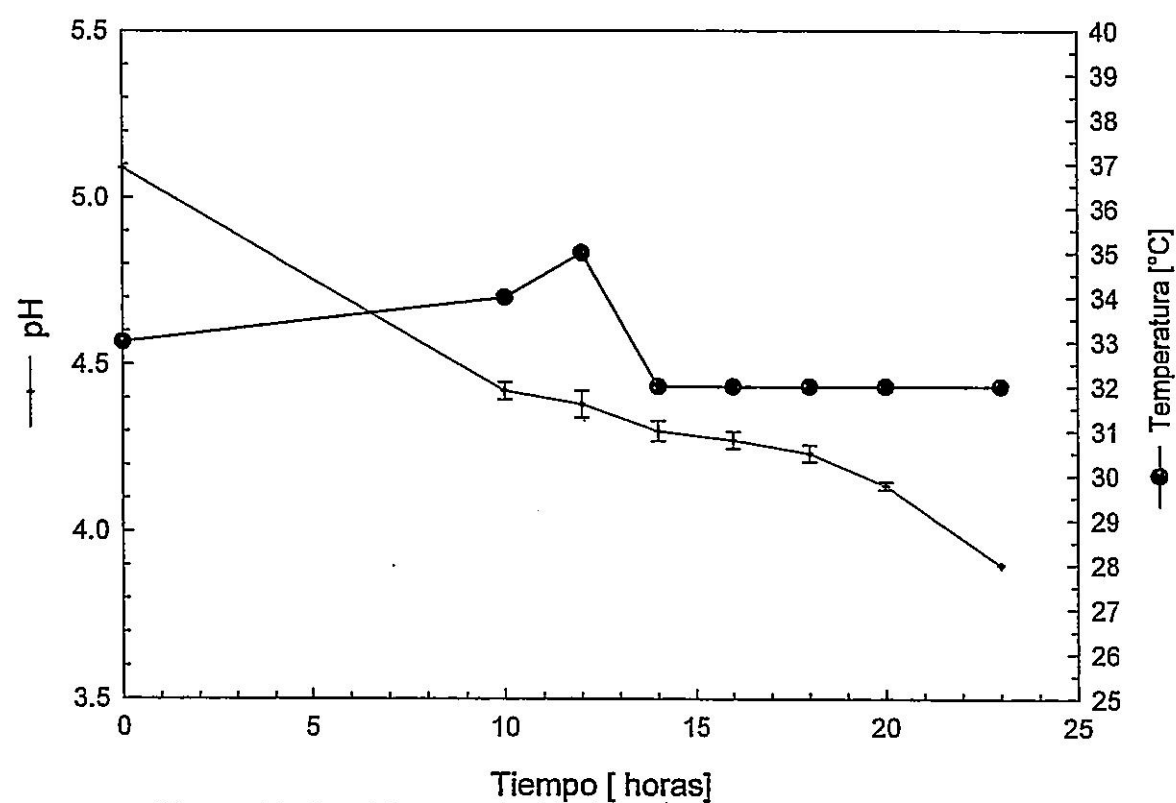


Figura 12. Cambios en el pH y la temperatura encontrados en el biorreactor no agitado, cerrado y aislado (tratamiento 7).

8.1.8. Tratamiento 8 (agitado, cerrado y aislado) La Figura 13 muestra que el pH descendió de manera constante y gradual desde un valor inicial de 5.02 hasta 4.2 a las 23 horas de fermentación. Con respecto a la temperatura, este tratamiento, que fue efectuado con el biorreactor no enchaquetado y cerrado, las fluctuaciones de la temperatura fueron más notorias que en los demás tratamientos. Desde un valor inicial de 32 °C alcanza un valor máximo de 36 °C a las 12 horas de la fermentación, posteriormente desciende a 31 °C, periodo que corresponde a la noche en donde desciende la temperatura ambiental. Después de este tiempo la temperatura se elevó para finalmente llegar a los 34 °C.

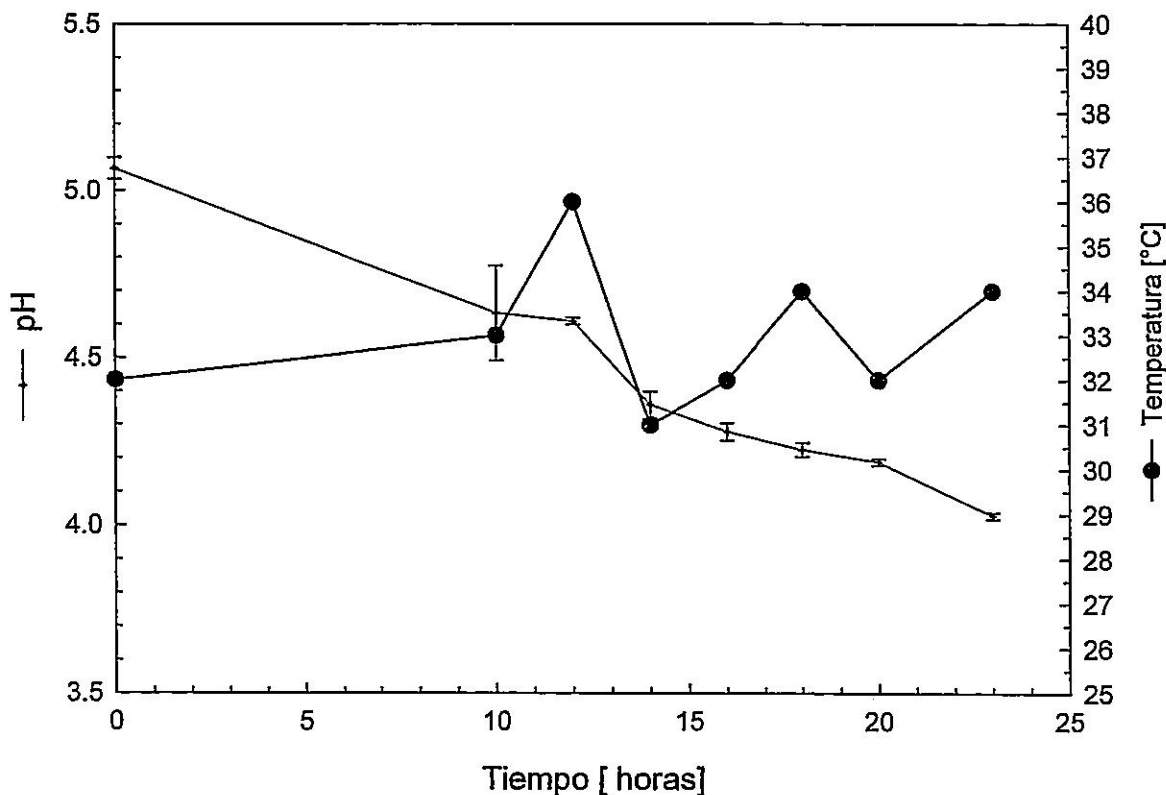


Figura 13. Cambios en el pH y la temperatura encontrados en el biorreactor agitado, cerrado y aislado (tratamiento 8).

8.2. Detalles del fermentador utilizado para la fermentación de la cerdaza.

