



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería**

**Ingeniería Ambiental**  
**Campo Residuos Sólidos**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE DIGESTATOS  
ANAEROBIOS COMO MEJORADORES DE SUELO**

Presenta

**LBT. Denisse Carolina Villalobos Román**

Para optar por el grado de  
**Maestra en Ingeniería Ambiental**

**Tutor**

Dr. Iván Moreno Andrade  
UAJ, Instituto de Ingeniería, UNAM

**Comité**

Dr. Óscar González Barceló  
Instituto de Ingeniería, UNAM

M. en C. Gloria Moreno Rodríguez  
UAJ, Instituto de Ingeniería, UNAM

Querétaro, Querétaro, Enero 2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. García Calderón Norma Eugenia

Secretario: Dr. González Barceló Oscar

1er Vocal: M. en C. Moreno Rodríguez Gloria

2do Vocal: M. en C. Fuentes Romero Elizabeth

3er Vocal: Dr. Iván Moreno Andrade

## LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA TESIS:

Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas de la Unidad Académica Juriquilla, Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México.

## DIRECTOR:

Dr. Iván Moreno Andrade

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas (LIPATA) de la Unidad Académica Juriquilla del Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México.



Se agradece al financiamiento del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la DGAPA-UNAM por medio del proyecto PAPIIT IN105220, el cual sirvió de apoyo colateral para realización de este proyecto de investigación.

Se agradece el apoyo técnico del M. en B. Jaime Pérez Trevilla y de la M. en C. Gloria Moreno Rodríguez, por el apoyo durante la parte experimental de este proyecto.

Finalmente, se agradece el apoyo del CONACYT mediante la beca otorgada para realizar los estudios de maestría y al Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México por permitir la realización de la maestría en Ingeniería Ambiental.



Se agradece al Laboratorio de conservación y rehabilitación de la zona crítica edáfica de la Unidad Multidisciplinaria de docencia e investigación de la facultad de Ciencias Juriquilla, por la autorización y apoyo para realizar de la parte experimental del trabajo con suelo.

Dra. Norma Eugenia García Calderón

M.C. Elizabeth Fuentes Romero

L.C.T. Martha Daniela Bobadilla Ballesteros

# ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS .....	6
ÍNDICE DE UNIDADES.....	7
RESUMEN.....	8
INTRODUCCIÓN.....	9
MARCO TEÓRICO.....	11
RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS .....	11
DIGESTIÓN ANAEROBIA.....	12
DIGESTATO .....	15
MEJORADOR DE SUELO .....	16
SUELO.....	20
MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO.....	22
FITOTOXICIDAD .....	24
JUSTIFICACIÓN .....	26
HIPÓTESIS .....	27
OBJETIVOS .....	28
OBJETIVO GENERAL.....	28
OBJETIVOS PARTICULARES.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS .....	29
PRETRATAMIENTO DE SUSTRATOS .....	29
OBTENCIÓN DE DIGESTATOS .....	29
CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE DIGESTATOS .....	30
BIOENSAYO DE FITOTOXICIDAD .....	30
DESCRIPCIÓN DEL SITIO DE MUESTREO .....	31
DESCRIPCIÓN DEL SUELO .....	32
INCUBACIÓN .....	33
PROPORCIÓN DE AGREGADOS.....	34
DETERMINACIÓN DE NOT, COT Y SH .....	35
RESULTADOS .....	36
CARACTERIZACIÓN DE DIGESTATOS.....	36
BIOENSAYO DE FITOTOXICIDAD .....	37
PROPORCIÓN DE AGREGADOS.....	39
DISCUSIÓN.....	42
CONCLUSIONES.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47
ANEXOS.....	53

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

ECUACIÓN 1. REACCIÓN GENERAL DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE BUSWELL Y SYMONS. ....	12
ECUACIÓN 2. TASA DE GERMINACIÓN E ÍNDICE DE GERMINACIÓN.....	24
TABLA 1. VALORES DE PH REPORTADOS.....	17
TABLA 2. VALORES DE NITRÓGENO ORGÁNICO.....	17
TABLA 3. VALORES DE DQO.....	18
TABLA 4. VALORES DE FÓSFORO TOTAL.....	18
TABLA 5. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE LOS DIGESTATOS.....	18
TABLA 6. FORMAS DE CARBONO ORGÁNICO EN EL SUELO.....	23
TABLA 8. LISTA DE PARÁMETROS EN BIOENSAYOS DE GERMINACIÓN.....	25
TABLA 9. PRINCIPALES VENTAJAS DE ENSAYOS.....	25
TABLA 10. DATOS DE CONDICIONES DE OPERACIÓN.....	29
TABLA 11. CONDICIONES DEL EXPERIMENTO.....	30
TABLA 12. DESCRIPCIÓN DEL PERFIL DE SUELO.....	32
TABLA 13. CARACTERIZACIÓN.....	36
TABLA 14. ÍNDICE DE GERMINACIÓN PARA LA RADÍCULA.....	38
FIGURA 1. ECONOMÍA CIRCULAR DE RESIDUOS ORGÁNICOS.....	10
FIGURA 2. ETAPAS DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA.....	14
FIGURA 3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES.....	19
FIGURA 4. COMPOSICIÓN DEL SUELO.....	20
FIGURA 5. HORIZONTES EN DIFERENTES ECOSISTEMAS.....	21
FIGURA 6. COMPOSICIÓN DE UN AGREGADO.....	22
FIGURA 7. MACROAGREGADO.....	22
FIGURA 10. DISEÑO DEL ENSAYO EXPLORATORIO.....	30
FIGURA 11. CAJAS CON BROTES DE SEMILLAS GERMINADAS.....	31
FIGURA 12. UBICACIÓN DEL SITIO.....	31
FIGURA 13. PERFIL DE SUELO.....	32
FIGURA 14. PRETRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS DE SUELO.....	33
FIGURA 15. INCUBACIÓN DE SUELO CON DIGESTATOS.....	34
FIGURA 16. INCUBACIÓN DE SUELO.....	34
FIGURA 17. FRACCIONAMIENTO.....	35
FIGURA 18. CONCENTRACIÓN DE AGV DE LOS DIGESTATOS.....	37
FIGURA 19. COMPARACIÓN DEL DESARROLLO DEL BROTE Y RADÍCULA.....	38
FIGURA 20. TASA DE GERMINACIÓN.....	38
FIGURA 21. ESTRUCTURA AGREGADA.....	39
FIGURA 22. AGREGADOS 30X.....	39
FIGURA 23. DISTRIBUCIÓN POR TAMAÑO DE AGREGADO.....	40
FIGURA 24. PROPORCIÓN DE AGREGADOS.....	40
FIGURA 25. CONTENIDO DE CARBONO ORGÁNICO.....	41
FIGURA 26. FRACCIONAMIENTO DE SUSTANCIAS HÚMICAS.....	41

## ÍNDICE DE UNIDADES

	Unidad	Abreviatura
Volumen	Microlitro	$\mu\text{L}$
	Mililitro	<b>mL</b>
	Litro	<b>L</b>
Tiempo	Hora	<b>h</b>
	Día	<b>d</b>
Masa	Miligramos	<b>mg</b>
	Gramos	<b>g</b>
	Kilogramos	<b>kg</b>
	Megagramo/ tonelada o tonelada métrica	<b>Mg / t</b>
Longitud	Centímetros	<b>cm</b>
	Metro	<b>m</b>
Área	Centímetro cuadrado	<b>cm<sup>2</sup></b>
	Hectárea	<b>ha</b>
Biomasa	Gramos de sólidos volátiles	<b>g SV</b>
Poder calorífico	Kilocalorías metro cúbico	<b>Kcal/m<sup>3</sup></b>

\*US Metric Association (2020)

## RESUMEN

El digestato es un residuo de la digestión anaerobia; por su contenido de materia orgánica, posee características de mejorador de suelo. En este trabajo se evaluaron cinco digestatos, provenientes de la degradación de la fracción orgánica de residuos sólidos (FORSU), obtenida de tres sitios: restaurante, central de abastos, procesamiento de nopal, y lodos secundarios de una planta de tratamiento de aguas residuales. Los digestatos denominados A (FORSU de restaurante y lodos de purga, 90:10) y B (FORSU de central de abastos y lodos de purga, 90:10) derivan de una codigestión de residuos. Los digestatos C, D y E, se generaron de una digestión simple de FORSU de restaurante, FORSU de central de abastos y FORSU de residuos del procesamiento de nopal, respectivamente. Se utilizaron parámetros para determinar la calidad como mejorador de suelo; indicadores de calidad como el contenido de materia orgánica, caracterización de biomoléculas, determinación de la estabilidad de agregados, inocuidad mediante ensayos de fitotoxicidad. Se determinó que las dosis recomendadas son: A <6%, B <8%, C <4%, D <6% y E <4%. La concentración de digestato 10 T/h; aumentó los macroagregados (digestato C y B) y 30 T/h; favoreció la formación de macroagregados en todos los tratamientos, excepto E. La adición de digestato, puede restituir propiedades del suelo, como la formación de agregados, sin embargo, altas concentraciones pueden inhibir la etapa de germinación.

Palabras clave: Digestato, Fracción Orgánica de Residuos Sólidos, Materia Orgánica, Suelo.

## ABSTRACT

Digestate is a residue from anaerobic digestion. Due to its content of organic matter, it has the characteristics of a soil improver. This work evaluated five digestates originating from the degradation of the organic fraction of solid waste (OFMSW) obtained from three sites: restaurant, supply center, nopal processing, and secondary sludge from a wastewater treatment plant. The digestates called A (OFMSW of restaurant and purge sludge, 90:10) and B (OFMSW of central supply and purge sludge, 90:10) derive from a codigestion of residues. Digestates C, D, and E were generated from simple digestion of OFMSW from a restaurant, FORSU from a central supply, and OFMSW from nopal processing residues, respectively. Parameters were used to determine the quality as a soil improver; quality indicators such as organic matter content, characterization of biomolecules, determination of aggregate stability, safety through phytotoxicity tests. The recommended doses were determined to be: A <6%, B <8%, C <4%, D <6%, and E <4%. The digestate concentration 10 T / h; increased macroaggregates (digestate C and B) and 30 T / h; favored the formation of macroaggregates in all treatments, except E. The addition of digestate can restore soil properties, such as the formation of aggregates; however, high concentrations can inhibit the germination stage.

Keywords: Digestate, Organic Fraction Municipal Solid Waste, Organic Matter, Soil

# INTRODUCCIÓN

El suelo es uno de los recursos naturales más importantes en la tierra, provee de diversos servicios benéficos para los ecosistemas, imprescindibles para la humanidad. Destaca como hábitat biológico; es reserva genética de 25 % de la biodiversidad del planeta y proporciona 98.8 % de nuestros alimentos (1.2 % fuentes acuáticas) de forma directa o indirecta. Sostiene la vida sobre la superficie terrestre, gracias al papel que desarrolla en el reciclaje de la materia natural y flujos de energía; como ciclos biogeoquímicos que tienen lugar en la matriz del suelo; de gran impacto a nivel global (Kopittke et al., 2019; McBratney et al., 2014; Nachshon, 2021).

El acelerado desarrollo de nuestra sociedad, ha provocado un desequilibrio en los ciclos biogeoquímicos, impactando negativamente el funcionamiento de los ecosistemas que mantienen la vida en la tierra. La actividad humana ha sobreexplotado los recursos disponibles, desencadenando diversos eventos de degradación del medio ambiente, que son notoriamente asociados al cambio climático. Entre ellos, el manejo inadecuado del suelo debido a malas prácticas agrícolas; deforestación; contaminación o erosión, que provocan graves alteraciones en la actividad biológica endémica del suelo. Todo lo anterior, provoca gradualmente la pérdida de la estructura del suelo y disminución del contenido de materia orgánica. Esto causa un continuo aumento de la extensión de suelos infértiles; debido a la pérdida de nutrientes o estructura, con ello disminuye gravemente la productividad agrícola, generando diversos problemas e incertidumbre respecto a la seguridad de los alimentos y bienestar de la sociedad (Chandrappa & Bhusan Das, 2011).

Otra problemática asociada a la actividad humana es la generación de residuos; provenientes de diversos procesos de transformación o producción, provocando contaminación por la lixiviación de sus componentes y por emisiones de gases de efecto invernadero. El aumento exponencial de la población mundial agrava esta situación; ya que la demanda de bienes y servicios es cada vez mayor. Actualmente, los recursos ambientales están en un proceso acelerado de deterioro, que no permitirá satisfacer nuestras demandas en el futuro. El estilo de vida actual de la sociedad no va acorde con el desarrollo sustentable, por ello se requieren cada vez más, esquemas de economía circular donde los residuos, mediante un tratamiento, vuelvan al sistema como productos de valor agregado, como se propone en este trabajo (Figura 1) (Lal et al., 1990; White et al., 1999).

El digestato es producto de la digestión anaerobia; un proceso de degradación de residuos orgánicos, dirigido por diferentes grupos de microorganismos. A través de reacciones multietapa, ciertos organismos consumen las moléculas complejas que componen la materia orgánica, generando biogás como producto. El biogás es una corriente gaseosa compuesta principalmente de metano, con alto potencial como fuente de energía, gracias al poder calorífico del metano (8,540 Kcal/m<sup>3</sup>). El digestato es una corriente acuosa, compuesto de la materia orgánica residual del proceso, aquellos compuestos que no fueron oxidados completamente hasta metano y dióxido de carbono. La materia orgánica de los digestatos tiene

características estructurales más estables, debido a la ausencia o poca presencia de compuestos orgánicos lábiles; que fueron mayormente degradados durante el proceso. Debido a lo anterior, el digestato a partir de la digestión anaerobia; posee características especiales por su contenido de nutrientes y materia orgánica estable, que lo ubican como posible mejorador de suelo (Bustamante et al., 2013; Coelho et al., 2020; Poggi-Varaldo et al., 1999).

Un producto mejorador de suelo es aquel que puede ayudar a restituir ciertas propiedades de suelos con degradación. En México al menos el 45 % del territorio presenta características asociadas a la degradación (INEGI, 2014), que es la pérdida de la calidad por causa de alteraciones en las propiedades físicas, químicas o biológicas; originales del suelo. La degradación por carencia de materia orgánica; promueve la disminución y eventual pérdida de la actividad biológica del suelo y capacidad de almacenamiento de carbono; liberándolo a la atmósfera. En adición, el uso excesivo de fertilizantes sintéticos, promueve la lixiviación de las bases del suelo, perdiendo nutrientes del sistema y transportándolos a cuerpos acuáticos provocando eutrofización (Evanylo et al., 2008; Oldeman, 1991).

La unidad estructural y funcional del suelo es el agregado: un grupo de partículas primarias que se unen entre ellas más fuertemente, que con las otras partículas que las rodean. Pueden tener diferentes grados de desarrollo y tamaños. Los digestatos aportan compuestos orgánicos estables que pueden actuar como moléculas iniciadoras o cementantes para la formación y estabilidad de los agregados del suelo. La materia orgánica está asociada con la estabilidad de la estructura del suelo, pues a partir de su degradación, la actividad biológica puede sintetizar moléculas que promueven la agregación del suelo. Los digestatos podrían mejorar las condiciones del suelo y su calidad (McBratney et al., 2014; R. Lal & B. A. Stewart, 1990).

En este trabajo se evaluó la calidad de cinco digestatos, provenientes de la degradación de residuos sólidos orgánicos. Se utilizaron residuos de diferente origen y variaciones en la operación del proceso de digestión anaerobia. Dentro de la evaluación se caracterizó la composición fisicoquímica los digestatos, posteriormente se determinó su influencia en la estabilidad estructural de agregados obtenidos a partir de una incubación de suelo. Además, se realizó un ensayo de fitotoxicidad aguda con semillas de lechuga, para determinar la influencia de los digestatos, en el proceso de germinación.



**Figura 1.** Economía circular de residuos orgánicos.

# MARCO TEÓRICO

## Residuos Sólidos Orgánicos

La generación de residuos se ha convertido en un proceso inevitable; cada vez existe mayor diversidad y volumen, producidos por labores domésticas, comerciales e industriales en todo el mundo. Los residuos se clasifican a partir del origen; naturaleza química; estado físico; sitio de generación o proceso que los fabricó, entre otros. Debido al gran desarrollo económico de algunos países y la globalización; se generan desechos de todo tipo, como subproductos de procesos de extracción; beneficio; transformación; producción; consumo; utilización; control o tratamiento, cuya calidad no les permite reutilizarse en el proceso que lo generó. Idealmente, estos materiales residuales deben ir a centros de tratamiento para reciclarlos o reutilizarlos; o en su defecto, ser trasladados a disposición final. Lamentablemente, esto no ocurre en la mayoría de los casos y su manejo inadecuado provoca contaminación del suelo, agua y atmósfera (Chandruppa et al., 2011; Hidalgo, 2014; Teglia et al., 2011).

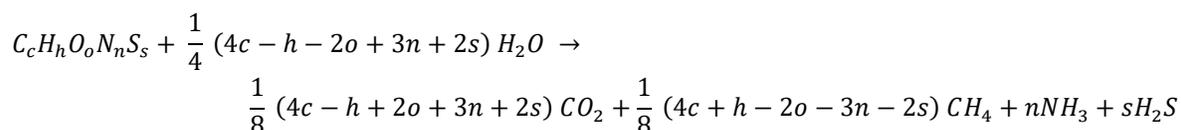
La estrategia para encontrar soluciones al problema de la masiva generación de residuos a nivel mundial, ha sido encontrar formas de tratamiento de residuos que sean amigables con el medio ambiente y además puedan aportar energía. Para ello, se busca adoptar un seguimiento jerárquico de prioridades para la prevención, reúso y manejo; en orden descendente las prioridades son: prevención de generación; preparación para el reúso; reciclaje; recuperación energética y disposición o confinamiento (Castells, 2012; Diosdado, 1995).

En el mundo se producen diariamente más de dos mil millones de toneladas de residuos; en México más de cien mil toneladas de los cuales: 83% se recolecta; 78% se colocan en sitios de disposición final y 9% se recicla. Al año el país produce cerca de cinco millones de toneladas de residuos, 550 mil toneladas son residuos sólidos orgánicos, con poder calorífico apreciable (SEMARNAT, 2017; White et al., 1999).

Los residuos orgánicos representan frecuentemente, más de la mitad de los residuos sólidos urbanos (RSU), a esta fracción se le conoce como; fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU). Se compone de restos de comida; plantas; cáscaras de frutas y verduras; entre otros. Es un sustrato ideal para generar biogás a partir del proceso de digestión anaerobia; debido a su alto contenido energético. El biogás producto de la degradación de la materia orgánica, está compuesto de  $\text{CH}_4$  (65%);  $\text{CO}_2$  (30%);  $\text{NH}_4$ ;  $\text{H}_2\text{S}$  y otros gases (<5%). La producción de biogás a partir de FORSU, es una alternativa de manejo que ofrece un retorno financiero, derivado del aprovechamiento energético del metano. El objetivo es recuperar de la materia orgánica, biomoléculas de gran valor nutricional compuestas principalmente de C, H, O, N, P, K, S, entre otros (Bernd et al., 2012; Polprasert, 2015).

## Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia es un método de tratamiento de residuos orgánicos; donde se obtiene energía a partir de la degradación de la materia orgánica. En países desarrollados, esta tecnología es utilizada a gran escala para la producción de energía; mientras que, en países en vías de desarrollo; tiene un gran potencial para solventar problemas asociados al manejo de residuos. Este proceso contempla la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero y la recuperación de energía a través de la producción de biogás. El proceso de digestión anaerobia involucra distintas etapas; donde grupos de microorganismos heterótrofos anaerobios; degradan la materia orgánica a CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>4</sub> y nueva biomasa (Bustamante et al., 2013; Ortega, 2006). La ecuación de la reacción se muestra a continuación:



**Ecuación 1.** Reacción general de la digestión anaerobia de Buswell y Symons.

Cuando en el proceso de digestión anaerobia se emplean dos o más sustratos distintos se conoce como codigestión, y se realiza con la finalidad de obtener mayor valor nutricional en la composición del sustrato. Se ha utilizado la codigestión de residuos de diferente origen, para obtener mejores rendimientos de biogás; y digestatos con mejores características de contenido de materia orgánica y nutrientes para las plantas (locoli et al., 2019).

La digestión anaerobia es un proceso de reacciones multietapa. Se divide comúnmente en cuatro: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Figura 2). Es un proceso complejo que requiere condiciones anaerobias estrictas; potenciales de oxidorreducción menores a -200 mV. Para llevarse a cabo, depende de la actividad coordinada y asociación compleja de microorganismos, bajo condiciones controladas de temperatura, pH, potencial eléctrico, carga orgánica, tiempo de retención hidráulico (TRH), tiempo de retención de sólidos (TRS), entre otros (Appels et al., 2008).

En la hidrólisis, la materia orgánica compuesta de polímeros complejos (biomoléculas de alto peso molecular y compuestos orgánicos insolubles); se despolimeriza a monómeros, gracias a la acción de enzimas extracelulares de tipo hidrolíticas. La hidrólisis permite la solubilización de los productos, facilitando el transporte a través de la membrana celular. Los microorganismos hidrolíticos, requieren de un aporte de energía para despolimerizar los compuestos, esto puede ser un factor limitante. Algunos de los microorganismos más representativos son los géneros *Acidaminobacter*, *Acetovibrio*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Butyrivibrio*, *Clostridium*, *Desulforomonas*, *Desulfobacter*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Pseudomas*, *Propionibacterium*, *Smithella*, *Streptococcus*, *Butyrivibrio* y otros pertenecientes a los grupos de Proteobacterias y Firmicutes (Desmond, 2016; Díaz et al., 2006).

Una vez dentro de la membrana celular; los monómeros pueden ser degradados por diversas rutas anaerobias facultativas o estrictas. Los principales productos de esta etapa, son compuestos de bajo peso molecular como ácidos grasos volátiles (AGV): ácido acético, propiónico, butírico, valérico, y otros ácidos carboxílicos como caproato, lactato y alcoholes. Dichos compuestos funcionan como intermediarios degradativos y precursores directos para la formación de metano. También pueden producirse: ácido fórmico, metilaminas, metanol, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>; además de compuestos órgano-nitrogenados y órgano-sulfurados (Tsachidou et al., 2019).

El acetato o ácido acético, puede utilizarse directamente como sustrato por organismos metanogénicos; debido a ello es de suma importancia para el proceso. A esta etapa, se le conoce como acidogénesis (generación de ácidos orgánicos). Algunos géneros representativos son *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Streptococcus* (Mara & Horan, 2003; Ortega, 2006).

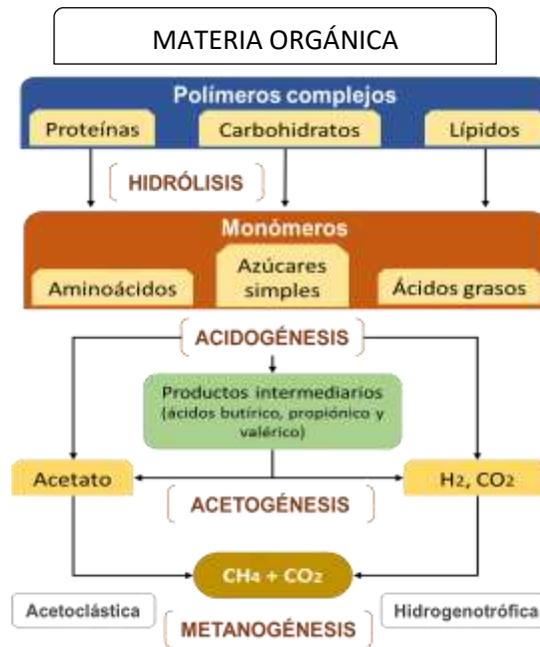
El acetato también puede producirse en la etapa de acetogénesis, cuando los AGV de bajo peso molecular se convierten en acetato, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>; por bacterias acetogénicas. Este proceso de conversión solo puede favorecerse termodinámicamente por la presión parcial del H<sub>2</sub> que se mantiene baja. Por lo anterior, es necesaria una buena eficiencia de remoción de H<sub>2</sub> (Ortega, 2006).

Además del CO<sub>2</sub> que es reducido a acetato mediante H<sub>2</sub>; existen otros sustratos que pueden ser oxidados hasta producir acetato, como alcoholes, ácidos carboxílicos, compuestos aromáticos y algunos sustratos halogenados. Los organismos que participan son bacterias estrictamente anaerobias, como *Clostridium*, *Acetoanaerobium*, *Acetobacterium*, *Acetogenium*, *Butyribacterium*, *Paleobacter*, *Treponema* y *Halophaga*. Existe otro tipo de bacterias acetógenas que se caracterizan por la producción obligada de H<sub>2</sub> y por su participación en la degradación de compuestos aromáticos, se denominan OHPA (*Obligate hydrogen producing acetogens*): *Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*, *Syntrophospora* y *Syntrophus* (Müller, 2003).

Finalmente, el metano es producido por grupos de arqueas, se forma en un 66% por la descarboxilación del acetato producido en la metanogénesis acetoclástica (*Methanosaeta spp.* y *Methanosarcina spp.*) y 34% por la reducción de CO<sub>2</sub> por el H<sub>2</sub>, catalizado por organismos metanogénicos hidrogenotróficos. En particular el uso de H<sub>2</sub> por los organismos metanogénicos es responsable de la presión parcial baja de H<sub>2</sub> en los reactores anaerobios (Liu & Whitman, 2008).

Es necesario mantener condiciones óptimas para las bacterias acetogénicas; aumentar el consumo de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (sustrato para las arqueas metanogénicas). Alternativamente, las bacterias reductoras de sulfato y las acetogénicas autótrofas, pueden usar el H<sub>2</sub> para la reducción de sulfato o producción de acetato, a partir de CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub> (Nayono, 2010; Ortega, 2006).

Las arqueas metanógenas son un grupo filogenéticamente diverso. Están clasificadas en 5 órdenes establecidos: *Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarcinales* y *Methanopyrales*. Sin embargo, sólo algunos géneros se encuentran representados en digestores anaerobios: *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanothermobacter*, *Methanococcus*, *Methanomicrobium*, *Methanocolleus*, *Methanofollis*, *Methanospirillum*, *Methanocorpusculum*, *Methanosarcina* y *Methanosaeta* (Liu & Whitman, 2008).



**Figura 2.** Etapas de la digestión anaerobia

Una ventaja para utilizar esta tecnología en México es la extensa actividad agrícola y pecuaria que se desarrolla en el territorio. Se puede identificar un gran potencial para generar biogás, gracias a la diversidad y cantidad de residuos orgánicos que se producen diariamente. Es importante identificar la producción constante de sustrato, es decir, a partir de unidades de producción ganadera; granjas porcícolas; establos lecheros; rellenos sanitarios; plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR); entre otros. El rol de dichas unidades de producción es fundamental como sitios generadores de sustrato en la producción de biogás y digestato. Este tipo de actividades están relacionadas con el 60% de las emisiones globales de metano (IPCC, 2007). Lo anterior es importante, relacionado con los Objetivos del Milenio propuestos por la ONU en 2015, donde se plantea un manejo adecuado de residuos, para evitar problemas ambientales globales, aunados a la emisión de GEI y la contaminación ligada con el uso de combustibles fósiles y su reemplazamiento por energías renovables como el biogás (Bernd et al., 2012).

## Digestato

Además de la producción de biogás, también se produce una corriente líquida o semilíquida llamada digestato, que es el principal producto en términos de masa en una planta de digestión anaerobia. De acuerdo con la naturaleza del residuo y la tecnología de digestión; el digestato puede ser sólido; semisólido o líquido. Los digestatos líquidos pueden ser utilizados directamente por aspersión en cultivos, mientras que la fracción sólida puede utilizarse como mejorador o sustrato orgánico. El digestato está compuesto de una mezcla de materia orgánica remanente en diferentes etapas de degradación, mayormente compuestos reducidos de C; N y S (Poggi-Varaldo et al., 1999; Salminen et al., 2001).

La generación de digestatos en las plantas de tratamiento anaerobio, representa un problema por su gran volumen y contenido de humedad. Dentro de la operación; es importante considerar el uso y destino de los digestatos. En comparación con los sustratos originales, los residuos de la digestión tienen características más favorables: menor olor; mayor consistencia; baja actividad biológica y alto contenido de nutrientes. Sin embargo, cuando la operación del proceso es ineficiente, trae consigo características indeseables en los digestatos: olor desagradable; alta viscosidad; alta salinidad y gran contenido de AGV, lo que lo vuelve fitotóxico y podría restringir su aplicación en suelos. Incluso los digestatos pueden ser fuente de patógenos, si la digestión no se desarrolla bajo condiciones óptimas; comprometiendo su revalorización. Una opción es un post tratamiento, como composteo de la fracción sólida del digestato para mejorar la calidad del producto final; sin embargo, en digestatos con alto contenido de humedad, esto no es posible (Bustamante et al., 2013). Algunos autores han estudiado post tratamientos aerobios del digestato como Abdullahi et al. (2008); Bortone (2009) y Bustamante et al. (2013).

Respecto a la presencia de patógenos o compuestos bioquímicos; se ha observado su disminución durante la digestión, mejorando la calidad sanitaria del residuo y dando seguridad higiénica para usos posteriores. Lo anterior, ya que se ha observado una correlación; entre la velocidad de remoción de la contaminación microbiológica y la temperatura de la digestión. Para biomasa contaminada por lodos de PTAR o residuos municipales; se recomiendan condiciones termofílicas (45 °C). Sin embargo, el digestato se caracteriza por poseer materia orgánica y una comunidad microbiológica más estable, por lo que resulta un buen producto mejorador de suelo, similar a otros productos orgánicos del sector agropecuario (Guilayn et al., 2020; Teglia et al., 2011; Zhang et al., 2020).

El digestato debe mejorar las condiciones del suelo, tener efecto fertilizante y ser inocuo. Los productos mejoradores de suelo son materiales que al ser añadidos; pueden restituir propiedades físicas del suelo, así como la retención e infiltración del agua, permeabilidad, aireación y estructura óptima para la toma de nutrientes. Su meta es proveer de un mejor ambiente para las raíces y así mejorar el desarrollo de una planta. Lo anterior está ligado con una mejora de las propiedades químicas y biológicas, es decir, fertilidad y actividad metabólica. Uno de sus principales objetivos, es la adición de materia orgánica, que es esencial e indicativa de la calidad del suelo (Evanylo et al., 2008; McBratney et al., 2014; Teglia et al., 2011).

Los digestatos también pueden tener efecto fertilizante; promoviendo la nutrición de las plantas a través de la provisión de macro y micronutrientes; aumentando la fertilidad del suelo y el rendimiento en la productividad de un cultivo. Además de estos nutrientes, se han encontrado compuestos estables de carbono como sustancias pre-húmicas, que actúan como bioestimulantes en el suelo; promoviendo efectos positivos en el crecimiento de la vegetación, tasa de germinación, crecimiento de raíces y biomasa aérea. Sin embargo, la presencia de sustancias húmicas o pre-húmicas en los digestatos, es un debate controversial, debido a la teoría de formación de las sustancias húmicas y su estabilización a través de cientos de años (Guilayn et al., 2020; Weil & Brady, 2002).

En la digestión anaerobia, generalmente los compuestos lábiles son mayormente degradados; incrementando la estabilidad en el digestato, pero cuando se incluyen criterios para la producción eficiente de biogás, se limita el tiempo de residencia del sustrato (TRS-Tiempo de Residencia de Sólidos); luego de alcanzar una máxima producción de biogás. Lo que produce un digestato con materia orgánica en diferentes estados de degradación: recalcitrante, particulada y lábil (fácil degradación) (Guilayn et al., 2020).

### Mejorador de Suelo

En los últimos 10 años, ha incrementado el interés por el uso de digestatos; debido a su alto valor potencial como fertilizante y mejorador de suelo. Sin embargo, su alta variabilidad y contenido desconocido; hace necesaria la caracterización fisicoquímica de la materia orgánica; antes de integrarse en los programas de fertilización. También deben determinarse las tasas de aplicación, el riesgo de fitotoxicidad y la necesidad de un período de seguridad o un tratamiento de estabilización (post-tratamiento), antes de la aplicación al suelo (Alburquerque et al., 2012).

Respecto a su naturaleza de fertilizante, se ha reportado que los digestatos tienen grandes cantidades de N en forma inorgánica, como  $\text{NH}_4$  que representa 70% del N total. No obstante, este N puede perderse por volatilización durante el almacenamiento o al aplicarse en el suelo, dada a la alcalinidad del digestato. En condiciones favorables, el  $\text{NH}_4$  es oxidado a  $\text{NO}_3$  rápidamente por bacterias nitrificantes en el suelo, de esta manera se encuentra altamente disponible para que las plantas puedan aprovecharlo. Sin embargo existe el riesgo de sobrepasar la capacidad de asimilación de las raíces y que el  $\text{NO}_3$  sea lixiviado en el perfil del suelo, resultando en contaminación de los mantos freáticos y la posible eutrofización de los cuerpos de agua (Verdi et al., 2019).

Otro parámetro importante, es la relación C/N que se utiliza para medir indirectamente características de la biomasa, evolución de la materia orgánica, fertilidad del suelo y degradación. Se determina experimentalmente con el contenido de carbono orgánico total (COT) y nitrógeno total (NT). Esta relación debe ser mayor a 8; un desbalance provoca un exceso de materia disponible para los microorganismos y no para las plantas, lo que conduce a su rápido consumo e inmovilización de los nutrientes en la biomasa microbiana (Iocoli et al., 2019).

Se ha demostrado que algunos digestatos, presentan efectos parecidos a auxinas en las plantas, al promover el crecimiento. En un experimento, se añadió digestato en sistemas hidropónicos de lechugas *Lactuca sativa* como fuente de nutrientes; se observó un aumento de la biomasa aérea hasta un 30%, en comparación con un producto de marca comercial de referencia, que contenía sustancias húmicas (SH) extraídas a partir de leonardita. El digestato utilizado contenía 4.6 mg/L de carbono orgánico disuelto en la extracción ácida y alcalina, que corresponde a ácidos fúlvicos según define el método de la Sociedad Internacional de las Sustancias Húmicas (IHSS) (Coelho et al., 2020; Olk et al., 2019; Scaglia et al., 2015).

Actualmente, existe mayor información sobre los parámetros de operación de la digestión anaerobia, características del sustrato y digestato, así como comportamiento de la aplicación en campo. En 2020, se publicaron más de 800 artículos sobre digestatos en el portal de Elsevier, Science direct, en 2019 se publicaron 1,172, en comparación con los 145 publicados en 2010 en este mismo portal. En las Tablas 1 a 5, se muestran algunos valores de pH; nitrógeno orgánico; demanda química de oxígeno (DQO) y fósforo inorgánico, reportados como parte de la caracterización fisicoquímica de digestatos.

**Tabla 1.** Valores de pH reportados.

Sustrato	Valor	Referencia	Notas
Estiércol de gallina y ganado	7.85 -8.4	Ülgüdür et al., (2019)	Codigestión relación 9:1
Estiércol de vaca	7.6-8.1	Akyol et al., (2019); Rico et al., (2011)	Codigestión, Reactor CSTR
Cebada	8.1	Akyol, et al., (2019)	Codigestión anaerobia
Triticale	8.1		
Trigo	8.1		
Centeno	8.4		
Paja de trigo	4.5		
Estiércol de vaca, ensilado de maíz y triticale	8.38-9.73	Riva et al., (2016)	Primer dato - fracción líquida Segundo - fracción sólida

**Tabla 2.** Valores de nitrógeno orgánico (g/L) reportados.

Sustrato	g/L	Referencia	Notas
Estiércol de gallina y ganado	7.09 <sup>a</sup> y 12.23 <sup>b</sup>	Ülgüdür et al., 2019	(90:10)
Estiércol de vaca	7.6-8.1	Akyol et al., 2019	Codigestión
Estiércol de vaca	3.6 <sup>a</sup> y 4.3 <sup>b</sup>	Rico et al., 2011	Reactor CSTR
Cebada	8.32	Akyol, et al., 2019	Codigestión anaerobia
Triticale	5.68		
Trigo	5.39		
Centeno	5.65		
Paja de trigo	0.97		
Estiércol de cerdo + CE*	121 <sup>c</sup>		
Estiércol + CE	85.1 <sup>c</sup>		
CE	82.3		
Suero de leche + CE + Estiércol de ave	82.8		
Suero de leche + CE	73		
Estiércol de cerdo + CE + Harina de maíz + Suero de leche	112		
Estiércol de cerdo+ residuos agroindustriales	105		
Estiércol de vaca + Suero de leche + CE + Melaza	119		
Mezcla de lodos de vaca con maíz ensilado y triticale	3.4 <sup>ad</sup> y 5.54 <sup>bd</sup>	Riva et al., 2016	NA

CE\*: Cultivos energéticos; a: Fracción líquida; b: Fracción sólida; c: g N/kg sólidos totales; d: g N/kg.

**Tabla 3.** Valores de DQO (g/L) reportados.

Sustrato	Referencia	Total	Soluble
Estiércol de gallina y ganado	Ülgüdür et al., 2019	76.79 - 65.06 <sup>a</sup> y 74.99 <sup>b</sup>	33.06 – 40.30 <sup>a</sup> y 19.46 <sup>b</sup>
Estiércol de vaca	Rico et al., 2011	29.3 -36.9	NR

a: Fracción líquida b: Fracción sólida

**Tabla 4.** Valores de fósforo total (g/L) reportados.

Sustrato	Valor	Referencia	Notas
Estiércol de gallina y ganado	8.24 -7.18 <sup>a</sup> y 18.99 <sup>b</sup>	Ülgüdür et al., 2019	Codigestión relación 9:1
Estiércol de vaca	1 <sup>a</sup> y 1.4 <sup>b</sup>	Rico et al., 2011	Reactor CSTR
Estiércol Porcino	8.32	Verdi et al., 2019	Digestato de estiércol fue mezclado con urea, se utilizó la fracción líquida.

a: Fracción líquida b: Fracción sólida.

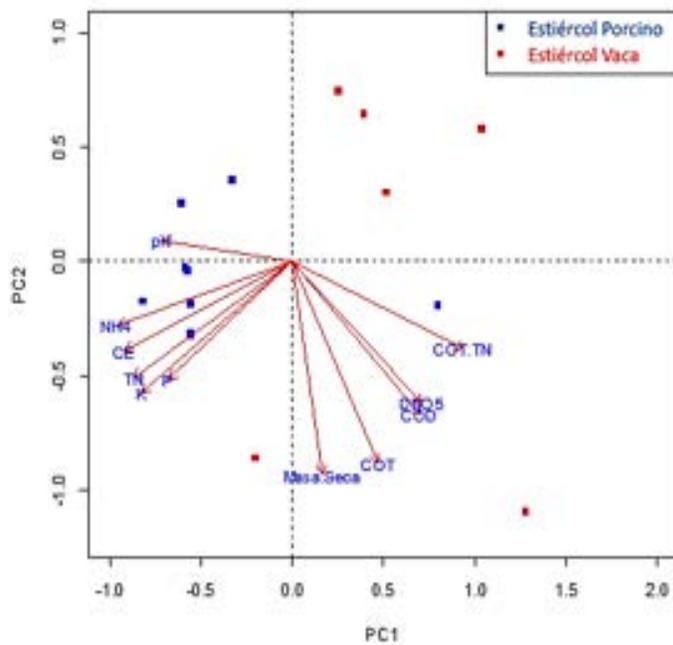
**Tabla 5.** Parámetros fisicoquímicos de los digestatos reportados por Albuquerque et al., (2012).

Digestato	Parámetros										
	pH	Conductividad eléctrica (dS /m)	Masa seca g/L	COT g/L	COD g/L	DBO <sub>5</sub> g/L	NT g/L	NH <sub>4</sub> g/L	Pi g/L	K g/L	COT/NT
PS1	7.8	26	43.9	14.7	4.3	6.5	3.6	2.9	1.1	3.1	4.1
PS2	7.9	24.1	38.3	12.2	3.7	4	3.5	2.6	1.1	3.1	3.5
PS3	7.9	23.3	28.3	8.3	3.7	4.7	3.4	2.7	1.2	2.7	2.4
PS4	7.9	2.1.1	21	5.8	1.2	2.3	2.9	2.2	0.5	2.2	2.4
PS5	7.8	30.8	29.5	8.4	3.5	6.2	4.9	3.4	0.8	3.1	1.7
PS6	8.2	30.3	19.5	5.9	2.4	2.2	4	3.5	0.2	2	1.5
PS7	7.9	25	28.9	8.4	3.6	4.4	3.6	2.8	0.9	2.9	2.2
CS1	5.6	14.5	38.3	17.8	10.6	37.5	1.9	1	0.5	1.8	9.5
CS2	7.3	11.7	72.9	42.8	27.6	52.5	2.3	0.9	0.4	1.6	18.5
CS3	6.3	5.2	17.6	8.3	8.2	10.6	0.6	0.4	0.1	0.8	13.6
CS4	7.8	8.7	24.4	9.4	1.2	1.3	1.4	0.8	0.2	1.1	6.6
CS5	7.9	10	17.6	5.8	1	1.2	1.5	0.9	0.2	1.2	3.8
CS6	7.5	25.7	90.1	33.7	5.4	5.9	4	2.4	0.8	3.1	8.5
CS7	7.4	10.9	31.4	13.6	6.8	8.3	1.7	0.9	0.3	1.4	9

PS: Estiércol de puerco; CS: Estiércol de vaca; COT: Carbono orgánico total; COD: Carbono orgánico disuelto; DBO<sub>5</sub>: Demanda biológica de oxígeno 5 días; NT: Nitrógeno total; NH<sub>4</sub>: amonio; Pi: Fósforo inorgánico; K: potasio.

En la Tabla 5, se muestra la caracterización reportada por Albuquerque et al., (2012), donde se analizaron catorce digestatos, provenientes de dos tipos de sustrato. Las siglas PS indican que el digestato es producto de la degradación de estiércol porcino y CS de la degradación de estiércol vacuno. Se determinó pH; conductividad; masa seca; carbono orgánico total y disuelto; demanda biológica de oxígeno a los 5 días; nitrógeno total o total Kjeldahl; nitrógeno inorgánico como amonio; fósforo inorgánico como ortofosfato; potasio y la relación COT/NT.

Con los datos anteriores (Tabla 5), se realizó un análisis multivariado, para observar posibles usos de los digestatos, a partir de las características fisicoquímicas reportadas por Albuquerque et al., (2012). En la Figura 3 se muestra un análisis de componentes principales (PCA), los puntos rojos son los digestatos provenientes de estiércol porcino y los azules son provenientes de estiércol vacuno. Podemos ver que los digestatos porcinos, presentan poco contenido de carbono orgánico o materia orgánica en general, debido a la posición de los puntos azules con respecto a los vectores (flechas rojas) de los parámetros: masa seca; COT; COD; DBO<sub>5</sub> y COT/NT, es decir no se relacionan. Sin embargo, los digestatos porcinos contienen más P; K; NT y NH<sub>4</sub>, debido a la posición de los puntos azules respecto a los vectores de esos parámetros. Los puntos rojos que representan los digestatos vacunos tienen características de mejorador de suelo, debido al mayor contenido de carbono orgánico y materia orgánica, por otro lado el digestato porcino tiene características de fertilizante debido su contenido de nutrientes vegetales.



**Figura 3.** Análisis de componentes principales (PCA).

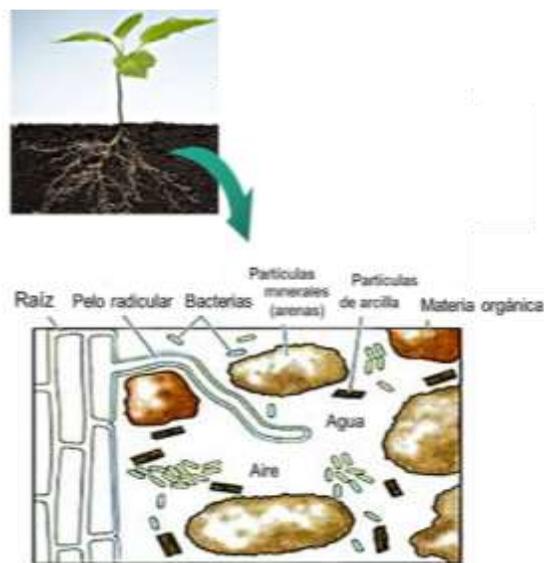
Gracias al análisis de las características fisicoquímicas de los digestatos, es posible destinar un uso adecuado a la gran variedad de digestatos que se generan. Conocer la concentración de los elementos esenciales para el crecimiento vegetal, puede proporcionar información concreta respecto a esquemas de aplicación de los digestatos, ajustando las necesidades de los tipos de cultivos.

## Suelo

El suelo es la capa superficial que cubre la corteza terrestre, está formado de una fase sólida (minerales y compuestos orgánicos) y una fluida (solución del suelo y gases), cada una representa aproximadamente el 50% de su volumen. Está determinado por diferentes factores que le dan origen; como el material parental, relieve, clima, tiempo y la actividad biológica. Sirve de medio natural para el crecimiento de las plantas; por lo tanto, está relacionado con la seguridad alimentaria dentro de los Objetivos del Milenio (ODM, 2015). El suelo tiene diversas funciones de gran importancia; a nivel de procesos ecosistémicos, como en la regulación y distribución del flujo de agua. Desde el punto de vista agrícola, el suelo es una capa de material fértil que es explotada por las raíces de las plantas; y a partir de la cual; obtienen soporte mecánico, nutrientes y agua para su crecimiento (Banwart et al., 2017; Wani et al., 2013).

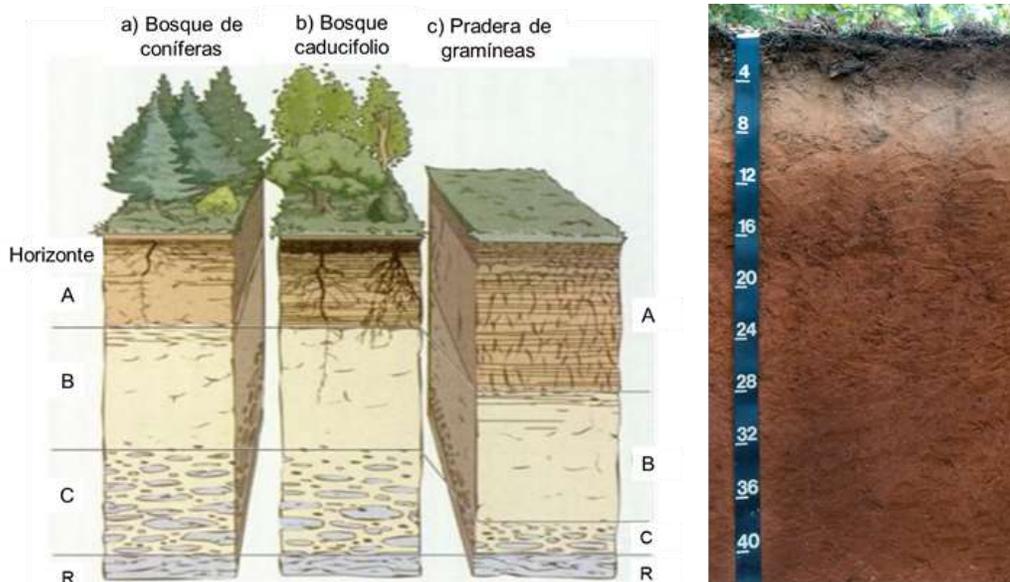
Los suelos son sistemas complejos de componentes vivos y no vivos. La parte biótica la conforman las raíces de las plantas, microorganismos, hongos y animales (micro, meso y macrofauna). Dentro de la porción abiótica del suelo se incluyen fragmentos de roca, que pueden clasificarse por su tamaño o granulometría, por ejemplo: arenas (2-0.05 mm), limos (0.05-0.002 mm) y arcillas (<0.002 mm). Los espacios aéreos son fuente de O<sub>2</sub> para las raíces de las plantas (Figura 4); y permiten el intercambio de otros gases; como CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>. Las características de los suelos no son estáticas, su composición oscila constantemente, en función de las horas del día y la estacionalidad. Los suelos también cambian, debido a fenómenos naturales y la actividad humana, sobre todo debido al cambio de uso de suelo (Sadava et al., 2009). Sin embargo, a pesar de su variabilidad, comparten ciertas propiedades y características que nos permiten agruparlos a través de diferentes sistemas creados para su clasificación: WRB (Base Referencial Mundial del Recurso Suelo) de la FAO (Organización para la Alimentación y Agricultura de las Naciones Unidas) y Taxonomía de suelos de USDA (Departamento de Agricultura de Estados Unidos).

Los suelos poseen cierta granulometría definida y contenido de compuestos orgánicos e inorgánicos que son indicativos del tipo de suelo. Una herramienta para su clasificación, son los perfiles de suelo que se realizan en campo (Figura 5, derecha); entre otras cosas, permiten distinguir las capas (horizontes) que componen el suelo. El horizonte superficial A, es la capa superior que contiene materia orgánica de naturaleza lábil (Figura 5, izquierda). La profundidad y composición de un horizonte, varía en ambientes diferentes, asociados a procesos edafogenéticos o de formación del suelo, que involucran factores biológicos y geológicos (Curtis et al., 2008).



**Figura 4.** Composición del suelo (Sadava et al., 2009).

En sitios no perturbados los nutrientes minerales permanecen en un sistema, formado por el suelo, plantas, microorganismos y fauna que lo habitan. Sin embargo, si se produce una alteración en el ecosistema; en la vegetación o en el suelo, comienza el desbalance en los ciclos biogeoquímicos de nutrientes, provocando la pérdida de los nutrientes del sistema. Lo anterior sucede en el cultivo intensivo, por esta razón se requiere añadir fertilizantes sintéticos, en medida que aumenta el tiempo del manejo del suelo (Curtis et al., 2008).



**Figura 5.** Horizontes en diferentes ecosistemas (izquierda) y perfil de suelo (Curtis et al., 2008).

El suelo posee propiedades químicas, asociadas a las moléculas reactivas presentes en la solución del suelo (fase acuosa); propiedades biológicas, asociadas a la biota predominante del sitio y propiedades físicas, que van de acuerdo a la estructura o arreglo espacial de la matriz del suelo. La estructura del suelo está definida por la formación de agregados. El agregado es la unidad estructural y funcional del suelo; se define como; un grupo de partículas primarias que se unen muy estrechamente entre ellas, más que con respecto a las partículas de suelo que las rodean. Esta unión se da gracias a agentes cementantes o de unión, que se pueden desarrollar de manera física, química o biológica. Los agregados tienen diferentes grados de desarrollo y clases de tamaños, pueden clasificarse con base en el tipo de forma: esférica; laminar; en bloques o prismas (Weil & Brady, 2002).

Un macroagregado está compuesto de microagregados unidos por redes formadas de hifas de hongos y raíces finas (Figura 6). Un microagregado está compuesto principalmente por arenas finas y agentes de unión: arcillas y otros componentes inorgánicos del suelo; unidos por adsorción a la materia orgánica particulada, residuos microbianos, coloides orgánicos y compuestos de origen microbiano. Los submicroagregados son partículas finas de limos; unidas a residuos de materia orgánica particulada, empaquetados entre arcilla, humus y óxidos de Fe o Al. Las arcillas son láminas interactuando con óxidos de Fe o Al y polímeros orgánicos. Se forman dominios de unión de estas superficies, con las partículas de humus y minerales de tamaño más pequeño (Olivo, 2005; Weil & Brady, 2002).

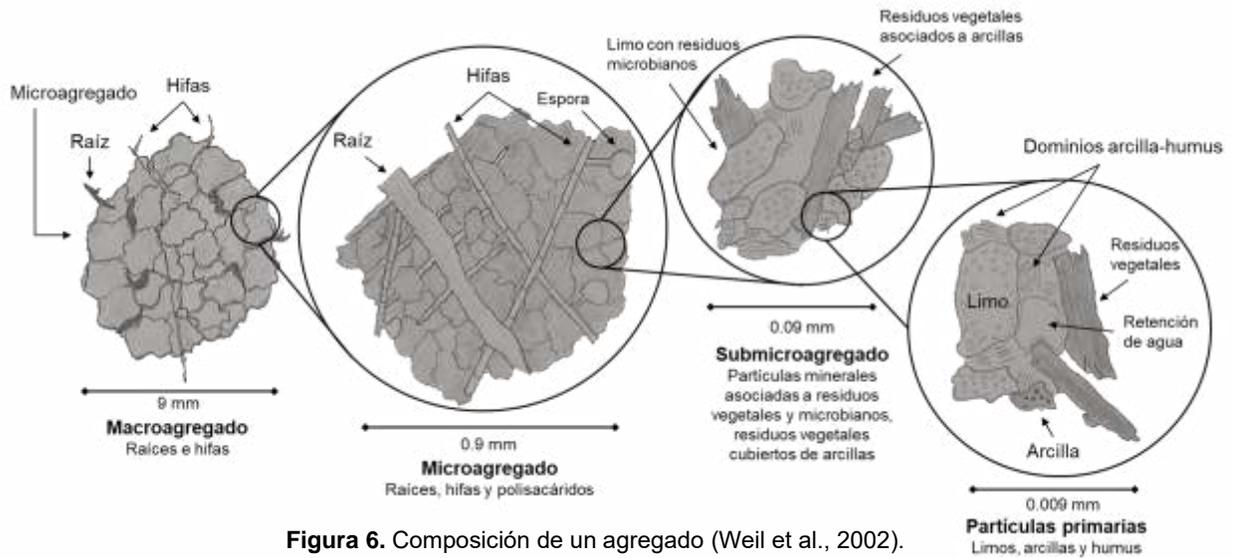


Figura 6. Composición de un agregado (Weil et al., 2002).

Tistall y Oades (1982) presentaron un modelo conceptual jerárquico de los agregados, describiendo como partículas minerales primarias se unen con bacterias, hongos y restos vegetales, hasta formar microagregados. Luego, los macroagregados (Figura 7) se originan debido a agentes de unión, de naturaleza microbiana o vegetal, y uniones temporales como raíces e hifas. La consecuencia de esta agregación jerárquica, es el rompimiento gradual de macroagregados en microagregados. Además, se ha observado que un incremento en el contenido de carbono es un incremento en el tamaño de los agregados. Así como se postula que los macroagregados contienen mayor materia orgánica lábil que los microagregados (Six et al., 2000).



Figura 7. Macroagregado.

## Materia orgánica del suelo

El suelo tiene una composición variable de materia orgánica (0 a 5 %), es una fracción pequeña que tiene un rol, sumamente importante en las funciones del suelo. La materia orgánica del suelo (MOS) está compuesta por residuos de organismos sin descomponer, como plantas; bacterias; hongos; fauna; así como, sustancias producto de su actividad metabólica, y otras moléculas de estructura más estable como sustancias húmicas (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas), producto de la transformación y polimerización de compuestos orgánicos, debido a procesos que ocurren en a través de largos periodos de tiempo (Ghisolfi, 2011).

La renovación de la MOS desempeña un papel importante en el funcionamiento del ecosistema. Se puede dividir en diferentes grupos, de acuerdo al tiempo necesario para su descomposición total y el tiempo de residencia, derivado de los productos del suelo (tiempo de retorno). La reserva activa tiene una renovación de meses o pocos años y la pasiva de miles de años. Los largos tiempos de rotación de los compuestos

orgánicos, se explican debido a condiciones anaerobias; incorporación de MOS en los agregados del suelo; fijación de la materia orgánica a las superficies minerales protectoras o por una desconexión espacial entre MOS y los descomponedores. Los microagregados son responsables de la estabilización de las reservas pasivas (estabilizadores permanentes), mientras que los macroagregados y los terrones que encapsulan pequeños agregados se consideran agentes transitorios. Lo anterior, es una estabilización física y química de la MOS; que dificulta la descomposición microbiana (movilidad y acceso), así como la difusión del agua, enzimas y O<sub>2</sub>. Además, dicha estabilización requiere enzimas microbianas especializadas para degradar macromoléculas insolubles, que conforman la materia orgánica (McBratney et al., 2014).

En algunos suelos la MOS contiene 55-60% de carbono en masa, este carbono orgánico del suelo (COS) se clasifica de acuerdo a su forma y composición (Tabla 6). El suelo es la reserva terrestre más grande de carbono orgánico global y su contenido está relacionado con cuestiones de fertilidad del suelo. Un aumento en el COS; proporciona mejores condiciones para el crecimiento de la vegetación y mantenimiento de la actividad biológica, pues aumenta la capacidad de reciclar nutrientes. Esto se refiere a la calidad del suelo, por ello, el C es un indicador clave de las funciones del suelo (McBratney et al., 2014; Weil & Brady, 2002).

Dentro de la matriz del suelo, el COS se estabiliza mediante procesos fisicoquímicos. Puede encontrarse dentro de los agregados, lo que le otorga inaccesibilidad espacial para la degradación microbiana y disponibilidad limitada de O<sub>2</sub>. Además, puede ser estabilizado, a través de interacciones órgano minerales con las superficies de limos finos; arcillas o iones metálicos. Estos procesos proveen de límites *a priori* en la capacidad del suelo para almacenar o secuestrar C (Olivo, 2005; Smith et al., 2003).

**Tabla 6.** Formas de carbono orgánico en el suelo (McBratney et al., 2014).

Forma	Composición	Categoría de almacenamiento
<b>Residuos de plantas superficiales</b>	Material vegetal residual en la superficie del suelo. Hojarasca y el material de cultivo/pastos.	Rápido (lábil). La descomposición ocurre de días a años.
<b>Residuos de plantas enterrados</b>	Material vegetal más grande de 2 mm, residiendo dentro del suelo.	
<b>Materia Orgánica particulada</b>	Materia orgánica semi-descompuesta (2 mm – 50 µm), que está asociada con partículas del suelo.	
<b>Carbono Orgánico asociado a minerales</b>	Materia orgánica altamente descompuesta menor a 50 µm, asociada con partículas del suelo.	Lenta (estable). La descomposición ocurre de años a décadas.
<b>Carbono orgánico resistente</b>	Carbón o materia carbonizada de la quema de materia orgánica (resistente a la descomposición biológica).	Pasiva (recalcitrante). Descomposición ocurre de décadas a miles de años.

Cuando existen malas prácticas en el manejo del suelo, se dan procesos de degradación o pérdida de la calidad. El escape de materia orgánica, compuesta principalmente de carbono, promueve la disminución y eventual pérdida de la actividad biológica del suelo y capacidad de almacenamiento de carbono. Por ello, el manejo inadecuado; no solo promueve la degradación por pérdida de materia orgánica, sino que favorece el escape de grandes cantidades de carbono a la atmósfera (Evanylo et al., 2008; Oldeman, 1991).

## Fitotoxicidad

El uso seguro de los digestatos como residuos orgánicos en el suelo; depende de una serie de factores, entre ellos, la determinación del impacto potencial en la contaminación del agua del subsuelo y emisión de gases a la atmósfera. También deben considerarse, los posibles efectos en la salud humana y animal, infecciones por patógenos, olores desagradables y fitotoxicidad. Para asegurar el uso del digestato, es necesario un análisis toxicológico; determinando la dosis a la cual se inhiben ciertos procesos biológicos (Estrada et al., 2015; McBratney et al., 2014).

Los bioensayos de toxicidad utilizando semillas de plantas vasculares, nos permiten evaluar efectos fitotóxicos de muestras con composición compleja; es decir, cuando se dificulta el análisis de cada componente. Mediante este ensayo, se puede determinar el efecto del digestato; en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas, durante los primeros días de crecimiento. Para el análisis se requiere determinar la inhibición de la germinación y la inhibición de la elongación de la radícula e hipocótilo; se determina el número de semillas germinadas por caja Petri, y la longitud del brote y la radícula. Los datos anteriores, nos permiten determinar: la tasa de germinación (TG); y el índice de germinación (IG) para la radícula y el brote (Ecuación 2) (Joseph et al., 2014).

$$TG = \frac{SGP}{SGC} \qquad IG_R = \frac{(LRP)(SGP)}{(LRC)(SGC)} \qquad IG_B = \frac{(LBP)(SGP)}{(LBC)(SGC)}$$

Semillas Germinadas Problema (**SGP**)  
Semillas Germinadas Control (**SGC**)

Longitud Radícula Problema (**LRP**)  
Longitud Radícula Control (**LRC**)

Longitud Brote Problema (**LBP**)  
Longitud Brote Control (**LBC**)

**Ecuación 2.** Tasa de germinación e índice de germinación.

En el periodo de germinación de una semilla y posteriormente, durante los primeros días de desarrollo de la plántula, ocurren numerosos procesos en la fisiología vegetal, donde la presencia de una sustancia tóxica puede interferir. Este periodo, representa la etapa de mayor sensibilidad de una planta, ante factores adversos. Por lo que, sustancias que no afectarían a una planta adulta, fácilmente pueden alterar la supervivencia y el desarrollo normal de una semilla o brote. Es por ello, que la evaluación del desarrollo de la radícula y del hipocótilo; constituyen indicadores representativos para determinar efectos inhibitorios, de una sustancia compleja (Priac et al., 2017).

La evaluación del efecto, en la elongación de la radícula y del hipocótilo de las plántulas; permite ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles, presentes en niveles de concentración tan bajos, que no son suficientes para inhibir la germinación. Sin embargo, estos compuestos pueden producir un retardo o inhibir completamente el proceso de elongación radicular o del hipocótilo, en función de sitio de acción (Teglia et al., 2011).

Para realizar evaluaciones de efectos tóxicos, son necesarios organismos que sean de fácil manejo y posean un desarrollo acelerado, para observar cambios en cortos periodos de tiempo, entre otras características que dependerán del tipo de ensayo. Los organismos más comunes utilizados en ensayos ecotoxicológicos para el biomonitoreo son: productores primarios como algas *Pseudokirchneriella subcapitata*; consumidores primarios como vertebrados acuáticos *Daphnia magna*, *Gammarus pulex*; o consumidores secundarios como vertebrados acuáticos *Gambusia holbrooki* (Joseph et al., 2014; Priac et al., 2017)

En este bioensayo se utilizaron plantas de lechuga *Lactuca sativa*, variedad capitata o bola. Los estudios utilizando plantas superiores han aumentado en años recientes, a raíz del descubrimiento que la inhibición de la elongación radicular es un indicador válido y sensible de toxicidad ambiental por Ratsch Johndro (1986). Las especies de plantas más recomendadas para estudiar por la Agencia de protección ambiental de US y la FDA, es el pepino *Cucumis sativus*, lechuga *Lactuca sativa*, rábano *Raphanus spp.* y trigo *Triticum aestivum*. Existen diferentes parámetros a considerar en un bioensayo de germinación (Tabla 8); sin embargo, este ensayo se caracteriza por ser sencillo, reproducible y de bajo costo, entre otras ventajas (Tabla 9). La medición de cada brote y radícula es una práctica que requiere de mayor tiempo, a comparación de otros análisis que determinan la inhibición en otros organismos (Priac et al., 2017; Rodríguez et al., 2014).

**Tabla 7.** Lista de parámetros que pueden variar en bioensayos de germinación

Parámetro	Ejemplo
Cultivo variedad	Regina; iceberg; trocadero; romana; bola
Soporte	Agar agar, papel filtro, papel de germinación
Pretratamiento de semillas	No; 10-30% solución de hipoclorito; no se especifica
Temperatura °C	20; 24; 28; temperatura ambiente; no se especifica
pH	5.5 a 8.2; no se especifica
Placa	Vidrio; polietileno; no se especifica
Número de semillas	10; 20; 50; no se especifica
Cantidad de muestra	4 mL; 9 mL; no se especifica
Duración	72 – 192 h
Agua control	Desionizada; destilada: miliQ; no se especifica

**Tabla 8.** Principales ventajas de ensayos utilizando semillas de plantas vasculares

Ventajas de pruebas de fitotoxicidad utilizando semillas
Tasa de germinación de semillas, elongación radicular, etc.
<p>Es un método simple y reproducible</p> <p>Se puede aplicar <i>in situ</i> o <i>in vitro</i></p> <p>No requiere equipo sofisticado</p> <p>Mínimo costo de mantenimiento</p> <p>Las semillas son autosuficientes para germinar, no requieren la adición de nutrientes</p> <p>Se requiere poco volumen de muestra</p> <p>No tiene estacionalidad</p> <p>Rápida germinación</p> <p>Las semillas permanecen viables largo tiempo</p>

## JUSTIFICACIÓN

El tratamiento de residuos orgánicos; mediante sistemas de digestión anaerobia, es una alternativa rentable para solucionar problemas ambientales; relacionados con las emisiones de GEI y la lixiviación de compuestos contaminantes al suelo o cuerpos acuáticos. Es una tecnología de bajo costo, que además permite la producción de biogás rico en metano; suministro de energía limpia que puede ser utilizado para generar electricidad o calor. Dicho proceso puede estar alimentado de diversas fuentes de residuos orgánicos, que generan las actividades agrícola y pecuaria diariamente en el país; asegurando un suministro de energía constante. Asimismo, la digestión anaerobia produce corrientes líquidas de digestato; que posee características fisicoquímicas de mejorador de suelo o biofertilizante; que le permiten ser revalorizado y contribuir al reciclaje de materia orgánica y nutrientes; considerando un esquema de manejo integral de residuos y economía circular (Weber et al., 2012; Teglia et al., 2011).

Para evaluar la calidad de estos digestatos; es necesario un análisis de la naturaleza fisicoquímica de los compuestos orgánicos e inorgánicos que contienen. Esto, por la gran variabilidad en la composición y origen de los residuos orgánicos, así como del proceso de operación de la digestión anaerobia. Al tener datos detallados, de la composición orgánica de los digestatos, se pueden comparar con estándares de calidad para su uso seguro. Lo anterior, ayuda a definir un plan de aplicación adecuado, para las necesidades de cada tipo de suelo y cultivo. Con ello, los digestatos pueden añadirse a suelos, que han sufrido degradación debido a la pérdida de compuestos orgánicos, y mejorar las condiciones del suelo. El uso de digestatos promueve la reducción del consumo de fertilizantes químicos; mediante la sustitución con mejoradores de suelo orgánicos y biofertilizantes alternativos en la agricultura. Además, la aplicación en suelo de un residuo biológicamente tratado, contribuye al mejoramiento de la dinámica de los ciclos biogeoquímicos, que tienen lugar en el suelo (Paavola et al., 2008; Ülgüdür et al., 2019).

Por lo anterior, el proyecto contempla evaluar la calidad de cinco digestatos anaerobios, para destinar su uso en suelo. Para lograrlo se propone la determinación del contenido de materia orgánica; evaluación de fitotoxicidad aguda en plantas de lechuga y observar el efecto en la agregación de un suelo con uso agrícola. Estos análisis son indicadores para definir la calidad de este producto orgánico como mejorador de suelo.

## HIPÓTESIS

La materia orgánica está asociada con la estabilidad de la estructura del suelo (agregación). Un aumento en el contenido de materia orgánica en suelos degradados por ausencia de la misma; puede resultar en el mejoramiento de las propiedades del suelo. Existen diversas opciones para remediar la pérdida de materia orgánica, como los mejoradores de suelo que, debido al contenido de sustancias ricas en carbono orgánico, pueden promover o restituir ciertas propiedades físicas, químicas y biológicas, que mejoran las condiciones del suelo y su calidad, a diferencia de fertilizantes que únicamente retribuyen nutrientes (propiedades químicas).

# OBJETIVOS

## Objetivo general

Evaluar la calidad de digestatos anaerobios mediante la caracterización de la materia orgánica, así como su influencia sobre la estabilidad de los agregados del suelo.

## Objetivos particulares

- I. Obtener la caracterización fisicoquímica de los digestatos anaerobios.
- II. Determinación de la concentración de digestatos que causa inhibición de la germinación y del desarrollo de brotes de lechuga.
- III. Describir la influencia de digestatos sobre la proporción de tamaño de agregados de un suelo de uso agrícola.

# MATERIALES Y MÉTODOS

## Pretratamiento de sustratos

Los residuos orgánicos fueron recolectados en la Cd. de Querétaro, Qro. Corresponden a la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU), de dos sitios: residuos vegetales de una central de abastos y residuos alimenticios de un restaurante tipo *buffet*. Se recolectaron lodos secundarios de una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) y residuos del procesamiento del nopal de un mercado. Para muestreo y tratamiento de los sustratos de la DA, se siguieron los métodos descritos en las normas mexicanas: NMX-AA-015-1985 (Método de cuarteo); NMX-AA-019-1985 (Peso volumétrico *in situ*) y NMX-AA-022-1985 (Selección y cuantificación de subproductos). Las muestras se mantuvieron en una temperatura de 4 °C hasta su pretratamiento, licuando el sustrato y posterior tamizado para obtener un tamaño de partícula de 5 mm. Se determinaron algunas características físicoquímica de las FORSU, lodos secundarios y residuos de nopal, siguiendo la metodología estándar descrita en APHA et al., (2017). La caracterización del sustrato se muestra en la sección de anexos (pág. 53).

## Obtención de digestatos

En el desarrollo del experimento se evaluaron cinco digestatos, provenientes de procesos de DA con diferentes sustratos y condiciones de operación, se muestran en la Tabla 10. Los digestatos denominados **A** (FORSU de restaurante y lodos de purga, 90:10, o FORSU<sub>r</sub>-Lp) y **B** (FORSU de central de abastos y lodos de purga, 90:10, o FORSU<sub>c</sub>-Lp) derivan de una codigestión de residuos. Los digestatos **C**, **D** y **E** se generaron de monodigestión de FORSU de restaurante (FORSU<sub>r</sub>), FORSU de central de abastos (FORSU<sub>c</sub>) y FORSU de residuos del procesamiento de nopal (FORSU<sub>n</sub>), respectivamente. Los digestatos son resultado de la investigación del grupo de trabajo.

**Tabla 9.** Datos de condiciones de operación

Sustrato	Tipo de operación Biorreactor	Alimentación g SV/L · d	TRH d	Temperatura °C	pH	Productividad mL biogás g SV · d	% CH <sub>4</sub>	Digestato
FORSU <sub>r</sub> + Lp	SBR	5	20	37	7.2	263.8	38.6	A
FORSU <sub>m</sub> + Lp	SBR	1.2	20	37	7.1	454.1	48.6	B
FORSU <sub>r</sub>	SBR	5	10.4	37	7.4	486.8	67	C
FORSU <sub>m</sub>	SBR	10	10.4	37	7.1	289.3	43.5	D
Nopal	Lote	10	29	37	7	216.91	60	E

SBR: *Sequential Biological Reactor*.

## Caracterización fisicoquímica de digestatos

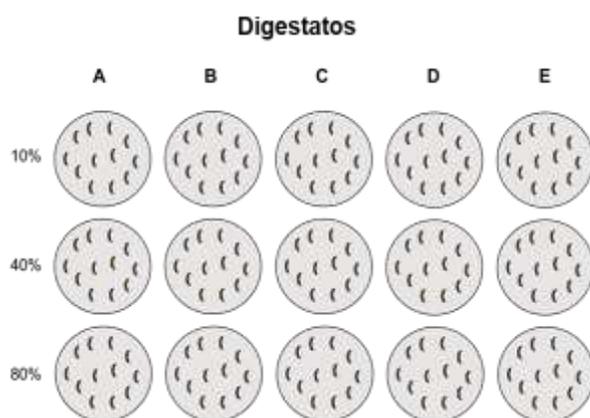
Las determinaciones se realizaron para la fracción soluble (**s**) de la muestra; filtrando con una abertura de poro de 1.6  $\mu\text{m}$ , y para la muestra completa o total (**t**). Se determinó pH; contenido de sólidos totales (ST); sólidos volátiles (SV); sólidos suspendidos totales (SST); sólidos suspendidos volátiles (SSV) y demanda química de oxígeno (DQO), utilizando los métodos APHA (2017). Se realizó la cuantificación colorimétrica de algunas biomoléculas como: carbohidratos por el método Dubois et al., (1951); proteínas por el método modificado de Lowry et al., (1951) y lípidos por el método reportado por Mishra et al., (2013) con fosfo-vainillina. Se determinó carbono orgánico total (COT) y carbono inorgánico (CI) con analizador Shimadzu de oxidación por combustión catalítica. Se cuantificó nitrógeno total Kjeldahl (NTK) (Kjeldahl, 1883) que comprende nitrógeno orgánico y nitrógeno amoniacal, con un equipo VELD científica. Se cuantificó nitrógeno amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ) mediante la reacción colorimétrica de Berthelot (1859) con formación de indofenol a partir de una solución alcalina de fenol-hipoclorito (Harwood & Huyser, 1970). Se detectó la presencia de compuestos iónicos como  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$ , con cromatografía iónica Dionex Aquion Thermo Fischer. Finalmente se determinaron los ácidos grasos volátiles (AGV) mediante un cromatógrafo de gases Agilent Technologies, con detector de ionización de flama.

## Bioensayo de fitotoxicidad

En el ensayo de toxicidad aguda se utilizaron semillas de lechuga *Lactuca sativa*, las condiciones del experimento se muestran en la Tabla 11. Se realizaron ensayos previos para determinar el rango de concentración en que se observan efectos fitotóxicos; utilizando tres concentraciones iniciales de digestato. Se elaboraron soluciones de 10%; 40% y 80% v/v con agua corriente como disolvente, para los cinco digestatos como se muestra en la Figura 10. Se determinó la longitud del brote y radícula únicamente para los grupos de 10% (Figura 11), no hubo germinación en concentraciones de 40 y 80%. Los resultados de este ensayo se analizaron con ANOVA y prueba de Dunnett.

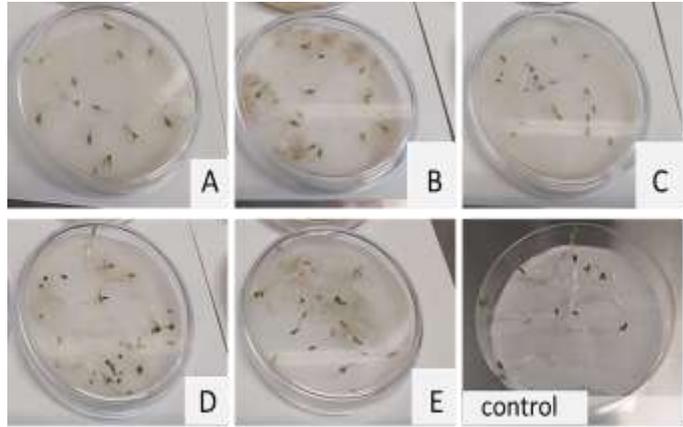
**Tabla 10.** Condiciones del experimento.

Parámetros del ensayo de toxicidad aguda	
Tipo de Ensayo	Estático
Tipo de cultivo	<i>Lactuca sativa</i> , var. capitata
Soporte	Papel filtro de celulosa
Temperatura	$25 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$
Material de caja petri	Polietileno
Semillas por replica	25
Réplicas	4
Duración de la prueba	144 h
Luz/oscuridad	11 h luz/ 13 h oscuridad
Vol. de solución prueba	5 mL
Solución control	Agua corriente



**Figura 8.** Diseño del ensayo exploratorio.

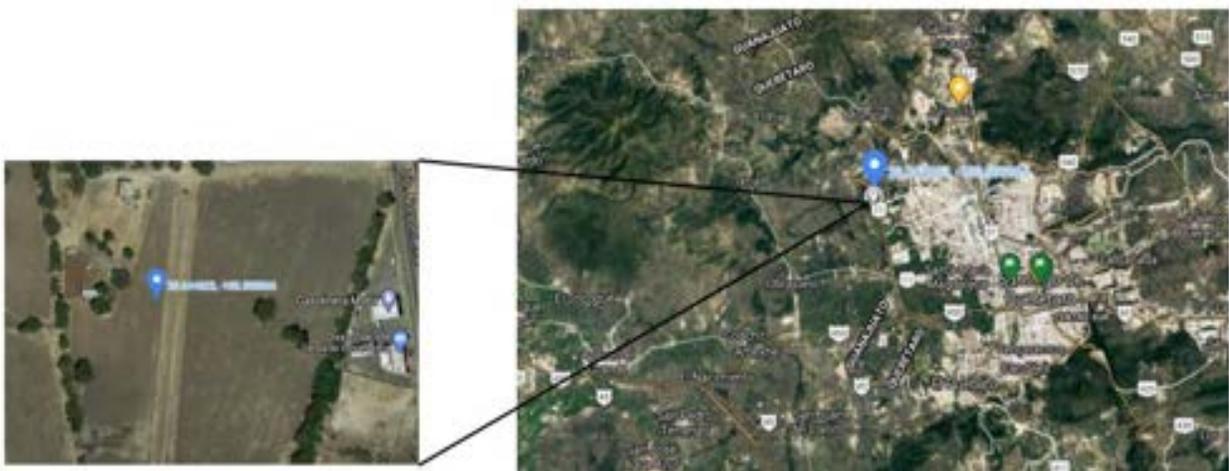
Al observar inhibición de la germinación en concentraciones de 40 y 80%. Se realizó un segundo ensayo estableciendo un rango de menor concentración: 0 a 18%, utilizando los parámetros del experimento descritos en la Tabla 11. Al finalizar se determinó la longitud de brote y radícula para obtener la tasa e índice de germinación de la radícula (Ecuación 2) según lo reportado por Priac et al., (2017).



**Figura 9.** Cajas con brotes de semillas germinadas.

### Descripción del sitio de muestreo

Para determinar la influencia de los digestatos en la estabilidad estructural del suelo, se incubaron muestras de suelo con diferentes dosis de digestatos. Las muestras de suelo se recolectaron en diciembre 2020, de un sitio ubicado en la zona limítrofe de la Ciudad de Querétaro ( $100^{\circ} 30' 11.05''$  W  $20^{\circ} 38' 40.34''$  N) con uso agrícola de cultivo temporal de maíz y pastoreo de ganado vacuno (Figura 12). La vegetación cercana es tipo selva baja espinosa o mezquital; altura de 1,826 m.s.n.m.; temperatura media anual de  $23 \pm 6$  °C; precipitación media anual 350-1200 mm; con 5-9 meses de sequía al año (INEGI, 2014). Para el análisis se recolectaron aproximadamente 15 kg de suelo superficial (0-10 cm).



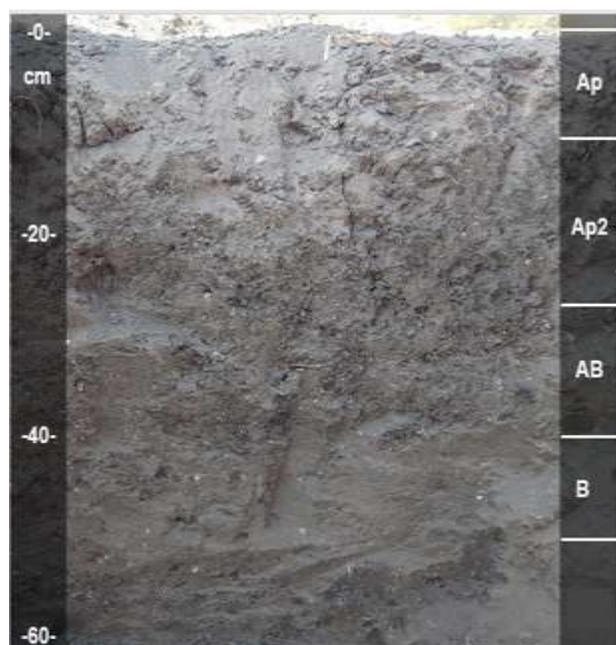
**Figura 10.** Ubicación del sitio

## Descripción del suelo

Se realizó un perfil de suelo hasta 60 cm de profundidad (Figura 13), en la base aluvial del piedemonte, sin pendiente. Posible desarrollo del suelo a partir de roca ígnea extrusiva, toba ácida del cenozoico. Sin evidencias de erosión, pedregosidad o sales en el sitio. El color del suelo pardo grisáceo oscuro en seco (10YR 4/2) y pardo grisáceo muy oscuro en húmedo (10YR 3/2) (MUNSELL, 2000).

En el perfil se observó una alta compactación y dureza en la estructura del suelo a partir de 50 cm, así como abundancia de carbonatos secundarios, que fueron determinados mediante la reacción de efervescencia con una solución de HCl 10%. Los carbonatos secundarios provienen de una movilización con acumulación en puntos diferentes del perfil, no heredados directamente del material original del suelo. Se evaluó el contenido de materia orgánica con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3.5%.

El suelo superficial se caracteriza por su textura franco arcillo limosa (contenido de arcillas 30-40%, limos 50-70% y arenas 0-20%), como se describe en la Tabla 12. El suelo es un Kastañozem (FAO soil grup) con características vérticas, es un suelo rico en materia orgánica humificada, proveniente de restos de vegetación herbácea, lo que produce el color café en la capa superficial. Tienen altos niveles de iones de Ca<sup>+</sup> disponibles enlazados con las partículas del suelo y mediante la percolación de agua se acumulan carbonato de calcio y yeso.



**Tabla 11.** Descripción del perfil de suelo.

Horizonte	Longitud cm	Descripción
Ap	0-10	Textura franco-arcillo-limosa (CRL) con un contenido 0.5-2% CaCO <sub>3</sub> . Fuerte reacción al peróxido indicativo de presencia de materia orgánica. Agregados en forma de bloques subangulares de tamaño medio y fino, resistentes al rompimiento con la mano. pH 8.3. Límite inferior plano difuso.
Ap2	10-26	Textura franca (C) con contenido muy bajo 0-0.5% CaCO <sub>3</sub> . Reacción media al peróxido. Agregados en forma de bloques subangulares de tamaño medio y grande. pH 8.6. Límite inferior plano difuso.
AB	26-40	Textura Arcillo-limosa (RL) con contenido medio 2-10% CaCO <sub>3</sub> . Baja reacción al peróxido. Bloques angulares ligeramente laminares. pH 8.6. Límite claro ondulado.
B	40-50	Arcillosa (R) muy alto contenido de CaCO <sub>3</sub> 25-50%. Se encuentran agregados granulares y dentro semi-hifas de carbonatos secundarios. pH 8.8. Reacción media al peróxido.

**Figura 11.** Perfil de suelo.

## Incubación

Se hizo un pretratamiento a las muestras de suelo para eliminar los agregados mayores a 2 mm. El suelo se secó durante 24 h a temperatura ambiente (Figura 14). Posteriormente, se extrajeron manualmente residuos de raíces de plantas de mayor tamaño e insectos; se tamizó con una malla de 2 mm. Se emplearon aproximadamente 19.2 kg de suelo para el experimento.



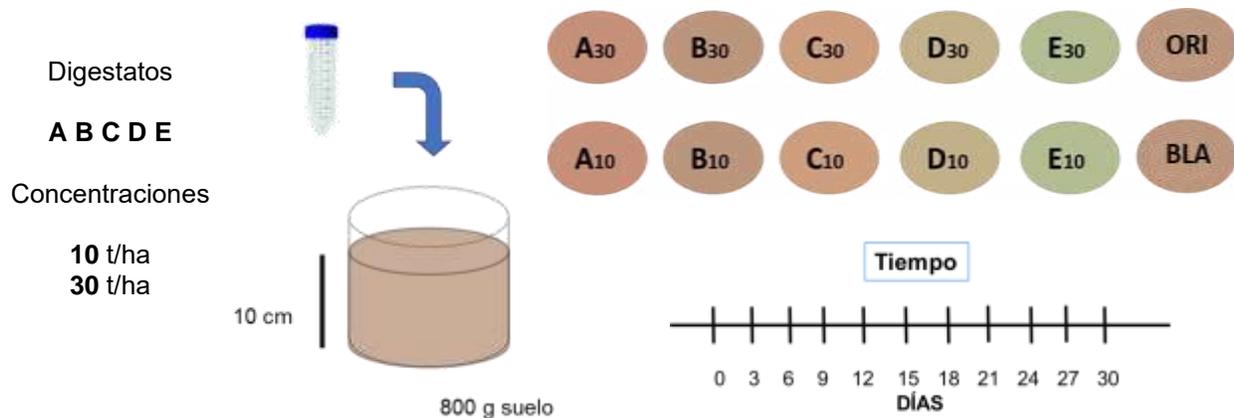
**Figura 12.** Pretratamiento de las muestras de suelo.

Para la incubación se utilizaron recipientes de polietileno de 1 L con forma cilíndrica y área superficial de 86.6 cm<sup>2</sup>. Se añadieron 800 g de suelo, hasta una altura de 10 cm, como se muestra en la Figura 15. Se estableció evaluar los cinco digestatos utilizando dos dosis: 10 t/ha y 30 t/ha. La concentración de digestato se calculó a partir del área superficial de los recipientes (86.6 cm<sup>2</sup>) en unidades de hectáreas (8.6 x10<sup>-7</sup> ha), siguiendo el siguiente procedimiento; se obtuvo el peso de digestato para preparar las soluciones.

$$\begin{aligned} & 10 \frac{t}{ha} \\ 1 ha &= 10 t \\ 8.6 \times 10^{-7} ha &= x t \\ x &= 8.6 \times 10^{-6} t = 8.6 \times 10^{-3} kg = 8.659 g \end{aligned}$$

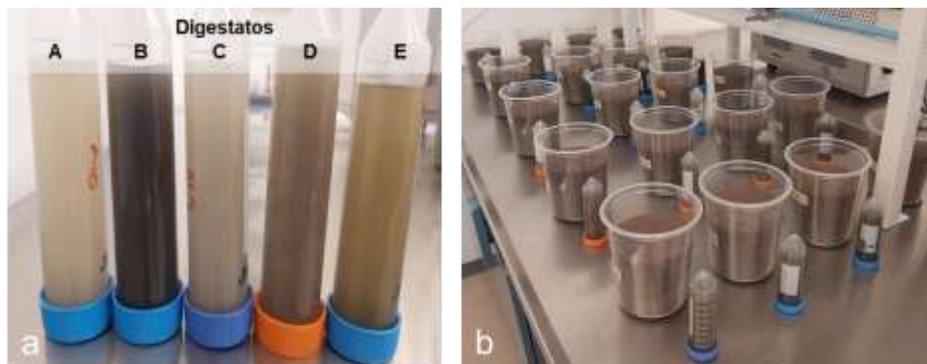
$$\begin{aligned} & 30 \frac{t}{ha} \\ 1 ha &= 30 t \\ 8.6 \times 10^{-7} ha &= x t \\ x &= 2.5 \times 10^{-5} t = 2.5 \times 10^{-2} kg = 25.977 g \end{aligned}$$

En cada recipiente con suelo se añadió una solución, elaborada a partir de los pesos obtenidos en los cálculos anteriores. Se utilizaron 8.65 g de digestato para las dosis de 10 t/ha y 25.97 g para 30 t/ha, se aforó a un volumen final de 50 mL con agua corriente. Por lo anterior, se obtuvo una dilución 1:6 y 1:2 para la concentración 10 t/ha y 30 t/ha, respectivamente. Se empleó un grupo control al que se añadió 50 mL de agua (BLA) y un segundo grupo control sin ninguna adición (ORI), se efectuaron dos réplicas (n=2). Las soluciones se añadieron en la parte superficial del suelo. Posteriormente, los recipientes se ubicaron en incubadora; a temperatura constante de 25 °C, durante los 30 días de evaluación (Figura 16).



**Figura 13.** Incubación de suelo con digestatos.

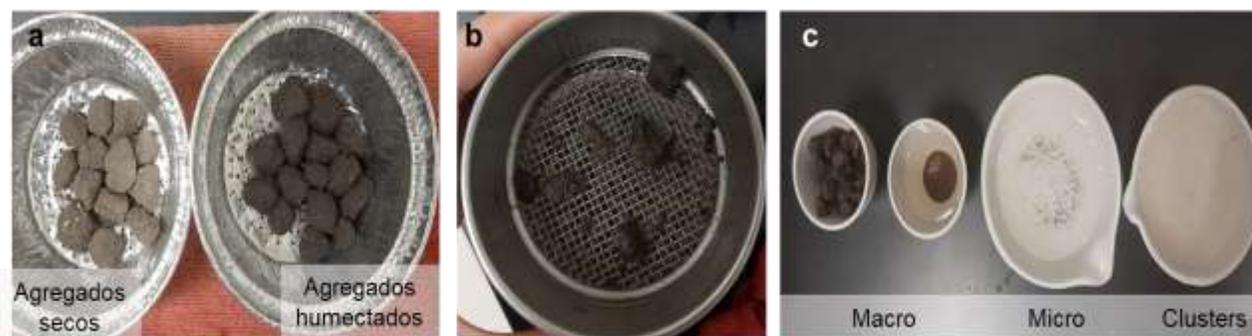
Al finalizar el periodo de incubación, se tomaron muestras de la superficie del recipiente (primeros 2 o 3 cm). Se logró observar la agregación del suelo en forma de bloques subangulares. Las muestras de agregados se mantuvieron a -20 °C hasta su análisis. Posteriormente se determinó la proporción de tamaño de agregados, contenido de COT, NOT y sustancias húmicas.



**Figura 14.** Incubación de suelo

### Proporción de agregados

Al finalizar la incubación, se evaluó la estabilidad de agregados con el método descrito por Kemper & Rosenau (1986) modificado por Six et al., (2000). Se tomaron 10 g de agregados con tamaño aproximado de 8 mm y se humectaron a 1.5 veces la capacidad de campo (Figura 17 a). Se realizó un tamizado húmedo utilizando tres tamaños de poro: 2 mm; 0.25 mm y 53 µm. Mediante un oscilador mecánico, se sumergieron los agregados en agua destilada en periodos de 37 veces por minuto durante 2 minutos. La proporción de agregados que permaneció en los tamices (Figura 17 b) se reubicó en cápsulas de porcelana; para un secado a 50° C durante 48 h (Figura 17 c), hasta eliminar toda humedad. Con este procedimiento se obtuvo el fraccionamiento de la masa de agregados por tamaño: macroagregados (8 mm - 250 µm), microagregados (250 µm - 53 µm) y clusters (< 53 µm).



**Figura 15.** Agregados de 8 mm (a). Fraccionamiento de agregados por tamices (b). Fracciones resultantes (c).

## Determinación de NOT, COT y SH

Al finalizar la incubación de suelo, se tomó aleatoriamente una muestra de agregados de las réplicas. A los agregados se les determinó el contenido de nitrógeno total, por el método Kjeldahl para muestras de suelo reportado por Bremner (1960). También se determinó el contenido de carbono orgánico total en un analizador Shimadzu por combustión catalítica para muestras sólidas.

Se realizó una extracción de sustancias húmicas según el método de la Sociedad Internacional de las Sustancias Húmicas (IHSS) reportado por Swift (1996). Después de la incubación se pesaron 4 g de suelo y se añadieron 40 mL de HCl 0.1 M hasta obtener un pH 2 (relación 4:40) utilizando también HCl 1 M. La muestra se agitó 1 h; se centrifugó a 5000 rpm. En el sobrenadante se determinaron ácidos fúlvicos (AF) solubles en HCl. El residuo sedimentado se neutralizó con 40 mL de NaOH 1 M y 0.1 M, en este paso se gasificaron los recipientes sellados con N<sub>2</sub>, se mantuvo en agitación toda la noche. Posteriormente se centrifugó a 5000 rpm, en la pastilla sedimentada se determinaron las huminas. El sobrenadante se decantó y acidificó con HCl 6 M hasta pH 1, se mantuvo en reposo 16 h. Posteriormente se centrifugó a 6,000 rpm para precipitar los ácidos húmicos (AH) y en el sobrenadante los AF. Los AH se suspendieron con KOH 0.1 M y KCl 0.3 M. Finalmente se centrifugaron a 12,000 rpm para separar arcillas en el sedimento. Se cuantificó el contenido de COT en las todas las fracciones resultantes.

## RESULTADOS

### Caracterización de Digestatos

Los digestatos eran líquidos de consistencia espesa; viscosos debido a la abundancia de materia sólida; como restos de material orgánico que no se desintegró; gránulos anaerobios y biomasa libre. El mayor contenido de ST fue de casi 8% (75 g/L) en el digestato C (Tabla 13), mientras que el menor fue cercano a 2% (19 g/L) en el digestato E. En SV el mayor contenido fue de 5% (47 g/L) y menor fue de casi 1% (9 g/L) en el digestato E. Los valores de DQO total en el digestato C fueron 72 g/L; en la fracción soluble 49 g/L, fueron los más altos encontrados; al igual que en la determinación de carbohidratos, lípidos y proteínas. En proteínas podemos observar que el digestato C; contenía casi tres veces mayor concentración que el resto de los digestatos. Se obtuvo bajo contenido de lípidos en todos los digestatos; entre 3-0.7 mg/L. El pH fue similar en todos los digestatos; neutro a básico. Los resultados de la determinación de NTK fue: A 4.2 g/L; B 4.1 g/L; C 8.4 g/L; D 4.6 g/L; E 5.7 g/L.

Tabla 12. Caracterización.

Determinación g/L	Digestatos				
	A	B	C	D	E
ST	52.6 ±0.6	52.2 ±0.5	75.8 ±2.8	49.4 ±2.6	19.8 ±0.4
SV	24.1 ±0.3	21.87 ±0.1	47.6 ±1.8	20.9 ±2.2	9.3 ±0.04
SST	12.2 ±1.9	34.9 ±1.4	32.9 ±2.8	17 ±0.6	14.8 ±1.6
SSV	9.7 ±2.1	23.7 ±3.5	28.8 ±2	13 ±0.7	10.3 ±1.3
DQO <sub>t</sub>	39.2	29.5	72.5	29.1	21.4
DQO <sub>s</sub>	24.1	18	49.4	9.9	21.4
Carbohidratost	0.9 ± 0.01	3.1 ± 0.03	3.3 ±0.03	1.6 ±0.07	1.07 ± 0.1
Carbohidratoss	0.3 ±0.01	0.5 ±0.02	0.7 ±0.01	0.4 ±0.02	0.5 ± 0.1
Proteínast	5.4 ± 0.02	4.9 ± 0.05	12.3 ± 0.5	7 ±0.1	5.6 ±0.3
Proteínas	2 ± 0.01	1 ±0.01	3.9 ±0.2	2.2 ±0.01	1.8 ±0.2
Lípidost mg/L	1.9	1.9	3.2	2.2	0.7
pH	8.3	8.8	7.5	8	8
COT masa seca %	33.23	27.21	56.11	30.65	20.62
CI masa seca %	3.11	1.89	0.25	8.07	8.32
COT <sub>s</sub>	11.36	1.47	16.78	7.13	3.63
CI <sub>s</sub>	2.21	5.4	2.01	2.4	3.4
NOT	3.13	3.88	6.89	4.28	4.73
N-NH <sub>3</sub>	1.07	0.46	1.51	0.33	0.57
Cl- mg/L	1522.2	112.2	2013.0	1276.2	1990.4
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> mg/L	282.8	20.2	390.4	-	648.4
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/L	-	49.24	-	-	-
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> mg/L	627.8	142.9	594.9	368.0	661.4
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> mg/L	-	30.2	-	-	-

Concentración en g/L; excepto cuando se indique % o mg/L. Subíndice t: fracción total del digestato. Subíndice s: fracción soluble (<1.6 µm). Sólidos totales (ST). Sólidos volátiles (SV). Sólidos suspendidos totales (SST). Sólidos suspendidos volátiles (SSV). Demanda química de oxígeno (DQO). Carbono orgánico total (COT). Nitrógeno total de Kjeldahl (NTK). ± DE n=3.

El COT en masa seca de los digestatos fue elevado, hasta 56% en el digestato C; y 20% en el digestato E. Por otro lado, el CI fue menor llegando hasta 8.3% en el digestato E. Se obtuvo 1.6% de COT en la fracción soluble del digestato C. El mayor contenido de NOT en los digestatos fue 6.8 g/L en el digestato C; al igual que el N-NH<sub>3</sub> hasta 1.5 g/L. La concentración de los compuestos iónicos fue variable; destacando la presencia de nitrato en el digestato B (49 mg/L), y concentraciones de nitrito de hasta 648 mg/L en el digestato E. Se obtuvo una concentración similar de ortofosfato en los digestatos A, C y E: 627 mg/L; 594 mg/L; 661 mg/L. La presencia de sulfato solo se observó en el digestato B (30 mg/L).

Se hizo una caracterización de ácidos grasos volátiles (Figura 18). Se puede observar una mayor concentración de acetato, butirato y propionato. La mayor concentración de acetato se determinó en los digestatos A y C con 1 g/L; y para butirato se determinó la mayor concentración en el digestato C con 1 g/L. Podemos ver más diversidad de AGV presentes en los digestatos B, D y E; mientras que los digestatos A y C, tienen mayor concentración total de AGV.

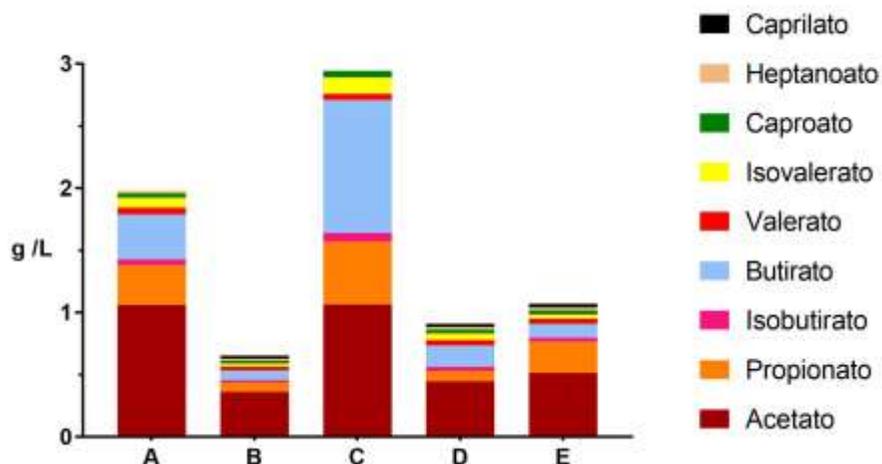
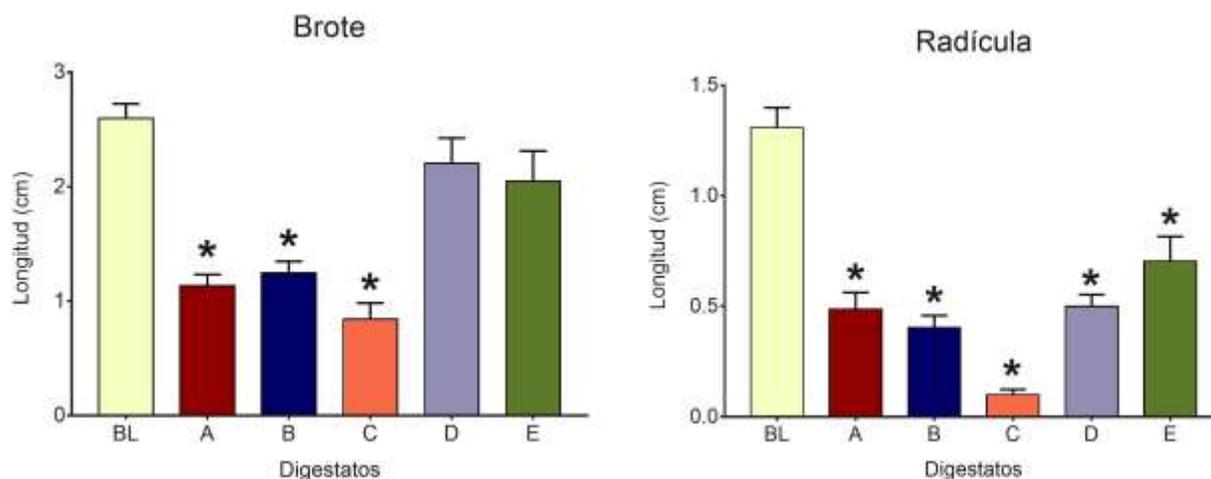


Figura 16. Concentración de AGV de los digestatos.

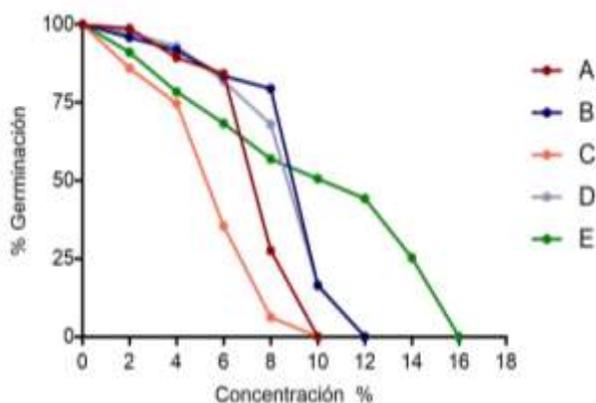
## Bioensayo de Fitotoxicidad

En el ensayo preliminar con semillas de lechuga se observó inhibición de la germinación en concentraciones de 40% y 80%. Por lo anterior, se determinó la longitud del brote y radícula únicamente para el tratamiento con 10% de digestato (Figura 19). Los resultados se analizaron mediante un ANOVA y prueba de Dunnet. Se observó disminución de la longitud del brote en los tratamientos con los digestatos A, B y C. Por otro lado, la longitud de la radícula fue más sensible a los componentes del digestatos, ya que se vio afectada en todos los tratamientos.



**Figura 17.** Comparación del desarrollo del brote y radícula respecto al control (BL). Anova y prueba Dunnett (n=24.  $p=0.0001$ ) \* Indica diferencias significativas.

En el segundo ensayo se evaluaron concentraciones de 2 a 18% de digestato. Se determinó la tasa de germinación para cada concentración con todos los tratamientos (Figura 20), al igual que el índice de germinación para la radícula (Tabla 14). El índice de germinación para el grupo control fue 95%. Se puede observar un incremento en la inhibición en todos los digestatos a partir de una concentración de 6%. La inhibición total de la germinación se alcanzó en diferentes puntos del gradiente de concentración para los digestatos A y C en 10%, B y D en 12% y E en 16%. Se observó que el proceso de elongación radicular se afecta, manifestado en la disminución de la longitud de la radícula en los grupos, con respecto al control. Se obtuvieron bajos índices de germinación a partir de una concentración de 6% de digestato en todos los grupos, excepto en el grupo C, donde se observó inhibición de la elongación radicular a partir de 2%.



**Figura 18.** Tasa de germinación.

**Tabla 13.** Índice de germinación para la radícula.

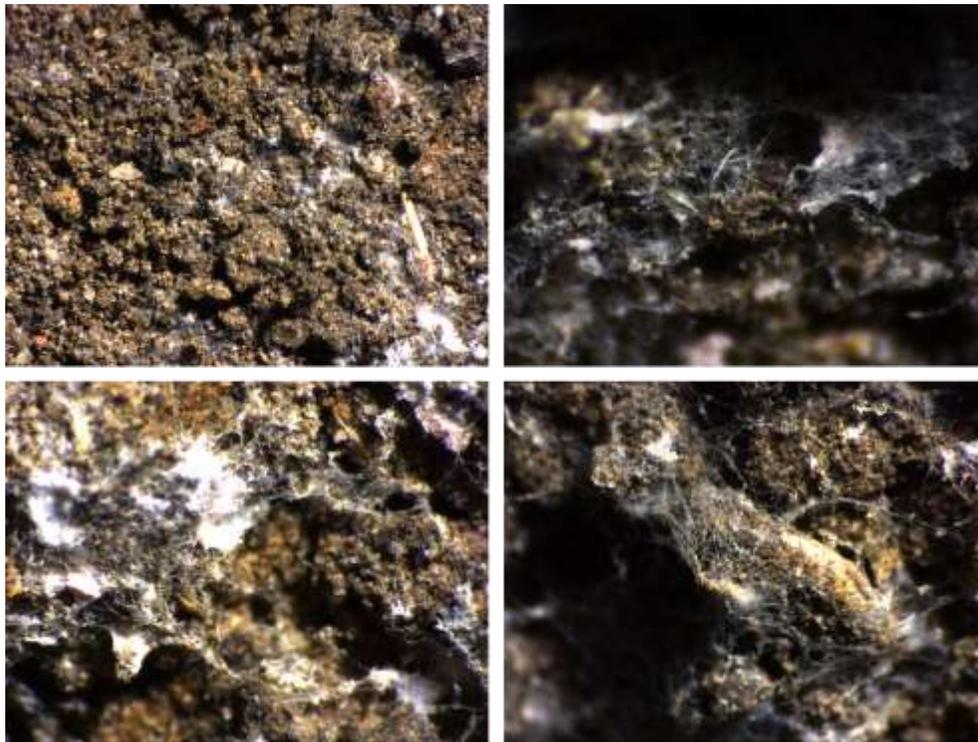
Concentración %	IG				
	A	B	C	D	E
2	0.99	0.97	0.30	0.74	0.88
4	0.80	0.78	0.15	0.73	0.86
6	0.53	0.55	0.08	0.40	0.30
8	0.07	0.30	0.04	0.28	0.23
10	0	0.01	0	0.12	0.18
12		0		0	0.17
14					0.15
16					0

## Proporción de Agregados

Al finalizar la incubación, se tomaron muestras de la parte superficial de los recipientes y se logró observar agregación en la zona donde hubo adición de la solución de digestato; es decir 0-3 centímetros. En la Figura 21 se muestra la estructura agregada en bloques subangulares que se formó en todos los tratamientos. Hubo desarrollo de micelio en los grupos A<sub>30</sub>, C<sub>10</sub> y C<sub>30</sub>. En la Figura 22 se observan imágenes de los agregados con estereoscopio, donde se pueden distinguir restos vegetales, raíces, micelios, material inorgánico y otras partículas estrechamente unidas.



**Figura 19.** Estructura agregada.



**Figura 20.** Agregados 30x.

A partir del fraccionamiento de los agregados obtenidos en la incubación, se determinó la distribución del peso medio (Figura 23). La comparación fue con respecto a los grupos control; agregados con condiciones de campo (Ori) y agregados con adición de agua (BLA). La distribución del peso medio es la fracción de masa que corresponde a la clasificación por tamaño de los agregados. Se observó variación principalmente en las fracciones 8 mm - 2 mm y < 53  $\mu$ m, que corresponde a los macroagregados y núcleos o clusters.

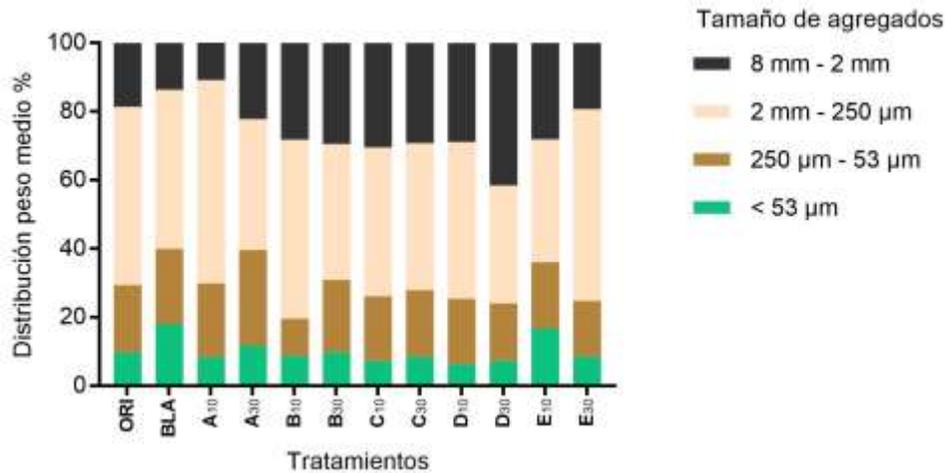


Figura 21. Distribución por tamaño de agregado.

A continuación, se muestra la proporción de agregados con ambas dosis de digestato (Figura 24). Podemos observar que los grupos controles; ORI y BLA muestran una proporción de agregados similar. En el fraccionamiento de agregados, la concentración 10 t/ha (Figura 24, izquierda); aumentó ligeramente el contenido de agregados de tamaño 8 - 2 mm para los tratamientos C y B. El tratamiento A, aumentó los agregados 2 mm - 250 µm, y E incrementó poco la cantidad de clusters. Por otro lado, en la concentración 30 t/ha (Figura 24, derecha); podemos observar que todos los tratamientos favorecieron la formación de agregados de tamaño 8-2 mm excepto E, y desfavoreció la formación de agregados de 2 mm - 250 µm. No hubo cambios respecto al sitio de origen para las fracciones siguientes.

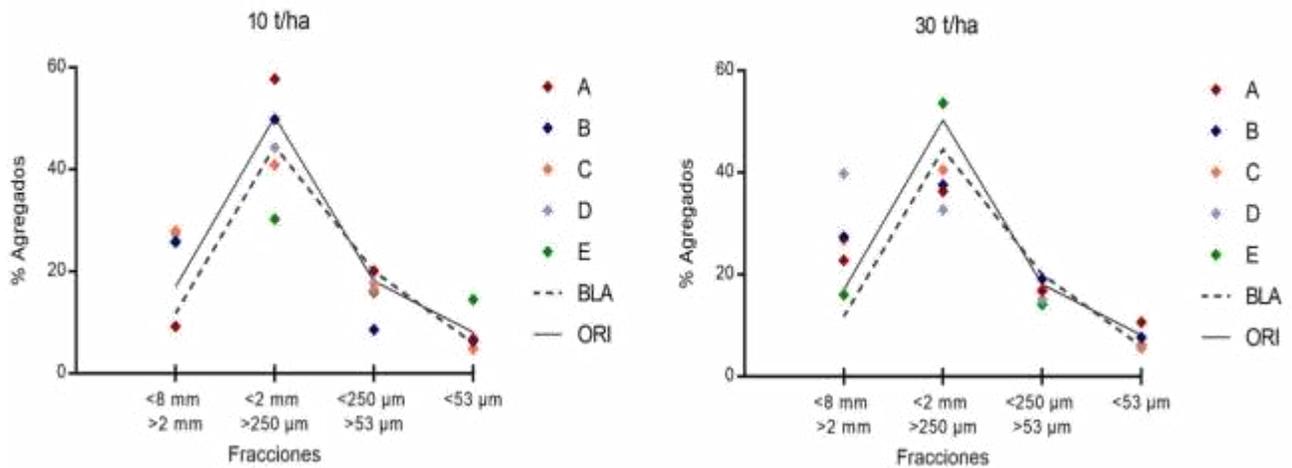


Figura 22. Proporción de agregados.

Se determinó el contenido de COT, NT (nitrógeno total de Kjeldahl) y SH. A la izquierda en la Figura 25, se muestra en azul el % COT determinado en las muestras de agregados luego de la incubación y en naranja el % COT que corresponde a la extracción de sustancias húmicas (SH). Se puede observar un aumento en % COT para los tratamientos A<sub>10</sub> y E<sub>10</sub>; con respecto a los grupos control. A la derecha (Figura 25), se compara entre el % COT y % NT de los agregados y se observa un mayor contenido de NT en todos los tratamientos, respecto al control.

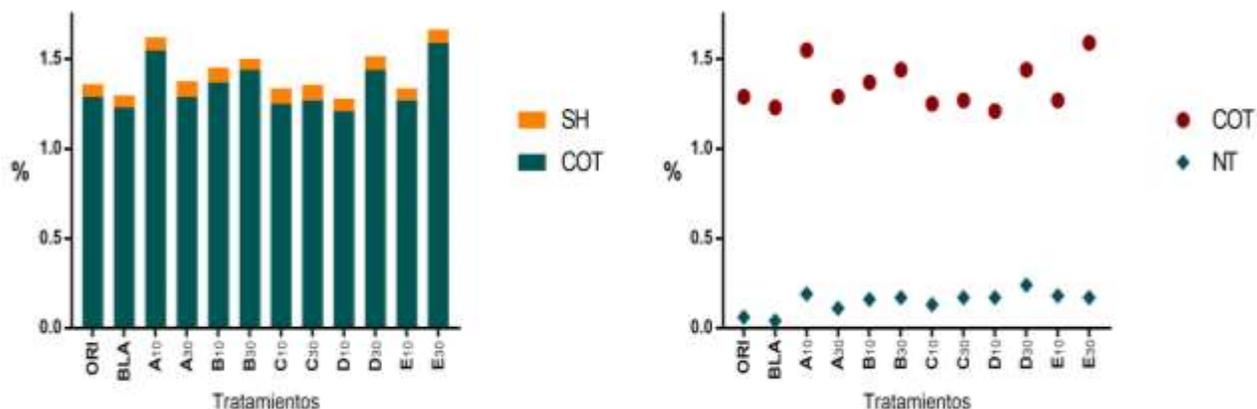


Figura 23. Contenido de carbono orgánico (izquierda); COT y NOT (derecha).

Se determinaron SH, en las fracciones que las conforman ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF) y huminas (HUM) (Figura 26). Se observa un aumento en el % AH en 10 t/ha para los tratamientos B y C; las HUM estuvieron en poca concentración, su contenido no fue variante entre tratamientos. La concentración de 30 t/ha aumentó los AH en el tratamiento A.

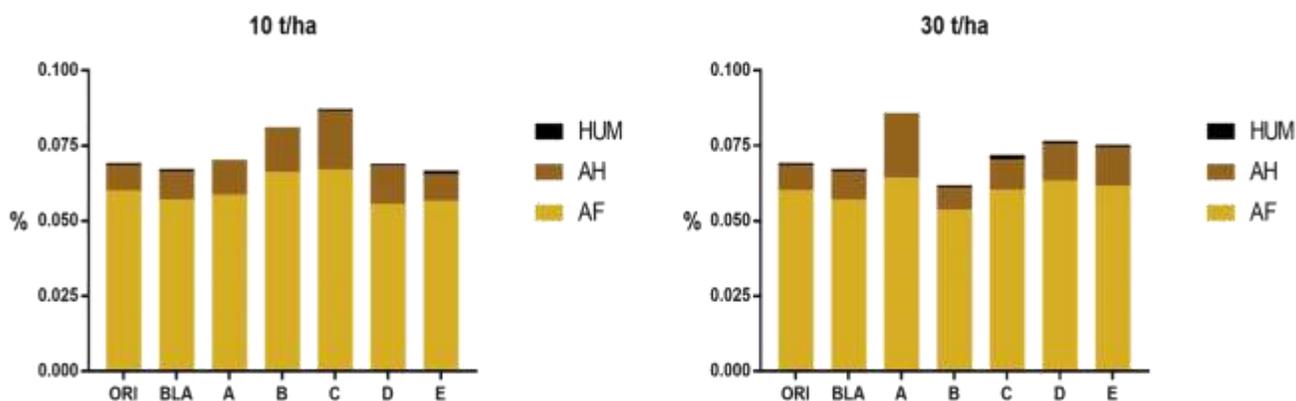


Figura 24. Fraccionamiento de sustancias húmicas.

## DISCUSIONES

Se observó variación en el contenido de sólidos, que puede darse en función del sustrato y tipo de proceso de DA; sin embargo, generalmente los digestatos provenientes de una digestión húmeda son líquidos con contenido de sólidos menor a 10% (ST). Estos sólidos representan los residuos orgánicos que no fueron degradados en su totalidad, además de la biomasa generada en el proceso. En reactores de operación discontinua; se ha observado que la producción de metano disminuye levemente; cuando el contenido de ST se encuentra entre 10 - 25%; y puede inhibirse totalmente con 35 % de ST (Abbassi-Guendouz et al., 2012).

En el presente trabajo la concentración de ST de los digestatos fue 2 - 7%; es una concentración baja para que estos digestatos, sean considerados sustratos orgánicos (contenido mayor a 30% ST), por lo tanto, pueden ser aplicados por aspersión en la superficie o en el subsuelo. El tipo de proceso húmedo o seco dependerá del residuo; para materia orgánica celulósica se recomienda el estado sólido; donde el incremento de ST también incrementa la tasa de producción volumétrica de metano, hasta un punto crítico debido a limitación de la difusión de masa (Xu et al., 2014). Es importante considerar el contenido de sólidos en los digestatos, porque ello determina la forma de aplicación y dosis.

En  $DQO_t$  se encontró 72.5 g/L y 49.4 g/L  $DQO_s$ , como valores más altos (digestato C) y los más bajos fueron para los digestatos E (21.4 g/L  $DQO_t$ ) y D (9.9 g/L  $DQO_s$ ). Diversos autores han reportado valores similares, como Ülgüdür et al., (2019) obtuvieron: 88.4 g/L ST, 34.6 g/L SV, 76 g/L  $DQO_t$ , 33 g/L  $DQO_s$ , en digestatos a partir de estiércol de gallina a pH 7.8-8. También Rico et al., (2011), reportaron 62.7 g/L ST, 44.9 g/L SV, 51.6 g/L  $DQO_t$ , en digestatos a partir de estiércol de vaca con pH 6.6-6.9. Por otro lado, el contenido de carbohidratos<sub>t</sub> (3.3 g/L), proteínas<sub>t</sub> (12.3 g/L) y lípidos<sub>t</sub> (3.2 mg/L) fue mayor para C, aunque estos valores se reportan poco, Wei et al., (2018) reportaron 23 % de proteína en digestato a partir de sargazo. Los valores de pH fueron entre 7.5 - 8.8, comúnmente neutro-alcalinos debido al consumo de los ácidos producidos (metanogénesis) y la producción de  $NH_4$  en el proceso de DA (Greenberg et al., 2019).

Se ha observado que el consumo de proteínas en la DA; incrementa exponencialmente junto con la eficiencia de reducción de lípidos (Li et al., 2018). Un alto contenido de proteínas y lípidos, es habitual en residuos de comida, por la presencia de carnes de diferentes tipos. En el digestato C se obtuvo hasta 12 g/L de proteína<sub>t</sub>. El contenido de lípidos fue menor al reportado en restos de comida, 3.2 mg/L lípidos<sub>t</sub> para el digestato C. Las proteínas en el suelo son fuente de nitrógeno orgánico para la actividad biológica, pueden tener un alto peso molecular y requerir una despolimerización, para que sus componentes (monómeros, residuos de aminoácidos) sean liberados y transportados al interior de la membrana celular, donde se dirigen hacia diferentes rutas metabólicas, para poder asimilar el nitrógeno contenido en los grupos amino (Wett & Insam, 2010).

Una gran cantidad de digestatos se caracterizan por tener valores de pH mayores a 7.5. El pH de los digestatos anaerobios es comúnmente alcalino, debido a la naturaleza del proceso de DA; cuando avanzan las etapas y se produce la degradación de AGV y la producción de  $\text{NH}_4$ , que contribuye al aumento de pH (Greenberg et al., 2019). En un proceso de digestión con alto rendimiento de metano, los SV son mayormente degradados; debido a que, la producción de metano (mL/g SV) incrementa con la remoción de SV, de forma exponencial (Li et al., 2018). El contenido de SV en los digestatos no fue elevado, apenas 4% (47 g/L SV digestato C), lo que es indicativo de una buena remoción de este sustrato para la síntesis de metano.

En la medición de nutrientes como carbono y nitrógeno; se determinó en los digestatos un contenido en masa seca de 56% COT y 16.7 g/L  $\text{COT}_s$ , en el digestato C. El digestato E presentó 8.3% CI y B 5.4 g/L  $\text{CIs}$ . Se han reportado valores mayores de hasta 358 g/kg COT (Tambone et al., 2019) y 37%  $\text{COT}_t$  (Wei et al., 2018), en digestato a partir de codigestión de estiércol de cerdo y vaca, con cultivos energéticos. Por otro lado, se obtuvo 0.4 %  $\text{NOT}_t$  (4.2 g/L) y 1.51 g/L  $\text{N-NH}_3$ . Se han reportado valores mayores de  $\text{NOT}_t$ : 7 g/L (Ülgüdür et al., 2019), 5-9 g/L (Akyol et al., 2019) y 4 g/L (Rico et al., 2011). El fosfato se encontró en mayor concentración (0.62 g/L) en A, comparando con algunos reportados como: 8 g/L (Ülgüdür et al., 2019) y 1 g/L (Tambone et al., 2019). Verdi et al., (2019) reportó concentraciones de nitrato de 0.018 g/kg, en el digestato B se encontró 0.0049 g/L.

La presencia de  $\text{NO}_3^-$ , proviene de la oxidación del  $\text{NH}_4^+$  por bacterias nitrificantes quimiótrofas, que buscan obtener energía a partir de formas reducidas; sin embargo, no hay utilización del N ya que no se busca la asimilación. El  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$  son indicativos de procesos de oxidación en la mezcla del digestato; luego de concluir el proceso de DA. La nitrificación ocurre cuando hay ausencia de carbono orgánico para los organismos heterótrofos, que tienen mayor capacidad de competencia por los monómeros de C. Para una célula es más sencillo tomar  $\text{NH}_4^+$  por diferencia de cargas, a tomar  $\text{NO}_3^-$ ; este último lo tiene que reducir (invertir energía) para transformarlo y poder utilizarlo en la síntesis de proteínas. Sin embargo, la nitrificación favorece la acidez de los suelos. La adición de materia orgánica favorece procesos de amonificación; mineralización de formas orgánicas de N. El  $\text{NH}_4^+$  es más fácil de asimilar por las plantas ya que puede utilizarse directamente en la síntesis de aminoácidos para proteínas (Sheng et al., 2013).

La concentración más alta de ortofosfato que se encontró fue 627 mg/L en el digestato A. Generalmente, se reporta fósforo en un rango de 0.08 – 0.1 % en digestatos líquidos. El fósforo es un nutriente esencial para la síntesis de ácidos nucleicos, fosfolípidos, y ATP; en cultivos, se añade en la etapa de floración y crecimiento del fruto. Los fertilizantes sintéticos con P, se obtienen a partir de la explotación de roca fosfórica; generando consecuencias ambientales asociadas a su extracción, transformación y beneficio (Ülgüdür et al., 2019). Por ello es necesario el uso de biofertilizantes alternativos a los tradicionales.

En la Figura 20 se muestra el declive en la tasa de germinación; en concentraciones de 4% de digestato, el porcentaje de inhibición es 25%. El digestato C puede llegar a inhibir casi 75% la germinación con apenas 6 %; mientras el digestato A, lo logra con 8% de concentración. El efecto tóxico de los digestatos B y D es bastante similar, a pesar de que el digestato B presenta lodos de purga; la presencia de estos lodos no parece aumentar o disminuir la toxicidad en estos tratamientos. La inhibición parcial del digestato E; fue la más gradual a lo largo del gradiente de concentración. Por otro lado, la inhibición total de la germinación se alcanzó a diferentes concentraciones para cada digestato; A y C 10 %, B y D 12 % y E 16 %. Tomando en cuenta lo anterior, las dosis consideradas seguras o recomendadas; a partir de este ensayo son: A < 6 %, B < 8 %, C < 4 %, D < 6 % y E < 4 %.

En la Tabla 14 se puede observar que; el valor del índice de germinación de los tratamientos, es inversamente proporcional al nivel de toxicidad de los digestatos; si más bajo es el IG, mayor toxicidad tiene el compuesto analizado. Lo anterior, se sabe con precisión debido a la inhibición parcial o total del crecimiento de las raíces de las semillas. Para el caso del digestato C, la elongación radicular se afecta a pequeñas concentraciones, aunque no se inhibe por completo la germinación; de los digestatos evaluados, fue el de mayor contenido de compuestos orgánicos.

Diversos estudios han demostrado que altas concentraciones de sales, ácidos orgánicos, metales o  $\text{NH}_4^+$  son sustancias biotóxicas que afectan el IG. Además, existen en los digestatos compuestos volátiles, patógenos u otras sustancias no identificadas; que pueden ser fitotóxicas a altas concentraciones y causar una inhibición total de la germinación (Machado Mendes et al., 2021; Wang et al., 2022). A pesar de que, la aplicación de digestatos puede inhibir la germinación, la resistencia de una planta adulta será diferente; la adición de digestatos a cultivos en etapas de crecimiento sigue siendo una alternativa para el uso de fertilizantes sintéticos.

A la izquierda de la Figura 24; se pueden observar los tratamientos de 10 t/ha; en donde hubo un aumento en agregados de tamaño 8 - 2 mm para los tratamientos B y C. El tratamiento A, aumentó los agregados de 2 mm - 250  $\mu\text{m}$ , y el digestato E incrementó poco la cantidad de clusters. Por otro lado, en la concentración 30 T/h (Figura 24, derecha), podemos observar que todos los tratamientos favorecieron la formación de agregados de tamaño 8-2 mm, excepto E, y desfavoreció la formación de agregados de 2 mm - 250  $\mu\text{m}$ .

Como menciona la teoría jerárquica de los agregados; los macroagregados contienen materia orgánica lábil, mientras que los microagregados no se ven afectados, debido a la naturaleza estable de la materia orgánica. Los macroagregados se componen de otros microagregados; por agentes cementantes o sustancias poliméricas, secretadas por las raíces de las plantas o bacterias. Estos agentes pueden proporcionarse en formas poliméricas, dentro de la diversidad de compuestos orgánicos encontrados en la caracterización de los digestatos (Six et al., 2000; Weil & Brady, 2002).

La formación de microagregados y núcleos, no se vio favorecida en ningún tratamiento; estos están compuestos principalmente por arenas finas, arcillas y componentes inorgánicos del suelo, que son sorbidos a la materia orgánica particulada con otros coloides orgánicos y compuestos de origen microbiano (Olivo, 2005; Weil & Brady, 2002).

El contenido de COT se vio favorecido, debido a la adición de los digestatos (Figura 25, derecha), sobre todo para los tratamientos A<sub>10</sub> y E<sub>30</sub>. En esta misma figura podemos ver que el contenido de sustancias húmicas se mantuvo constante en todos los tratamientos; no hubo variación con respecto al control. Sin embargo, la adición de digestatos aumentó el contenido de NOT en todos los tratamientos, siendo los controles los de menor porcentaje.

La presencia de COT y NOT, tiene gran relevancia en los procesos ecosistémicos que tienen lugar en la matriz del suelo, como los ciclos de nutrientes. Recientemente, se ha visto la estrecha relación entre estos dos nutrientes; la disponibilidad de uno influye en la toma del otro. La falta de alguno de éstos, compromete las funciones del suelo. Por ejemplo; cuando hay poco carbono en el suelo, los organismos elevan la respiración (favoreciendo la pérdida de carbono) y se genera menos biomasa, ya que los recursos son dirigidos; hacia procesos para mantener las funciones vitales, como producción de enzimas asociadas a la inversión de energía y biomasa. Cuando hay uso eficiente de carbono, hay mayor síntesis de biomasa; favoreciendo el almacén de sustancias orgánicas que mejoran las condiciones del suelo; y lo protegen ante situaciones de estrés o escasez de recursos (Wett & Insam, 2010).

Algunos nutrientes en el suelo, pueden provenir del intemperismo de los minerales o roca madre; y de esa manera, entrar a la solución del suelo. Sin embargo, la presencia de N en las moléculas orgánicas, proviene de la fijación de nitrógeno atmosférico por la actividad microbiana. La mayor proporción del N encontrado en el suelo proviene de la descomposición de los residuos orgánicos. El N<sub>2</sub> es transformado a NH<sub>3</sub> por acción de una nitrogenasa, para luego incluirse en procesos de nitrificación y desnitrificación. Para las plantas el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> es más ligero que los nitratos, además su absorción también se favorece por la carga negativa de las membranas celulares, repeliendo compuestos de misma carga como NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, por lo tanto, las plantas toman los compuestos mineralizados del suelo (McBratney et al., 2014).

En el fraccionamiento de sustancias húmicas del suelo (Figura 23), se encontró que los digestatos A y B en concentración de 10 Ton/ha; favorecen el contenido de AF y AH, especialmente el digestato C. Mientras que la mayor concentración de digestato A (Figura 23 derecha); favoreció ligeramente el contenido de AF, y aumentó casi el doble la fracción de AH. Destacando la importante presencia de huminas en el digestato C con mayor concentración de digestato. Se ha visto que los digestatos de lodos y estiércol, pueden contener hasta 4.6 mg/L de carbono orgánico disuelto en forma de ácidos fúlvicos. Estos compuestos se han utilizado en cultivos hidropónicos de lechugas; incrementado la biomasa aérea de 7 a 30 % (Guilayn et al., 2020).

## CONCLUSIONES

El contenido de materia orgánica en los digestatos es una de las características más variables. A pesar que, las muestras de digestato analizadas tienen sustratos y procesos de operación similares, presentan una concentración de biomoléculas distinta. El digestato C se caracterizó por un alto contenido orgánico y mayor toxicidad; mientras que el digestato A que provenía del mismo sustrato, pero en codigestión con lodos de purga; presentó datos más semejantes al resto de los digestatos. Las proteínas contenidas en el digestato, son fuente de nitrógeno orgánico para los organismos del suelo.

Los digestatos contienen compuestos que son tóxicos; para la etapa de germinación de un cultivo en concentraciones mayores a 6%. Este estudio provee un rango de referencia, para determinar la dosis de digestato que es segura y evitar la administración de dosis perjudiciales para la actividad biológica y el medio ambiente. Sin embargo, la administración de digestatos en cultivos adultos, requiere otro esquema ya que la sensibilidad no es comparable.

La materia orgánica contenida en los digestatos favoreció la abundancia de agregados de mayor tamaño (8 mm – 2 mm), en ambas concentraciones. Funcionó como agente cementante para favorecer la estabilidad de estos agregados; sin embargo, el tratamiento de digestato no tuvo efecto en los microagregados y clusters. La adición de un producto agrícola al suelo, no solo debe considerar las características del compuesto; sino las propiedades originales del suelo, principalmente el pH y la distribución de tamaño de agregados.

La presencia de nutrientes como COT y NOT en la solución del suelo; va a determinar la toma de nutrientes de los organismos. Se sabe que la toma de N en suelo; está asociada a la síntesis de enzimas; lo que no se puede sin C disponible. Es decir, si no hay materia orgánica en el suelo, aunque existen los nutrientes no se pueden asimilar. En cuanto al C en el suelo; este procede de la biomasa, al incorporarse al suelo mediante el proceso de descomposición este será estabilizado mediante el proceso de formación de macromoléculas del rango coloidal (humificación) y su unión con las partículas de arcilla, como evidencia el oscurecimiento del suelo. Los compuestos orgánicos sencillos son mineralizados, de ahí se tiene un aporte importante de N, S y P como nutrimentos biógenos en forma biodisponible.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abbassi-Guendouz, A., Brockmann, D., Trably, E., Dumas, C., Delgenès, J.-P., Steyer, J.-P., & Escudíé, R. (2012). *Total solids content drives high solid anaerobic digestion via mass transfer limitation*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.174>
- Abdullahi, Y. A., Akunna, J. C., White, N. A., Hallett, P. D., & Wheatley, R. (2008). Investigating the effects of anaerobic and aerobic post-treatment on quality and stability of organic fraction of municipal solid waste as soil amendment. *Bioresource Technology*, 99(18), 8631–8636. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.04.027>
- Akyol, Ç., Ince, O., & Ince, B. (2019). Crop-based composting of lignocellulosic digestates: Focus on bacterial and fungal diversity. *Bioresource Technology*, 288. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121549>
- Albuquerque, J. A., De La Fuente, C., Ferrer-Costa, A., Carrasco, L., Cegarra, J., Abad, M., & Bernal, M. P. (2012). Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues. *Biomass and Bioenergy*, 40, 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.02.018>
- APHA, AWWA, & WEF. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*.
- Appels, L., Baeyens, J., Degreè, J., & Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34(6), 755–781. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2008.06.002>
- Banwart, S. A., & Sparks, D. L. (2017). *Quantifying and Managing Soil Functions in Earth's Critical Zone : Combining Experimentation and Mathematical Modelling*. Academic Press.
- Bernd Weber, Marcelo Rojas Oropeza, Miguel Torres Bernal, L. P. G. (2012). Producción de biogás en México estado actual y perspectivas. *Cuaderno Temático No. 5 Red Mexicana de Bioenergía*, 48.
- Berthelot, M.P.E. (1859) Berthelot's Reaction Mechanism. Report de Chimie Applique, 2884.
- Bortone, G. (2009). Integrated anaerobic/aerobic biological treatment for intensive swine production. *Bioresource Technology*, 100(22), 5424–5430. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.12.005>
- Bremner, J. M. (1960). Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. *The Journal of Agricultural Science*, 55(1), 11–33. <https://doi.org/10.1017/S0021859600021572>
- Bustamante, M. A., Restrepo, A. P., Albuquerque, J. A., Pérez-Murcia, M. D., Paredes, C., Moral, R., & Bernal, M. P. (2013). Recycling of anaerobic digestates by composting: Effect of the bulking agent used. *Journal of Cleaner Production*, 47, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.07.018>
- Castells, X. E. (2012). *Clasificación y gestión de residuos: Reciclaje de residuos industriales* (Ediciones & D. de Santos (eds.); Ediciones). Díaz de Santos.
- Chandrappa, R., & Bhusan Das, D. (2011). Solid waste mgmt principles and practice. In *Solid Waste Management, Principles and Practice* (Vol. 3).

- Coelho, J. J., Hennessy, A., Casey, I., Bragança, C. R. S., Woodcock, T., & Kennedy, N. (2020). Biofertilisation with anaerobic digestates: A field study of effects on soil microbial abundance and diversity. *Applied Soil Ecology*, *147*, 103403. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103403>
- Curtis, H., Barnes, S., Schnek, A., & Massarini, A. (2008). *Biología* (M. Panaméricana (ed.); 7a ed.). Panaméricana, Médica.
- Desmond, K. (2016). *Innovators in Battery Technology: Profiles of 95 Influential Electrochemists* (McFarland (ed.); 1a ed.). McFarland.
- Díaz, E. E., Stams, A. J. M., Amils, R., & Sanz, J. L. (2006). Phenotypic properties and microbial diversity of methanogenic granules from a full-scale upflow anaerobic sludge bed reactor treating brewery wastewater. *Applied and Environmental Microbiology*, *72*(7), 4942–4949. <https://doi.org/10.1128/AEM.02985-05>
- Diosdado, J. M. (1995). Recuperación de energía en hornos cementeros, residuos y energéticos alternos. In F. J. Garfias y Ayala & L. B. Weber (Eds.), *Residuos peligrosos en México* (SEMARNAT, p. 126). SEMARNAT, Instituto Nacional de Ecología.
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1951). A Colorimetric Method for the Determination of Sugar. *Nature*, *18*(4), 476.
- Estrada, J., Quijano, Q., Muñoz, R., Lebrero, R., & Kraakman, B. (2015). Odour abatement technologies in WWTPs: energy and economic efficiency. In K. Stamatelatos & K. P. Tsagarakis (Eds.), *Sewage Treatment Plants: Economic Evaluation of Innovative Technologies for Energy Efficiency* (p. 376).
- Evanylo, G., Sherony, C., Spargo, J., Starner, D., Brosius, M., & Haering, K. (2008). Soil and water environmental effects of fertilizer-, manure-, and compost-based fertility practices in an organic vegetable cropping system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, *127*(1–2), 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.02.014>
- Ghisolfi, E. (2011). *Contenidos de materia orgánica: Relación con la fertilidad del suelo en siembra directa*. Eduvium.
- Greenberg, I., Kaiser, M., Gunina, A., Ledesma, P., Polifka, S., Wiedner, K., Mueller, C. W., Glaser, B., & Ludwig, B. (2019). Substitution of mineral fertilizers with biogas digestate plus biochar increases physically stabilized soil carbon but not crop biomass in a field trial. *Science of the Total Environment*, *680*, 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.051>
- Guilayn, F., Benbrahim, M., Rouez, M., Crest, M., Patureau, D., & Jimenez, J. (2020). Humic-like substances extracted from different digestates: First trials of lettuce biostimulation in hydroponic culture. *Waste Management*, *104*, 239–245. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.01.025>
- Harwood, J. E., & Huyser, D. J. (1970). Some aspects of the phenol-hypochlorite reaction as applied to ammonia analysis. *Water Research*, *4*(7), 501–515. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(70\)90065-5](https://doi.org/10.1016/0043-1354(70)90065-5)
- Hidalgo Charpenel, A. (2014). *Manejo del digestato derivado de la DA de la FORSU de los RSU para su uso como fertilizante*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- INEGI. (2014). *Información de Uso de suelo y Vegetación Serie VI: Cuarenta años de la cartografía en México*.

- Iocoli, G. A., Zabaloy, M. C., Pasdevicelli, G., & Gómez, M. A. (2019). Use of biogas digestates obtained by anaerobic digestion and co-digestion as fertilizers: Characterization, soil biological activity and growth dynamic of *Lactuca sativa* L. *Science of the Total Environment*, 647, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.444>
- IPCC, (Intergovernmental Panel on Climate Change). (2007). Climate change 2007: working group III, mitigation of climate change. *Climate Change 2007*.
- Joseph, A., Romero, R., Alberto, C., Salazar, R., Arturo, R., Picos, R., López, E. L., Elias, J., Díaz, S., & Dorantes, A. R. (2014). ÍNDICES DE GERMINACIÓN Y ELONGACIÓN RADICAL DE *Lactuca sativa* EN EL BIOMONITOREO DE LA CALIDAD DEL AGUA DEL RIO CHALMA. In *Rev. Int. Contam. Ambie* (Vol. 30, Issue 3).
- Kemper, W. D., & Rosenau, R. C. (1986). Aggregate Stability and Size Distribution. In *Methods of soil analysis*.
- Kjeldahl, J. (1883). Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Zeitschrift Für Analytische Chemie*, 22, 366–382.
- Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Wang, P., McKenna, B. A., & Lombi, E. (2019). Soil and the intensification of agriculture for global food security. *Environment International*, 132(August), 105078. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105078>
- Li, Y., Jin, Y., Li, H., Borrion, A., Yu, Z., & Li, J. (2018). *Kinetic studies on organic degradation and its impacts on improving methane production during anaerobic digestion of food waste* ARTICLE INFO. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.01.033>
- Liu, Y., & Whitman, W. B. (2008). Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1125, 171–189. <https://doi.org/10.1196/annals.1419.019>
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). *PROTEIN MEASUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGENT\**. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Machado Mendes, P., Araujo Ribeiro, J., Afonso Martins, G., Lucia Jr, T., Ramires Araujo, T., David Fuentes-Guevara, M., Bilhalva Corrêa, L., & Kunde Corrêa, E. (2021). Phytotoxicity test in check: Proposition of methodology for comparison of different method adaptations usually used worldwide. *Journal of Environmental Management*, 291, 112698. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112698>
- Mara, D., & Horan, N. (2003). Handbook of Water and Wastewater Microbiology. In *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-470100-7.X5000-6>
- McBratney, A. B., Stockmann, U., Angers, D. A., Minasny, B., & Field, D. J. (2014). Soil Carbon. In A. E. Hartemick & K. McSweeney (Eds.), *Soil Carbon*. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-04084-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-04084-4_1)
- Mishra, S. K., Suh, W. I., Farooq, W., Moon, M., Shrivastav, A., Park, M. S., & Yang, J.-W. (2013). *Rapid quantification of microalgal lipids in aqueous medium by a simple colorimetric method*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.077>
- Müller, V. (2003). Energy conservation in acetogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11), 6345–6353. <https://doi.org/10.1128/aem.69.11.6345-6353.2003>

- Nachshon, U. (2021). Soil degradation processes: It's time to take our head out of the sand. *Geosciences (Switzerland)*, 11(1), 1–5. <https://doi.org/10.3390/geosciences11010002>
- Nayono, S. E. (2010). Aspects and developments in anaerobic digestion of organic solid waste. In *Anaerobic Digestion of Organic Solid Waste for Energy Production* (p. 131). KIT Scientific Publishing.
- Oldeman, L. R. (1991). Global Extent of Soil Degradation. *ISRIC Bi-Annual Report*, 19–36.
- Olivo, E. F. C. (2005). *Introducción a la ciencia del suelo* (2nd ed.). Universidad Central de Venezuela.
- Olk, D. C., Bloom, P. R., Perdue, E. M., McKnight, D. M., Chen, Y., Farenhorst, A., Senesi, N., Chin, Y.-P., Schmitt-Kopplin, P., Hertkorn, N., & Harir, M. (2019). Environmental and Agricultural Relevance of Humic Fractions Extracted by Alkali from Soils and Natural Waters. *Journal of Environmental Quality*, 48(2), 217–232. <https://doi.org/10.2134/jeq2019.02.0041>
- Ortega, N. M. (2006). *Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process*. Florida.
- Paavola, T., & Rintala, J. (2008). Effects of storage on characteristics and hygienic quality of digestates from four co-digestion concepts of manure and biowaste. *Bioresource Technology*, 99(15), 7041–7050. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.01.005>
- Poggi-Varaldo, H. M., Trejo-Espino, J., Fernández-Villagómez, G., Esparza-García, F., Caffarel-Méndez, S., & Rinderknecht-Seijas, N. (1999). Quality of anaerobic compost from paper mill and municipal solid wastes for soil amendment. *Water Science and Technology*, 40(11–12), 179–186. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00716-7](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00716-7)
- Polprasert, C. (2015). Organic Waste Recycling. In *Water Intelligence Online* (Vol. 6, Issue 0). <https://doi.org/10.2166/9781780402024>
- Priac, A., Badot, P. M., & Crini, G. (2017). Évaluation de la phytotoxicité d'eaux de rejets via *Lactuca sativa* : paramètres des tests de germination et d'élongation. *Comptes Rendus - Biologies*, 340(3), 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2017.01.002>
- R. Lal, & B. A. Stewart. (1990). Soil Degradation. *Advances in Soil Science*, 11. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3322-0>
- Rico, C., Rico, J. L., Tejero, I., Muñoz, N., & Gómez, B. (2011). Anaerobic digestion of the liquid fraction of dairy manure in pilot plant for biogas production: Residual methane yield of digestate. *Waste Management*, 31(9–10), 2167–2173. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.04.018>
- Riva, C., Orzi, V., Carozzi, M., Acutis, M., Boccasile, G., Lonati, S., Tambone, F., D'Imporzano, G., & Adani, F. (2016). Short-term experiments in using digestate products as substitutes for mineral (N) fertilizer: Agronomic performance, odours, and ammonia emission impacts. *Science of the Total Environment*, 547, 206–214. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.156>
- Rodríguez, A., Robles, C., Ruíz, R., López, E., Sedeño, J., & Rodríguez, A. (2014). Seed germination and root elongation test of *Lactuca sativa* for biomonitoring water quality of the Chalma river. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30(3), 307–316.
- Sadava, D., & Purves, W. H. (2009). *Life: The Science of Biology* (E. M. Panamericana (ed.); 8va ed.). Editorial Médica Panamericana.

- Salminen, E., Rintala, J., Härkönen, J., Kuitunen, M., Högmänder, H., & Oikari, A. (2001). Anaerobically digested poultry slaughterhouse wastes as fertiliser in agriculture. *Bioresource Technology*, 78(1), 81–88. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00160-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00160-7)
- Scaglia, B., Pognani, M., & Adani, F. (2015). *Evaluation of hormone-like activity of the dissolved organic matter fraction (DOM) of compost and digestate*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.009>
- SEMARNAT. (2017). *Residuos Sólidos Urbanos (RSU) | Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales | Gobierno | gob.mx*. Gob.Mx. <https://www.gob.mx/semarnat/acciones-y-programas/residuos-solidos-urbanos-rsu>
- Sheng, K., Chen, X., Pan, J., Kloss, R., Wei, Y., & Ying, Y. (2013). *Effect of ammonia and nitrate on biogas production from food waste via anaerobic digestion*. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2013.08.005>
- Six, J., Paustian, E. T., & Combrink, C. (2000). Soil structure and organic matter : I . Distribution of aggregate-size classes. *Soil Science Society of America Journal*, 64(2), 681–689. <https://doi.org/10.2136/sssaj2000.642681x>
- Smith, K. A. S., Ball, T. B., Onen, F. C., Dobbie, K. E. D., Massheder, J. M., & Rey, A. R. (2003). Exchange of greenhouse gases between soil and atmosphere : interactions of soil physical factors and biological processes. *European Journal of Soil Science*, 54(December), 779–791. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.2003.00567.x>
- Sparks, D. L. (Ed.) *Methods of Soil Analysis, Part 3- Chemical Methods*. (pp. 1036-1059) Soil Science Society of America Journal
- Tambone, F., Orzi, V., Zilio, M., & Adani, F. (2019). Measuring the organic amendment properties of the liquid fraction of digestate. *Waste Management*, 88, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.03.024>
- Teglia, C., Tremier, A., & Martel, J. L. (2011). Characterization of solid digestates: Part 1, review of existing indicators to assess solid digestates agricultural use. *Waste and Biomass Valorization*, 2(1), 43–58. <https://doi.org/10.1007/s12649-010-9051-5>
- Tsachidou, B., Scheuren, M., Gennen, J., Debbaut, V., Toussaint, B., Hissler, C., George, I., & Delfosse, P. (2019). Biogas residues in substitution for chemical fertilizers: A comparative study on a grassland in the Walloon Region. *Science of the Total Environment*, 666, 212–225. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.238>
- Ülgüdür, N., Ergüder, T. H., Uludağ-Demirer, S., & Demirer, G. N. (2019). High-rate anaerobic treatment of digestate using fixed film reactors. *Environmental Pollution*, 252, 1622–1632. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.115>
- Verdi, L., Kuikman, P. J., Orlandini, S., Mancini, M., Napoli, M., & Dalla Marta, A. (2019). Does the use of digestate to replace mineral fertilizers have less emissions of N<sub>2</sub>O and NH<sub>3</sub>? *Agricultural and Forest Meteorology*, 269–270, 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2019.02.004>
- Wang, G., Yang, Y., Kong, Y., Ma, R., Yuan, J., & Li, G. (2022). Key factors affecting seed germination in phytotoxicity tests during sheep manure composting with carbon additives. *Journal of Hazardous Materials*, 421(July 2021), 126809. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126809>

- Wani, K. A., Mamta, & Rao, R. J. (2013). Bioconversion of garden waste, kitchen waste and cow dung into value-added products using earthworm *Eisenia fetida*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(2), 149–154. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.01.001>
- Wei, Y., Hong, J., & Ji, W. (2018). Thermal characterization and pyrolysis of digestate for phenol production. *Fuel*, 232(18), 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.05.134>
- Weil, R., & Brady, N. (2002). *The Nature and Properties of Soils* (15th ed., Vol. 10, Issue January 1996). Pearson.
- Wett, B., & Insam, H. (2010). Biogas technology - Controlled gas flow for enhanced mixing, heating, and desulfurization. In *Microbes at Work: From Wastes to Resources*. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-04043-6\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-642-04043-6_4)
- White, P., Franke, M., & Hindle, P. (1999). *Integrated solid waste management*. Aspen Publication.
- Xu, F., Wang, Z.-W., Tang, L., & Li, Y. (2014). A mass diffusion-based interpretation of the effect of total solids content on solid-state anaerobic digestion of cellulosic biomass. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.114>
- Zhang, T., He, X., Deng, Y., Tsang, D. C. W., Jiang, R., Becker, G. C., & Kruse, A. (2020). Phosphorus recovered from digestate by hydrothermal processes with struvite crystallization and its potential as a fertilizer. *Science of The Total Environment*, 698, 134240. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134240>

## ANEXOS

### Caracterización del sustrato

Determinación	FORSUm	FORSUr	Lodos de purga secundarios	Nopal	Lodos anaerobios
Sólidos Totales (ST) g/L	87.95	370	233	46.54	104.8
Sólidos Fijos (SF) g/L	13.07	20	128	11.37	14.8
Sólidos Volátiles (SV) g/L	74.7	350	105	35.17	89.5
Sólidos Suspendidos Totales (SST) g/L	-	-	-	31.65	-
Sólidos Suspendidos Fijos (SSF) g/L	-	-	-	4.95	-
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) g/L	-	-	-	26.7	-
Carbohidratos Totales g/L	5.2	73.26	9.786	3.4	-
Carbohidratos Solubles g/L	1.58	0	0	1.6	1.2
Proteínas Totales g/L	38	236	11.9	10.4	4.49
Proteínas Solubles g/L	12	57.3		8.2	-
Demanda Química de O <sub>2</sub> (DQO) Total g/L	20	12.12	13.8	31.95	-
Demanda Química de O <sub>2</sub> (DQO) Soluble g/L	16	4	0.3	10	1.82
pH	4.6	3.9	8.2	6.5	7
Alcalinidad (g CaCO <sub>3</sub> /L)	0.126	0.160	0.886	5.3	-
Humedad %	80	63	76	-	-