

Evaluación de la macroalga *Ulva lactuca* como aportante de nutrientes a un inóculo metanogénico en la producción de biogás y biol mediante digestión anaerobia de residuos orgánicos del comedor de la UNALM

Evaluation of the *Ulva lactuca* macroalgae like an aportant of nutrients to a methanogenic inoculum in the production of biogas and biol throught anaerobic digestion of organic wastes of the UNALM restaurant

Melissa Capcha E.¹, Lawrence Quipuzco U.², Víctor Meza C.³

RECIBIDO: 28/10/2016 - APROBADO: 23/11/2016

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo la evaluación del desempeño de la *Ulva lactuca* en la producción de biogás y biol, analizando su interacción con contenido ruminal vacuno, para lo cual se usó residuos orgánicos del comedor universitario de la UNALM como sustrato de la prueba batch Potencial Bioquímico de Metano (PBM) a escala laboratorio. Para ello se realizó el pretratamiento de los inóculos, se incubó *Ulva lactuca* al 20 %, 30 %, 50 % y 100 % y contenido ruminal por 15 días, para luego realizar la prueba de determinación de actividad metanogénica (AME) con todas las muestras y finalmente escoger el tratamiento con mejores características de generación de metano. La muestra de 100 % de contenido de *Ulva lactuca* y contenido ruminal obtuvo las mejores condiciones para usarla como inóculo en la prueba PBM, donde se determinó el volumen de biogás y se evaluó la calidad del biol. Los resultados evidenciaron que durante los primeros 5 días se generó la mayor cantidad de metano, los siguientes días hubo producción constante pero menor que los primeros días. La prueba finalizó luego de 17 días, tiempo donde se detuvo la producción de metano. Se produjo un promedio de 68 % de contenido de metano. La producción de metano de los residuos orgánicos del comedor fue 1.3 L CH₄/g SV adicionado y la producción de metano por parte del inóculo sin sustrato fue de 0.1 L C H₄/g SV. Los bioles fueron sometidos a un análisis de parámetros fisicoquímicos como pH, conductividad eléctrica, concentración de materia orgánica, C, N, P, K, Ca, Mg, Na, metales pesados (Pb, Cd, Cr) y microbiológicos como cantidad de coliformes totales, coliformes fecales. Además, se evaluaron los efectos en la germinación y crecimiento de semillas de lechuga en un ensayo de toxicidad aguda. Los resultados de laboratorio evidenciaron que el biol tuvo valores alrededor de pH 5, un valor ácido con respecto al valor teórico que debería tener en una etapa metanogénica (6.8-7.8). Asimismo, las concentraciones de nutrientes se incrementaron considerablemente. De igual manera, los metales pesados aumentaron sus concentraciones, sin embargo no sobrepasaron los límites establecidos en la normativa internacional. La carga patógena se encontró por debajo de la norma para calidad de aguas para riego, es decir se puede considerar al biol como un producto inocuo para su aplicación como fertilizante orgánico. Finalmente, el ensayo de fitotoxicidad demostró que las concentraciones del 1 %, 0.1 % y 0.01 % se acercan a las dosis óptimas en la utilización del biol.

Palabras clave: Digestión anaerobia, potencial bioquímico de metano, *Ulva lactuca*, biol.

ABSTRACT

The present research aimed to evaluating the performance of *Ulva lactuca* in biogas production and biol, analyzing their interaction with cow rumen contents, for which organic waste from dining hall UNALM was used as substrate for the batch test potential biochemical methane (PBM) at laboratory scale. This pretreatment of the inoculum was performed, consisted

1 Egresada de la Universidad Nacional Agraria La Molina. E-mail: melissa.capcha@gmail.com

2 Docente de la Facultad de Ciencias. E-mail: lquipuzco@lamolina.edu.pe

3 Docente de la Facultad de Ciencias. E-mail: vmeza@lamolina.edu.pe

in the incubation of *Ulva lactuca* to 20%, 30%, 50% and 100% and rumen contents for 15 days, then the test for determining methanogenic activity (SMA) for all samples and finally choose the best treatment characteristics of methane generation. The sample of 100% *Ulva lactuca* content and rumen contents obtained the best terms to use as inoculum in the PBM test where the volume of biogas was determined and biol quality was evaluated. The results showed that during the first 5 days the more methane is generated, the following days there were constant but lower than the first day production test finally ended after 17 days where methane production stopped. There was an average of 68% methane content. The production of methane from organic waste dining was 1.3 L CH₄/g VS added and methane production from the inoculum without substrate was 0.1 L CH₄/g VS. The bioles were subjected to an analysis of physico-chemical parameters such as pH, electrical conductivity, organic matter concentration, C, N, P, K, Ca, Mg, Na, heavy metals (Pb, Cd, Cr) and microbiological as much of total coliforms, fecal coliforms. Furthermore, the effects were evaluated on germination and growth of lettuce seeds in a trial of acute toxicity. Laboratory results showed that the Biol had aldedor pH 5, an acid value from the theoretical value that should be in a methanogenic stage (6.8-7.8). Nutrient concentrations also increased significantly. Similarly, heavy metals concentrations increased, however not the limits set out in international standards exceed. Pathogen load was below the standard for quality of water for irrigation, ie can be considered as the Biol a safe product for use as organic fertilizer. Finally, the phytotoxicity test showed that concentrations of 1%, 0.1 and 0.01% are close to the optimal dosage in the use of Biol.

Keywords: Anaerobic digestion, potential biochemical methane, *Ulva lactuca*, organic liquid fertilizer.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la contaminación constituye una de las preocupaciones más importantes debido a la gran cantidad de residuos orgánicos que se generan diariamente y es un foco de infección al atraer moscas, roedores, etc., y con ellos enfermedades a la población.

La macroalga *Ulva lactuca* abunda en el litoral peruano. Al no ser aprovechada termina en las orillas del mar y, con el paso de los días, se descompone alterando ecosistemas. Para Allen et al. (2013), Díaz (2010) y Hughes et al. (2012), la *Ulva lactuca* presenta importantes componentes químicos y gran potencial de producción de metano, por lo cual resulta importante investigar su aprovechamiento en el proceso de digestión anaerobia para la obtención de biogás y biol.

La prueba batch potencial bioquímico de metano (PBM) es un método mediante el cual se simula el proceso de digestión anaerobia, se puede cuantificar la generación de biogás (Drosg et al., 2013).

La presente investigación pretende evaluar una forma de aprovechamiento de la *Ulva lactuca*, el contenido ruminal de vacuno y los residuos orgánicos del comedor de la UNALM, mediante la aplicación de una metodología conocida.

La metodología incluyó una etapa de incubación de diferentes concentraciones de inóculos, los cuales fueron sometidos a la prueba de actividad metanogénica (AME), de aquí seleccionar el inóculo con mejores condiciones y finalmente probar sus características en la prueba de PBM. La evaluación incluyó el monitoreo de parámetros químicos que aseguren el normal desempeño de las pruebas; asimismo, una vez finalizada la etapa de biodigestión se analizaron parámetros fisicoquímicos, metales pesados y microbiológicos del biol.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó el estudio en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), entre abril del 2013 y marzo del 2014.

Se caracterizó la materia prima para conocer las proporciones de nutrientes de cada insumo, se analizó el pH y conductividad eléctrica, carbono, nitrógeno y humedad de la *Ulva lactuca*, residuos orgánicos del comedor UNALM y el contenido ruminal de vacuno.

La investigación constó de dos etapas; en la primera se prepararon mezclas de 100 ml de *Ulva lactuca* a diferentes concentraciones y 150 ml de contenido ruminal de vacuno, las cuales se incubaron por 15 días en condiciones anaerobias, para favorecer la proliferación de los microorganismos metanogénicos. Se aplicó el diseño experimental DCA (Diseño Completamente al Azar), con cuatro tratamientos y tres repeticiones. Adicionalmente de una muestra en blanco, solo con contenido ruminal.

2.1. Fase de incubación

Se prepararon cuatro tratamientos, para lo cual se usó contenido ruminal de vacuno obtenido del Centro de Beneficio Camal de Yerbateros y la *Ulva lactuca* proveniente de La Punta-Callao. Se trituró el alga en una licuadora, luego se calentó en un horno hasta llegar a una temperatura entre 80 y 90 °C durante 10 minutos, se dejó enfriar y se almacenaron hasta el momento de la preparación de la mezcla. En la Figura N° 1 se puede observar el periodo de incubación de los cuatro tratamientos.

Tratamiento 1: Mezcla de contenido ruminal y *Ulva lactuca* al 20 %.

Tratamiento 2: Mezcla de contenido ruminal y *Ulva lactuca* al 30 %.

Tratamiento 3: Mezcla de contenido ruminal y *Ulva lactuca* al 50 %.

Tratamiento 4: Mezcla de contenido ruminal y *Ulva lactuca* al 100 %.



Figura N° 1. Instalación de los frascos de incubación de los tratamientos.

Los parámetros en esta etapa fueron pH y potencial Redox, medidos al inicio y al final de la prueba, y se controló la temperatura de 20 °C.

2.2. Determinación de actividad metanogénica

Asimismo, pasado los 15 días de incubación se tomó una muestra de cada frasco incubado y se usó para la realización de la prueba de AME, para lo cual se usaron frascos de 300 ml con volumen útil de 250 ml, distribuidos como se indica en la Tabla N° 1.

Tabla N°1. Volumen acumulado de biogás.

Tratamientos	Volumen de contenido ruminal	Volumen de <i>Ulva lactuca</i>		Volumen Total
		<i>Ulva lactuca</i>	Agua destilada	
Blanco: Solo contenido ruminal	250 mL	0,0 mL	0,0 ml	250 mL
Tratamiento 1: <i>Ulva lactuca</i> 20%	150 mL	16,7 mL	83,3 mL	250 mL
Tratamiento 2: <i>Ulva lactuca</i> 30%	150 mL	23,1 mL	76,9 mL	250 mL
Tratamiento 3: <i>Ulva lactuca</i> 50%	150 mL	33,3 mL	66,7 mL	250 mL
Tratamiento 4: <i>Ulva lactuca</i> 100 %	150 mL	100 mL	0 mL	250 mL

El sistema se basó en el sistema usado por Soto et al (1992), el cual consta de un digestor de 500 ml conectado a un frasco de Mariotte contenido de NaOH, de modo que el biogás producido en el digestor reaccione con la base y solo se cuantifique el metano. El metano, al alcanzar el espacio libre de la botella de NaOH, desplaza un volumen equivalente de líquido, el cual es colectado finalmente en una probeta calibrada y de la que se toman el registro hasta el término del ensayo. El objetivo de esta etapa fue hallar el tratamiento que contenga el inóculo que presente las mejores características de generación de metano.

Finalmente, la actividad metanogénica se calculó a partir de la velocidad de producción de metano, según la siguiente ecuación:

Ecuación 1:

$$(AME) CH_4 = (dVCH_4/dt) / (X_o) (V_r ft) \text{ g DQO } CH_4/\text{g SSV.d}$$

Para lo cual, la equivalencia en DQO del CH₄ es como sigue:



Usando la ecuación de los gases ideales se calcula el volumen de CH₄ equivalente a 1 g DQO consumida, a las condiciones de 20 °C y 740 mmHg (0,97 atm) de presión.

Finalmente, la actividad se expresa en g DQO/ g SV.día y se calculó a partir de la velocidad de producción de metano, para lo cual se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad} = (X \text{ mL } CH_4/h) * (24 \text{ h/día}) * (1 \text{ g DQO}/386 \text{ mL } CH_4) * (1/2.5 \text{ g SV})$$

Para la validación estadística de los datos se utilizó el programa Minitab 16, utilizando el coeficiente de variabilidad, análisis de varianza y la prueba de Tukey, que permitió evaluar la significancia de todas las diferencias entre tratamientos. Para el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey a un nivel de significancia del 5%.

2.3. Determinación del potencial bioquímico de metano (PBM)

Esta etapa sirvió para probar la funcionalidad del inóculo seleccionado en la prueba AME. El sistema consistió en 1 reactor (frasco de 500 ml), 1 frasco de reacción NaOH 2M, 1 frasco de desplazamiento de H₂O de 1000 ml cada uno y una probeta como colector, como se muestra en la Figura N° 2

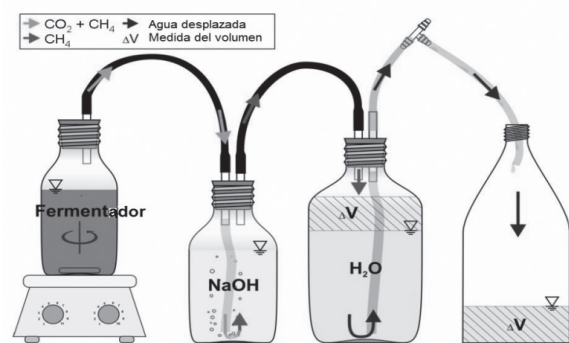


Figura N° 2. Diseño del sistema PBM.

Se armaron 12 sistemas batch (6 para producción de biogás y 6 para producción de metano), cada uno con 3 repeticiones. Se cargó un tratamiento a base de contenido ruminal y 100 % de *Ulva lactuca* (R+100 %UL), usado como inóculo, y los residuos orgánicos del comedor universitario UNALM (ROCUU), usado como sustrato. Adicionalmente, se cargó un tratamiento en blanco, requerido por la prueba, es decir que se cargó el reactor con solo inóculo, sin sustrato. Se mantuvo el sistema a 35 °C durante los 17 días que duró la prueba.

Durante la etapa de operación de la prueba PBM, se monitoreó la producción de metano y biogás mediante el volumen de agua desplazada en cada sistema, constantemente.

Asimismo, una vez finalizada la prueba, se filtró la muestra contenida en el digestor, se obtuvo el biol, al cual se le realizó el análisis microbiológico (coliformes totales y fecales). Se realizó también el análisis de macronutrientes al biol en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes (LASPAF) de la UNALM y se comparó con la composición del contenido ruminal, que, como se recuerda, se le realizó una prueba inicial.

Por último, se estudiaron los efectos fitotóxicos de los bioles ejecutando el ensayo de toxicidad aguda sobre semillas de lechuga (*Lactuca sativa L.*), variedad tipo Duett, cuyo poder germinativo es mayor del 90 %. Para ello, se establecieron 6 diluciones de evaluación, realizándose 3 repeticiones para cada una:

D0: Control negativo o 100 % agua destilada

D1: Control positivo o 100 % biol puro

D2: Dilución del biol 10:100 (10%)

D3: Dilución del biol 1:100 (1%)

D4: Dilución del biol 0.1:100 (0.1%)

D5: Dilución del biol 0.01:100 (0.01%)

Se sembraron 20 semillas en cada placa Petri, exponiéndolas a 4 ml de la dilución de prueba. Transcurrido el tiempo de evaluación (120 horas), se procedió a realizar el conteo de las semillas germinadas. Inmediatamente después, se midió la longitud de la radícula e hipocotilo de cada semilla germinada con ayuda de una regla milimetrada. Registrados dichos datos, se calculó el índice de germinación (IG) usando la siguiente fórmula:

$$IG = \frac{PRG * CRR}{100}$$

Donde:

Porcentaje de germinación relativo (PGR):

$PRG = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas en el extracto}}{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas en el testigo}} \times 100$

$N^{\circ} \text{ de semillas germinadas en el testigo}$

Crecimiento de radícula relativo (CRR):

$CRR = \frac{\text{Elongación de radículas en el extracto}}{\text{Elongación de radículas en el testigo}} \times 100$

Elongación de radículas en el testigo

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó la caracterización inicial de la *Ulva lactuca* y contenido ruminal (Tabla N° 2):

Tabla N° 2. Resultado análisis pH, humedad, C, N, C/N de la *Ulva lactuca* y el contenido ruminal.

Material	pH	C.E. (mS/cm)	Humedad %	C %	N %	C/N
Ulva lactuca	6.66	23.7	86	23.17	1.68	13.79
Contenido ruminal	8.05	14.5	93.52	-	2.0	-

Asimismo, el análisis fisicoquímico del contenido ruminal (Tabla N° 3) sirvió para hacer las comparaciones con el contenido del biol al final de la prueba PBM, sobre todo con el contenido de metales pesados.

Tabla N° 3. Resultado del análisis químico al contenido ruminal.

Muestra	M.O. %	P205 %	K2O %	CaO %	MgO %	Na %	Fe ppm	Cu ppm	Zn ppm	Mn ppm	B ppm	Pb ppm	Cd ppm	Cr ppm
Contenido ruminal	68.7	2.64	1.21	1.50	0.25	1.66	1376	35	105	187	87	4.75	1.03	1.75

3.1. Monitoreo de los tratamientos de la primera etapa AME

Los resultados de la prueba AME registrados en la Figura N° 3 muestran que los valores significativos de AME se obtuvieron pasadas las 48 horas. Los valores de producción de metano son muy parecidos durante las horas 61 y 86, con valores entre 23 y 25 mL CH₄ en los tratamientos al 20, 30, 50 y 100 %. Esta tendencia cambia en la muestra de contenido ruminal y *Ulva lactuca* al 100 %, quien aumentó hasta 81 mL a la hora 182. En adelante, desde la hora 250 hasta que culminó a la hora 298, hubo crecimiento lento. Finalmente, el tratamiento 1 con contenido ruminal y *Ulva lactuca* al 20 % obtuvo 38 mL, el tratamiento 2 obtuvo 39.5 mL, mientras que el tratamiento 3 generó 48.3 mL y finalmente el tratamiento 4 obtuvo 91.8 mL.

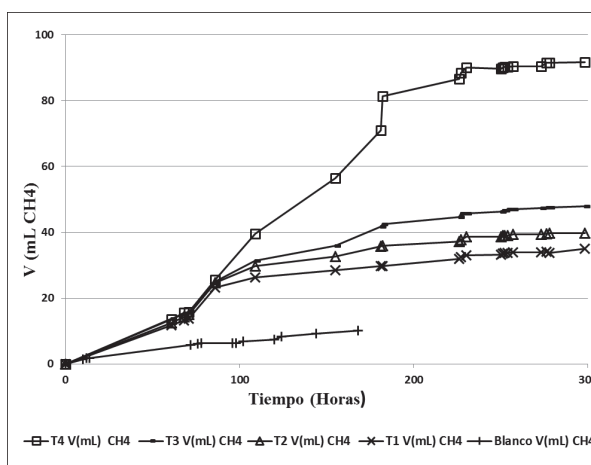


Figura N° 3. Comportamiento de la actividad metanogénica - 20 %, 30 %, 50 %, 100 % y blanco.

En relación con la velocidad de producción de metano, los resultados del tratamiento 1, 2 y 3 son muy parecidos, con valores que oscilan entre 0.3326 y 0.3969 mL CH₄/h, mientras que el tratamiento 4 produjo 0.4814 mL CH₄/h, resultando el mejor tratamiento.

El resultado de la medición final del pH estuvo dentro del rango 6.8 y 7.2, lo que indica que el proceso se llevó a cabo de una manera normal.

Según los resultados mostrados en la Tabla N°4, indican que el tratamiento 4 (contenido ruminal y *Ulva lactuca* 100 %) presenta mejores características para usarse como inóculo, debido a que presentó mayor índice de actividad 0.3426 g DQO/g SV.día en comparación con Torres et al. (2002), quienes obtuvieron valores de índice de actividad de entre 0.143 y 0.193 g DQO/g SV.día de la digestión, a partir de las aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca.

Asimismo, según la investigación de Lorenzo et al. (2013), producto de la actividad metanogénica usando como inóculo un lodo estabilizado procedente de un biodigestor y de sustrato vinaza de destilerías a partir de la fermentación de mieles finales de caña, se obtuvo 1.7 g DQO/g SV.día, resultado del mejor tratamiento y 0.46 g DQO/g SV.día.

Finalmente, se realizó la prueba estadística mediante el software MINITAB 16 y según la prueba de medias de Tukey existe diferencia significativa entre el T4 y los demás tratamientos con respecto a la actividad metanogénica, afianzando la elección hecha.

Tabla N° 4. Cálculo de actividad metanogénica.

N°	Concentración	Velocidad de producción de metano (mL CH ₄ /h)	Actividad (g DQO/g SV día)
T0	Contenido ruminal	0.0698	0.028
T1	<i>Ulva lactuca</i> 20%	0.3326	0,1384 ^b
T2	<i>Ulva lactuca</i> 30%	0,3841	0,1724 ^b
T3	<i>Ulva lactuca</i> 50%	0,3969	0,1616 ^b
T4	<i>Ulva lactuca</i> 100%	0,4814	0,3426 ^a

Nota: Las letras de superíndice corresponden a los resultados de la prueba de Tukey. Letras diferentes indican que hay diferencia significativa.

3.2. Evaluación de la segunda etapa experimental

Se realizaron análisis de sólidos volátiles y totales a las muestras, por ser requerimiento de la metodología, los resultados se presentan en la Tabla N° 5.

Tabla N° 5. Caracterización de la materia prima.

Muestra	% Sólidos volátiles (SV)	% Sólidos totales (ST)	pH
Inóculo	3.4	4.8	6.9
Sustrato	15.6	16.5	5.1

La producción de gas se inició de inmediato al primer día de prueba. En la Figura N° 4 se muestra la producción

del tratamiento con sustrato que durante las 100 primeras horas presentó crecimiento constante, en adelante su crecimiento se moderó hasta aproximadamente el tiempo 200 h. Finalmente, el crecimiento fue decreciendo hasta la hora 400, finalizando a la hora 408.

En cuanto a los digestores sin sustrato, mostraron diferentes patrones de producción de biogás, en comparación con la prueba con sustrato. En este caso, la prueba sin el sustrato se obtuvo 104 mL hasta la hora 100, pasando esta hora se mantuvo constante la producción hasta cesar, dándose por terminada la prueba.

La producción en porcentaje de CH₄ en Dinamarca (Nikolaisen et al, 2011) obtuvo 56 % de CH₄ a partir de la biodigestión de *Ulva lactuca* y un inóculo estabilizado. Asimismo, en Irlanda según investigaciones de Allen et al. (2013) se obtuvo 56 % de CH₄ de la biodigestión de *Ulva lactuca* y lodo estabilizado de ganado como inóculo. De la misma manera, según Migliore et al. (2012), usando *Ulva lactuca* y lodo estabilizado de un digestor en funcionamiento en diferentes concentraciones, se obtuvieron valores entre 20 y 70 % de CH₄.

Según la Figura N° 5, el contenido promedio de metano del biogás producido fue de 68.2 % en el digestor con sustrato y de 69.1 % en el digestor sin sustrato. Si se toma en cuenta que los reactores que no contenían sustrato tuvieron un porcentaje de metano de hasta 67 %, entonces podemos decir que la capacidad de producción de metano del inóculo a base de contenido ruminal y *Ulva lactuca* al 100 % es buena.

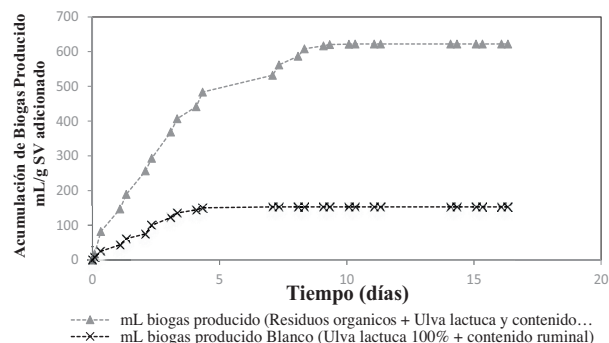


Figura N° 4. Volumen (mL) de biogás producido por g de SV adicionado al reactor.

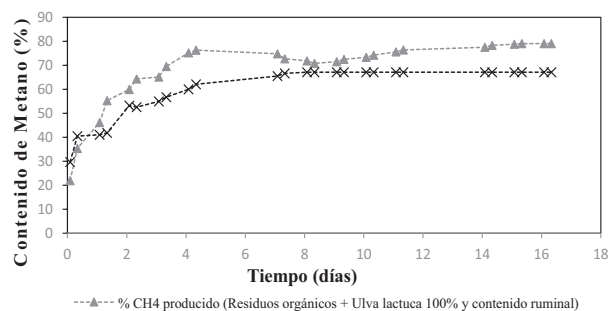


Figura N° 5. Porcentaje de metano producido por g SV adicionado al reactor.

Como se mencionó, una vez finalizada la etapa de PBM se filtró la muestra y al biol resultante se mandó a analizar obteniéndose los siguientes resultados.

3.3. Análisis microbiológico del biol

Se mandó analizar la muestra de biol al Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología “Marino Tabusso”, los resultados presentados en la Tabla N° 6 reflejan los resultados del análisis de coliformes fecales y totales.

Tabla N° 6. Resultado del análisis microbiológico del biol

Análisis microbiológico	NMP/mL	ECA Agua (1)
Enumeración de coliformes totales	8	50
Enumeración de coliformes fecales	8	10

(1) Estándar de Calidad de Agua Clase III para bebidas de animales y riego de vegetales.

Al comparar nuestros resultados con el Estándar de Calidad Ambiental para Agua D.S.002-2008-MINAM de la

legislación peruana para el uso de agua Clase 3 para fines de riego, el cual indica que la presencia de coliformes totales como máximo puede llegar a ser 5000 NMP/100 mL y que los coliformes fecales como máximo pueden ser 1000 NMP/100 mL, por lo que se concluye que nuestros resultados se encuentran por debajo de estos límites, haciéndolas idóneas para su aplicación como fertilizante natural.

3.4. Análisis fisicoquímico del biol

Los resultados del análisis se presentan en la Tabla N° 7, asimismo los resultados obtenidos por otros autores que realizaron investigación en el mismo ritmo. Estos análisis comprenden: pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, N total, P total, K total, Ca total, Mg total y Na total.

Tabla N° 7. Resultado del análisis fisicoquímico del biol.

Autores	Sustratos	pH	C.E. dS/m	M.O. en solución g/L	N Total mg/L	P Total mg/L	K Total mg/L	Ca Total mg/L	Mg Total mg/L	Na Total mg/L
Investigación Actual Capcha, 2012	Residuos orgánicos	4.92	26.3	22.52	1176	664	1808	841.7	2150	5075
	Residuos orgánicos	6.25	23.67	15.1	1013	43.73	1344	4400	198	144
Cárdenas, 2012	Estiércol de vacuno	6.78	9.45	6.7	676.7	50.5	676.7	765.3	278.7	436
	Residuos orgánicos + estiércol de vacuno	6.69	16.03	8.83	814.3	26.06	814.3	1773	224.7	841.3
Schlaefli, 2010	Residuos orgánicos	5.28	11.3	65.56	1176	144	692	-	-	-
	Residuos orgánicos	5.29	12.2	13.41	1176	177	648	-	-	-
Palomino, 2007	R. O. domésticos + papel higiénico	4.9	8.25	23.88	805	268	2056	-	-	-
Avibiol	Gallinaza	7.2	21.3	17.2	1700	3800	5200	3500	1200	-
Casa Blanca	Estiércol de cuy	8.2	15.3	72.5	980	121	6760	220.4	53.4	542

El pH del biol obtenido en la presente investigación, así como por Schlaefli, 2010 y Palomino, 2007, resultaron ácidos en comparación con los valores obtenidos en el biol de Cárdenas, 2012, el avibiol a base de gallinaza y el biol obtenido en Casa blanca. Siendo el biol un producto de la digestión anaerobia, el pH debería estar dentro de rango de 6.8 a 7.5, valores de pH por debajo de este rango inhiben la acción de las bacterias metanogénicas y con ella la producción de biogás.

El alto valor de la C.E. está relacionado a la cantidad de iones disueltos presentes en la *Ulva lactuca* y en el contenido ruminal, elementos usados para la preparación del inóculo quienes presentan elevada concentración de Na, K, Ca y Mg.

El contenido de M.O. es alto, al igual que el obtenido por Palomino, en comparación con los demás estudios. Este resultado es importante ya que la materia orgánica en relación con el suelo tiene importancia en varios factores, como los son la aportación de nutrientes, activación biológica del suelo, mejora estructural y física de las raíces y circulación de agua y aire, evitando la compactación y favoreciendo la labranza, aumento de la capacidad de retención hídrica, aumento de la temperatura del suelo,

estabilización del pH y reducción de la erosión hídrica y eólica (Guerrero, 1993).

En general, las concentraciones de macronutrientes encontradas en este estudio son superiores a las demás concentraciones descritas por otros autores mostrados en la Tabla N° 7, a excepción del valor de potasio, proveniente del biol estudiado por Palomino (2007), que presenta mayor concentración.

El análisis de nitrógeno muestra similar valor al obtenido por Schlaefli (2010), asimismo presenta mayor valor en comparación con los demás experimentos, esto debido al porcentaje de nitrógeno presente en la *Ulva lactuca*.

La concentración de fósforo en el biol se encuentra en segundo lugar con 664 mg/L, en primer lugar el avibiol con 3800 mg/L. Además, en comparación con los demás presentados, supera en 24 veces al menor valor presentado por Cárdenas (2012).

La concentración del potasio obtenido por Palomino (2007) en el Avibiol y en Casa blanca resultaron mucho mayores que la concentración del biol de la presente investigación, asimismo se superó a las concentraciones obtenidas por Cárdenas (2012) y Schlaefli (2010).

Para Gonzales et al. (1982), citado por Montero et al. (1999) citado por Aldón (2008), las algas aportan al suelo similares cantidades de nitrógeno, mayores de potasio y menos de fósforo en comparación con estiércol de granja. Por lo tanto, el biol de este estudio es adecuado para suelos pobres en potasio o para cultivos exigentes en este nutriente.

Al no existir normatividad en Perú con respecto al contenido de metales pesados en bioles, se realizó la comparación con la normativa para biofertilizantes líquidos planteados por el Real Decreto 506/2013 de España que plantea los límites máximos permisibles para fertilizantes elaborados a partir de materias primas de origen vegetal y animal (Ver Tabla N°8). Como se puede observar, las concentraciones de cadmio, cromo y plomo presentes en el biol, se encuentran por debajo de los límites máximos permisibles establecidos por el decreto mencionado, razón por la cual el biol pertenece a la Categoría A.

La presencia de metales pesados en el biol es justificable según los análisis realizados al inicio de la realización de la prueba de PBM. Las condiciones iniciales de la muestra del contenido ruminal determinó la presencia de metales pesados.

Tabla N° 8. Límites máximos permisibles de metales pesados en fertilizantes.

Metal pesado	Biofertilizante (mg/kg)	Límite máximo permisible líquido (mg/kg) ⁽¹⁾		
		Clase A (mg/kg)	Clase B (mg/kg)	Clase C (mg/kg)
Plomo	0.945	45	150	200
Cadmio	0.043	0.7	2	3
Cromo	0.519	70	250	300

Fuente: (1) Real decreto 506/2013 de España sobre productos fertilizantes.

Finalmente, siguiendo la metodología descrita por Sobreiro y Ronco (2004), se dispusieron 5 diluciones para cada biol (100 %, 10 %, 1 %, 0.1 % y 0.01 %) sumadas a un control. Con relación a la germinación de las semillas, se logró el desarrollo normal de las semillas que, en la mayoría de casos, alcanzó el 100 % como se muestra en la Tabla 9. No obstante, se pudo constatar que en las semillas sembradas en las diluciones al 100 % no hubo germinación de ninguna de las semillas expuestas, dado que presentan pH bajo y alta conductividad eléctrica y las semillas de lechuga son muy sensibles a estas condiciones. Así también en la dilución al 10 % germinó al 85 % y las semillas germinadas en las diluciones 1 %, 0.1 % y 0.01 % germinaron al 100 %, similar a lo que ocurrió en el tratamiento control. Esto es un indicador de la influencia positiva que tendrían estos bioles en la germinación y el desarrollo inicial de las plantas.

El mayor % CRR lo obtuvo el T3 (dilución 1:100) de 152.55 %, seguido de la dilución 0.1:100 y 0.01:100 con 121.39 % y 101.86 % respectivamente, mientras que el menor valor fue de 0% para el biol puro, debido a que ninguna semilla logró germinar en dicha dilución. Estos resultados guardan relación con la elongación de radícula

obtenido para cada dilución, ya que, como se observa en la Tabla N° 9, a mayor elongación de radícula, mayor es el valor del CRR.

Zucconi et al. (1981) señala que valores de IG \geq 80% indicarían que no hay sustancias fitotóxicas o de haber, estarían en bajas concentraciones. Si analizamos el biol de la investigación, dichas diluciones pueden ser consideradas como concentraciones óptimas para el normal desarrollo de las plántulas de lechuga (Peralta, 2010).

La mayor elongación de radícula la obtuvo la dilución 1:100 superando incluso al control, obteniendo un porcentaje de crecimiento de radícula relativo (CRR) e índice de germinación (IG) de 152.56, es decir que no hay presencia de sustancias fitotóxicas en la solución y que los nutrientes presentes han propiciado un mejor crecimiento en las plantas. De igual manera los resultados obtenidos en las diluciones 0.1:100 y 0.01:100 resultaron con valores de IG $>$ 100, pero menores a la dilución 1:100.

El IG de la disolución 10:100 fue de 65.6 %, lo cual indica que ni las condiciones del medio ni la sustancias fitotóxicas han inhibido las condiciones de crecimiento de las semillas. Finalmente, se evidencia, como ya se mencionó, que no existen sustancias fitotóxicas en las 3 diluciones 1:100, 0.1:100 y en 0.01:100.

Tabla N° 9. Índice de germinación (IG) de semillas de lechuga.

Tratamiento	N° de semillas germinadas	PGR (%)	Elongación de la radícula (mm)	CRR (%)	IG (%)
D0: control	20	-	21.5	-	-
D1: biol puro	0	0	0	0	0
D2: 10:100 *	17	85	16.6	77.21	65.63
D3: 1:100 *	20	100	32.8	152.56	152.56
D4: 0.1:100 *	20	100	26.1	121.39	121.39
D5: 0.01:100 *	20	100	21.9	101.86	101.86

IV. CONCLUSIONES

El aporte de nutrientes de la *Ulua lactuca* al 100 % al contenido ruminal (inóculo metanogénico) obtuvo el mejor resultado en la generación de metano (mL/SV adicionado) mediante el batch test PBM, usando como sustrato los residuos orgánicos del comedor universitario de la UNALM.

Se obtuvo 622.3 mL de biogás, con una tasa de producción promedio de 34.4. mL de CH₄/g SV adicionado.

El porcentaje de metano producido mediante el batch test PBM fue de 68.2 %. Asimismo, el porcentaje de metano de la prueba en blanco (solo inóculo) fue 69.1 %, evidenciando buenas condiciones metanogénicas.

Se determinó que el tiempo de retención en la PBM fue de 17 días, luego de los cuales se detuvo la producción de metano, dándose por culminada la prueba, no hubo desplazamiento en al menos 24 horas.

La concentración de los metales pesados en el biol no sobrepasan los valores máximos dados en la norma Real

Decreto 506/2013 de España sobre productos fertilizantes -Anexo V. Además, los resultados del análisis microbiológico al biol resultaron por debajo de la norma para calidad de aguas para riego Clase III. Lo cual indica que su uso como biofertilizante es apto.

Cabe resaltar que producto de la presente investigación se obtuvo una cantidad de 50 g, por lo cual se le consideró como volumen despreciable, razón por la cual no se llevó a cabo el análisis del biosol.

V. AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Ingeniería Ambiental, Física y Meteorología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Agraria La Molina por las facilidades del Laboratorio de Ingeniería Ambiental, donde se realizaron los ensayos y análisis, y, asimismo, a la FIGMG de UNMSM por la publicación.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Aldón, D. 2008. Estrategia Ambiental de Aprovechamiento de la Macroalga *Ulva lactuca* (lechuga de mar) a través del proceso de ensilaje. Tesis para optar el Título de Ingeniero Ambiental. Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Ciencias.
- [2] Allen, E. et al. (2013). The potential of algae blooms to produce renewable gaseous fuel. *Waste Management*.
- [3] Cárdenas, J. (2012). Evaluación de la calidad de biogás y biol en digestores utilizando estiércol de vaca y residuos orgánicos del comedor pre-tratados con la técnica del bocashi en la UNALM. Tesis. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- [4] Díaz, R. (2010) Obtención de gas combustible mediante la bioconversión del alga marina *Ulva lactuca*.
- [5] Drog, B., Braun, R., Bochmann, G. (2013). Analysis and Characterisation of biogas feedstocks. University of Natural Resources and Life Sciences, Austria and Teodorita al saedi, Biosantech, Denmark.
- [6] Guerrero, J. (1993). Abonos Orgánicos. Tecnologías para el manejo ecológico de los suelos. RAAA. Lima-Perú. pp 9-23; 81-83.
- [7] Hughes, A., Black, K., Campbell, I., Davidson, K., Kelly, M. (2012). Does seaweed offer a solution for bioenergy with biological carbon capture and storage? *Greenhouse Gases: Science and Technology*, 2(6), 402-407.
- [8] Hughes, A., Kelly, M., Black, K., y Stanley, M. 2012. Biogas from Macroalgae: is it time to revisit the idea?. *Biotechnology for biofuels*, 5(1), 1-7.
- [9] Lorenzo, Y., Chanfón, J., Pereda, I. (2013). Estudio de la digestión anaerobia mediante el ensayo de actividad metanogénica empleando vinazas con diferentes contenidos de sulfatos. Sobre los derivados de la caña de azúcar, vol. 47 N°. 1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) La Habana, Cuba.
- [10] Migliore, G., Alisi, C., Sprocati, A. R., Massi, E., Ciccoli, R., Lenzi, M., & Cremisini, C. (2012). Anaerobic digestion of macroalgal biomass and sediments sourced from the Orbetello lagoon, Italy. *Biomass and Bioenergy*, 42, 69-77.
- [11] Nikolaisen, L., Daugbjerg, P., Bech, K., Dahl, J., Busk, J., Brodsgaard, T., Rasmussen, M., Bruhn, A., Bjerre, A., Nielsen, H., Albert, K., Ambus, P., Kadar, Z., Heiske, S., Sander, B. y Schmidt, E. (2011). Energy Production from Marine Biomass (*Ulva lactuca*). Danish Technological Institute.
- [12] Palomino, V. (2007). Tratamiento de Residuos Sólidos Domésticos mediante Biodigestores para la obtención de Biogás y Bioabonos. Tesis. Universidad Nacional Agraria La Molina. Perú.
- [13] Peralta, R. (2010). Determinación de parámetros óptimos en la producción de fast biol usando las excretas del ganado lechero del establo de la UNALM.
- [14] Schlaefli, F. (2010). Tratamiento de Residuos Orgánicos del comedor universitario de la UNALM en un biodigestor semi-continuo para la producción de biogás y biol. Tesis de Ingeniero Ambiental. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.
- [15] Sobrero, M. y Ronco, A. (2004). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga. pp: 71-79. In: Castillo, G. (Ed.). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. IDRC, IMPTA. Ottawa, Canadá. 202p.
- [16] Soto, M., Méndez, R. y Lema, J. (1992). Determinación de Toxicidad y biodegradabilidad anaerobia de aguas residuales. *Tecnología del Agua* 92, 70-81.
- [17] Torres, P., Rodríguez, J., Cajigas, A. y Pérez, A. (2002). La actividad metanogénica como herramientas para optimizar el proceso anaerobio en el tratamiento de aguas residuales fácilmente acidificables. AIDIS Cali - Valle - Colombia.
- [18] Varnero, M., Rojas, C. y Orellana, R. (2007). Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*. 7 (1) (28-37).