



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS / CENTRO DE
POSGRADO

MAESTRÍA EN AGRONOMÍA MENCIÓN CAMBIO CLIMÁTICO

MODALIDAD DE TITULACIÓN TESIS DE INVESTIGACIÓN

Trabajo de Titulación, previo a la obtención del grado académico de
Magíster en Agronomía Mención Cambio Climático

Tema: PRODUCCIÓN DE BIOGÁS UTILIZANDO BIOMASA
RESIDUAL PECUARIA CON FIBRA VEGETAL Y
ENRIQUECIDA CON LACTOSUERO, COMO ALTERNATIVA
PARA MITIGAR LOS GASES DE EFECTO INVERNADERO

Autor: Ing. Walter Eduardo Moreno Castillo.

Director: Ing. Manolo Sebastián Muñoz Espinoza Mg.

Ambato – Ecuador

2020

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS/CENTRO DE POSGRADO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN AGRONOMÍA MENCIÓN CAMBIO
CLIMÁTICO**

INFORMACIÓN GENERAL

TEMA: “PRODUCCIÓN DE BIOGÁS UTILIZANDO BIOMASA RESIDUAL PECUARIA CON FIBRA VEGETAL Y ENRIQUECIDA CON LACTOSUERO, COMO ALTERNATIVA PARA MITIGAR LOS GASES DE EFECTO INVERNADERO”

AUTOR: Ing. Walter Eduardo Moreno Castillo

Grado académico: Ingeniero Agrónomo

Correo electrónico: eduwal1985@hotmail.com

DIRECTOR: Ing. Manolo Sebastián Muñoz Espinoza, Mg.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN: Producción agro-alimentaria y Medioambiente

A la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias

El Tribunal receptor del Trabajo de Investigación, presidido por el Ingeniero Marco Oswaldo Pérez Salinas Magíster, e integrado por los señores Médico Veterinario Zootecnista Byron Enrique Borja Caicedo Magister, y Bioquímica Farmacéutica Isabel Cristina López Villacis Magister designados por la Unidad Académica de Titulación de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Trabajo de Investigación con el tema: “PRODUCCIÓN DE BIOGÁS UTILIZANDO BIOMASA RESIDUAL PECUARIA CON FIBRA VEGETAL Y ENRIQUECIDA CON LACTOSUERO, COMO ALTERNATIVA PARA MITIGAR LOS GASES DE EFECTO INVERNADERO”, elaborado y presentado por el señor Ingeniero Walter Eduardo Moreno Castillo, para optar por el Grado Académico de Magíster en Agronomía Mención Cambio Climático; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Investigación; el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la UTA.



Firmado electrónicamente por:
**MARCO OSWALDO
PÉREZ SALINAS**

Ing. Marco Oswaldo Pérez Salinas, Mg.
Presidente del Tribunal



Firmado electrónicamente por:
**BYRON ENRIQUE
BORJA CAICEDO**

Mvz. Byron Enrique Borja Caicedo, Mg.
Miembro del Tribunal

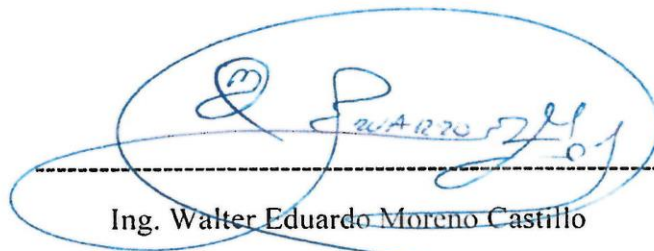


Firmado electrónicamente por:
**ISABEL
CRISTINA
LOPEZ**

Bqf. Isabel Cristina López Villacis, Mg.
Miembro del Tribunal

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el Trabajo de Investigación presentado con el tema: “PRODUCCIÓN DE BIOGÁS UTILIZANDO BIOMASA RESIDUAL PECUARIA CON FIBRA VEGETAL Y ENRIQUECIDA CON LACTOSUERO, COMO ALTERNATIVA PARA MITIGAR LOS GASES DE EFECTO INVERNADERO”, le corresponde exclusivamente a: Ingeniero Walter Eduardo Moreno Castillo, Autor bajo la Dirección del Ingeniero Manolo Sebastián Muñoz Espinoza, Mg., Director del Trabajo de Investigación; y al patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.



Ing. Walter Eduardo Moreno Castillo

c.c.: 1804081394

AUTOR



Firmado electrónicamente por:
MANOLO SEBASTIAN
MUNOZ ESPINOZA

Ing. Manolo Sebastián Muñoz Espinoza, Mg.

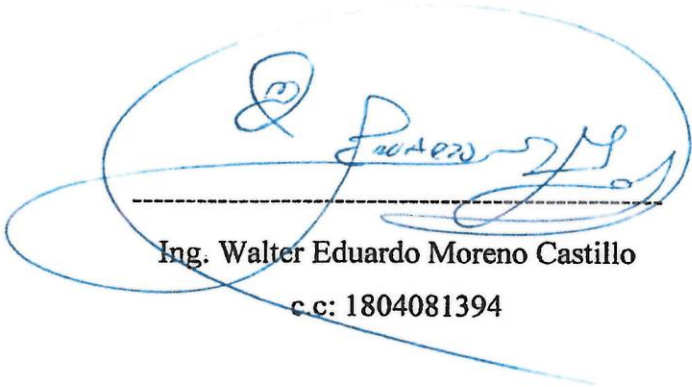
c.c.: 1104231640

DIRECTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Investigación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi trabajo, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad.



Ing. Walter Eduardo Moreno Castillo
c.c: 1804081394

DEDICATORIA

A Dios, a la Virgen de Agua Santa, A mi familia y a todas aquellas personas que de manera desinteresada e incondicional de una u otra manera me motivan e impulsan a continuar con mi formación moral, personal y profesional.

AGRADECIMIENTO

Mi sincero agradecimiento al Ing. Manolo Sebastián Muñoz Espinoza, Mg, Director de Tesis, por su dirección permanente en el desarrollo de la presente investigación, quien con sus conocimientos, consejos y seguimiento oportuno e incondicional ha contribuido con gran satisfacción en la culminación de este trabajo.

A los docentes que día a día compartieron sus experiencias en las aulas, igualmente a mis compañeros que dejan una huella muy importante en esta nueva etapa de refuerzo y aprendizaje.

A la Universidad Técnica de Ambato de manera especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, por acogerme nuevamente en sus instalaciones y darme la oportunidad de continuar formando parte de esta prestigiosa institución académica.

ÍNDICE GENERAL

Portada.....	i
Información General	ii
A la Unidad Académica de Titulación.....	iii
Autoría del Trabajo de Investigación	iv
Derechos de Autor.....	v
Dedicatoria	vi
Agradecimiento	vii
Índice General	viii
Índice de Tablas	xi
Índice de Figuras	xii
Índice de Anexos.....	xiii
Resumen.....	xvi
Abstract	xviii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1 TEMA.....	2
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.3 JUSTIFICACIÓN	6
1.4 OBJETIVOS	6
CAPÍTULO II	7
ESTADO DEL ARTE	7
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	8
2.1.1 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA	12
2.1.2 FUNDAMENTACIÓN LEGAL.....	13
2.1.3 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES	14
2.1.3.1 Emisiones de gases efecto invernadero.....	14
2.1.3.2 Biogás.....	15
2.1.3.3 Biomasa Residual.....	18
2.1.3.4 Fibra vegetal.....	19

2.1.3.5 Ácidos Grasos Volátiles	20
2.1.3.6 Lactosuero	21
2.1.3.7 Composición del lactosuero	22
CAPÍTULO III	23
METODOLOGÍA	23
3.1 ENFOQUE	23
3.2 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	23
3.3 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	24
3.4 HIPÓTESIS.....	24
3.5 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES.....	24
3.6 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	24
3.7 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	25
3.8 PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	27
3.8.1 UBICACIÓN DEL ENSAYO	27
3.8.2 METODOLOGÍA UTILIZADA.....	28
3.8.3 FACTORES EN ESTUDIO.....	28
3.8.4 TRATAMIENTOS.....	28
3.8.4.1 Obtención de la biomasa residual pecuaria.....	28
3.8.4.2 Obtención de fibra vegetal <i>Brachypodium phoenicoides</i>	29
3.8.4.3 Obtención del suero de leche	29
3.8.4.4 Preparación de muestras en laboratorio	29
3.8.5 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	31
3.8.5.1 Producción de biogás en unidades experimentales (<i>in vitro</i>).....	31
3.8.5.2 Producción de metano en unidades experimentales (<i>in vitro</i>)	31
3.8.5.3 Producción de Ácidos Grasos Volátiles AGVs.....	32
3.9 PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	32
3.9.1 DISEÑO EXPERIMENTAL	32
3.9.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	32
CAPÍTULO IV	32

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	32
4.1 RESULTADOS	32
4.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS	37
4.3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS	48
4.4 PROPUESTA PARA IMPLEMENTACIÓN DE RESULTADOS	49
4.4.1 DATOS INFORMATIVOS	49
4.4.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	49
4.4.3 JUSTIFICACIÓN	50
4.4.4 OBJETIVOS	52
4.4.4.1 Objetivo General	52
4.4.4.2 Objetivos específicos	52
4.4.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD	52
4.4.6 BENEFICIARIOS	52
4.4.7 FUNDAMENTACIÓN	53
4.4.8 METODOLOGÍA	53
4.4.9 CRONOGRAMA	54
4.4.10 PRESUPUESTO DE IMPLEMENTACIÓN	54
4.4.11 ADMINISTRACIÓN	55
4.4.12 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN	55
CAPÍTULO V	56
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	56
5.1 CONCLUSIONES	56
5.2 RECOMENDACIONES	57
BIBLIOGRAFÍA	58
ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Operacionalización de la variable independiente	26
Tabla 2.	Operacionalización de la variable dependiente	27
Tabla 3.	Tratamientos	28
Tabla 4.	Preparación de muestras	30
Tabla 5.	Análisis de varianza de producción acumulada de biogás <i>in vitro</i>	33
Tabla 6.	Prueba de significación de Tukey al 5% para producción acumulada biogás <i>in vitro</i>	34
Tabla 7.	Análisis de la varianza de producción acumulada de metano <i>in vitro</i>	35
Tabla 8.	Prueba de significación de Tukey al 5% para producción acumulada de metano <i>in vitro</i>	35
Tabla 9.	Producción de biogás <i>in vitro</i> de los tratamientos evaluados	38
Tabla 10.	Producción de metano <i>in vitro</i> de los tratamientos evaluados	40
Tabla 11.	Producción de ácidos grasos volátiles	45
Tabla 12.	Cronograma de implementación de la propuesta	54
Tabla 13.	Presupuesto referencial para implementación del biodigestor <i>in situ</i>	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Producción de biogás acumulado <i>in vitro</i>	34
Figura 2.	Producción de metano acumulado <i>in vitro</i>	36

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 24 horas	70
Anexo 2.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 48 horas	70
Anexo 3.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 72 horas	70
Anexo 4.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 96 horas	71
Anexo 5.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 120 horas	71
Anexo 6.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 144 horas	71
Anexo 7.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 168 horas	72
Anexo 8.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 192 horas	72
Anexo 9.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 216 horas	72
Anexo 10.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 240 horas	73
Anexo 11.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 264 horas	73
Anexo 12.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 288 horas	73
Anexo 13.	Datos de producción acumulada biogás <i>in vitro</i> a las 312 horas	74
Anexo 14.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 24 horas	74
Anexo 15.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 48 horas	74
Anexo 16.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 72 horas	75
Anexo 17.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 96 horas	75
Anexo 18.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 120 horas	75
Anexo 19.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 144 horas	76
Anexo 20.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 168 horas	76
Anexo 21.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 192 horas	76
Anexo 22.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 216 horas	77
Anexo 23.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 240 horas	77
Anexo 24.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 264 horas	77
Anexo 25.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 288 horas	78
Anexo 26.	Datos de producción acumulada metano <i>in vitro</i> a las 312 horas	78
Anexo 27.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 24 horas	78
Anexo 28.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 24 horas	79

Anexo 29.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 48 horas	79
Anexo 30.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 48 horas	79
Anexo 31.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 72 horas	80
Anexo 32.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 72 horas	80
Anexo 33.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 96 horas	80
Anexo 34.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 96 horas	81
Anexo 35.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 120 horas	81
Anexo 36.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 120 horas	81
Anexo 37.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 144 horas	82
Anexo 38.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 144 horas	82
Anexo 39.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 168 horas	82
Anexo 40.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 168 horas	83
Anexo 41.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 192 horas	83
Anexo 42.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 192 horas	83
Anexo 43.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 216 horas	84
Anexo 44.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 216 horas	84
Anexo 45.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 240 horas	84
Anexo 46.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 240 horas	85
Anexo 47.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 264 horas	85
Anexo 48.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 264 horas	85
Anexo 49.	Análisis de la varianza de producción de biogás a las 288 horas	86
Anexo 50.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 288 horas	86
Anexo 51.	Análisis de la varianza de producción de biogás in a las 312 horas	86
Anexo 52.	Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás a las 312 horas	87
Anexo 53.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 24 horas	87
Anexo 54.	Prueba de Tukey al 5% para producción de metano a las 24 horas	87
Anexo 55.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 48 horas	88
Anexo 56.	Prueba de Tukey al 5% para producción de metano a las 48 horas	88
Anexo 57.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 72 horas	88
Anexo 58.	Prueba de Tukey al 5% para producción de metano a las 72 horas	89

Anexo 59.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 96 horas	89
Anexo 60.	Prueba de Tukey al 5% para producción de metano a las 96 horas	89
Anexo 61.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 120 horas	90
Anexo 62.	Prueba de Tukey al 5% para producción de metano a las 120 horas	90
Anexo 63.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 144 horas	90
Anexo 64.	Prueba de Tukey al 5% para producción de metano a las 144 horas	91
Anexo 65.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 168 horas	91
Anexo 66.	Prueba de Tukey al 5% para producción de metano a las 168 horas	91
Anexo 67.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 192 horas	92
Anexo 68.	Prueba de Tukey al 5% para producción de metano a las 192 horas	92
Anexo 69.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 216 horas	92
Anexo 70.	Prueba de Tukey al 5% para producción de metano a las 216 horas	93
Anexo 71.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 240 horas	93
Anexo 72.	Prueba de Tukey al 5% para producción de metano a las 240 horas	93
Anexo 73.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 264 horas	94
Anexo 74.	Prueba de Tukey al 5% para producción metano a las 264 horas	94
Anexo 75.	Análisis de la varianza de producción de metano a las 288 horas	94
Anexo 76.	Prueba de Tukey al 5% para producción metano a las 288 horas	95
Anexo 77.	Análisis de la varianza de producción metano a las 312 horas	95
Anexo 78.	Prueba de Tukey al 5% para producción metano a las 312 horas	95
Anexo 79.	Análisis de la varianza para producción de ácido acético	96
Anexo 80.	Prueba de Tukey al 5% para producción ácido acético	96
Anexo 81.	Análisis de la varianza para producción de ácido propiónico	96
Anexo 82.	Prueba de Tukey al 5% para producción de ácido propiónico	97
Anexo 83.	Análisis de la varianza para producción de ácido butírico	97
Anexo 84.	Prueba de Tukey al 5% para producción de ácido butírico	97

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN AGRONOMÍA MENCIÓN CAMBIO CLIMÁTICO

TEMA:

“PRODUCCIÓN DE BIOGÁS UTILIZANDO BIOMASA RESIDUAL PECUARIA CON FIBRA VEGETAL Y ENRIQUECIDA CON LACTOSUERO, COMO ALTERNATIVA PARA MITIGAR LOS GASES DE EFECTO INVERNADERO”

Autor: Ing. Walter Eduardo Moreno Castillo

Director: Ing. Manolo Sebastián Muñoz Espinoza, Mg.

Fecha: 10 Julio 2020

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue producir biogás utilizando biomasa residual pecuaria con fibra vegetal y enriquecida con lactosuero. Donde se evaluó: el efecto de la combinación del material sólido en valor porcentual de 75% y 25%, mientras que la líquida al 100%, 75%, 50%, y 25% de concentración sobre la producción de biogás así como de metano *in vitro* y se determinó los contenidos de ácidos grasos volátiles. Los resultados acumulados a las 312 horas reportados indican que T4 (167,83 ml) presenta la mayor obtención de biogás *in vitro*, mostrando diferencias ($P < 0.05$) entre los tratamientos evaluados. En cuanto al metano producido el T1 produjo (1.78 ml) registrando ($P < 0.05$) diferencias significativas entre tratamientos, considerando en su mezcla 100% agua, sin adición alguna de suero, mientras T4 que involucró en su composición el 25% de suero de leche reportó el mayor desprendimiento de metano con un volumen de (1.32 ml) estabilizándose la producción a partir de las 192 horas entre los tratamiento que contenían suero en su formulación. Los ácidos grasos volátiles detectados mayoritariamente ($P = 0,0001$) fueron el ácido acético 69.96 mmol/mol en el

T4, ácido propiónico 25.05 mmol/mol, presentes en T1 (14.95 mmol/mol), T2 (14.28 mmol/mol), T3 (14.33 mmol/mol) y T5 (15.01 mmol/mol) de ácido butírico. Se puede concluir que el aprovechamiento de excreta bovina con fibra vegetal, enriquecida con el suero de leche a reducida concentración del 25% del (T4) se logra producir biogás y metano, lo cual constituye una alternativa energética y permite disminuir los gases efecto invernadero.

Palabras claves: Ácidos grasos volátiles, alternativa energética, biomasa residual pecuaria, cambio climático, fibra vegetal, gases efecto invernadero, *in vitro*, lactosuero, metano, producción de biogás.

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN AGRONOMÍA MENCIÓN CAMBIO CLIMÁTICO

TOPIC:

"BIOGAS PRODUCTION USING LIVESTOCK RESIDUAL BIOMASS WITH VEGETABLE FIBER AND ENRICHED WITH WHEY, AS AN ALTERNATIVE TO MITIGATE GREENHOUSE GASES"

Author: Ing. Walter Eduardo Moreno Castillo

Directed by: Ing. Manolo Sebastián Muñoz Espinoza, Mg.

Date: July 10th, 2020

ABSTRACT

The objective of this research was to produce biogas using residual livestock biomass with vegetable fiber and enriched with whey. Where it was evaluated: the effect of the combination of solid material in percentage value of 75% and 25%, while liquid at 100%, 75%, 50%, and 25% concentration on the production of biogas as well as methane in vitro and the contents of volatile fatty acids were determined. The results accumulated at 312 hours reported indicate that T4 (167.83 ml) presents the highest obtaining of biogas in vitro, showing differences ($P < 0.05$) between the evaluated treatments. Regarding the methane produced, T1 produced (1.78 ml) registering ($P < 0.05$) significant differences between treatments, considering in its mixture 100% water, without any addition of serum, while T4, which involved 25% of milk serum in its composition, reported the highest release of methane with a volume of (1.32 ml), stabilizing the production after 192 hours between the treatments that contained serum in its formulation. The most volatile fatty acids detected ($P = 0.0001$) were acetic acid 69.96 mmol / mol in T4, propionic acid 25.05 mmol / mol, present in T1 (14.95 mmol / mol), T2 (14.28 mmol / mol), T3 (14.33 mmol / mol) and T5 (15.01 mmol / mol) of

butyric acid. It can be concluded that the use of bovine excreta with vegetable fiber, enriched with whey at a reduced concentration of 25% of (T4), produces biogas and methane, which constitutes an energy alternative and allows reducing greenhouse gases.

Keywords: Volatile fatty acids, alternative energy, livestock residual biomass, climate change, vegetable fiber, greenhouse gases, *in vitro*, whey, methane, production of biogas.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de esta investigación pretende contribuir a generar biogás como un tipo de energía limpia, utilizando el suero de leche procedente de la fabricación quesera, biomasa residual bovina y fibra vegetal. Obteniendo así, una combinación de los vertidos queseros con otros materiales existentes en la zona como las excretas y paja, lo cual ayudará con el aprovechamiento de recursos de las fincas e industria láctea así como también a reducir la emisión de gases efecto invernadero y promover la producción de biogás como alternativa energética.

La energía utilizada en los sectores rurales en labores de quesería y producción pecuaria de manera convencional sobre las alternativas, contempla ventajas a nivel de accesibilidad debido a la facilidad de suministro y subsidio en cuanto al costo. Por lo anterior, los vertidos de la industria láctea y residuos de biomasa pecuaria que se obtienen rutinariamente es cuantiosa, a su vez son desperdiciadas sin previo tratamiento lo cual las convierten en fuente de contaminación. Por ello, para el tratamiento de lactosuero, la técnica de procesamiento anaeróbico es la única opción posible, pues brinda ventajas energéticas, al originar biogás y ventaja ambiental al disminuir el componente orgánico del suero de leche. Además, el producto gaseoso capturado puede ser empleado en la manufactura láctea para calentar marmitas o calderos (Saddoud, 2007). El biogás como resultante de la conversión anaeróbica, producto donde la materia orgánica es transformada en energía constituida por: (60-70%) metano, (40-30%) dióxido de carbono, amoníaco, sulfuro de hidrógeno, y diversos concentrados orgánicos (TsaiyLin, 2009).

Las investigaciones, desde hace varios años, además del aprovechamiento energético del suero láctico a través de la producción de biogás, se han enfocado también como tecnología que contempla la disminución de malos olores, mineralización del nitrógeno orgánico, descenso de agentes patógenos, mitigación de gases efecto invernadero y

mejorar la gestión de residuos orgánicos (Sahlström, 2003; Mann & col., 2004).

Basado en lo anterior, el objetivo de la presente investigación es evaluar el efecto de la biomasa residual pecuaria con fibra vegetal enriquecida con lactosuero sobre la producción de biogás y producción de metano.

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 TEMA

Producción de biogás utilizando biomasa residual pecuaria con fibra vegetal, enriquecida con lactosuero, como alternativa para mitigar los gases de efecto invernadero.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El problema de estudio es el deficiente aprovechamiento de la biomasa residual pecuaria, a la que se suma el lactosuero procedente de las queserías lo que implica el acrecentamiento de emisiones de los gases efecto invernadero expulsados a la atmósfera.

1.2.1 Contextualización

Durante las etapas de producción ganadera se generan gases referentes a metano, óxido nítrico, dióxido de carbono como precursores que favorecen de forma mayoritaria a las emisiones de gases de efecto invernadero, alrededor de 1.3 gigatoneladas de estos gases, representan el 18% de las emisiones a nivel mundial, son inducidas por los países de América Latina y el Caribe cada año, como producto de las acciones agropecuarias, deforestación y demás inherentes (Armando, Cárdenas, & Flores, 2012).

El suero láctico procedente de la industria alimentaria es uno de los subproductos con alta capacidad contaminante, por su significativo contenido de materia orgánica, además por su concentración de lactosa se la faculta como sustancia con potencialidad de originar sustrato fermentable microbiano. El lactosuero sin tratamiento en cantidades que varían entre 0.25 y 0.30 litros son equivalente a las aguas residuales depositadas durante un día por individuo (Navas, 2011), dicho de otra manera, 1000 litros de suero tiene el potencial contaminante equivalente al de aguas servidas producidas por 450 personas/día, implica su descomposición la generación de gases efecto invernadero, por ende al cambio climático. Generalmente por la producción de 1.0 Kg de queso se separan 9.0 Kg de lactosuero, utilizando 10.0 litros de leche, donde el subproducto retiene un 55% de sus nutrientes y aproximadamente representa del 85% al 95% del volumen inicial utilizado (Singh, 2004).

Los productores de quesos que forman parte de la manufactura de la producción láctea, se identifican precisamente por la generación de lactosuero, parte resultante del proceso de elaboración del queso. El lactosuero contiene grandes cantidades de materia orgánica en su forma original proteínas, lactosa y sumado otros componentes como ácido láctico, sales minerales, grasas y agua procedentes de la leche. El vertido que se produce de una manera incontrolada hacia alcantarillados, quebradas y cultivos, se convierte en un potencial contaminante que lleva consigo un impacto perjudicial para el ambiente donde se desarrollan este tipo de actividades, incluso sectores aledaños por el traslado en combinación con otro tipo de fluidos (Rodríguez, Torres, Elia, Palao, & Barrios, 2016). Cabe indicar que aproximadamente se produce de 145 millones de toneladas de lactosuero a nivel mundial por año con registro alto DQO (Demanda Química de Oxígeno) que oscila entre de 50.000-80.000 mg/l, lo que significa una demanda extremadamente alta de oxígeno al verterla sin tratamiento en cuerpos receptores (Parra, 2015), mientras que la DBO (demanda biológica de oxígeno) está en rango de 30.000 a 50.000 mg/l (Ávila, Cárdenas & Medina, 2000), aporte que se suma a la acumulación de gases efecto invernadero en la atmósfera por la transformación microbiana de la materia orgánica.

1.2.2 Análisis crítico

Hoy en día el tratamiento de los remanentes orgánicos se ha transformado en un propósito y a la vez una dificultad, a razón que existe una creciente generación de desechos de múltiples procedencias entre éstas agrícolas, especies pecuarias, desechos urbanos, y demás, es por esto que en la actualidad se está examinando de forma investigativa la manera de beneficiar de éstos residuos, produciendo fuentes alternativas limpias de energía calórica que reemplacen a la fósil (Smil, 2004).

La exploración científica en el área de energías con factibilidad de renovación, en búsqueda del amortiguamiento del efecto invernadero, hace que novedosas disyuntivas energéticas de origen orgánico sean realizables, así como el biogás producido de excrementos animales, el cual se deriva en una fuente sustituible de combustible fósil (Severiche Sierra, C. A., & Acevedo Barrios, 2013). Este gas resultante de la descomposición puede ser apresado y usado como producto combustible. Entonces, la asimilación anaeróbica, como proceso de tratamiento de biomasa residual, permite reducir la proporción de materia orgánica contaminante, al fijarla como bioabonos, de igual manera producir energía aprovechable como el biogás (Varnero, 2011).

1.2.3 Prognosis

El incorrecto manejo de excretas pecuarias, así como las descargas de lactosuero de las fábricas de quesos, promueve al aprovechamiento de múltiples desecho orgánicos para la producción de biogás, como una alternativa enfocada a la mitigación de gases efecto invernadero.

1.2.4 Formulación del Problema

¿La inexistencia de tratamiento de biomasa residual pecuaria proveniente de crianza de animales y el lactosuero de las queseras, ocasionan la generación de gases de efecto invernadero?

1.2.5 Interrogantes

¿El restringido conocimiento sobre prácticas alternas para el aprovechamiento de los residuos orgánicos hace que no se exploten los múltiples desechos agropecuarios y de la industria láctea?

¿La utilización de enriquecedor lactosuero, combinado con biomasa pecuaria y paja incide en la producción de biogás?

¿El empleo de desperdicios proveniente de queserías influye en la producción de biogás?

1.2.6 Delimitación del objeto de investigación

Campo: Agronomía

Área: Producción agro-alimentaria y Medioambiente

Aspecto: Aprovechamiento de biomasa pecuaria, enriquecida con lactosuero para la producción de biogás *in vitro*.

Temporal: El tiempo del problema y la investigación se realizó en el segundo semestre del 2019 y primer semestre del 2020.

Espacial: La actual investigación se llevó a cabo en la Granja Experimental Campus Querochaca en la Facultad de Ciencias Agropecuarias conformante de la Universidad Técnica de Ambato, cantón Cevallos Provincia de Tungurahua a una distancia 20 Km dirección sur de Ambato con una altitud de 2852 msnm, cuyas coordenadas geográficas

reportadas por el (Sistema de Posicionamiento Global - GPS) son: 01° 22' 0.2'' de latitud Sur y 78° 36' 22'' de longitud Oeste.

1.3 JUSTIFICACIÓN

En zonas rurales de producción, los medianos y pequeños agricultores se dedican como complemento de la agricultura a la crianza de especies pecuarias como el ganado vacuno, ovino, porcinos, caprino y especies menores entre éstas: aves, cobayos y conejos. Mientras que, algunos han conformado pequeñas empresas de valor agregado donde reciben la leche para fabricación de su derivado, principalmente el queso. Sin embargo, de dichas labores se generan desechos sólidos y líquidos, donde las excretas son nuevamente incorporadas al suelo para la abonadura de los cultivos, los fluidos de suero de queseras, una mínima parte se utiliza para alimentación de cerdos y el resto son vertidos directamente al sistema de alcantarillado o cuerpos de agua. Uno de los problemas más grandes, es el desconocimiento de los productores sobre la emisión de gases contaminantes que se generan durante el proceso de descomposición de los desechos resultado de sus actividades. En este contexto, la producción de biogás con residuos de excretas en mezcla con desecho líquido de la microempresa láctea es favorable, debido a que su procesamiento influirá positivamente sobre la mitigación de gases efecto invernadero.

La utilización de algunos desechos orgánicos no se limita específicamente a incorporarlos al suelo o en alimentación animal. Por esta razón, la presente investigación tiene como propósito utilizar de manera eficiente la biomasa residual pecuaria en combinación con lactosuero para la producción de biogás.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 General

- Producir biogás utilizando biomasa residual pecuaria, fibra vegetal (paja) enriquecida con lactosuero proveniente de fábrica quesera, para el aprovechamiento energético como alternativa para mitigar la emisión de gases efecto invernadero.

1.4.2 Específicos

- Evaluar el efecto de la biomasa residual pecuaria con fibra vegetal (paja), enriquecida con lactosuero sobre la producción de biogás.
- Determinar la producción de metano de la combinación de biomasa residual pecuaria con fibra vegetal (paja), enriquecida con lactosuero.
- Determinar la composición de Ácidos Grasos Volátiles de la combinación de biomasa residual pecuaria paja (fibra vegetal), enriquecida con lactosuero.

CAPÍTULO II ESTADO DEL ARTE

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

En la actualidad, mundialmente se produce y consume biogás a nivel de domicilio como industria, de tal modo que se ha convertido en una fuente de combustible alterna, respecto aquellos de generación fósil. La producción de biogás se puede realizar aprovechando una infinidad de desechos orgánicos como pueden ser de origen animal, vegetal y demás biodegradables procedentes de las industrias. El tratamiento de éstos desechos de acuerdo a su origen pueden ser de forma independiente o en mezcla (FAO, 2011).

El resultado de la acción de bacterias anaeróbicas sobre material orgánico, da como resultado el biogás, según un modelamiento de producción, está conformado por distintos gases, entre ellos: el (CH_4) Metano concentrado en rango de 55 a 70%; (CO_2) Anhídrido carbónico del 35 a 40%; (N_2) Nitrógeno concentrado entre 0.5 a 5%; y Sulfuro de Hidrógeno (SH_2) aproximadamente con el 0.1% (Chica & López, 2011). Adicionalmente se constituyen por otros gases procedentes del vapor de agua saturado en concentración de 5 – 10% (H_2O), como efecto del ingreso de aire por fugas o fracturas se encuentra (O_2) entre el 0 -1%, por la descomposición de la proteína de orina presente en la excreta se concentra (NH_3) amoníaco, así mismo se detectan en la composición hidrocarburos entre el 0 - 20 mg/m^3 y siloxanos con rango entre 0 - 41 mg/m^3 , en su mayoría se los considera contaminantes del propio biogás (Angelidaki et al., 2018).

En cuanto a emisiones, el 8.0 Giga Toneladas de (CH_4) emitido está ligado directamente a las acciones humanas (Pratt et al., 2018). Desde el año 1970 a 2011 ha existido un incremento acelerado del 90% de gases efecto invernadero y como resultado se reflejan el acrecentamiento de fuentes de emisiones y descenso de los sumideros (Albiac et al., 2017).

Como producto de la actividad ganadera, se originan gases como: metano, dióxido de carbono y óxido nitroso, los cuales contribuyen significativamente a las emisiones de

efecto invernadero. Aproximadamente 1.3 Gigatoneladas de estos gases, es decir el 18% de las emisiones a nivel mundial, son provocadas anualmente por los países de América Latina y el Caribe, como resultado de las acciones agropecuarias, ganadería, agricultura, deforestación masiva y otras (Armando, Cárdenas, & Flores, 2012).

Según el (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2017), en cuanto a la actividad ganadera, en Ecuador se reporta 4'190,611 cabezas de ganado vacuno a nivel nacional en la región sierra 2,048 y en la provincia de Tungurahua 108.133 unidades bovinas. Con respecto a lo anterior, el (Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria, 2000) estima, que la generación de estiércol en base húmeda por cada 100 kilogramos de peso vivo es de 6 kg. Mientras que en promedio a nivel mundial se estima que los residuos sólidos son de 20kg/vaca/día, considerando que existen mil millones de unidades bovinas distribuidas con el 33.3% en Asia, Europa 36.6%, África 17.9%, Oceanía 2.7% y con una tendencia a generar 27 millones de toneladas de excreta en el mundo (Chu & Wang, 2017).

En el caso del Cantón Quero, los registros de la Segunda Fase de Vacunación contra la Fiebre Aftosa realizada en noviembre del 2018, reporta una población bovina de 20,518.00 cabezas de ganado, categorizados en 4,619.00 toros, 7,870.00 vacas, 1,442.00 terneros, 1,431.00 terneras, 2,756.00 toretes y 2,400.00 vaconas. Donde la producción lechera promedio es de 10 litros/día/vaca, obteniendo un total de 78,700.00 litros/día de leche, donde la utilización es del (25%) 19,675.0 litros para la fabricación quesera, existiendo una generación de 17,340.0 lt de suero con una producción total de 1,967.5 Kg de queso.

Mientras que reportes para el año 2000 indicaron, que el estado ecuatoriano en cuanto a emisiones de CH₄ originados por excremento de animales, reflejaron 182 Giga gramos (Gg) de metano (Cornejo, Wilkie, & Uu, 2010).

Para el aprovechamiento de biomasa residual pecuaria y coproductos de las queseras, estudios indican, que se logra una concentración del 82% de gas metano estabilizado a

pH de 7.0, en mezcla compuesta por 4 litros de suero de leche, 200 g de residuos de queso, desperdicio de crema 200g, inoculante (microorganismos metanogénicos obtenido por previa digestión de excremento de cabra) 200 g y excreta de cabra 1200g. Volumen fermentado de 5 litros en un contenedor con capacidad de 10 litros; en cuyo informe indican que la cantidad de suero fue relativamente baja (Magaña-Ramírez & Rubio-Núñez, 2011). Así mismo, el suero por su elevada degradabilidad, sumada su alto contenido de materia orgánica y por su reducida alcalinidad (50mg/l), la formulación tiende acidificarse de forma rápida (Saddoud, 2007). Sin embargo, la condición alcalina puede ser suministrada artificialmente a través de sustratos para mezclarlos en el suero láctico (Kalyuzhnyi, 1997).

Por otra parte, la evaluación de producción de biogás a nivel de laboratorio ejecutada por (Samuel et al., 2014), explican que se ensayaron mezclas a partir de sólidos totales del 47% de excreta bovina con suero y agua en proporciones diluidas del 10, 15 y 20%, de los resultados en producción de gas, se evidenció valores aceptables en la formulación del 20% de suero con el rendimiento promedio de 39.99 ml y agua con el 14.99 ml, considerando que el uso de suero lácteo es una fuente viable en la generación de energía alterna y una forma eficiente de aprovechar los residuos de las queseras.

Igualmente, (Barrena et al., 2017) efectuaron a nivel de laboratorio la mezcla de excremento bovino, lactosuero y chips de totora en relación 1:5 entre estiércol y agua, con 4ml de suero por cada 100ml de mezcla en concentración del 4%, 3gramos de totora por cada 100ml de excremento a concentración del 3%. Obteniendo una producción de 1,400 ml de biogás en biodigestores para fase líquida de 10 litros y con capacidad operativa para el gas de 2 litros, a la vez argumentan que la utilización de efluentes de la industria quesera en combinación con estiércol bovino se optimiza la producción de biogás.

Según (Saddoud et al., 2007), cuando la producción de gas metano es superior al 70% se considera que la digestión tuvo un aceptable desempeño. Al utilizar lactosuero

combinado con excretas de aves de corral y con estiércol de bovino, donde se produjo el 64% y 63%, de contenido de gas metano respectivamente (Patel & Madamwar, 1999).

El lactosuero del queso puede ser degradado de manera eficiente en una sola etapa, cuando éste se combina con excretas de bovinos y en ausencia de correctores de pH. La mezcla es lactosuero 50% y efluentes de las excretas de ganado vacuno del 50%, se han alcanzado valores significativos y una buena biodigestión. En cuanto a la generación de biogás utilizando suero, es posible generar entre 9 y 23 m³ de CH₄/m³ de suero, equivalente entre 7.0 y 18Kg de gas proveniente del petróleo (Hernández, 2015).

Investigación sobre la caracterización y producción de excretas indica, que la biomasa residual de los bovinos no se degrada tan fácilmente en comparación con el suero, sin embargo, el subproducto láctico tiende acidificar rápidamente la mezcla, por lo que es imprescindible añadir excreta para incrementar la alcalinidad y lograr su estabilización (Siso, 1996).

En cuanto a la capacidad de conversión del suero a biogás se estima, que 1000 litros de subproducto láctico podría producir 36 m³ de gas metano concentrado al 65% (Speece, 2008).

Con respecto a la estimación de metano, (Galván & Mella, 2018), señalan que para establecer el potencial metanogénico de los distintos sustratos y lograr evaluar la producción de metano *in vitro*, se han realizado simulaciones del ambiente ruminal, bajo condiciones de laboratorio. Del mismo modo describen técnicas donde las muestras son directamente inyectadas en el cromatógrafo de gases que registra la concentración de metano en tiempo real, otro método es inyectar el gas acumulado en una solución de hidróxido de sodio NaOH y finalmente es adaptar a un medidor portátil de gases a los frascos incubados con los sustratos. Por otra parte la técnica empleada por (Pinto et al., 2009) consistió en medir la producción de gas *in vitro* utilizando un transductor para

registrar la presión y una jeringa plástica para medir el volumen del gas generado en mililitros.

2.1.1 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

En la actualidad el Ecuador, apunta hacia el cambio de matriz productiva en un período a largo plazo, dando una mayor relevancia a investigaciones que involucren la generación de biogás con potencialidad de uso combustible, mediante la aplicación de métodos que buscan la mitigación de gases efecto invernadero y que sean amigables con el entorno ambiental (Senplades, 2017).

Entre los modelos filosóficos existentes, el que se implementó en ésta investigación se refiere a la percepción que se realizan con los diferentes sentidos, y que conllevan precisamente al juzgamiento y constatación cuantitativa de los hechos. El paradigma está catalogado como positivista, quien busca un conocimiento que sea ordenado, se lo pueda comparar, sea medible y además factible para replicarlo. Cuya metodología científica se la implantó en el área de ciencias naturales y posteriormente en el área educativa. A la vez del paradigma se deriva que los casos, fenómenos u objetos que se desean estudiar deben tener la condición de observables, considerando a estos como fácticos de medición, análisis y monitoreo experimental. Sin embargo el conocimiento positivista no ampara a los hechos concretos, casos aislados y eventos irrepetibles, indagando en la exactitud que permitan divulgarlos (Ramos, 2019).

Por lo tanto, entendiéndose por ciencia al proceso sistémico hipotético deductivo, implícito método de conocimiento formal o experimental. Puesto que todos los fenómenos u objetos, cumplen con los requisitos indicados y están encaminados a ser sometidos a las pruebas para convertirse en conocimiento acreditado, por ende los aspectos subjetivos se discriminan de toda la investigación científica (Herrera et al., 2004).

2.1.2 FUNDAMENTACIÓN LEGAL

Según la Constitución Política de la República del Ecuador, Registro Oficial 449, del 20 de octubre del 2008. En el Título II de los Derechos, Capítulo Segundo, Derechos del buen vivir, en su cuerpo legal indica.

“Art. 14. Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*.

Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Art. 15. El Estado promoverá, en el sector público y privado, el uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto. La soberanía energética no se alcanzará en detrimento de la soberanía alimentaria, ni afectará el derecho al agua.

La Constitución Política de la República del Ecuador, Registro Oficial 449, del 20 de octubre del 2008, constan dos artículos específicos conciliados con la gestión sobre cambio climático en el país.

El Art. 413. busca promover la eficiencia energética; el desarrollo y uso de prácticas y tecnologías ambientalmente limpias y sanas; las energías renovables, diversificadas, de bajo impacto que no pongan en riesgo la soberanía alimentaria; el equilibrio ecológico de los ecosistemas; y el derecho al agua.

El Art. 414. busca la adopción de medidas adecuadas y transversales para la mitigación del cambio climático mediante la limitación tanto de las emisiones de Gases Efecto Invernadero, como de la deforestación y la contaminación atmosférica; adoptando

además medidas para la conservación de los bosques y la vegetación; y para la protección de la población en riesgo” (Asamblea Constituyente del Ecuador, 2008).

(Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático, 1994), del cual Ecuador forma parte, donde el objetivo es “lograr la estabilización de las concentraciones de Gases Efecto Invernadero en la atmósfera, a un nivel que impida interferencias antropogénicas negativas en el sistema climático, además suscribió el 26 de julio de 2016, el acuerdo de París que reemplazará al Protocolo de Kioto”.

El Ministerio de Ambiente del Ecuador (2012), acatando acuerdos de las Conferencias de las Partes dado en la Convención Marco de las Naciones Unidas, “señala que en el país, mediante Acuerdo Ministerial No. 095 de fecha 19 de julio de 2012, publicado en el Registro Oficial Suplemento No. 9 del 17 de junio del 2013, Establece como Política de Estado a la Estrategia Nacional de Cambio Climático como una herramienta de planificación intersectorial, cuyos mecanismos de implementación son los planes nacionales de: Mitigación, Adaptación, Creación y Fortalecimiento de condiciones”.

Asimismo, en Ecuador de acuerdo al Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021 en su objetivo 3, se indica que se “aprovechará la energía proveniente de transformaciones de material orgánico y se consolidará y ampliará la matriz energética basada en energías renovables y otras no convencionales” (Senplades, 2017).

2.1.3 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

2.1.3.1 Emisiones de gases efecto invernadero

A nivel global, la economía es íntimamente dependiente del combustible fósil donde varios estudios reflejan su paulatino agotamiento. Adicionalmente su uso ocasiona contaminación del ambiente y generación de gases efecto invernadero (Parra, 2015).

La liberación de metano CH₄ y dióxido de carbono CO₂ hacia la atmósfera, ha inducido en el proceso de calentamiento del globo terrestre, producto de las múltiples emisiones derivadas de la producción energética y la utilización de combustibles de origen fósil (González et al., 2005).

Durante el último siglo la temperatura del estrato del planeta ha aumentado 0,7 °C (celsius). En las regiones de los polos debido al incremento de temperatura de los océanos se evidencian importantes deshielos, existiendo la probabilidad de seguir subiendo el nivel del mar. El IPCC (Panel Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático), a través de sus reportes concluye que los gases efecto invernadero emitido, se debe a las acciones humanas, como las labores agropecuarias que es uno de los imperantes causantes de gases efecto invernadero, como derivación de la fermentación entérica que emite 72 a 76 Tera gigas de CH₄, residuos de estiércol en sistemas de pastoreo 35 a 69 Tera gigas CH₄, excesiva incorporación de enmiendas industriales en cultivos 31 a 83 Tera gigas CH₄, ignición de rastrojo 14 a 88 Tera giga CH₄, uso de combustible fósil 82 a 114 Tera giga de metano (Lal, 2015).

2.1.3.2 Biogás

Desperdicios como excretas y aguas residuales, hace muchos años se los utilizaba con propósitos energéticos, los primeros reportes de uso del biogás evidencia de hace unos 2 mil años en el continente asiático. Durante la década de 1800, la China e India usaban como combustible el biogás para calentamiento de agua. Las técnicas mejoradas impulsaron su producción, en la década de 1920 precedente a la Primera Guerra Mundial ya se estaba provisionando de biometano a una red de distribución. A partir de 1949, el biogás comprimido se utiliza para generar combustión en motores de automóviles (Maghanaki, et al., 2013).

El biogás es resultado de actividades de bacterias metanógenas, durante la digestión en ausencia de oxígeno (anaeróbica). Para la replicación de las condiciones específicas se

utiliza reactores que son unidades herméticas, como membranas termos sellados, botellas, baldes, tanques. Las unidades más simples para producción experimental son frascos de vidrio cerrados. El biogás producido, es una combinación generalmente de metano y dióxido de carbono incluyendo diversas trazas de otros gases. Se atribuye que el metano es el inductor energético y su composición varía de 50% a 75 %. El metano genera poder calorífico que fluctúa entre 5.500 a 6.000 Kcal y es posible aprovecharlo en distintas actividades productivas (Steffen et al., 2010).

La procedencia del biogás, se debe al producto obtenido del tratamiento de transformación por acción del consorcio sinérgico de microorganismos sobre sustratos orgánicos complejos lipídicos, proteicos y carbohidratos, transformándolos en fragmentos de bajo peso molecular para ser utilizados por bacterias acetogénicas que producen hidrógeno, moléculas que son usados por metanogénicos para producir metano. La recuperación de energía en forma de biogás reduce las emisiones de efecto invernadero y se convierte en fuente de energía renovable (Ward et al., 2008).

Parsaee, Kiani, & Karimi, (2019), indican que la mezcla de componentes del biogás que supera la concentración del 40%, se caracteriza por ser inflamable. Su producción implica un proceso de cuatro fases que involucra, el proceso de hidrólisis de la materia orgánica, donde actúan las bacterias *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Thermomonospora*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Ruminococcus*, *Bacteriodes*, *Microbispora*, algunas relacionadas a la familia *Enterobacteriaceae* *Acetovibrio*, en la fase de acidogénesis, trabajan microorganismos *Lactobacillus*, *Bacillus* y *Escherichia*, la etapa de acetogénesis accionada por *Acetobacterium*, *Clostridium*, *Syntrophomonas*, *Sporomusa*, *Eubacterium* y *Thermosyntropha*, en la etapa metanogénica donde se encuentran arqueas como *Methanococcus*, *Methanolobus* y *Methanosarcyna* que producen el metano. La producción óptima de biogás, depende de las condiciones del medio donde se desarrolla el consorcio bacteriano, en condiciones con temperatura que oscila entre 35 a 55°C y pH en rangos de 6 a 7.5.

Los niveles tróficos de la interacción entre sustrato y la comunidad microbiana, transforman el material orgánico en paralelo para generar biogás. Inicialmente la base orgánica por liquefacción reduce los polímeros en monómeros por acción de exoenzimas hidrolíticas. Posteriormente con la acidogénesis, el producto orgánico soluble de la hidrólisis se transforman en ácidos orgánicos como: el butírate, propionato y acetato. Inmediatamente éstos se convierten en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono. Finalmente los compuestos provenientes de la acetogénesis entran a la etapa metabólica del metano a partir del CO₂ e H₂ en fase de metanogénesis (Acosta, Y. Obaya, 2005).

Autolines et al., (2015) refieren, que en la producción de biogás, durante la etapa anaeróbica se desencadenan procesos bioquímicos que promueven finalmente la generación de metano. A continuación señalan las reacciones inmersas en la degradación del sustrato orgánico:

Acidogénesis del carbohidrato a ácido acético



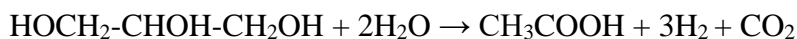
Acetogénesis del propionato



Acetogénesis del ácido láctico



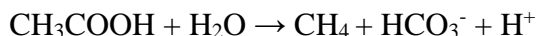
Acetogénesis del glicerol



Acetogénesis hidrogenoclástica



Metanogénesis acetoclástica



Metanogénesis hidrogenoclástica $4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$

En cuanto a los constituyentes químicos principales del biogás generalmente obtenidos son: metano 40% a 70%, dióxido de carbono 30% a 60%, hidrógeno 0.1%, nitrógeno 0.5%, monóxido de carbono 0.1%, oxígeno (O₂) 0.1%, sulfuro de hidrógeno (H₂S). Se recalca que la concentración de gas depende del contenido y del tipo de proceso utilizado para su obtención (Cantuña, 2018).

Según (Diouf & Miezán, 2019), la utilización del biogás permite optimizar los recursos provenientes de las especies animales y reducir el consumo de la biomasa vegetal, por ende la deforestación. El uso de la tecnología de biogás fomenta el éxito de la entrega de energía limpia y con el desafío de mitigar los niveles de contaminación que actualmente está orientado a la población de los países en desarrollo y encaminados a reducir la emisión de gases efecto invernadero.

2.1.3.3 Biomasa Residual

Se conceptualiza generalmente como biomasa, a la materia que proviene de un proceso biológico, es todo el conjunto aglutinado de sustancias y materiales que se derivan de organismos que tienen vida, como vegetales y animales, incluidos los que han tenido modificaciones naturales o artificiales. En cuanto a la clasificación de la biomasa, se diferencian entre ellas: la biomasa natural, que corresponde la hojarasca, árboles caídos, heces de animales silvestres, es decir, aquella que se producen sin la intervención humana, la biomasa residual, que se origina como parte de la intervención del hombre en las actividades agrícolas y de ganadería, sumada la basura así también vertidos residuales, y, finalmente la biomasa producida, que se refiere a la que se cultiva con propósitos de transformación industrial más no con fines alimenticios directos (Wellinger et al., 2013).

Según la función que cumplen se clasifican, la biomasa inóculo, que contiene composición bacteriana que se introducen en forma de inóculo al proceso de degradación. Biomasa sustrato, es aquella donde realiza la actividad fermentativa los organismos bacterianos pudiendo ser la producida, residual y natural. De la elección de la biomasa depende la producción de metano cuál sea el método utilizado (Quintero, 2016).

Mientras que, la excreta vacuna es el resultado del proceso de fermentación anaeróbica dado internamente en el intestino de los animales rumiantes, catalogado como desecho no aprovechado por el rumiante. El fermento sintetiza una proporción de proteína que se desperdicia junto como energía no utilizada. La presencia de colonias microbianas en las excretas, se limita por la baja disponibilidad de carbohidratos. El estiércol vacuno generalmente varía su composición debido a factores de procedencia de la especie, tipo de aprovechamiento, sistema de producción y el tipo de alimentación proporcionado (Cárdenas, 2012).

2.1.3.4 Fibra vegetal

La conceptualización estructural y química de fibra indica, que es un conglomerado de componentes que forman un entramado de estructural de lignina, celulosa y hemicelulosa 14 a 17 %, comúnmente se los asocia con poseer minerales. Inicialmente se los consideraba de ningún beneficio nutricional, a razón que conforman solamente la pared celular con su composición indigestible. Sin embargo poseen relación de simbiosis con microorganismos que se adhieren a la pared celular lo cual incrementa la degradación de sus componentes por lo tanto la fermentación de la fibra. Entre los factores ligados a la fuente de fibra es la edad de la planta, mientras sigue el ciclo incrementa el contenido de estructuras fibróticas y lignificación (Guzmán, 2011).

A la poácea *Brachypodium phoenicoides* comúnmente llamada paja de burro, se la considera como una especie autóctona que habita en varias zonas del país, comúnmente

se localizan en suelos áridos, cuyo requerimiento edafoclimático es bastante ordinario, así prefiere múltiples clases de suelos como pueden ser calizos o silíceos a su vez la composición de sustrato donde se localizan puede ser arenoso, limoso o arcilloso. Comúnmente se encuentran en territorios pedregosos, medianamente profundos, del mismo modo bajo en nutrientes (CAREX, 2019).

2.1.3.5 Ácidos Grasos Volátiles

Los ácidos grasos volátiles incluyen aquellos ácidos carboxílicos de cadena corta que contienen 2 a 5 carbonos como productos intermedios que se generan durante el proceso de la degradación anaerobia de biomasa residual biológica o material orgánico, estos corresponden al resultado obtenido de la acidogénica y a su vez actúan intensivamente siendo sustrato en la etapa acetogénica. Es fundamental indicar que, el 15% del metano derivado del tratamiento fermentativo metabólico de las macromoléculas orgánicas proceden de los ácidos grasos volátiles. En caso de que estos se encontraran en grandes concentraciones en una combinación de productos para generación de biogás, pueden ocasionar que los agentes degradadores microbianos tengan alteraciones no regulares por lo tanto conlleven a un estrés. Los registros de ácidos grasos volátiles se obtiene midiendo de forma indirecta mediante alcalinidad, de otra forma se puede realizar una cromatografía de gases o a su vez pasando por fase líquida los ácidos grasos, posteriormente liofilizarlos y mediante un solvente, provocando que se solubilice y extraerlos para cuantificarlos (González et al., 2005).

Los carbohidratos en el proceso hidrolítico son transformados por microorganismos hasta desdoblarlos en azúcares, éstos al ser tomados y metabolizados por bacterias fermentativas se convierten en (AGVs) ácidos grasos volátiles, CH₄, dióxido de carbono, radiación energética y calor. La degradación de los carbohidratos sigue el camino metabólico con ello en el trayecto acidogénico se originan los ácidos grasos volátiles que mayoritariamente son el acético, ácido propiónico y butírico, además otros

de gran importancia para desarrollar microorganismos celulolíticos, entre ellos el 2-metilbutirato, isobutirato e isovalerato (Castillejos, 2005).

En la producción metanogena intervienen estructuras orgánicas procedentes de la etapa de acidogénesis que se traducen en intermediarios de la desnaturalización de los monómeros liberados en la reacción fermentativa, hallándose en mayor proporción el ácido acético regulador del metabolismo anaerobio, además encontrándose el propiónico, butírico, el ácido láctico, y pudiendo estructurarse un número reducido de alcoholes. Donde el ácido acético, el fórmico, CO_2 e H_2 se los considera como los relevantes precursores del CH_4 que previamente han sido metabolizados por arqueas estrictamente anaerobias sensitivas al oxígeno (Briseño, 2017).

Los ácidos grasos volátiles en la producción de CH_4 son considerados de gran valor debido a que son elementales para desencadenar la metanogénesis. Sin embargo, su distintivo ácido llega a inestabilizar el entorno de basicidad y acidéz del proceso, considerando que la producción de metano y biogás está ligada a la concentración de los ácidos grasos volátiles. La presencia de espumante, descenso de la temperatura y el suministro sobredimensionado de material orgánico, son detonantes para provocar la acumulación en exceso y que el sistema de producción de CH_4 se altere. Además, su enorme presencia que extrema la capacidad de asimilar los derivados acidogénicos por parte de las arqueas metanogénicas, podría ocasionar una disminución gradual de las condiciones alcalinas del medio y potencialmente el depósito de grandes cantidades de AGVs lo cual es factible contrarrestar con adición de agentes alcalinizantes y neutralizantes para mantener estabilidad en la producción de metano (Rodríguez, 2018).

2.1.3.6 Lactosuero

La denominación de lactosuero o suero de las queseras se refiere a toda sustancia de característica líquida, resultado de su partición del coágulo de la leche en el proceso de

elaboración de quesos, posterior a la precipitación de caseína, presentando un aspecto turbio y verdoso. El aprovechamiento del subproducto de la leche (suero) se dio hace unos 7 mil años, se utilizaban con propósito de cicatrizar heridas, tratamiento de infecciones, enfermedades gastrointestinales, es decir con fines médicos. No obstante posee diversas funcionalidades, en la edad moderna se la consideró por los fabricantes como un desecho, lo cual genera una problemática para el ambiente. Sin embargo en el siglo veinte muchas acciones tecnológicas han permitido que en algo se la convierta en materia prima. El lactosuero vertidos sin debido tratamiento ocasiona en cuerpos de agua un desequilibrio de oxígeno disuelto el cual es consumido durante la degradación de los constituyentes orgánicos, mientras que en los suelos descompensa el balance de nutrientes (ABIQ, 2014).

Vélez-Ruíz, (2014) indica, que de la industria quesera se derivan dos tipos de sueros, el que procede de la utilización del cuajo donde actúan enzimas proteolíticas a temperaturas aproximadas de 15 y 50°C, promoviendo que se desestabilicen las estructuras fragmentadas de caseína y precipiten, con una acidez leve lo cual origina el suero dulce. Mientras que el suero ácido se deriva de la precipitación de la caseína al someter a la leche en un ambiente de pH ácido que oscila entre 4,5 y 6,4.

2.1.3.7 Composición del lactosuero

El lactosuero alcanza cerca del 90% de un volumen definido de leche y aproximadamente involucra el 55% del contenido mineral. De forma general se estima entre los abundantes: lactosa que representa entre el 45 a 50 g/l, las proteínas soluble de 6 a 8 g/l, grasa o lípidos entre 4 a 5 g/l y la concentración de las sales minerales 4 a 6 g/l. Seguido se presenta los contenidos aproximados de elementos presentes en el fluido lactosuero proveniente de la elaboración de queso (Panesar et al., 2007).

Entre los componentes y proporciones del lactosuero se distinguen: agua 935g/l, sólidos totales 65g/l. Carbohidrato: lactosa 47g/l. Materia grasa: glicerol 0.25g/l, diglicéridos

0.05g/l, ácidos grasos 0.05g/l, fosfolípidos 1.5g/l. Minerales: calcio 0.3g/l, magnesio 0.1g/l, fósforo 0.7g/l, potasio 1.5g/l, cloruro 1.0 g/l, sodio 0.5 g/l. Proteínas: β – lactoglobulinas 0.3 g/l, α - lactoglobulinas 1.2g/l, seroalbúmina 0.7 g/l, proteasa/peptonas 0.6g/l, otras proteínas 0.3g/l. Vitaminas: B5 4.0g/l, B2 1.5g/l, C 1.5g/l, B3 0.5g/l. Elementos traza: zinc 1.5g/l, hierro 0.6g/l, yodo 0.5g/l, cobre 0.2 g/l. Proteínas minoritarias: inmonoglobulina G 50g/l, lactoferrina 45g/l, lactoperoxidasa 25g/l, lisozimas 2.0g/l. Nitrógeno no proteico: urea 80g/l, aminoácidos 25g/l, colina 15g/l, ácido orótico 12g/l (Juliano, et al., 2017). Mientras que las características físico química generales que presenta el lactosuero son: pH 6.12, densidad 1.021 g/ml, proteína 0.86 %, grasa % 0.32 v/v, cenizas 0.61% p/p (Trejo, 2015).

CAPÍTULO III METODOLOGÍA

3.1 ENFOQUE

El enfoque de la investigación fue positivista, considerando que se realizó un proceso de conocimiento ordenado, que tuvo la oportunidad de medirse, y que en lo posterior tiene la posibilidad de replicarlo a distintas escalas. Así mismo el enfoque se basó en determinar la obtención de biogás *in vitro* como alternativa de energía limpia donde el trabajo realizado fue de carácter experimental en el laboratorio.

3.2 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

La investigación efectuada fue cuantitativa, considerando que el conjunto de datos conseguidos se los pudo mensurar, ordenar y procesar durante el desarrollo de la investigación, además el análisis e interpretación de los datos se realizó de acuerdo al diseño experimental programado.

3.3 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación se ejecutó de tipo exploratorio – explicativo, considerando que el ensayo se realizó específicamente en el laboratorio, los diferentes tratamientos se manipuló *in vitro* para determinar la producción de biogás y metano generada por la mezcla de biomasa residual pecuaria como fue la excreta de bovino, paja (*Brachypodium phoenicoides*) y enriquecida con lactosuero.

3.4 HIPÓTESIS

¿La biomasa residual pecuaria en mezcla con fibra vegetal, enriquecida con lactosuero promueve la producción del biogás, ayudando a mitigar los gases efecto invernadero?

3.5 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES

- Variable independiente: Concentraciones de lactosuero, biomasa residual y paja.
- Variable dependiente: Producción de biogás y metano *in vitro*
- Unidad de observación: Actividad experimental *in vitro*
- Términos de relación: Verificación del trabajo en laboratorio.

3.6 POBLACIÓN Y MUESTRA

Por tratarse la investigación con orientación experimental no se empleó técnicas de muestreo, no obstante, se indican los materiales, así como las proporciones y concentraciones utilizadas en los tratamientos.

Los materiales durante la investigación se combinaron del siguiente modo: 75% de biomasa residual pecuaria (excreta de bovino), 25% de fibra vegetal paja (*Brachypodium phoenicoides*), lactosuero a concentraciones del 75, 50 y 25 por ciento, agua en equivalentes concentraciones descritas para el lactosuero. Las combinaciones efectuadas se distinguieron en 5 tratamientos, distribuidos en 8 frascos el volumen combinado de 60 ml durante 312 horas.

3.7 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 1. Operacionalización de la variable independiente (Biomasa residual pecuaria, paja y Lactosuero)

CONTEXTUALIZACIÓN	CATEGORÍA	INDICADOR	ÍNDICE
-------------------	-----------	-----------	--------

<p>Las excretas contienen un consorcio bacteriano que provoca degradación. El suero láctico por su alto contenido de sólidos disueltos tiene elevada conversión de sus componentes proteicos, grasos y minerales. La paja en simbiosis con microorganismos provoca fermentación de la fibra, además que estabiliza la relación carbono nitrógeno. El agua es un diluyente que homogeniza la mezcla evitando que el estiércol no se solidifique y que las bacterias trabajen en el sustrato. Todos estos productos en mezcla se degradan y generan biogás.</p>	Combinación de: Biomasa Residual pecuaria	75%	Gramos
	Paja (fibra vegetal)	25%	Gramos
	Lactosuero	25% - 50% - 75%	Mililitros
	Agua	25% - 50% - 75%	Mililitros

Tabla 2. Operacionalización de la variable dependiente (Producción de biogás)

CONTEXTUALIZACIÓN	CATEGORÍA	INDICADOR	ÍNDICE
Trabajos de investigación previos <i>in vitro</i> revelan registros	Producción de biogás <i>in vitro</i>	Mililitros de gas producido	ml.

acerca de los mecanismos del comportamiento de diversas sustancias y sólidos que bajo tratamientos de acción anaeróbica la transforman en energía alternativa, como resultado la generación del biogás y metano.	Producción de metano	Mililitros de metano producido	ml.
	Composición Ácidos Grasos Volátiles AGVs	mmol/mol de AGVs	mmol/mol

3.8 PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

3.8.1 UBICACIÓN DEL ENSAYO

La actual investigación se ejecutó en la Granja Experimental Campus Querochaca, Facultad de Ciencias Agropecuarias perteneciente a la Universidad Técnica de Ambato, cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua a una distancia 20 Km dirección sur de Ambato con una altitud de 2852 msnm, cuyas coordenadas geográficas reportadas por el (Sistema de Posicionamiento Global - GPS) son: 01° 22' 02'' de latitud Sur y 78° 36' 22'' longitud Oeste.

De acuerdo al Registro del Anuario de Observaciones Meteorológicas (2010) ubicado en la Granja Experimental Docente Querochaca, el sector presenta la humedad relativa promedio del 76%, velocidad del viento 3.7 m/s con frecuencia típica del Este, nubosidad de 7.36 octas. Los factores meteorológicos que se presentan en la jurisdicción indica, temperatura media que oscila entre 12 y 16°C y una precipitación media anual en rango de 500 a 600 mm. La relación de evapotranspiración potencial se registra valores entre 0.70 a 1.86 mm.

Cabe recalcar que el trabajo de investigación se lo ejecutó en el laboratorio de Ruminología de la Facultad de Ciencias Agropecuaria perteneciente a la Universidad

Técnica de Ambato, donde el proceso de fermentación *in vitro* para producción de biogás se desarrolló en un ambiente controlado sin involucrar factores climáticos externos.

3.8.2 METODOLOGÍA UTILIZADA

3.8.3 FACTORES EN ESTUDIO

Combinación de materiales:

- Biomasa residual pecuaria (excreta de bovino)
- Fibra vegetal (*Brachypodium phoenicoides*)
- Lactosuero
- Agua

3.8.4 TRATAMIENTOS

Tabla 3. Tratamientos

N°	TRATAMIENTOS	
	Símbolo	Material y Concentración
1	T1	Agua (100%) + estiércol vacuno (75%) + paja (25%)
2	T2	Suero (100%) + estiércol vacuno (75%) + paja (25%)
3	T3	Agua (50%) + suero (50%) + estiércol vacuno (75%) + paja (25%)
4	T4	Agua (75%) + suero (25%) + estiércol vacuno (75%) + paja (25%)
5	T5	Agua (25%) + suero (75%) + estiércol vacuno (75%) + paja (25%)

Relación 1:3, donde 1 para estiércol más paja y 3 para agua y suero.

3.8.4.1 Obtención de la biomasa residual pecuaria

Se realizó la recolección de estiércol fresco de bovino en hora de la mañana, del establo ubicado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias, el cual contempla contrapiso de hormigón y cubierta, lo cual evitó el contacto con el suelo y radiación solar.

Posteriormente almacenó en un recipiente con capacidad de 20 litros e inmediatamente se lo traslado al laboratorio de Ruminología.

3.8.4.2 Obtención de fibra vegetal *Brachypodium phoenicoides*

Se efectuó la cosecha de fibra vegetal paja *Brachypodium phoenicoides* que se encontraba con características de madurez media y con su particularidad proceso de lignificación (tosca). Donde se procedió a realizar el corte con machete, luego se almacenó en bolsa de polipropileno y trasladado al laboratorio.

3.8.4.3 Obtención del suero de leche

En el establecimiento de elaboración quesera ubicado en el sector de Hualcanga Santa Anita del Cantón Quero, se realizó la recolección de suero procedente de la fabricación de queso en un envase con capacidad de 4 litros, inmediatamente se trasladó al laboratorio para desarrollar el experimento.

3.8.4.4 Preparación de muestras en laboratorio

Inicialmente se estableció la relación de la combinación de materiales la cual fue 1:3, donde la proporción (1) fue para el estiércol bovino y fibra vegetal, mientras que la proporción (3) se refirió a la fase líquida agua y lactosuero, parte conformante de la mezcla. Luego se seleccionó un envase graduado con capacidad de 1000 ml, consecutivamente se establecieron las proporciones del material sólido y líquido en función al volumen final de preparación que fue de (500 ml), donde la cuarta parte (125 ml) comprendió el volumen total preparado de la fase sólida, se utilizó para determinar las cantidades de fibra vegetal al 25% y excreta bovina al 75%. Mientras que, las tres cuartas partes 375 ml del aforo final, se manejó para establecer el volumen de la parte líquida como agua y suero, en concentración del 100%, 75%, 50% y 25%.

Una vez efectuada las relaciones, se calculó el peso de la porción sólida y el volumen de la fase líquida para efectuar las combinaciones. Donde para obtener la parte sólida a proporción del 25% se pesó 31.25 g de paja. Del mismo modo, se pesó 93.75 g de excreta bovina para obtener la proporción al 75%. Mientras que, la parte líquida se midió el volumen de 375 ml correspondiente al 100%, con 281.25 ml de suero así como de agua para obtener la proporción al 75%, para el 50% se midió el volumen de 187.5 ml y finalmente se calculó el volumen de 93.75 ml para la concentración del 25%. En la tabla siguiente se detalla de manera sistemática la relación, proporciones, pesos, y volúmenes determinados para efectuar la preparación de las muestras.

Tabla 4. Preparación de Muestras

CANTIDADES DETERMINADAS					
Capacidad envase de preparación: 1000 ml					
Aforo final mezcla parte sólida + líquida: 500 ml					
Relación: 1:3					
RELACIÓN		CONCENTRACIÓN			
		Aforo final: 500 ml			
1	SÓLIDO	1/4 PARTE DEL AFORO FINAL			
		125 ml			
		Valor porcentual de Fibra vegetal	Valor porcentual de Excreta Bovina		
		25%	75%		
		Cantidad de parte sólida pesada			
		31.25g	93.75g		
		3	LÍQUIDO	3/4 PARTE DEL AFORO FINAL	
Aforo final: 500 ml					
375 ml					
Valores porcentuales de Agua y Suero de Leche					
100%	75%			50%	25%
Volumen utilizado de parte líquida					

		375ml	281.25ml	187.5ml	93.75ml
--	--	-------	----------	---------	---------

Preparada la mezcla de materiales, se utilizó la adaptación de la metodología de producción de gas *in vitro* descrita por (Theodorou et al., 1994). La cual consistió en agregar los tratamientos experimentales producto de la mezcla de biomasa residual pecuaria excreta de bovino, paja *Brachypodium phoenicoides*, lactosuero y agua en las proporciones derivadas de la relación 1:3 para los cinco tratamientos y distribuidos 60 ml de la mezcla en los frascos de vidrio con capacidad de 100 ml.

Posteriormente, los envases fueron sellados herméticamente con capuchón de caucho y protección de aluminio. Éstas se incubaron a 39°C utilizando un baño maría. La medición del gas se efectuó manualmente cada 24 horas hasta completar 312 horas correspondientes a 13 días.

3.8.5 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

3.8.5.1 Producción de biogás en unidades experimentales (*in vitro*)

Se estimó la producción de gas *in vitro*, siguiendo la metodología descrita por (Theodorou et al., 1994), se tomó a las 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, 264, 288 y 312 horas, donde para medir la producción de gas *in vitro* se utilizó una jeringa plástica para medir el volumen generado en mililitros y el transductor DELTA OHM-PRESSURE METER HD2124.2 con sonda.

3.8.5.2 Producción de metano en unidades experimentales (*in vitro*)

Mediante el medidor de gases múltiple portátil GAS – PRO marca CROWCON. Tomados durante toda la fase de la investigación en los tiempos 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, 264, 288 y 312 horas.

3.8.5.3 Producción de Ácidos Grasos Volátiles AGVs

Se efectuó de los 5 tratamientos, donde en las 40 muestras filtradas se adicionó 20 ml de ácido fosfórico al 5% y posteriormente se realizó el análisis recurriendo a la Cromatografía de Gases.

3.9 PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

3.9.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Par la producción de biogás y metano *in vitro* se utilizó un diseño completamente al azar con 5 tratamientos y 8 repeticiones en frascos de 100 ml.

3.9.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables de biogás y metano acumulado, se analizaron mediante la utilización de herramientas y programas informáticos como Excel, donde se realizó la regresión de datos dispersos para lograr su ajuste a la tendencia lineal. Mientras que el Análisis de Varianza y la comparación de medias a través de la prueba de Tukey al 5% se analizó con el software estadístico Infostat.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 RESULTADOS

Se puede observar en la (Tabla 5), el análisis de varianza de la producción de biogás acumulado *in vitro*, donde estadísticamente presenta diferencias significativas de las medias con un ($P < 0.0001$), el coeficiente de variación alcanzado es de 12.00 y con 0.92 de coeficiente de determinación.

Tabla 5. Análisis de la varianza de producción acumulada de biogás *in vitro*

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	58383,94	4	14595,98	105,60	<0.0001
Tratamiento	58383,94	4	14595,98	105,60	<0.0001
Error	4837,73	35	138,22		
Total	63221,67	39			
C.V: 12.00	R²:0.92				

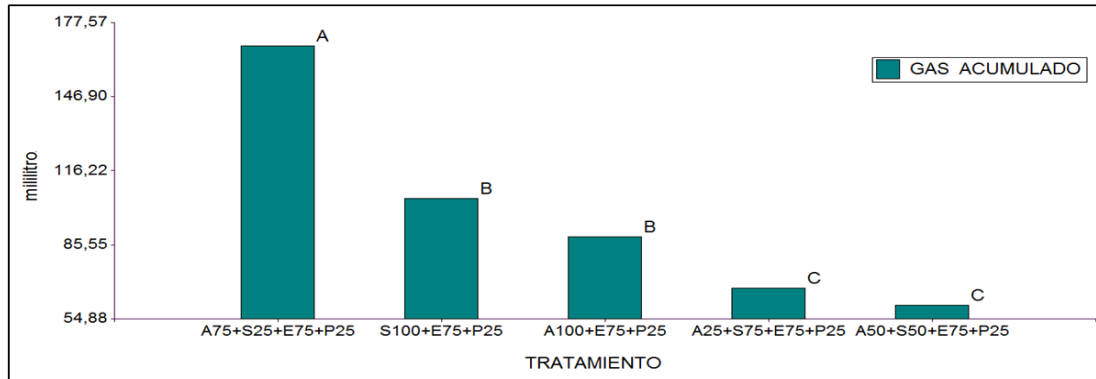
Efectuada la prueba de Tukey al 5% referenciada en la (Tabla 6), se detectaron tres rangos, que muestra diferencias entre los tratamientos, donde la producción de biogás fue mayor ($P < 0.05$) en el tratamiento cuatro constituido por el 75% de agua, 25% de suero, estiércol bovino 75% y paja 25% con proporciones en mezcla de (281.25 ml, 93.75 ml, 93.75 g y 31.25 g respectivamente) que se ubica en el primer rango, con valor promedio de 167.83 mililitros de biogás con respecto a los tratamientos dos y uno con medias de (104,80 y 88,77 ml) que comparten el segundo rango y los tratamientos cinco y tres con promedios de producción (67,58 y 61,06 ml) que se ubican en el tercer rango.

Tabla 6. Prueba de significación de Tukey al 5% producción de biogás *in vitro* ml

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO		
(T4)A75%+S25%+E75%+P25%	167,83	8	A		
(T2)S100%+E75%+P25%	104,80	8		B	
(T1)A100%+E75%+P25%	88,77	8		B	
(T5)A25%+S75%+E75%+P25%	67,58	8			C
(T3)A50%+S50%+E75%+P25%	61,06	8			C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Figura 1. Producción de biogás acumulado *in vitro*



Fuente: Elaboración propia del autor.

Los datos reportados en la (Figura. 1) acerca de la producción de biogás *in vitro*, obtenidos en la investigación, se dio posiblemente por la cantidad de sólidos correspondiente al 75% de excreta bovina con una cantidad constante de fibra vegetal del 25%, combinados con el volumen mínimo de suero a concentración del 25%, que desarrollaron el proceso fermentativo adecuado y se obtuvo un rendimiento promedio de gas acumulado *in vitro* de 167,83 ml al reaccionar con la menor concentración de suero. Este resultado es coherente con lo indicado por (Samuel et al., 2014), quienes al realizar la formulación con el 20% de suero y 47% de excreta bovina obtuvieron un rendimiento promedio de 39.99 ml de gas. Asumiendo que el uso de suero lácteo es una fuente viable en la generación de energía alterna y una forma eficiente de aprovechar los residuos de las queseras.

Tabla 7. Análisis de la varianza de producción de metano acumulado *in vitro*

F.V.	SC	GL	CM	F	P – VALOR
Modelo	2.38	4	0.60	43.53	<0.0001
Tratamiento	2.38	4	0.60	43.53	<0.0001
Error	0.48	35	0.01		
Total	2.86	39			

C.V: 8.90	R²: 0.83				
------------------	----------------------------	--	--	--	--

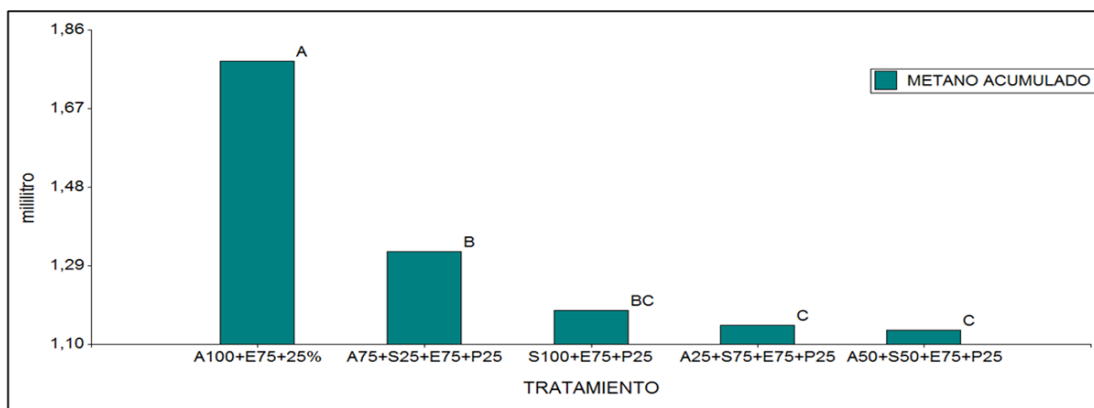
En cuanto a la producción de metano acumulado *in vitro* se observa en la (Tabla 7), donde el análisis de varianza estadísticamente con un ($P < 0.0001$), indica diferencias significativas de las medias, el coeficiente de variación reportado de 8.90 y con un valor 0.83 de coeficiente de determinación.

Tabla 8. Prueba de significación de Tukey al 5% producción de metano *in vitro* ml

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO		
(T1) A100%+E75%+P25%	1.78	8	A		
(T4) A75%+S25%+E75%+P25%	1.32	8		B	
(T2) S100%+E75%+P25%	1.18	8		B	C
(T5) A25%+S75%+E75%+P25%	1.15	8			C
(T3) A50%+S50%+E75%+P25%	1.13	8			C
Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)					

La producción de metano acumulado *in vitro*, luego de someter a la prueba de comparación de medias a través de Tukey al 5%. Señalada con ($P < 0.05$) que el mejor volumen de metano producido fue el tratamiento uno, que está compuesto por 375 ml de agua, 93.75 g de estiércol y 31.25 g de paja a concentraciones de 100, 75 y 25% correspondientemente, reportando la producción promedio de 1.78 ml de metano que lo ubica en el primer rango. Mientras que se identifica en el segundo rango, el tratamiento cuatro formulado por (281.25 ml agua, 93.75 ml suero, 93.75 g excreta y 31.25 g de paja que contiene la menor concentración de lactosuero (25%) en su formulación, reportando el mejor promedio en producción de metano 1.32 ml entre los tratamientos que involucra la adición de lactosuero en su composición.

FIGURA 2. Producción de metano acumulado *in vitro*



Fuente: Elaboración propia del autor.

Los resultados de la producción de metano acumulado *in vitro* (Figura. 2) alcanzado durante el experimento, se debe probablemente a que el proceso fermentativo de los materiales en el tratamiento que no contiene suero mantuvo la alcalinidad apropiada para que trabajen los microorganismos metanogénicos. Mientras, que los tratamientos formulados con suero, posiblemente varió el pH del medio lo cual interfirió en el proceso fermentativo. Estos resultados obtenidos, concuerdan con los registros de (Magaña-Ramírez & Rubio-Núñez, 2011) donde indican que en el aprovechamiento de biomasa residual pecuaria y coproductos de las queseras, se logra una elevada concentración de gas metano, en cuyo trabajo la cantidad de suero fue relativamente baja, que coincide con las proporciones manejadas en la presente investigación. A su vez, los volúmenes de metano obtenido en los tratamientos formulados con lactosuero probablemente se produjo desequilibrio de la fase metanogénica durante el proceso anaerobio del suero suscitado por la gran cuota de compuestos ácidos formados por la fermentación de lactosa. La presencia y depósito de estos ácidos ocasionaron un declive en el pH, favoreciendo el desarrollo de bacterias acetogénicas e inhibiendo la función metanogénica como indican (Ranalli et al., 2007). Sin embargo, se puede contrarrestar la acidez suministrando artificialmente sustratos alcalinos (Kalyuzhnyi, 1997). Ahora bien, en contraste con lo anterior (Hernández, 2015) reporta que el lactosuero del queso puede ser degradado de manera eficiente en una sola etapa alcanzando valores

significativos y una buena biodigestión cuando éste se combina con efluentes de excretas de vacuno al 50% y en ausencia de correctores de pH.

4.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

La evaluación de los tratamientos correspondientes a la producción de biogás *in vitro* (Tabla 9) mostraron diferencias ($P < 0,0001$) en los tratamientos evaluados, reflejando al tratamiento dos cuya concentración de suero fue de 375 ml que durante la incubación a las 24, 48 y 72 horas, produjeron un volumen de 64.50, 84.69 y 94.69 ml respectivamente. A las 96 y 120 horas la generación fue mayor ($P < 0.05$) en el tratamiento dos (98.33 y 100.09 ml) y tratamiento cuatro (86.07 y 107,18 ml) que en su composición existía 93.75 ml de suero. Mientras tanto a las 144, 168, 192, 216, 240, 264, 288 y 312 horas de sometido a fermentación, el tratamiento cuatro (124.97, 141.54, 151.64, 158.53, 162.58, 164.97, 166.62 y 167.83 ml) tuvo la mayor producción de biogás, abordando estadísticamente diferencias ($P < 0,0001$) con los demás tratamientos.

En cambio se puede observar la menor generación de biogás en el tratamiento uno donde el suero se excluyó totalmente y el tratamiento dos que contenía 375 ml de suero con producción de (29.36 y 14,38 ml biogás) a las 24 y 48 horas respectivamente, así mismo la mínima producción en el período comprendido entre las 72 y 312 horas se lo evidencio en el tratamiento tres siendo de (51.80, 54.33, 55.72, 56.16, 57.94, 58.39, 59.24, 59.51, 59.98, 60.47 y 61.06 ml), considerando que la muestra procesada disponía 187.5 ml de subproducto lácteo en su composición.

TABLA 9. Producción de biogás *in vitro* de los tratamientos evaluados

Tratamiento	GSIV ml												
	Producción en horas												
	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264	288	312
T1	29,36 d	14,38 d	53,33 c	60,41 b	67,05 b	72,38 c	76,01 c	79,18 c	81,85 c	83,86 c	85,50 c	87,28 c	88,77 b
T2	64,50 a	84,69 a	94,69 a	98,33 a	100,09 a	101,08 b	102,09 b	102,44 b	103,44 b	103,66 b	104,15 b	104,55 b	104,80 b
T3	36,18 c	46,50 c	51,80 c	54,33 b	55,72 b	56,16 d	57,94 d	58,39 d	59,24 d	59,51 d	59,98 d	60,47 d	61,06 c
T4	40,81 b	53,23 bc	67,43 b	86,07 a	107,18 a	124,97 a	141,54 a	151,64 a	158,53 a	162,58 a	164,97 a	166,62 a	167,83 a
T5	43,04 b	55,28 b	60,64 bc	62,93 b	63,97 b	64,84 cd	65,97 cd	66,17 cd	66,50 cd	66,83 d	67,10 d	67,25 d	67,58 c
Valor P	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
ESM	1,14	1,77	2,63	3,04	3,44	3,79	3,87	3,88	3,90	3,97	4,02	4,10	4,16
C.V	7,53	9,88	11,34	11,87	12,35	12,77	12,33	11,97	11,74	11,79	11,81	11,92	12,00

abcd

Los valores de las medias con letra idéntica en la misma columna son estadísticamente iguales ($P < 0.05$). **T1:** Agua 375ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T2:** Suero 375ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T3:** Agua 187,5ml + Suero 187,5ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T4:** Agua 281,25 + Suero 93,75ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T5:** Agua 93,75 ml + Suero 281,25ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g **ESM:** error estándar de la media. **CV:** coeficiente de variación. **GSIV:** producción de gas *in vitro*.

Mientras que a producción de metano *in vitro* en los tratamientos evaluados (Tabla10) reportaron diferencias estadísticas ($P < 0,0001$) con los demás en lo referente al volumen de producción de metano, registrando al tratamiento uno donde se excluyó totalmente el suero en la composición, se logró observar que durante el periodo de tiempo comprendido de (24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, 264, 288 y 312 horas) se obtuvo una generación de metano (1.42, 1.50, 1.55, 1.59, 1.65, 1.72, 1.74, 1.75, 1.76, 1.77, 1.77, 1.78 y 1.78 ml) respectivamente, evidenciando la mayor producción de metano en los tratamientos evaluados.

Con respecto al resto de formulaciones que contenían suero. A pesar de encontrarse en el segundo rango, se observó al tratamiento cuatro el cual involucraba 93.75 ml de suero considerado la menor proporción (25%) en la mezcla, quien logró inicialmente la producción de 1,19 ml a las 24 horas de registrarse el desprendimiento de metano. Se observó un incremento paulatino durante las (48, 72, 96, 120, 144 y 168 horas) generando (1.21, 1.24, 1.28, 1.30, 1.30 y 1.31 ml) de metano respectivamente. Posteriormente la generación de CH₄ en el tratamiento descrito, estabiliza su desprendimiento a partir del día ocho hasta el trece con una producción de 1.32 ml de metano.

TABLA 10. Producción de metano *in vitro* de los tratamientos evaluados

Tratamiento	CH ₄ IV ml												
	Producción en horas												
	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264	288	312
T1	1,42 a	1,50 a	1,55 a	1,59 a	1,65 a	1,72 a	1,74 a	1,75 a	1,76 a	1,77 a	1,77 a	1,78 a	1,78 a
T2	1,18 b	1,18 bc	1,18 bc	1,18 c	1,18 c	1,18 bc	1,18 bc	1,18 bc	1,18 bc	1,18 bc	1,18 bc	1,18 bc	1,18 bc
T3	1,13 b	1,13 c	1,13 c	1,13 c	1,13 c	1,13 c	1,13 c	1,13 c	1,13 c	1,13 c	1,13 c	1,13 c	1,13 c
T4	1,19 b	1,21 b	1,24 b	1,28 b	1,30 b	1,30 b	1,31 b	1,32 b	1,32 b	1,32 b	1,32 b	1,32 b	1,32 b
T5	1,15 b	1,15 bc	1,15 c	1,15 c	1,15 c	1,15 c	1,15 c	1,15 c	1,15 c	1,15 c	1,15 c	1,15 c	1,15 c
Valor P	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001
ESM	0,01	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
C.V	3,45	4,28	4,47	4,80	5,57	7,38	7,92	8,20	8,38	8,53	8,66	8,81	8,90

abc

Los valores de las medias con letra idéntica en la misma columna son estadísticamente iguales ($P < 0.05$). **T1:** Agua 375ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T2:** Suero 375ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T3:** Agua 187,5ml + Suero 187,5ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T4:** Agua 281,25 + Suero 93,75ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T5:** Agua 93,75 ml + Suero 281,25ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g **ESM:** error estándar de la media. **CV:** coeficiente de variación. **CH₄IV:** producción de metano *in vitro*.

La elevada producción de biogás observada en el actual estudio (Tabla 9) se compara con los reportados por (Grzona & Münnich, 2018) quienes en su investigación indican que se produjo 2.62, 7.49, 7.10, y 5.82 ml de la mezcla que corresponde al 100% estiércol, 75% estiércol 25% suero, 25% estiércol 75% suero, 50% estiércol 50% suero. Donde los tratamientos con mayor proporción de suero (25% e - 75% s), evidenciaron elevada producción de biogás, registrando que en el séptimo día se estabilizó su producción, señala que posteriormente a los 40 días se obtuvo la producción máxima de biogás 7.49 ml del tratamiento que contenía 25% e y 75% s. Además recalcan que la biodigestión se llevó a cabo a temperatura de 35°C en frascos de 300 ml.

La superioridad obtenida 64.50 ml de biogás en el estudio actual concuerda con los autores (Grzona & Münnich, 2018), quienes exponen que la producción de biogás se mantuvo y consiguiente se detiene por la declinación del pH alterando los parámetros óptimos lo cual redujo drásticamente la actividad fermentativa de los microorganismos como reflejan las mezclas del 25% estiércol y suero 75%, dicha repercusión es concomitante con (Arias, 2019), quien indica que la metanogénesis se efectúa cuando el medio se encuentre cercano a la neutralidad puesto que si el pH varía, la actividad metanogénica reduce y decrece la producción de metano. Así mismo refieren que por el descenso del pH la generación de metano se inhibe debido a la acumulación de H₂ y ácido acético, por ende al presentarse elevadas concentraciones de H₂ las bacterias que desdoblan el ácido propiónico son suprimidas provocando el depósito de ácidos grasos volátiles como producto la reducción del pH, deteniendo significativamente el proceso de metanogénesis como demostró su estudio donde al haber utilizado un contenido de 20% y 80% de lactosuero produjeron (7,7 l y 0,99 l) de metano respectivamente que se detuvo a los 18 días lo que probablemente ocasionó la acumulación de ácidos volátiles. Mientras que (Antonelli, et al. 2016) con proporciones de 50% de suero y 20% de inóculo estiércol, produjeron 168 l de metano. Por otra parte en los tratamientos que presentan elevados volúmenes de biogás, posiblemente existió mayor cantidad de nutrientes que favorecen a los procesos anaeróbicos microbianos durante la fermentación (Grzona & Münnich, 2018).

La producción obtenida en la investigación es probable que se deba a la reacción bioquímica inmediata que ocurrió al suministrar un agente que potencializó el proceso fermentativo en la mezcla de excreta y fibra ocurriendo inicialmente una elevada producción durante los cuatro primeros días en el tratamiento dos que contiene 100% suero 64.50, 84.69, 94.69 y 98.33 ml. Lo cual concuerda con lo reportado por (González, E. Jurado, P., 2017) que efectuaron una combinación de estiércol sólido de vaca más el suero de queso, cuya proporción fue de 3:2, donde se registró la producción de 1,66 l de biogás, previamente incubado a temperatura de 35°C. Del mismo modo realizaron una mezcla de residuo líquido de bovino con suero de queso en relación de 2:1, obteniendo una producción de biogás de 2,6 l y 1,46 l de metano por día. Donde indican que la producción se debe a la buena codigestión de los sustratos utilizados, afirmando que al enriquecer con residuos de origen alimenticios, indistintamente con qué tipo de estiércol se trabaje se produce adecuados volúmenes de biogás y metano.

En cuanto a la variación en la producción de biogás *in vitro* obtenidos en el estudio se debe posiblemente a los volúmenes de suero dispuesto, lo cual provoca que inicialmente se obtenga mayor producción de gas en los tratamientos con la máxima concentración de suero y que a medida que transcurre el tiempo de fermentación la producción de biogás se estabiliza en el tratamiento que involucra la menor concentración de suero 25% a pesar que se maneja la misma proporción de fibra vegetal 25% y excreta 75%, asumiendo probablemente que el tratamiento con menor concentración de suero el factor pH moderadamente fue modificado y se lo evidencia en los volúmenes de biogás y metano generados. Esto comparte lo descrito por (Gelenis et al., 2007) en lo referente a la producción de biogás, evidenciando un decremento en los tratamientos que contienen el 25% y 50% de lactosuero, quienes generan biogás de manera regular. Y en los tratamientos que produjeron un mínimo o ninguna cantidad de biogás, probablemente es porque en su composición contenían grasa y proteína procedente del suero lo que ocasiona la producción retardada de biogás. Donde el efecto inhibitor de producción de metano se elimina, añadiendo 150

mg/l de calcio puesto que la generación de metano se refleja en la cantidad de los sólidos volátiles degradados, por tanto los sólidos volátiles establece la cantidad de metano a generarse. De igual manera es concordante con (Camino et al., 2012) que obtuvieron como resultados 155,75 l de metano, previamente realizando la mezcla de 1:1 de suero y estiércol. En el estudio establecen que siendo el suero de leche un coproducto procedente de la agroindustria, con características elevadas de biodegradabilidad y producción de metano posee un gran valor energético. Al contener grandes cantidades de hidratos de carbono encamina a la propagación de microorganismos acidificantes, quienes intervienen de forma negativa en los procesos metanogénicos. Motivo por el cual en los resultados reportados en el presente estudio se observa los mayores rendimientos en los tratamientos con menor proporción de lactosuero en su composición.

Mientras que los resultados difieren con lo expuesto (Barrena, Gamarra, Milla, Fellenberg, & Ordinola, 2017) quienes al manipular mezcla de excreta bovina 2,5 l, lactosuero 200 ml y combinado con 120 g de retazos de totora, efectuado la digestión en envases de 10 litros produjeron 1400 ml de biogás, producido en un período de tiempo de 27 días, mientras que al reducir el estiércol e incrementar el contenido de lactosuero, se mantiene constante el desprendimiento de biogás concluyendo que la adición de lactosuero está ligado de manera significativa en su producción. Los resultados de producción de biogás se asemeja con lo reportado por (Cantuña, 2018) que ensayó en un frasco de 500 ml, inmersos a temperatura de 30°C. Efectuaron la combinación de 50% de suero lácteo más 50% de estiércol bovino, donde al segundo día obtuvo 146,84 ml de biogás acumulado, donde posiblemente la producción pudo haber sido por el contenido mayoritario de biomasa activa microbiana proveniente del inóculo del rumen. Mientras que con suero lácteo 75% y 25% de excreta bovina el volumen acumulado obtenido fue de 119,64 ml, manifestando que en la codigestión de excreta bovina con restos alimenticios la generación de metano incrementa de acuerdo se modifica el contenido de la mezcla considerando que si los componentes

más se acercan a similares proporciones la producción de gas mejora por la activación del inóculo.

Refiriendo al periodo de tiempo para la producción de biogás, en el experimento se observó que a partir del día 1 al día 13 de haber sometido a fermentación, absolutamente todos los tratamientos produjeron biogás indistintamente a las concentraciones de suero suministradas y colocadas a temperatura de incubación de 39 °C. La frecuencia con que se produjo se debe posiblemente a la temperatura termófila aplicada que favoreció la acción de los microorganismos sobre el sustrato enriquecido con lactosuero en cuanto a producción de biogás, mientras que para la generación de metano redujo su efectividad.

Lo observado coteja con (Narváez, Y. Saltos., A 2007) quienes en su investigación utilizaron un biodigestor de 5 litros de capacidad, cuyo contenido fue de 18 lb de excreta bovina y 18 l de suero de leche, determinada la concentración de 50% cada componente. Sometió a temperatura de 30°C para su incubación, posteriormente a los 13 días obtuvo una producción acumulada de biogás de 1800 ml y en el mismo día producción diaria de 900ml de metano. Indicando que el pico alcanzado estuvo ligado a rangos adecuados de pH 6.5 – 7.0 y la temperatura mesófila que se mantuvo entre 30 y 37°C. Así también la observación es consistente con (Rodríguez et al., 2016) quienes indican que obtuvieron biogás con una producción de 0,8 l y de 1,21 l en los 5 y 10 días iniciales respectivamente, confirmando que en los primeros quince días son los más relevantes para la generación de biogás.

TABLA 11. Producción de Ácidos Grasos Volátiles AGVs

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	ESM	P-VALOR	C.V
GSIV (ml)	88,77b	104,80b	61,06c	167,83a	67,58c	4,16	<0,0001	12,00
CH ₄ IV (ml)	1,78a	1,18bc	1,13c	1,32b	1,15c	0,04	<0,0001	8,90
AGVs (%mmol/mol)								
Acético	61,65c	66,30b	60,63c	69,96a	60,89c	0,37	<0,0001	1,64
Propiónico	23,40b	19,43c	25,05a	18,15d	24,10ab	0,30	<0,0001	3,82
Butírico	14,95a	14,28a	14,33a	11,89b	15,01a	0,28	<0,0001	5,58

abcd

Indica diferencias estadísticas de las medias p – valor (<0,0001) **ESM:** error estándar de la media. **CV:** coeficiente de variación. **CH₄IV:** producción de metano *in vitro* **GSIV:** producción de gas *in vitro* **AGVs:** ácidos grasos volátiles **T1:** Agua 375ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T2:** Suero 375ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T3:** Agua 187,5ml + Suero 187,5ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T4:** Agua 281,25 + Suero 93,75ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g. **T5:** Agua 93,75 ml + Suero 281,25ml + Estiércol 93,75g + Paja 31,25g.

En cuanto a la producción de ácidos grasos volátiles AGVs (Tabla 11), se puede observar que la mejor ($P=0.0001$) producción de ácido acético 69,96 mmol/mol fue en el tratamiento cuatro T4 con respecto a los demás evaluados. En lo que refiere al ácido propiónico la ($P=0.0001$) mayor producción 25,05 mmol/mol se registró en el tratamiento tres T3, y el ácido butírico fue mayor ($P=0,0001$) con producción de 14.95, 14.28, 14.33 y 15.01 mmol/mol en los tratamientos T1, T2, T3 y T5 respectivamente.

Esta producción observada en la (Tabla 11), indica la mayor presencia de ácido acético 69,96 mmol/mol, acompañado de ácido propiónico 18,15 mmol/mol que favoreció la mejor producción de biogás en el T4 con un volumen de 167,83 ml así como de metano 1,32 ml, considerando que este tratamiento fue formulado con la mínima concentración de lactosuero 25%. Probablemente lo obtenido se debe a que el nivel de ácidos grasos volátiles derivados de la degradación de componentes orgánicos se encontraban en proporción idónea durante la fase acidogénica a excepción del ácido butírico (11,89 mmol/mol), lo cual redujo significativamente la acumulación de AGVs en el proceso fermentativo, evitando que el accionar de las bacterias metanogénicas se inhiba y detenga la producción de biogás. Este resultado concuerda con lo recomendado por (Hill & Holmberg, 1988) quienes indican, que para el buen desarrollo de las bacterias metanogénicas los valores apropiados de AGVs sugeridos son: máximo 950 mg/l (28,75 mmol/mol) de ácido propiónico, el ácido acético debe estar a una concentración menor a 1600 mg/l (595,99 mmol/mol), el butírico bajo de 300mg/l (7,63 mmol/mol) y el ácido valérico no mayor a 200 mg/l (4,39 mmol/mol), haciendo hincapié que las concentraciones de estos ácidos evita el estrés en las etapas productivas de biogás y metano.

En lo que se refiere al ácido propiónico (Tabla 11) cuya proporción cuantificada fue de 25,05 mmol/mol valor enmarcado en lo sugerido por (Hill & Holmberg, 1988), incidió en la menor producción de biogás y metano 61,06 y 1,13 ml respectivamente en el T3 compuesto por 50% de lactosuero. Es posible que en la fase de fermentación anaeróbica se acidificó drásticamente la mezcla con presencia sobredimensionadas cantidades de

ácidos grasos volátiles, entre estos el material grasa procedente del suero lo que imposibilitó su consumo inmediato y atenuó su asimilación durante el periodo experimental, ocasionando la reducción de población bacteriana metanogénica. Los resultados concuerdan con (Gerardi, 2003), quien reportó que inicialmente por el gran depósito de ácidos grasos producidos el pH desciende, luego de transcurrir el tiempo los microorganismos encargados de la acetogénesis así como los metanoicos los asimilan y dicho factor paulatinamente incrementa, considerando que los microorganismos anaerobios entre 6.6 y 7.6 pH, mientras que las bacterias metanogénicas formadoras de metano reducen incluso detienen su actividad cuando el pH desciende el valor de 6.6. Además (Rodríguez, et al. 2016) quienes, indican que al modificar el pH en tendencia ascendente y reducir el contenido de sólidos volátiles, se acelera la degradación de la materia orgánica, los cuales se hidrolizaron y se transformaron en ácidos grasos, favoreciendo la producción de metano. Mientras (Zavaleta, 2009) indica que el componente glicerol presente en el medio, al fermentarse genera primordialmente ácido propiónico conformante de la cadena precursora de biogás.

En los T1, T2, T3 y T5, a excepción del T4 se detectó mayoritariamente la presencia de ácido butírico, donde los valores cuantificados fueron similares 14.95, 14.28, 14.33 y 15.01 respectivamente. Los resultados indican que la cantidad de ácido butírico sobrepasa lo sugerido por (Hill & Holmberg, 1988) para efectuar la digestión de manera estable, lo cual pudo inhibir la acción de las bacterias metanogénicas. En cuanto al T1 que produjo el mejor volumen 1.78 ml de metano, presumiblemente la generación de los ácidos grasos volátiles provinieron de la carga de excreta bovina 93,75 ml que se combinó con el 100% de agua sin adición de lactosuero lo que evitó la saturación con ácidos grasos volátiles. Esto concuerda (Cuetos et al. 2010) quienes, señala que la biomasa bovina contiene grandes proporciones de nitrógeno que se transforma en amoníaco durante la etapa de metabolización de los AGVs, contribuyendo como amortiguador y estabilizador del medio para la producción de metano.

Mientras que la presencia de ácidos grasos volátiles en los tratamientos T2, T3 y T5, que obtuvieron volúmenes inferiores de biogás y metano. Probablemente se debe a que la cantidad de suero y proporción 25% de fibra contenidas en las formulaciones fueron degradadas rápidamente en las etapas iniciales, provocando acumulación excesiva de AGVs y afectando de manera negativa el desprendimiento de metano y biogás. Esto comparten (Chandran et al. 2012) indicando que la paja *Brachypodium phoenicoides* al contener principalmente estructura hemicelulóticas, dichos sustratos son hidrolizables fácilmente en AGVs durante en el proceso de digestión anaeróbica lo cual modificó las condiciones intrínsecas del medio. Mientras que la (FAO, 2011) señala que otro posible inhibidor de la fermentación metánogénica es la presencia de antibióticos en la materia prima utilizada para la producción de biogás.

4.3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

En la hipótesis planteada para investigación, la biomasa residual pecuaria en mezcla con fibra vegetal, enriquecida con lactosuero promueve la producción del biogás, ayudando a mitigar los gases efecto invernadero.

Una vez efectuada la investigación se ha verificado la hipótesis de modo positivo en cuanto a la biomasa residual pecuaria en mezcla con fibra vegetal, enriquecida con lactosuero promueve la producción del biogás, cuyos resultados aportan a mitigar los gases efecto invernadero.

4.4 PROPUESTA PARA IMPLEMENTACIÓN DE RESULTADOS

4.4.1 DATOS INFORMATIVOS

Tema: “INCORPORACIÓN DEL SUERO DE LECHE, COMBINADO CON EXCRETA BOVINA Y FIBRA VEGETAL PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS EN BIODIGESTOR *IN SITU*”.

4.4.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

La generación de biogás se puede estimar mediante el índice de 0,35 m³ de CH₄ por cada kg de DQO (Demanda Química de Oxígeno), desintegrado en el interior de un biodigestor (Speece, 2008). Dicho de otra manera, 1.000 litros de suero potencialmente generan 36 m³ de biogás, con metano al 65%, equivalente alrededor de 22 litros de combustible convencional). Investigaciones de (Erguder et al., 2001), mediante la experimentación en campo, han obtenido 20 a 35 m³ de biogás, por cada 1.000 litros de suero, empleando biodigestor de flujo ascendente.

VIOGAS (2012), dispone de un sistema de biodigestión, que investiga la transformación de 200 kilogramos de excreta de vaca y 280 litros de suero, en biogás y fertilizante. Cuyo sistema constituye con un área de apartamiento de sólidos, y un

biodigestor tubular con volumen de 42.000 litros. Donde con 16 días en tiempo de retención, se está consiguiendo una eliminación de 76,6% de la carga contaminante, y a su vez transformado a biofertilizante. Regularmente, se producen 2.300 litros de biofertilizante, el cual contiene nutrientes fosfatos y nitratos mineralizados, producto de biodigestión, con un volumen de fertilización para 3,17 ha. Del mismo modo, posterior al tratamiento del suero y el estiércol de bovino, se consiguen originar 8.700 litros de biogás diariamente, que sustituye al gas licuado de petróleo para el procesamiento de productos lácteos. Es por esto que, se asume al suero de leche como un producto con gran potencialidad para producir biogás.

Es frecuente que se utilicen distintas fuentes de materias primas para su transformación y con el objeto de generar biogás, para conseguir aquello es una buena opción la utilización de subproductos que se encuentran desperdiciadas en las queseras; en nuestro caso el manejo de lactosuero en combinación con excreta bovina y fibra vegetal, es posiblemente una de las alternativas para producir biogás aprovechable.

En esta propuesta se determinará efecto del suero de leche combinada con excreta bovina y fibra sobre la producción de biogás procesado en un biodigestor, evaluar los remanentes líquido y sólido originados en la producción de biogás, como fuente de posible nutrimento agrícola.

La información que se dispone sobre el uso de lactosuero ligado con otros materiales de origen agropecuario en la producción de biogás es moderada por lo cual el presente ensayo es de gran valía para proponer un método para generar energía alternativa encaminada a mitigar los gases de efecto invernadero.

4.4.3 JUSTIFICACIÓN

La generación de residuos de las queseras, partiendo de la producción artesanal e industrial a pequeña, mediana y gran escala, provoca grandes cantidades de residuos

líquidos como es el suero, resultado de la elaboración de quesos, a esto sumado que la zona rural también se dedica a la producción de ganado vacuno y otras especies. En contraste, muchos propietarios de las queseras desconocen que el resultado de su actividad genera fluidos que de manera significativa que contaminan los suelos ocasionando compactación y por otra parte, la acumulación de materia orgánica contenida en dichos residuos y vertidos a los cuerpos de agua sin previo procesamiento generan la emanación de gases contaminantes hacia el ambiente. Considerando que en el país existen varias microempresas donde existen considerables volúmenes de residuos lácteos desaprovechados y que mantienen cuantioso consumo de energía fósil, es aquí donde la producción de biogás con lactosuero puede ser una opción bastante útil para la utilización y aprovechamiento de las descargas de suero.

La utilización de biodigestor como método para el tratamiento de los desechos de las queseras podría ayudar a reducir la carga contaminante y optimizar la energía utilizada en la fabricación de queso. Ésta técnica de aprovechamiento de residuos de las queseras donde involucra la mejora del componente ambiental en interacción con el productivo y social de los habitantes y sus familias.

El proyecto tiene por esencia incluir el lactosuero en combinación de excreta bovina y fibra vegetal, las cuales serán sometidas a descomposición anaeróbica en un biodigestor, permitiendo la producción de biogás y reutilizando la energía potencial desaprovechada en las queseras.

Se justifica la utilización de suero láctico en producción de biogás, fundamentado que es un material con gran aptitud fermentativa y que se encuentran desperdiciadas en grandes proporciones en la cadena de fabricación del queso. Además, la utilización los remanentes líquidos y sólidos generados de la producción de biogás como posible fuente de biofertilizante agrícola en beneficio de los productores.

La misión de la Universidad Técnica de Ambato es: solventar la demanda, científica - tecnológica de la población ecuatoriana e interacción comprometida con sus actores.

4.4.4 OBJETIVOS

4.4.4.1 Objetivo General

Incorporar suero de leche en combinación con excreta bovina y fibra vegetal para producir biogás en biodigestor *in situ*.

4.4.4.2 Objetivos específicos

Determinar el efecto del suero de leche combinada con excreta bovina y fibra sobre la producción de biogás en biodigestor.

Evaluar los remanentes líquido y sólido originados en la producción de biogás, como fuente de posible nutrición agrícola.

4.4.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

Esta propuesta es viable desde el punto de vista ambiental, financiero y social, a razón que se va a utilizar el subproducto de las queseras como el suero así también la excreta bovina existentes en la zona y que no son ocupados para el consumo de la población, en gran escala los residuos de queseras y biomasa residual pecuaria no son aprovechadas por la industria láctea así como los productores de ganado bovino, del mismo modo poseen elevadas aptitudes para degradarse y transformarse en energía alterna como biogás que ayudaría a optimizar los procesos de transformación de la materia prima, así también permitirá menguar costos productivos de la finca.

4.4.6 BENEFICIARIOS

Con la implementación de la actual propuesta para producción de biogás *in situ*, serán beneficiados los productores que se dedican a la agricultura, ganadería e industria láctea a pequeña, mediana y gran escala que manufacturan derivados de la leche, considerando que lograrían el aprovechamiento de una energía combustible y de biofertilizante alternativa y limpia contenida en los materiales y subproductos de desecho provenientes de sus actividades. Por consiguiente al efectuar el tratamiento adecuado por el método de biodigestor, también se reduce la contaminación en cuerpos de agua, suelo y aire, por lo tanto se beneficia al sistema ambiental al mitigar los gases efecto invernadero que ocasionan el fenómeno denominado cambio climático.

4.4.7 FUNDAMENTACIÓN

La demanda de energía ha venido incrementándose desde hace muchos años, por lo que es fundamental desarrollar tecnologías que favorezcan al sector agropecuario y quesero producir de una manera eficiente, que les permita ubicarse como un referente en la elaboración de quesos y manejo de efluentes de forma sostenible y amigable con el ambiente. Implementar un biodigestor que mejore la gestión de los residuos líquidos queseros es una de las técnicas que promueven el procesamiento de éstos desechos, orientándose a mitigar la generación de gases efecto invernadero y como alternativa energética con enfoque de sustento ambiental.

El uso de técnicas de biodigestión se ha venido realizando desde hace muchos siglos anteriores pero manejando habitualmente desechos generados directamente por las distintas especies animales, sin considerar el aprovechamiento de otros subproductos como fuentes potenciales de energía. En este contexto, la incorporación en un biodigestor *in situ* el suero de leche combinado con excreta bovina y fibra vegetal, es una alternativa interesante para la producción de biogás.

4.4.8 METODOLOGÍA

- Efecto del suero de leche con excreta bovina y fibra sobre la producción de biogás mediante instalación de biodigestor, relación 1:3, a concentraciones porcentuales: Agua 75%, Suero de leche 25%, Estiércol bovino 75% y Fibra vegetal 25%.
- Tiempos de retención hidráulica.
- Analizar la calidad del biogás producido en el biodigestor.
- Evaluar mediante análisis de laboratorio los remanentes líquido y sólido originados en la producción de biogás, como fuente de posible biofertilizante.

4.4.9 CRONOGRAMA

TABLA 12. Cronograma de implementación de la propuesta

ACTIVIDAD	1 ^{er} MES	2 ^{do} MES	3 ^{er} MES
Inspección de área a implementar	3 Días		
Diseño y dimensionamiento	3 Días		
Suministro de materiales	3 Días		
Limpieza, replanteo y nivelación de área	1 Día		
Excavación de zanja a mano	2 Días		
Construcción cámara de entrada de efluentes y salida de biol	2 Días		
Instalación biodigestor	2 Días		
Tiempo de retención		65 Días	
Obtención biogás y biofertilizante			Día 66

4.4.10 PRESUPUESTO DE IMPLEMENTACIÓN

PRESUPUESTO REFERENCIAL

PROYECTO: INCORPORACIÓN DEL SUERO DE LECHE, COMBINADO CON EXCRETA BOVINA Y FIBRA VEGETAL PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS EN BIODIGESTOR *IN SITU*

UBICACIÓN: ESTABLECIMIENTOS DE PRODUCCIÓN QUESERA

TABLA 13. Presupuesto referencial para implementación de biodigestor *in situ*

DESCRIPCION DE RUBROS, UNIDADES, CANTIDADES Y PRECIOS					
RUBRO No	DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO	PRECIO TOTAL
Rubros para construcción de biodigestor con capacidad de carga diaria de 20 kg mezcla de excreta y tres partes de agua y suero con tiempo de retención de 65 días					
1	Limpieza, replanteo y nivelación del área	m ²	10.00	0.35	3.50
2	Excavación de zanja a mano para biodigestor y cámaras 8m x 1 m x 0.9 h	m ³	7.20	3.50	25.20
3	Suministro transporte e instalación de Geomembrana HDPE 500 micras 3.7m x 10.7 m	m ²	44.16	4.50	198.72
4	Suministro e instalación tubería PVC de 110mm para carga y salida	m	3.00	5.66	16.99
5	Suministro e instalación de amarras de sujeción (tubo de neumático)	u	2.00	3.10	6.20
6	Suministro e instalación válvula de 20 mm para salida de gas incluye adaptador	u	1.00	4.20	4.20
7	Suministro e instalación válvula de 20 mm de escape incluye adaptador	u	1.00	4.20	4.20
8	Suministro e instalación manguera de 20 mm incluye abrazaderas y adaptadores	m	10.00	0.55	5.50
9	Suministro e instalación de neplo, tapón, bushing de 20mm	u	3.00	0.35	1.05
10	Construcción de cámara 1 m x 1 m x 1 h para entrada de efluente y salida de biol	u	2.00	52.49	104.98
11	Construcción cubierta plástica 9 m x 1.5 m para concentración de temperatura	u	1.00	130.00	130.00
SON: \$ 500. 54 (QUINIENTOS CON 54/ 100 DÓLARES DE LOS ESTADOS UNIDOS)					500.54

4.4.11 ADMINISTRACIÓN

La gerencia de la presente investigación estará bajo la administración de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

4.4.12 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Es recomendable realizar la evaluación oportuna de la propuesta para que los resultados sean confiables, y los reportes sean difundidos a favor de productores, industria quesera a pequeña, mediana y gran escala, haciendo hincapié en el manejo eficiente de residuos que en conjunto contribuyan a la mitigación de gases de efecto invernadero.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Una vez realizada la investigación, se concluye que el aprovechamiento de la biomasa residual pecuaria como excreta de ganado bovino, enriquecido con lactosuero así también el suministro de fibra vegetal en concentraciones porcentuales del 75% agua,

suero 25%, estiércol 75% y fibra vegetal 25% en relación 1:3 entre parte sólida y líquida, se logra producir biogás.

La producción de metano en el estudio se logró con la mínima adición de lactosuero 25% como enriquecedor, de esta manera promoviendo su uso como una alternativa energética y por ende mitigar los gases efecto invernadero por la descomposición de remanentes lácteos.

En la combinación de materiales sólidos y líquidos como materia prima utilizada para la investigación, se determinaron la presencia de ácidos grasos volátiles como el ácido acético 69.96 mmol/mol, propiónico 25.05 mmol/mol y butírico 14.95, 14.28, 14.33 y 15.01 mmol/mol como intervinientes esenciales en la producción de biogás y metano.

5.2 RECOMENDACIONES

De los resultados obtenidos en la investigación se recomienda utilizar la excreta de bovino enriquecida con lactosuero y fibra vegetal como alternativa para el tratamiento de efluentes líquido, de queseras en la producción de biogás, considerando su elevada aptitud de degradación, a la vez reduciendo el impacto ambiental originado por los vertidos de lactosuero, con enfoque de sostenibilidad, solidario con el ambiente y contribuyendo a reducir la emisión de gases efecto invernadero.

Se recomienda instalar un biodigestor *in situ* de una quesera como una estructura complementaria para realizar el tratamiento del suero procedente de la fabricación de queso, a una relación proporcional de sólido y líquido 1:3 enriquecida con 25% de suero, 75% de agua, estiércol y 25% de paja para la producción de biogás y el aprovechamiento del derivado de la digestión para emplearlo como atenuadores de patógenos y biofertilizante.

Es factible recomendar que en posteriores investigaciones, a la formulación que contiene la mínima concentración de lactosuero como tratamiento que mejor producción de biogás y metano se obtuvo, se lo añada de forma artificial correctores

de pH y adición de micronutrientes para mantener el medio en condiciones propicias de alcalinidad y promover la máxima actividad de los microorganismos metanogénicos.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta, Y. Obaya, M. (2005). La Digestión Anaerobia. Parte I. Redalyc, 1, 1–15.

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120659006>

Albiac, J. Kahil, T. Notivol, E. Calvo E. (2017) Agriculture and climate change: Potential for mitigation in Spain. Department of Agricultural Economics. International Institute for Applied Systems Analysis (IIASA), Austria. Department of Forest Resources. Department of Economic Analysis, University of Zaragoza, Spain Volume 592, 15 August, Pages 495-502 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969717306198>

- Angelidaki, I., Treu, L., Tsapekos, P., Luo, G., Campanaro, S., Wenzel, H., & Kougias, P. G. (2018). Biogás upgrading and utilization: Current status and perspectives. *Biotechnology Advances*, 36(2), 452–466. Disponible en: doi:10.1016/j.biotechadv.2018.01.011
- Anuario de Observaciones Meteorológicas (2010). Estación Meteorológica Querochaca. Cevallos.
- Arias, J. (2019). Potencial Energético del Biogás de la Co-digestión del suero lácteo y el estiércol bovino. TESIS. Universidad de las Américas. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/10889>
- Armando, J., Cárdenas, B., & Flores, C. L. (2012). Enteric methane emission by ruminants and its contribution to global climate change. Review. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 3(2), 215-246.
- Asamblea Constituyente. (2008). Constitución de la República del Ecuador, Asamblea Constituyente. Montecristi, Ecuador.
- Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. ABIQ. (2014). São Paulo, Disponible en: [http:// www.abiq.com.br/](http://www.abiq.com.br/)
- Autolines, D., Bohórquez, J., Corrales, L., & Corredor, A. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *Revista Colombiana de Ciencias Agropecuarias*, 18(5), 27. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n24/v13n24a06.pdf>
- Ávila, R., Cárdenas, A. & Medina, A. (2000). Tratamiento del lactosuero utilizando la técnica de hemodiálisis. *Interciencia* 25 (2): 80-84. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/339/33904405.pdf>
- Barrena, M., Gamarra, O., Milla, M., Fellenberg, T., & Ordinola, C. (2017). Optimización de la producción de biogás a escala de laboratorio a partir de

estiércol de bovino, lactosuero y totora (32), 60–66. Disponible en: <https://doi.org/10.25127/indes.201502.007>

Briseño, L. (2017). Producción de biogás a través de la codigestión de residuos sólidos y semisólidos: hacia una planta centralizada de biogás para la generación de energía. Tesis. Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, S.C. México. Santiago de Queretaro (23) 1 - 99 pp. Disponible en: <https://cideteq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1021/186/1/pdf>

Camino, E., Riggio, V., y Rosso, M. (2012). Biogás Production by anaerobic codigestion of cattle slurry and cheese whey. *Bioresource Technology*, 46-53. Disponible en: doi: 10.1016/j.biortech.2012.02.090.

Cantuña, L. (2018). Evaluación por valoración del potencial de biometanización del rendimiento de producción de metano a partir de suero lácteo de la quesería artesanal de la zona rural de Machachi inoculado con estiércol bovino. Universidad Central del Ecuador.

Cárdenas, J. (2012). Evaluación de la calidad de biogás y biol en digestores utilizando estiércol de vaca y residuos orgánicos del comedor pretratados con la técnica del bocashi. Universidad Nacional Agraria La Molina. 66 p.

CAREX, VIVERS (2019). Disponible en: <http://www.carex.cat/es/vivers-carex/catalogo/brachypodium-phoenicoides-.aspx>.

Castillejos, L. (2005). Modificación de la fermentación microbiana ruminal mediante compuestos de aceites esenciales. Tesis Ph. D. Universidad Autónoma de Barcelona. Depto. de Ciencia Animal y de los Alimentos. Barcelona, España.

Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria. (2000). Artículos y Proyectos de Ganadería Sostenible. Cali - Colombia. Disponible en:

http://www.cipav.org.co/areas_de_investigacion/articulos%20Ganaderia%20sostenible.html

Chandra, R., Takeuchi, H. y Hasegawa, T. (2012). Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16,1462-1476.

Disponble en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v14n2/v14n2a9.pdf>

Chica, A., & López, G. (2011). Modelado del Crecimiento de Bacterias al Interior de Un Biodigestor, 5, 1–5. Disponble en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4020242>.

Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (1994). Disponble en: <https://www.miteco.gob.es/es/cambio-climatico/temas/el-proceso-internacional-de-lucha-contr-el-cambio-climatico/naciones-unidas/CMNUCC.aspx>

Cornejo, C., & Wilkie, A. C. (2010). De Estiércol a Energía - Captura de Metano en Ecuador. *Revista Tecnológica - ESPOL*, 23(1), 135–142. Disponble en: <http://www.rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/46>

Cuetos, M.J., Gomez, X., Otero, M. y Moran A. (2010). Anaerobic digestion and co-digestion of slaughterhouse waste (SHW): influence of heat and pressure pre-treatment in biogás yield. *Waste Manage* 30, 1780-1789. Disponble en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v14n2/v14n2a9.pdf>

Diouf, B., & Miezán, E. (2019). The biogás initiative in developing countries, from technical potential to failure: The case study of Senegal. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 101, 248–254. Disponble en: [doi:10.1016/j.rser.2018.11.011](https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.011)

- Erguder, T.H.; Tezel, U.; Guven, E.; Demirer, G.N. (2001). Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. In Elsevier: Vol. 21. P.643-650.
- FAO. (2011). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Manual de Biogás. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/as400s/as400s.pdf>
- Galván, C., & Mella. (2018). *In vitro* Gas Production Technique Used to Estimate the Producción of Methane, 11, 64–69. Disponible en: <http://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/121>
- Gelegenis, J., Georgakakais, D., Angeledaki, I., Mavris V. (2007). Optimization of biogás production by co-digesting whey with diluted poultry manure. Renewable Energy, 2147 - 2160. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.renene.2006.11.015>.
- Gerardi, M.H. (2003). The Microbiology of Anaerobic Digesters. Wastewater Microbiology series. Wiley Interscience. United States of America. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v14n2/v14n2a9.pdf>
- Gonzales, et al. (2005). Medición de ácidos grasos volátiles mediante la degradación. Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de Concepción. Chile. 5p. Disponible en: http://www.ciiq.org/varios/peru_2005/Trabajos/I/3/1.3.05.pdf
- González, Erika Tatiana; Jurado, Paula Catalina. (2017). Sustratos y producción de biogás en biodigestores. Una revisión sistemática. Ingeciencia, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 44-64, ago. ISSN 2500-929X. Disponible en: http://editorial.ucentral.edu.co/ojs_uc/index.php/Ingeciencia/article/view/2352
- Guzmán, S. (2011). Importancia de la fibra en la alimentación de los bovinos. Universidad San Nicolás de Hidalgo.

- Grzona, D. P., & Münnich, K. (2018). Producción de biogás a partir de estiércol bovino y suero lácteo de quesería. Jornadas de Jóvenes Investigadores AUGM. Universidad Nacional de Cuyo. Disponible en: <https://bdigital.uncu.edu.ar/12921>
- Hernández, F. (2015). Producción de biogás con suero de queso: tratamiento y generación de energía renovable a partir de lactosuero. Bueno Aires. Argentina.
- Herrera E, L; Medina F, A y Naranjo L, G. 2004. Tutoría de la Investigación Científica. Guía para la elaborar en forma creativa y amena el trabajo de graduación. 4ed. Ambato, EC. Graficas Corona. Quito. 228 p. (Serie ISBN: 9978).
- Hill, D.T. & Holmberg R.D. (1988) Long Chain Volatile Fatty Acid Relationships in Anaerobic Digestion of Swine Waste. *Biological Wastes* (23), 195-215. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v14n2/v14n2a9.pdf>
- Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2017). Encuesta Nacional de Superficie y Producción Agropecuaria. Número de Cabezas de Ganado Vacuno, según Región y Provincia.
- Juliano, et al. (2017). »Valoración del lactosuero. (G. C. M. Muset, Ed.). Transferencia Tecnológica.
- Kalyuzhnyi, S. V.; Martínez, E. P.; Martínez, J. R. (1997). Anaerobic treatment of high-strength cheese-whey wastewaters in laboratory and pilot UASB-reactors. In Elsevier: Vol. 60. P.59-65.
- Lal, R. (2015). *Climate Change and Agriculture - Carbon Management and Sequestration Center*, The Ohio State University, Columbus, OH, USA. *Climate Change (Second Edition)* Elsevier B.V. Chapter 28 Pages 465-485 Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63524-2.00028-2>

- Magaña-Ramírez, J. L., & Rubio-Núñez, R. (2011). Tratamiento anaerobio de desechos lácticos y estiércol de cabra Anaerobic treatment of lactic waste and goat manure. *Ingeniería E Investigación*, 31(1), 93–98.
- Maghanaki, et al. (2013). Renewable y sostenible Energy Reviews Potencial de producción de biogás en Irán. *ELSEVIER*, 28, 702–714. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.08.021>
- Ministerio de Ambiente de Ecuador. (2012). Estrategia Nacional de Cambio Climático del Ecuador ENCC 2012- 2025. Gobierno de la República del Ecuador. Quito. Disponible en: <http://www.ambiente.gob.ec>
- Narváez, Y., Saltos, A. (2007). Diseño, construcción y puesta en marcha de un biodigestor tipo piloto para la obtención de biogás y bioabono a partir de la mezcla de estiércol vacuno y suero de queso. Tesis de Grado. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química. Guayaquil - Ecuador. 144 pag. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/1611>
- Navas, S. (2011). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos Industrial Use of Whey by Fermentation Processes. *Revista Especializada En Ingeniería de Procesos En Alimentos Y Biomateriales I*, Volumen 6(ISSN: 1900-6608 Volumen), 1–15.
- Panesar et al., (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. Panesar, P. S., y otros. 2007. 1, 2007, *Food Chemistry*, Vol. 105, págs. 1–14. Disponible en: [doi:10.1016/j.foodchem.2007.03.035](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.035).
- Parra, R. (2015). Digestión anaeróbica : mecanismos biotecnológicos en el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en la industria alimentaria. *Producción más Limpia*, 10(2), 142–159.
- Parsae, M., Kiani, M., Kiani, D., & Karimi, K. (2019). Biomass and Bioenergy A review of biogás production from sugarcane vinasse. *Biomass and Bioenergy*,

122(December 2018), 117–125. Disponible en:
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.01.034>

Patel, P., Patel, C., Madamwar, D. (1999) Anaerobic Upflow fixed-film bioreactor for biomethanation of salty cheese whey., *Applied Biochemistry and Biotechnology*, (76), pp. 193-201. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=342046466005%0A>

Pinto, R., David, H., Luis, R., Carlos, Sandoval Castro, Mario Cobos, H., & Heriberto, G. C. (2009). Tninos y Fenoles en la Fermentación *in vitro* de Leñosas Forrajeras Tropicales. *Agronomía Mesoamérica*, 20, 81–89. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43711514009%0ACómo>

Pratt, C. Tate, K (2018) Mitigating methane: emerging technologies to combat climate change’s second leading contributor. Disponible en: <http://pubs.acs.org>

Quintero, K. (2016). Estudio de la producción de metano en biodigestores semicontinuos. Universidad Simón Bolívar.

Ramos, C. (2019). Biomass and Bioenergy A review of biogás production from sugarcane vinasse. *Biomass and Bioenergy*, 122(December 2018), 117–125. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.01.034>

Ranalli, G.; Andreoni, V; Bonfanti, P; Corradini, S Sordini, C. (1995). “Anaerobic digestion of cheese whey in a two stage reactor”. *American Society of Agricultural Engineers*. Vol. 7, pp. 347-356.

Rodríguez, F., Torres, M., Elia, J., Palao, M., & Barrios, G. (2016). Procesos biológicos para el tratamiento de lactosuero con producción de biogás e hidrógeno. 1-17. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=342046466005%0A>

- Rodríguez, M. (2018). Ensayo Biochemical Methane Potencial de Digestión Anaerobia con Fangos Mixtos de EDAR y Residuos Orgánicos de Vertedero. Tesis. Universidad de Sevilla. Escuela politécnica Superior. 39 (1-59) pp. Disponible en: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/88845/Trabajo%20Fin%20de%20Graduo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rodríguez-Ugarte, C. (2016). Reactor para generar biogás a partir de excretas animales. *Sistemas Experimentales*, Vol.3 No.9 (December), 37–41. Disponible en: http://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Sistemas_Experimentales/vol3num9/Revista_de_Sistemas_Experimentales_V3_N9_6.pdf
- Saddoud, A., Sayadi, S., Hassaïri, I. (2007). Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. *Bioresource Technology*. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=342046466005%0A>
- Sahlström, L. (2003). A review of survival of pathogenic bacteria in organic used in biogás plants, *Bioresource Technology*, (87) pp. 161-166. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/iei/v31n1/v31n1a10.pdf>
- Samuel, D., Lanuza, Z., Alberto, J., & Calero, Z. (2014). Evaluación de la producción de biogás a partir de suero lácteo a escala de laboratorio. Evaluation of biogás production from whey at laboratory scale. *El Higo Revista de Ciencia y Tecnología*, 4, 29–35. R Disponible en: <http://ribuni.uni.edu.ni/id/eprint/763>
- Segunda Fase de Vacunación contra la Fiebre Aftosa. (2018). Datos del Cantón Quero mes de Noviembre.
- Senplades, S. N. de P. y D.-. (2017). Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021. Toda una Vida. Quito. Disponible en: <https://doi.org/10.1109/CDC.2014.7039974>
- Severiche Sierra, C. A., & Acevedo Barrios, R. L. (2013). Investigación Biogás a partir de residuos orgánicos y su apuesta como combustibles de segunda, 6–15.

- Singh, R. Sooch, B.S. Kaur, K. y Kennedy, J. (2004). Optimization of parameters for citric acid production from cheddar cheese whey using *Metschnikowia pulcherrima* NCIM 3108. *Journal of Biological Sciences*, vol 4(6), pp. 700-705.
- Siso, M. I. (1996). The biotechnological utilization of cheese whey: a review. In Elsevier: Vol. 57. P.1-11. Disponible en: www.viogaz.com
- Smil, V. (2004). *World History and Energy*, 6, 549–561. Disponible en: <http://vaclavsmil.com/wp-content/uploads/docs/smil-article-2004world-history-energy.pdf>
- Speece, R. E. (2008). *Anaerobic biotechnology and odor/corrosion control for municipalities and industries*. Nashville, TN, Archae Press. 586 p. Disponible en: www.viogaz.com
- Steffen, G. Hilbert, J. Sheimberg, S. (2010). Una planta de biogás en base de estiércol animal en mezcla de silaje forrajeras de maíz en el marco agropecuario argentino. *Producción Animal Estudio*, 1–19. Disponible en: <http://energia3.mecon.gov.ar/contenidos/verpagina.php?idpagina=3291>
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B., & France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48(3), 185–197. *JOUR.* Disponible en: [http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)
- Tsai, W-T., Lin, Ch-I. (2009). Overview analysis of bioenergy from livestock manure management in Taiwan., *Renewable and Suitable Energy Reviews*, (13) pp. 2682-2688.

- Trejo, et al. (2015). Revista de Tecnología e Innovación Revista de Tecnología e Innovación. Revista de Tecnología E Innovación, 2(3), 581–594. Disponible en: www.ecorfan.org/bolivia
- Varnero, M. (2011). Manual de Biogás. (C. R. de B. para la E. R. con E. CHI/00/G32, Proyecto Renovables, Ed.) (ISBN 978-9). Santiago de Chile.
- Vélez-Ruíz, M. H.-R. J. F. (2014). Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de Las Américas Puebla, 13–22. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2015/05/TSIA-82-Hernandez-Rojas-et-al-2014.pdf>
- Viogaz S.A. (2012). Conversión de suero lácteo a biogás. División de Materias Primas. Universidad Técnica Nacional. Costa Rica. Pag. 41 – 45. Disponible en: <http://users.df.uba.ar/carlosv/dov/biocombustibles/biogás-física+biología/paper2.pdf>
- Ward, A. J.; Hobbs, P. J.; Holliman, P. J. & Jones, D. L. (2008). Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. Bioresource Technology, 99 (17), 7928-7940.
- Wellinger, A., Murphy, J., & Baxter, D. (2013). The biogás handbook: Science, production and applications (W. P. Limited Ed.).
- Zavaleta, E. (2009). Los Ácidos Grasos Volátiles, Fuente de Energía en los Rumiantes. Universidad Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia 5:1-18. Disponible en: <http://www.fm vz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol1/CVv1c09.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 24 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	30.78	33.01	28.63	27.37	27.92	27.78	27.11	32.30
T2	74.24	67.48	65.17	58.45	65.11	65.75	59.63	60.15

T3	38.48	38.13	35.08	38.56	36.15	36.11	33.83	33.12
T4	40.62	44.55	40.66	41.65	40.37	39.00	41.65	38.02
T5	44.74	45.85	46.79	46.84	41.23	40.33	37.99	40.54

Anexo 2. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 48 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	12.92	17.37	15.44	14.67	2.37	14.05	14.13	24.10
T2	93.18	84.90	68.80	86.36	92.71	81.89	87.99	81.70
T3	47.64	50.30	45.10	48.79	46.91	47.20	43.59	42.46
T4	51.24	58.03	54.19	50.93	52.84	53.21	54.85	50.57
T5	56.69	58.52	61.40	58.19	54.61	51.19	49.28	52.39

Anexo 3. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 72 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	53.63	60.27	53.07	53.00	30.60	51.33	51.77	72.99
T2	102.18	94.83	73.49	99.09	104.68	89.96	102.42	90.86
T3	51.49	54.67	49.85	54.99	52.82	53.06	49.24	48.24
T4	63.76	73.46	68.69	64.70	67.67	68.15	69.10	63.94
T5	62.39	64.25	67.37	63.20	60.30	56.64	54.65	56.35

Anexo 4. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 96 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	62.02	67.76	59.53	60.81	31.38	57.01	60.20	84.54
T2	106.04	96.99	76.16	103.97	105.79	94.12	108.56	95.04
T3	53.83	57.14	52.21	57.86	55.45	55.85	51.94	50.39

T4	82.59	94.80	87.76	84.08	86.42	85.80	86.59	80.52
T5	65.17	67.18	69.16	65.05	62.83	59.21	56.74	58.06

Anexo 5. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 120 horas

TRATAMIENTO	REPETICIONES								
	S	1	2	3	4	5	6	7	8
T1									95.6
		69.27	74.57	65.05	66.67	33.41	62.70	69.03	8
T2		107.7			105.6	106.6		112.3	96.1
		2	98.59	77.51	8	6	96.12	3	5
T3									52.0
		55.21	58.30	53.63	59.40	57.16	57.02	53.01	5
T4		105.0	119.8	108.2	106.0	107.8	104.8	106.2	99.3
		9	1	1	2	8	5	5	5
T5									58.0
		66.59	68.30	70.46	66.46	64.26	59.66	57.96	8

Anexo 6. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 144 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	76.33	81.03	68.69	69.65	35.98	66.82	74.94	105.57
T2	108.09	99.19	77.62	105.73	107.77	97.05	113.94	99.23
T3	56.24	58.72	53.79	59.94	57.72	57.30	53.05	52.55
T4	112.68	136.66	128.11	125.69	128.19	123.70	126.06	118.66
T5	67.40	69.28	71.89	67.43	65.20	60.54	58.90	58.10

Anexo 7. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 168 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	80.32	84.95	71.67	72.02	39.04	70.33	78.75	110.99
T2	108.46	100.64	78.08	105.77	109.04	98.29	115.71	100.74
T3	57.92	60.77	55.62	60.49	59.75	59.21	54.52	55.25
T4	131.17	154.10	143.24	141.38	145.11	140.50	141.79	135.03
T5	68.37	70.25	73.04	68.54	66.22	61.84	60.04	59.48

Anexo 8. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 192 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	84.51	88.19	74.57	73.98	41.82	73.03	81.60	115.71
T2	109.00	101.62	78.37	105.82	109.50	98.37	116.07	100.74
T3	58.07	61.39	55.77	61.60	60.50	59.49	54.56	55.75
T4	143.20	155.68	153.52	151.65	157.11	152.72	152.88	146.35
T5	68.82	70.37	73.26	68.70	66.40	62.02	60.30	59.50

Anexo 9. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 216 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	88.89	91.16	76.74	76.42	43.98	75.45	83.85	118.30
T2	109.63	102.91	79.63	107.11	109.96	99.53	117.32	101.45
T3	58.23	62.69	56.87	62.14	61.18	59.98	55.55	57.28
T4	150.30	161.15	159.85	157.45	164.72	160.63	160.68	153.44
T5	69.26	70.48	73.47	69.37	67.14	62.19	60.56	59.52

Anexo 10. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 240 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	92.50	93.23	77.78	78.18	45.73	77.33	85.21	120.96
T2	109.74	103.51	79.74	107.16	110.42	99.62	117.68	101.45
T3	58.38	62.96	57.02	62.68	61.41	60.26	55.59	57.78
T4	153.96	165.27	163.63	160.82	169.56	165.03	164.96	157.39
T5	69.63	71.17	74.26	69.53	67.33	62.37	60.81	59.53

Anexo 11. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 264 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	96.18	94.75	78.94	78.60	47.27	78.80	86.43	123.00
T2	110.28	104.41	80.21	107.87	110.89	99.93	118.18	101.46
T3	59.48	63.24	57.18	63.51	61.65	60.54	55.97	58.28
T4	155.73	167.07	166.16	163.13	172.57	168.24	167.06	159.76
T5	69.69	71.28	74.47	69.69	67.52	62.54	61.48	60.16

Anexo 12. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 288 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	99.34	96.75	79.57	81.17	48.54	80.20	87.52	125.17
T2	110.39	105.01	80.32	108.41	112.24	100.02	118.54	101.46
T3	60.58	64.13	57.34	64.06	62.07	60.82	56.01	58.78
T4	156.93	169.77	167.65	164.09	174.37	170.18	168.61	161.39
T5	69.76	71.39	74.69	69.84	67.71	62.72	61.74	60.18

Anexo 13. Datos de producción acumulada de biogás *in vitro* a las 312 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	102.00	98.55	80.60	82.80	49.60	81.40	88.20	127.00
T2	110.50	105.60	80.43	108.46	112.70	100.10	118.90	101.70
T3	62.40	64.41	57.50	64.60	62.30	61.10	56.05	60.10
T4	157.50	171.94	168.80	164.90	175.70	171.40	169.80	162.60
T5	69.83	71.50	74.90	70.00	67.90	64.30	62.00	60.20

Anexo 14. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 24 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	1.30	1.53	1.48	1.29	1.47	1.37	1.44	1.48
T2	1.19	1.18	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.14	1.21	1.14	1.20	1.20	1.20	1.20	1.19
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 15. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 48 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	1.33	1.65	1.55	1.39	1.48	1.43	1.50	1.64
T2	1.19	1.18	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.16	1.25	1.16	1.22	1.23	1.21	1.25	1.21
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 16. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 72 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	1.45	1.70	1.55	1.45	1.48	1.47	1.53	1.76
T2	1.20	1.18	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.20	1.30	1.19	1.25	1.26	1.23	1.29	1.23
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 17. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 96 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	1.56	1.76	1.59	1.51	1.48	1.48	1.55	1.81
T2	1.20	1.18	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.22	1.35	1.23	1.28	1.29	1.27	1.33	1.24
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 18. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 120 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	1.71	1.84	1.62	1.56	1.48	1.51	1.61	1.90
T2	1.21	1.18	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.24	1.38	1.25	1.30	1.31	1.28	1.36	1.26
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 19. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 144 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	1.85	1.93	1.63	1.56	1.49	1.53	1.67	2.06
T2	1.21	1.18	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.24	1.38	1.27	1.32	1.31	1.28	1.36	1.26
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 20. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 168 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	1.88	1.95	1.64	1.56	1.50	1.54	1.69	2.13
T2	1.21	1.19	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.24	1.38	1.28	1.33	1.32	1.30	1.37	1.28
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 21. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 192 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	1.91	1.96	1.65	1.57	1.51	1.55	1.70	2.16
T2	1.21	1.19	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.25	1.38	1.29	1.34	1.33	1.31	1.38	1.29
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 22. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 216 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	1.95	1.97	1.66	1.57	1.52	1.55	1.71	2.17
T2	1.21	1.19	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.25	1.38	1.29	1.34	1.33	1.31	1.38	1.29
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 23. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 240 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	1.98	1.98	1.66	1.57	1.52	1.55	1.71	2.18
T2	1.21	1.19	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.26	1.38	1.29	1.34	1.33	1.31	1.38	1.29
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 24. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 264 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	2.01	1.98	1.66	1.57	1.52	1.55	1.71	2.18
T2	1.21	1.19	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.26	1.38	1.30	1.34	1.34	1.31	1.38	1.29
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 25. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 288 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	2.04	1.98	1.66	1.57	1.53	1.55	1.71	2.19
T2	1.21	1.19	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.26	1.38	1.30	1.34	1.34	1.31	1.38	1.29
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 26. Datos de producción acumulada de metano *in vitro* a las 312 horas

TRATAMIENTOS	REPETICIONES							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1	2.06	1.98	1.66	1.57	1.53	1.55	1.71	2.19
T2	1.21	1.19	1.18	1.17	1.18	1.18	1.17	1.17
T3	1.14	1.14	1.13	1.14	1.13	1.13	1.13	1.13
T4	1.26	1.38	1.30	1.34	1.34	1.31	1.38	1.29
T5	1.15	1.15	1.15	1.15	1.14	1.14	1.14	1.14

Anexo 27. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 24 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	5592,52	4	1398,13	134,89	<0.0001
Tratamiento	5592,52	4	1398,13	134,89	<0.0001
Error	362,76	35	10,36		
Total	5955,28	39			
C.V: 7.53	R ² :0.94				

Anexo 28. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 24 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
S100%+E75%+P25%	64,50	8	A
A25%+S75%+E75%+P25%	43,04	8	B
A75%+S25%+E75%+P25%	40,81	8	B
A50%+S50%+E75%+P25%	36,18	8	C
A100%+E75%+P25%	29,36	8	D

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 29. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 48 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	20156,37	4	5039,09	200,01	<0.0001
Tratamiento	20156,37	4	5039,09	200,01	<0.0001
Error	881,79	35	25,19		
Total	21038,16	39			

C.V: 9.88 **R²:**0.96

Anexo 30. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 48 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
S100%+E75%+P25%	84,69	8	A
A25%+S75%+E75%+P25%	55,28	8	B
A75%+S25%+E75%+P25%	53,23	8	B C
A50%+S50%+E75%+P25%	46,50	8	C
A100%+E75%+P25%	14,38	8	D

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 31. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 72 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
------	----	----	----	---	-----------

Modelo	9721,77	4	2430,44	43,93	<0.0001
Tratamiento	9721,77	4	2430,44	43,93	<0.0001
Error	1936,50	35	55,33		
Total	11658,27	39			
C.V: 11.34 R²: 0.83					

Anexo 32. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 72 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
S100%+E75%+P25%	94,69	8	A
A75%+S25%+E75%+P25%	67,43	8	B
A25%+S75%+E75%+P25%	60,64	8	B C
A100%+E75%+P25%	53,33	8	C
A50%+S50%+E75%+P25%	51,80	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Anexo 33. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 96 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	11355,45	4	2838,86	38,42	<0.0001
Tratamiento	11355,45	4	2838,86	38,42	<0.0001
Error	2585,84	35	73,88		
Total	13941,29	39			
C.V: 11.87 R²: 0.81					

Anexo 34. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 96 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
S100%+E75%+P25%	98,33	8	A

A75%+S25%+E75%+P25	86,07	8	A
A25%+S75%+E75%+P25%	62,93	8	B
A100%+E75%+P25%	60,41	8	B
A50%+S50%+E75%+P25%	54,33	8	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 35. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 120 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	17197,19	4	4299,30	45,43	<0.0001
Tratamiento	17197,19	4	4299,30	45,43	<0.0001
Error	3312,52	35	94,64		
Total	20509,71	39			

C.V: 12.35 R²:0.84

Anexo 36. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 120 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A75%+S25%+E75%+P25%	107,18	8	A
S100%+E75%+P25%	100,09	8	A
A100%+E75%+P25%	67,05	8	B
A25%+S75%+E75%+P25%	63,97	8	B
A50%+S50%+E75%+P25%	55,72	8	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 37. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 144 horas

Anexo 38. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 144 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	25975,95	4	6493,99	56,60	<0.0001
Tratamiento	25975,95	4	6493,99	56,60	<0.0001
Error	4015,89	35	114,74		
Total	29991,84	39			

C.V: 12.77 R²:0.87

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A75%+S25%+E75%+P25%	124,97	8	A
S100%+E75%+P25%	101,08	8	B
A100%+E75%+P25%	72,38	8	C
A25%+S75%+E75%+P25%	64,84	8	C D
A50%+S50%+E75%+P25%	56,16	8	D

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Anexo 39. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 168 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	36760,83	4	9190,21	76,77	<0.0001
Tratamiento	36760,83	4	9190,21	76,77	<0.0001
Error	4189,69	35	119,71		
Total	40950,52	39			

C.V: 12.77 R²:0.87

Anexo 40. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 168 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A75%+S25%+E75%+P25%	141,54	8	A

S100%+E75%+P25%	102,09	8	B	
A100%+E75%+P25%	76,01	8		C
A25%+S75%+E75%+P25%	65,97	8		C D
A50%+S50%+E75%+P25%	57,94	8		D

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 41. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 192 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	45007,55	4	11251,89	93,66	<0.0001
Tratamiento	45007,55	4	11251,89	93,66	<0.0001
Error	4204,57	35	120,13		
Total	49212,12	39			

C.V: 11.97 R²:0.91

Anexo 42. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 192 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A75%+S25%+E75%+P25%	151,64	8	A
S100%+E75%+P25%	102,44	8	B
A100%+E75%+P25%	79,18	8	C
A25%+S75%+E75%+P25%	66,17	8	C D
A50%+S50%+E75%+P25%	58,39	8	D

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 43. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 216 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	50922,03	4	12730,51	104,70	<0.0001
Tratamiento	50922,03	4	12730,51	104,70	<0.0001

Error	4255,82	35	121,59
Total	55177,85	39	

C.V: 11.74 R²:0.92

Anexo 44. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 216 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A75%+S25%+E75%+P25%	158,53	8	A
S100%+E75%+P25%	103,44	8	B
A100%+E75%+P25%	81,85	8	C
A25%+S75%+E75%+P25%	66,50	8	C D
A50%+S50%+E75%+P25%	59,24	8	D

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Anexo 45. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 240 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	54547,30	4	13636,83	108,10	<0.0001
Tratamiento	54547,30	4	13636,83	108,10	<0.0001
Error	4415,06	35	126,14		
Total	58962,36	39			

C.V: 11.79 R²:0.92

Anexo 46. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 240 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A75%+S25%+E75%+P25%	162,58	8	A
S100%+E75%+P25%	103,66	8	B
A100%+E75%+P25%	83,86	8	C

A25%+S75%+E75%+P25%	66,83	8	D
A50%+S50%+E75%+P25%	59,51	8	D

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo47. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 264 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	56518,31	4	14129,58	109,19	<0.0001
Tratamiento	56518,31	4	14129,58	109,19	<0.0001
Error	4529,22	35	129,41		
Total	61047,53	39			

C.V: 11.81 **R²:**0.93

Anexo 48. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 264 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A75%+S25%+E75%+P25%	164,97	8	A
S100%+E75%+P25%	104,15	8	B
A100%+E75%+P25%	85,50	8	C
A25%+S75%+E75%+P25%	67,10	8	D
A50%+S50%+E75%+P25%	59,98	8	D

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 49. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 288 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	57740,56	4	14435,14	107,41	<0.0001
Tratamiento	57740,56	4	14435,14	107,41	<0.0001
Error	4703,59	35	134,39		
Total	62444,16	39			

C.V: 11.92 R²:0.92

Anexo 50. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 288 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A75%+S25%+E75%+P25%	166,62	8	A
S100%+E75%+P25%	104,55	8	B
A100%+E75%+P25%	87,28	8	C
A25%+S75%+E75%+P25%	67,25	8	D
A50%+S50%+E75%+P25%	60,47	8	D

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Anexo 51. Análisis de la varianza de producción de biogás *in vitro* ml a las 312 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	58383,94	4	14595,98	105,60	<0.0001
Tratamiento	58383,94	4	14595,98	105,60	<0.0001
Error	4837,73	35	138,22		
Total	63221,67	39			

C.V: 12.00 R²:0.92

Anexo 52. Prueba de Tukey al 5% para producción de biogás *in vitro* ml a las 312 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A75%+S25%+E75%+P25%	167,83	8	A
S100%+E75%+P25%	104,80	8	B
A100%+E75%+P25%	88,77	8	B
A25%+S75%+E75%+P25%	67,58	8	C
A50%+S50%+E75%+P25%	61,06	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 53. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 24 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	0,44	4	0,11	63,01	<0.0001
Tratamiento	0,44	4	0,11	63,01	<0.0001
Error	0,06	35	1,7E-03		
Total	0,50	39			

C.V: 3.45 **R²:**0.88

Anexo 54. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 24 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A100%+E75%+P25%	1,42	8	A
A75%+S25%+E75%+P25%	1,19	8	B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	B
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 55. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 48 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	0,72	4	0,18	64,45	<0.0001
Tratamiento	0,72	4	0,18	64,45	<0.0001
Error	0,10	35	2,8E-03		
Total	0,82	39			

C.V: 4.28 **R²:**0.88

Anexo 56. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 48 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO	
A100%+E75%+P25%	1,50	8	A	
A75%+S25%+E75%+P25%	1,21	8	B	
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B	C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	B	C
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8	C	

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 57. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 72 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	0,95	4	0,24	75,72	<0.0001
Tratamiento	0,95	4	0,24	75,72	<0.0001
Error	0,11	35	3,1E-03		
Total	1,06	39			

C.V: 4.47 R²:0.90

Anexo 58. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 72 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO	
A100%+E75%+P25%	1,55	8	A	
A75%+S25%+E75%+P25%	1,24	8	B	
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B	C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	C	
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8	C	

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 59. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 96 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	1,16	4	0,29	78,88	<0.0001
Tratamiento	1,16	4	0,29	78,88	<0.0001
Error	0,13	35	3,7E-03		
Total	1,29	39			

C.V: 4.47 **R²:**0.90

Anexo 60. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 96 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A100%+E75%+P25%	1,59	8	A
A75%+S25%+E75%+P25%	1,28	8	B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	C
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0.05)

Anexo 61. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 120 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	1,50	4	0,38	73,49	<0.0001
Tratamiento	1,50	4	0,38	73,49	<0.0001
Error	0,18	35	0,01		
Total	1,68	39			

C.V: 5.57 **R²:**0.89

Anexo 62. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 120 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A100%+E75%+P25%	1,65	8	A

A75%+S25%+E75%+P25%	1,30	8	B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	C
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 63. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 144 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	1,90	4	0,48	51,85	<0.0001
Tratamiento	1,90	4	0,48	51,85	<0.0001
Error	0,32	35	0,01		
Total	2,22	39			

C.V: 7.38 R²:0.86

Anexo 64. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 144 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A100%+E75%+P25%	1,72	8	A
A75%+S25%+E75%+P25%	1,30	8	B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	C
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 65. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 168 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	2,05	4	0,51	48,12	<0.0001
Tratamiento	2,05	4	0,51	48,12	<0.0001

Error	0,37	35	0,01
Total	2,42	39	

C.V: 7.92 **R²:**0.85

Anexo 66. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 168 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A100%+E75%+P25%	1,74	8	A
A75%+S25%+E75%+P25%	1,31	8	B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	C
A50%+S50%+E75%+P25	1,13	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 67. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 192 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	2,16	4	0,54	46,94	<0.0001
Tratamiento	2,16	4	0,54	46,94	<0.0001
Error	0,40	35	0,01		
Total	2,56	39			

C.V: 8.20 **R²:**0.84

Anexo 68. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 192 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A100%+E75%+P25%	1,75	8	A
A75%+S25%+E75%+P25%	1,32	8	B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	C

A50%+S50%+E75%+P25% 1,13 8 C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 69. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 216 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	2,23	4	0,56	46,33	<0.0001
Tratamiento	2,23	4	0,56	46,33	<0.0001
Error	0,42	35	0,01		
Total	2,66	39			

C.V: 8.38 **R²:**0.84

Anexo 70. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 216 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A100%+E75%+P25%	1,76	8	A
A75%+S25%+E75%+P25%	1,32	8	B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	C
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 71. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 240 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	2,28	4	0,57	45,64	<0.0001
Tratamiento	2,28	4	0,57	45,64	<0.0001
Error	0,44	35	0,01		
Total	2,72	39			

C.V: 8.53 **R²:**0.84

Anexo 72. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 240 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A100%+E75%+P25%	1,77	8	A
A75%+S25%+E75%+P25%	1,32	8	B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	C
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 73. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 264 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	2,32	4	0,58	44,91	<0.0001
Tratamiento	2,32	4	0,58	44,91	<0.0001
Error	0,45	35	0,01		
Total	2,77	39			

C.V: 8.66 **R²:**0.84

Anexo 74. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 264 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A100%+E75%+P25%	1,77	8	A
A75%+S25%+E75%+P25%	1,32	8	B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	C
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 75. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 288 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	2,36	4	0,59	44,04	<0.0001
Tratamiento	2,36	4	0,59	44,04	<0.0001
Error	0,47	35	0,01		
Total	2,83	39			
C.V: 8.81 R²: 0.83					

Anexo 76. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 288 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A100%+E75%+P25%	1,78	8	A
A75%+S25%+E75%+P25%	1,32	8	B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8	C
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 77. Análisis de la varianza de producción de metano *in vitro* ml a las 312 horas

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	2,38	4	0,60	43,53	<0.0001
Tratamiento	2,38	4	0,60	43,53	<0.0001
Error	0,48	35	0,01		
Total	2,86	39			
C.V: 8.90 R²: 0.83					

Anexo 78. Prueba de Tukey al 5% para producción de metano *in vitro* ml a las 312 horas

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
--------------------	---------------	----------	--------------

A100%+E75%+P25%	1,78	8	A	
A75%+S25%+E75%+P25%	1,32	8		B
S100%+E75%+P25%	1,18	8	B	C
A25%+S75%+E75%+P25%	1,15	8		C
A50%+S50%+E75%+P25%	1,13	8		C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 79. Análisis de la varianza para producción de ácido acético

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	539,01	4	134,75	122.81	<0.0001
Tratamiento	539,01	4	134,75	122.81	<0.0001
Error	38,40	35	1,10		
Total	577,41	39			

C.V: 1.64 R²:0.93

Anexo 80. Prueba de Tukey al 5% para producción ácido acético

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A75%+S25%+E75%+P25%	69,96	8	A
S100%+E75%+P25%	66,30	8	B
A100%+E75%+P25%	61,65	8	C
A25%+S75%+E75%+P25%	60,89	8	C
A50%+S50%+E75%+P25%	60,63	8	C

Medias con un letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 81. Análisis de la varianza para producción de ácido propiónico

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	296,98	4	74,25	104,63	<0.0001
Tratamiento	296,98	4	74,25	104,63	<0.0001

Error	24,83	35	0,71
Total	321,82	39	

C.V: 3.82 **R²:**0.92

Anexo 82. Prueba de Tukey al 5% para producción de ácido propiónico

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A50%+S50%+E75%+P25%	25,05	8	A
A25%+S75%+E75%+P25%	24,10	8	A B
A100%+E75%+P25%	23,40	8	B
S100%+E75%+P25%	19,43	8	C
A75%+S25%+E75%+P25%	18,15	8	D

Medias con un letra común no son significativamente diferentes (p>0.05)

Anexo 83. Análisis de la varianza para producción de ácido butírico

F.V.	SC	GL	CM	F	P - VALOR
Modelo	52,25	4	13,06	21,14	<0.0001
Tratamiento	52,25	4	13,06	21,14	<0.0001
Error	21,63	35	0,62		
Total	73,88	39			

C.V: 5,58 **R²:**0.71

Anexo 84. Prueba de Tukey al 5% para producción de ácido butírico

TRATAMIENTO	MEDIAS	N	RANGO
A25%+S75%+E75%+P25%	15,01	8	A

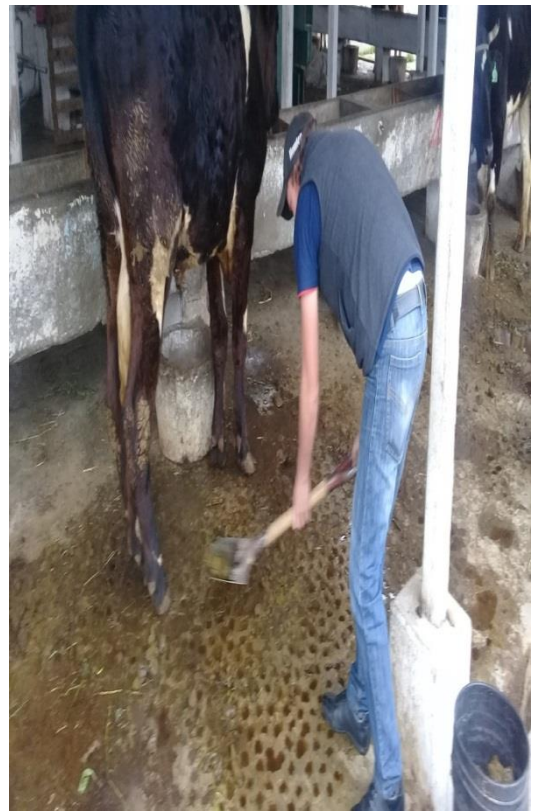
A100%+E75%+P25%	14,95	8	A	
A50%+S50%+E75%+P25%	14,33	8	A	
S100%+E75%+P25%	14,28	8	A	
A75%+S25%+E75%+P25%	11,89	8		B



Recolección de fibra vegetal paja *Brachypodium phoenicoides*



Recolección de lactosuero de quesera Santa Anita del Cantón Quero



Recolección de residuos de excreta bovina



Picado de fibra vegetal *Brachypodium phoenicoides* y pesado, medición de materiales



Agregación de materiales sólidos y líquidos para mezcla y aforando final de 500 ml



Distribución de 60 ml de las mezclas en frascos de vidrio con capacidad de 100 ml



Sellado hermético de los frascos y colocación en baño maría a 39°C





Toma de datos de volumen de gas con transductor de presión DELTA OHM-PRESSURE METER HD2124.2



**Toma de datos de metano CH₄ utilizando el medidor de gases múltiple portátil
GAS – PRO marca CROWCON.**



Preparación de muestras para el análisis de (AGVs) Ácidos Grasos Volátiles