



Tesis de Maestría

Maestría en Intervención Ambiental - Orientación Ingeniería Ambiental.

**Evaluación del Potencial Metanogénico Bioquímico Específico,
Proveniente de Biomasa Generada a Partir de Mortalidades de Salmónidos
Ocurridas en una Piscicultura en el Sur de Chile.**

Rodolfo Walter Palaneck Alvarado

Director de Tesis

Dr. Roberto Jaramillo Soto

Dr. Pedro Temporetti

Facultad de Ingeniería

Universidad Nacional del Comahue

Marzo, 2018

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos los que ayudaron a concluir este estudio ambiental, el cual nace como una pequeña luz en el horizonte y que se ha ido transformando con el correr de los meses en un faro que orienta a nuevos esfuerzos y desafíos, aspirando a un ambiente más sustentable.

Mi más profundo agradecimiento para mi familia, a mi orientador el Dr. Roberto Jaramillo co Director Dr PedroTemporetti, siempre orientándome, siendo un gran apoyo y teniendo gran paciencia conmigo.

Al Cibiogas-ER por su magnífico equipo, su gran ayuda técnica y fuerte compromiso y a todos los funcionarios de los servicios públicos de Chile, (Servicio Nacional de salud y Sernapesca).

Y un agradecimiento a todos aquellos que no he nombrado, pero que hicieron esfuerzo para llevar a cabo este estudio.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es evaluar el potencial metanogénico bioquímico específico (PME) de la mortalidad de salmón (MS), con la intención de explorar un aprovechamiento energético como energía renovable (generación de biometano) de una de la materia orgánica más abundantes propias del cultivo intensivo de salmónidos. Los parámetros analizados fueron pH, sólidos totales (ST), sólidos fijos (SF), sólidos volátiles (SV), Producción de biogás como LN biogás.kg⁻¹ SV, Producción de metano como LN CH₄ .kg⁻¹ SV. Los resultados encontrados en MS fueron elevados en términos energéticos, posicionando a este residuo como una materia orgánica viable para biodigestión anaeróbica y de gran capacidad en la generación energética. La producción de biogás alcanzó los 653 LN biogás.kg SV⁻¹ y 522 LN metano.kg SV⁻¹. La concentración de CH₄ presente en biogás fue del 79.9 %, situación que confirma a MS en su capacidad energética como así también, en el potencial de eutrofizar ambientes acuáticos y de generar gases efecto invernadero (GEI) en ambientes anaeróbicos, producto de su alta concentración de sólidos volátiles (SV) de rápida degradación.

Palabra clave: mortalidad, salmón, digestión anaeróbica, biogás, metano

ABSTRACT

The objective of this work is to evaluate the specific biochemical methanogenic potential (PME) of salmon mortality (MS), with the intention of exploring an energy use as renewable energy (generation of biomethane), one of the most abundant organic matter of intensive salmonid culture. The analyzed parameters were pH, total solids (ST), fixed solids (SF), volatile solids (SV), Production of biogas as LN biogas kg^{-1} SV, Production of methane as LN CH_4 $\cdot\text{kg}^{-1}$ SV. The results found in MS were high in energy terms, positioning this waste as a viable organic matter for anaerobic biodigestion and high capacity in energy generation. The production of biogas reached 653 LN biogas. kg SV^{-1} and 522 LN methane. kg SV^{-1} . The concentration of CH_4 present in biogas was 79.9%, a situation that confirms MS in its energy capacity as well as in the potential to eutrophize aquatic environments and generate greenhouse gases (GHG) in anaerobic environments, product of its high concentration of volatile solids (SV) of rapid degradation.

Keyword: mortality, salmon, anaerobic digestion, biogas, methane

INDICE

INTRODUCCIÓN	6
2.1 OBJETIVO GENERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3.1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
1. HIDRÓLISIS	16
2. ACIDOGÉNESIS	17
3. ACETOGÉNESIS	18
4. METANOGÉNESIS	19
3.3 PARÁMETROS DE LOS PROCESOS DE DIGESTIÓN ANAERÓBICA	20
MATERIALES Y MÉTODOS	26
4.1 ORIGEN DE LA MUESTRA	26
4.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS	30
4.3 POTENCIAL METANOGÉNICO BIOQUÍMICO ESPECÍFICO (PME)	33
RESULTADOS	39
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIÓN	50
BIBLIOGRAFÍA	53

INTRODUCCIÓN

La energía es un elemento esencial en el desarrollo de la sociedad humana contemporánea e intrínsecamente relacionada al desarrollo económico y social de los pueblos. Esta dependencia energética basada principalmente en el uso de combustibles fósiles, provienen en un 87% de fuentes como petróleo, carbón y gas natural y responden al 60% de la polución ambiental mundial (Da Silva, 2015).

El desarrollo científico y económico de la sociedad moderna no sólo aumentó su dependencia energética, sino que también lo hizo su población y en respuesta a esto último, se incrementaron los cultivos alimentarios intensivos, además de aparecer complejas redes económicas para transformar los recursos naturales en bienes de consumo, usando energías no renovables y generando grandes volúmenes de desechos (Groppelli & Giampaoli, 2012).

Para satisfacer la creciente demanda de alimentos de la población humana se ha recurrido a un aumento en la producción de proteína animal mediante el confinamiento de grandes planteles de animales destinados a satisfacer el comercio nacional e internacional de carne. Dicha industria se ha caracterizado por generar volúmenes crecientes de residuos orgánicos con una alta concentración geográfica de estos mismos, ocasionando impactos ambientales significativos al medio ambiente (Palaneck 2015; IPEA, 2012).

Chile es un país con un gran desarrollo de la acuicultura; siendo la salmonicultura la mayor fuente generadora intensiva de proteína animal y de importancia económica para el país (FAO, 2010). La producción de salmónes alcanzó las 384.000 toneladas en el año 2005, valor que casi se duplicó en 8 años cuando se produjeron 792.200 toneladas, valor que representó el 27% de la producción mundial de salmón (Salmón Chile, 2015).

A pesar del significativo aporte de esta industria a la economía nacional, desde hace más de una década, algunos investigadores vienen alertando de los problemas

sociales y medioambientales que ocasionan los residuos orgánicos producidos por la industria del salmón (Buschmann & Fortt, 2005).

La alta carga orgánica generada por esta industria es uno de los mayores problemas a enfrentar ya que del 100% del alimento suministrado, sólo se recupera alrededor del 25% al momento de la cosecha y el 75% restante (nitrógeno, fósforo y carbono) queda en el ambiente bajo la forma de alimento balanceado no ingerido, fecas con contenidos orgánicos no asimilados por los peces y antibióticos (Beveridge, 1986; Folke & Kautky, 1989; Bergheim & Åsgård, 1996). De esta manera, si se realiza un balance de la producción de Salmónidos se obtiene que por cada tonelada producida se generan 1,4 toneladas de desechos orgánicos, los cuales provienen de las jaulas de engorde bajo la forma de fecas; de alimento balanceado sin consumir además de los residuos generados durante el proceso de faenamiento (Teuber et al., 2006). Algunos estudios muestran que estas cargas orgánicas alteran la biodiversidad y los equilibrios tróficos, produciendo impactos significativos en los ecosistemas los cuales han sido catalogados como biológica y químicamente semejantes a los residuos domésticos urbanos (Temporetti, 1999).

El excesivo enriquecimiento de nutrientes inorgánicos y materia orgánica con el consecuente aumento de la producción orgánica en un cuerpo de agua se denomina eutrofización. Este aumento en la producción orgánica es una consecuencia de la disponibilidad de fósforo total y reactivo soluble, nitrógeno orgánico y amonio, lo cual conlleva consecuencias desfavorables para la columna de agua tales como; aumento de la turbidez, reducción de la concentración de oxígeno disuelto y aparición de microalgas tóxicas asociadas a la mortalidad masiva de peces (Temporetti, 1999; Buschmann & Fortt, 2005). Todos estos aspectos desfavorables para los cuerpos de agua reducen su valor recreacional y ecológico (Temporetti, 1999). La eutrofización de los cuerpos de agua por parte de la salmonicultura y sus efectos adversos al medio ambiente se encuentran ampliamente documentados (Beveridge, 1986).

Otro aspecto que genera preocupación es que los residuos orgánicos dispuestos en ambientes con escasa o ausencia total de oxígeno, generan metano (CH_4) el cual es liberado a la atmósfera. El CH_4 producido directamente como parte de las prácticas de producción agrícola y pecuaria, es una de las mayores

contribuciones de Gases Efecto Invernadero (GEI) causantes del cambio climático antrópico (IPCC, 2007). El metano tiene un potencial de calentamiento global 21 veces superior al CO₂, lo cual le transforma en el segundo gas gestor del efecto invernadero (IPCC, 2007).

En las últimas décadas, sin embargo, ha comenzado a cambiar el enfoque de cómo se ve al residuo orgánico propio de la cría intensiva de animales para la generación de proteína animal. En primer lugar, los residuos orgánicos son percibidos como un pasivo ambiental que, a través de la biodigestión anaeróbica, se puede transformar en un activo energético de gran valor como es el biogás y paralelamente como un biofertilizante de gran valor en la agricultura (Bley, 2015).

El balance total, tanto de la energía producida a través del biogás como del biofertilizante que incorpora macro y micronutrientes a la nutrición vegetal, trae beneficios para el medio ambiente y eventualmente para la economía haciéndola transitar hacia un modelo de bajo carbono, sustentable, inclusiva, eficiente y tecnológicamente simple.

Como una forma de demostrar que existen oportunidades de generación energética y de biofertilizante a través de la biodigestión anaeróbica utilizando los residuos orgánicos (como se ha hecho en las pecuarias tradicionales de aves, cerdos y vacunos) se ha comenzado a evaluar específicamente el potencial metanogénico bioquímico específico, disponible en los residuos fecales obtenidos de la industria salmonera (Palaneck, 2015).

Los resultados obtenidos por este autor mostraron que los resultados existentes respecto de la generación de biogás y biometano a partir de residuos fecales de salmón (Riles de Salmón) se encontraban subvalorados (Ministerio de Energía, 2010), puesto que los residuos fecales de salmón pueden generar biogás con concentraciones de metano superiores incluso a las obtenidas por los residuos derivados de las producciones pecuarias tradicionales (aves, bovinos productores de leche y cerdos,) y que se utilizan actualmente, para la producción de energía, en forma exitosa en todos los continentes (Palaneck, 2015). A partir de los resultados obtenidos por, Palaneck (2015), surgen interrogantes respecto a cuáles

serían los valores de potencial metanogénico generado a partir de otros residuos orgánicos obtenidos durante el ciclo de vida del salmón. Puesto que, si se lograra determinar el potencial energético generado a partir de todos los procesos relacionados con la industria salmonera, se podría realizar una estimación económica de los productos potencialmente generados dándole un valor económico a los residuos orgánicos y estimulando con ello su uso como una fuente de producción de energías renovables.

La mortalidad, es un residuo orgánico presente en cualquier industria productora de proteína animal; en el caso particular de la industria del salmón en Chile, estas mortalidades están debidamente caracterizadas y son evaluadas mensual y anualmente por las autoridades competentes tales como el Servicio Nacional de pesca de Chile (Sernapesca).

La biomasa total de salmónidos cultivados en el mar alcanzó las 600.000 ton, en el año 2012 (Sernapesca, 2013). La Región de los lagos y La Región de Aysén concentran el 95,6 % de la producción, situándose la mortalidad total en torno al 11% y 20% dependiendo de la especie cultivada. Las causas de la mortalidad para el salmón son múltiples, siendo estas mortalidades clasificadas como primarias y secundarias. Dentro de las mortalidades primarias se encuentran comprendidas causales como, depredadores, sin causa aparente, daño mecánico, ambiental, desadaptados, deformes, maduros. Por otro lado, la mortalidad secundaria es la mayor responsable de muerte entre los salmónidos y esta es atribuida a las enfermedades infecciosas y parásitos (Sernapesca, 2013).

Las autoridades de gobierno han dispuesto normativas que establecen medidas rigurosas sobre la disposición de las mortalidades. Dentro de estas normativas se establece el retiro diario de las mortalidades de peces de cada unidad de cultivo además de exigir sistemas de tratamiento para las mismas, las que en ningún caso pueden generar fluidos que puedan ser esparcidos en el medio. Estas mortalidades pueden ser utilizadas en la fabricación de harina de pescado o de aceite; de no existir esta posibilidad, debe disponerse en un relleno sanitario.

Los procesos de producción tanto para la industria del salmón, como para la industria productora de proteína animal, requiere de grandes cantidades de insumos y de energía. La constante búsqueda de lugares aptos para el cultivo de salmónidos en Chile ha provocado un desplazamiento paulatino de la industria hacia zonas del extremo sur Chileno. Dichos lugares se encuentran geográficamente apartados, con escasa infraestructura civil como puentes, caminos operativos, red eléctrica y en condiciones de rigurosidad climática, factores que hacen que la logística y la seguridad energética de las empresas acuícolas en estas latitudes, sean realmente desafiantes. Del mismo modo, la disposición final de los residuos orgánicos producidos en los centros de cultivo, así como los provenientes del espacio urbano de dichas localidades, es logísticamente difícil de manejar y económicamente costoso.

Un estudio que permita evaluar la mortalidad de peces como un residuo orgánico susceptible de utilizarse en un proceso de generación de energía, puede ser un aporte ventajoso para la industria acuícola ya que le permitiría otorgar una adecuada valorización de dichos residuos. La generación de biogás y biometano como resultado de procesos controlados de biodigestión anaeróbica, pueden entregar a la industria productora de salmónidos, independencia y seguridad energética; además de contribuir a la reducción de los impactos ambientales sobre los cuerpos de agua, como eutrofización, liberación de CH_4 a la atmósfera y la reducción o eliminación del consumo de fuentes energéticas fósiles, reduciendo con ello la emisión de gases de efecto invernadero durante el proceso productivo.

1.1 JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

La evaluación del potencial metanogénico bioquímico específico (PME) a partir de la mortalidad del salmón sumado a otros residuos de la industria, con potencial capacidad de generación de biogás, contribuirá establecer el potencial total de generación de biometano de la industria salmonera. Los análisis de estos residuos orgánicos permitirán adicionalmente estimar factores de emisión locales de GEI, generando información necesaria y actualizada.

2.1 OBJETIVO GENERAL

El objetivo general del trabajo es el de determinar el Potencial Metanogénico Bioquímico Específico (PME) a partir de residuos orgánicos sólidos clasificados regularmente, en la industria salmonera, como mortalidad.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Los objetivos específicos son determinar: los valores porcentuales de sólidos totales, de sólidos volátiles (en base seca), de sólidos fijos (en base seca), pH, Litros de biogás presentes por kg de materia orgánica en base seca, Litros de metano presentes por kg de materia orgánica en base seca.

3.1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El acceso y la disponibilidad universal a la energía eléctrica y duplicar las inversiones en energía renovables en las matrices nacionales, han sido las metas acordadas en la conferencia RIO +20 (ONU, 2012) que, junto con reducir la pobreza y la desigualdad, son parte de los esfuerzos tendientes a reducir las emisiones de gases efecto invernadero (GEI).

Las metas planteadas en RIO+20 son fruto del entendimiento de que las emisiones de GEI están aumentando con las consiguientes consecuencias en el clima global; que las energías fósiles son recursos finitos cada vez más escasos y que la generación creciente de residuos orgánicos propios de la producción intensiva de alimentos, son aspectos que cada vez están suscitando mayores críticas, que se expresan en presiones jurídicas, éticas, sociales y económicas (Yilmaz & Selim, 2013; Valle *et al.*, 2011). Estas presiones han aumentado el interés por implementar tecnologías que entreguen independencia y seguridad energética de forma sustentable y menos contaminante (Bley, 2015).

La conferencia de las Naciones Unidas sobre el desarrollo sostenible también expresa, específicamente en el punto 25, que el cambio climático es una crisis intersectorial y persistente. Se señala que la magnitud y gravedad de los efectos adversos del cambio climático afectan a todos los países y debilitan la capacidad de todos ellos, especialmente afectando a los países más pobres para lograr el desarrollo sostenible y los objetivos de desarrollo del milenio y ponen en peligro la viabilidad y la supervivencia de las naciones. Así mismo se enfatiza que en la batalla contra el cambio climático se necesitan medidas urgentes y ambiciosas, de conformidad con los principios y las disposiciones de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (ONU, 2012).

El cambio climático es por tanto uno de los mayores problemas y desafíos ambientales de este siglo, estimándose un aumento de cerca de 1°C en la temperatura media de la tierra para el 2020 y 2°C para el 2050. Este aumento en la temperatura promedio global sería causado por la intensificación y acumulación en la atmósfera de los principales gases efecto invernadero, dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) y óxido nitroso (N₂O), IPCC (2007).

El crecimiento de la población, principalmente en Asia, y el aumento del poder adquisitivo global, tendrá como consecuencia el aumento en la demanda de alimentos en el mundo, especialmente de carne. El aumento de la demanda de alimento y cambios en los padrones de consumo de países desarrollados han traído como consecuencia un aumento de un 14% de las emisiones de gases efecto invernadero (GEI) en el sector agrícola en 10 años (2001 a 2011) (EEA, 2015). La emisiones GEI es una consecuencia de que los cultivos intensivos destinados para alimento junto a las pecuarias intensivas, que usan energías y fertilizantes de origen fósil y generan grandes volúmenes de productos de desecho (Vergé et al., 2007).

La preocupación mundial no es solo reducir la producción de CO₂ sino también otros GEI, teniendo presente que ellos contribuyen significativamente al cambio climático y que sus emisiones pueden ser reducidas por medio de acciones que tiendan a generar una favorable relación costo/beneficio (Chernicharo & Stuetz, 2008b).

El metano CH₄ es el segundo GEI en importancia debido al gran potencial de calentamiento global que presenta y que es 25 veces superior al del CO₂, IPCC (2007), es decir el efecto invernadero de 1 tonelada de metano equivale al efecto invernadero producido por 25 toneladas de CO₂. El metano se produce como resultado de la descomposición anaeróbica de la materia orgánica o biomasa en sistemas biológicos. Las principales actividades antrópicas generadoras de metano son las prácticas agrícolas, cultivo de arroz, fermentación entérica en rumiantes y descomposición de estiércol animal.

Algunos investigadores responsabilizan a las fuentes antrópicas como responsables de la generación del 70% del metano emitido a la atmósfera mientras que el 30% restante provendría de un origen biológico natural (El-Fadel & Massoud, 2001). De acuerdo con Quesada *et al* (2007) los gases producidos en el sector agropecuario contribuyen con más de un 30 % de los GEI.

La biomasa no viva es la más antigua energía renovable usada por el hombre hasta comienzos del siglo XX. Es en el inicio de la llamada era del petróleo (años 50) cuando la biomasa comienza a quedar relegada como fuente de energía, sin embargo, a partir de los años 70, junto con la crisis del petróleo, comienza a ser nuevamente considerada como fuente de energía limpia y necesaria para avanzar hacia el desarrollo sustentable (Dilmas, 2013).

La biomasa puede obtenerse de las plantas leñosas y no leñosas, como la madera y sus residuos, así como también a partir de residuos orgánicos provenientes de los sectores agrícolas, pecuarios, acuícolas, municipales e industriales orientados a la producción de alimentos. Esta biomasa puede ser utilizada de manera primaria, directamente como combustible en diversos procesos de generación de energía como calderas, hornos; pero también, a través de tecnologías avanzadas, como sustrato para la producción de combustibles como etanol, biodiesel y en el proceso de digestión anaerobia para producir biometano (Dilmas, 2013).

Una de las múltiples formas en que se puede utilizar la biomasa, es bajo la forma de Biogás. Sin embargo, la producción de cultivos a gran escala, utilizando la

biomasa vegetal íntegra y exclusivamente con la finalidad de generar energía como biogás, en desmedro de la generación de alimentos, comprometiendo la seguridad alimentaria, está teniendo amplio rechazo (Siegmeier *et al.*, 2015). Sin embargo, esta energía generada a partir de una adecuada gestión de los residuos agrícolas y del estiércol, responde como una de las técnicas de mitigación a los impactos ambientales aceptada actualmente, con ventajas competitivas frente a otras tecnologías de tratamiento biológico y entrega un producto altamente energético y renovable (Verge *et al.*, 2007).

Las tecnologías basadas en la biodigestión anaerobia tendientes a generar energía como biometano y paralelamente ofrecer tanto un tratamiento simultáneo de los residuos orgánicos como así también la generación de biofertilizante para la agricultura, tiene actualmente una relevancia creciente en universidades e institutos tecnológicos, abarcando una extensa literatura por investigadores de todos los países.

El gran potencial energético de los residuos orgánicos estimados por la comunidad europea es que al menos el 25% del total de bioenergía se puede derivar a partir de biogás (Mao *et al.*, 2015), aumentando su valor el hecho que el biometano es una energía versátil que puede ser usada en la generación de calor, electricidad, movilidad rural y urbana mismas aplicaciones en las cuales se usa hoy en día el gas natural (Zanette, 2009).

3.2 HISTORIA Y FENOMENOLOGÍA DE LA DIGESTIÓN ANAERÓBICA.

La producción de diferentes gases originados de los procesos de descomposición de la materia orgánica (tales como CH_4 , NH_3 , H_2S , CO_2 , etc.) y el uso de metano como fuente energética se conocen desde hace cientos de años. En el siglo XVI Alessandro Volta, científico naturalista Italiano, condujo las primeras experiencias de combustión de gas de pantanos. El padre de la microbiología moderna, Louis Pasteur en el siglo XIX, realizó los primeros experimentos de generación de biogás a partir de estiércol de vacuno y descubrió la producción microbiológica de CH_4/CO_2 a partir de acetato. En 1907 funcionó el primer motor a combustión para la generación de electricidad usando como combustible el biogás (Minenergía/GIZ, 2012).

El biogás se origina de un proceso biológico y bioquímico complejo mediado por la acción conjunta de un consorcio de bacterias específicas, que funcionan como una cadena trófica en un ecosistema en equilibrio, en ausencia de oxígeno o donde su presencia es reducida. Esta fermentación anaeróbica sobre una biomasa da origen a una mezcla de gases llamada biogás.

La digestión anaerobia aparece en la naturaleza asociada a fenómenos ecológicos importantes y es posible encontrarla en lagunas termales, pantanos y arrozales. Por otro lado, la producción de metano puede darse en lugares como suelos de bosques o praderas, debido a la posibilidad de encontrar microambientes anaerobios al interior de ciertas capas del suelo.

Este proceso, en la naturaleza, descompone el sustrato orgánico por medio de bacterias especializadas. La materia orgánica se degrada dando origen a compuestos más simples como ácidos grasos volátiles (formiato, acetato, metanol, metil mercaptano y metilamina, entre otros) y CO_2 e implica procesos oxidativos, generadores de cofactores reducidos como lo son el (NADH, NADPH e FADH). El proceso fermentativo puede verse detenido si estos cofactores no son oxidados a la forma de (NAD⁺, NADP⁺ e FAD⁺) por medio de reacciones de deshidrogenación liberando y acumulando hidrógeno en el sistema digestivo. Para restringir el hidrógeno

acumulado y mantener un sistema en equilibrio, el dióxido de carbono es el aceptor de electrones terminal principal para disminuir el exceso de hidrógeno y este dióxido de carbono se reduce a metano en el sistema de fermentación. El metano en forma gaseosa queda libre para ser liberado del sistema como una consecuencia de la remoción de hidrógeno (McAllister & Newbold, 2008).

El proceso global puede resumirse como:

Materia orgánica + Nutrientes + Microorganismos \rightarrow CH₄+ CO₂ + NH₃ + H₂S + Materia orgánica + Nuevos Microorganismos (Elias, 2009).

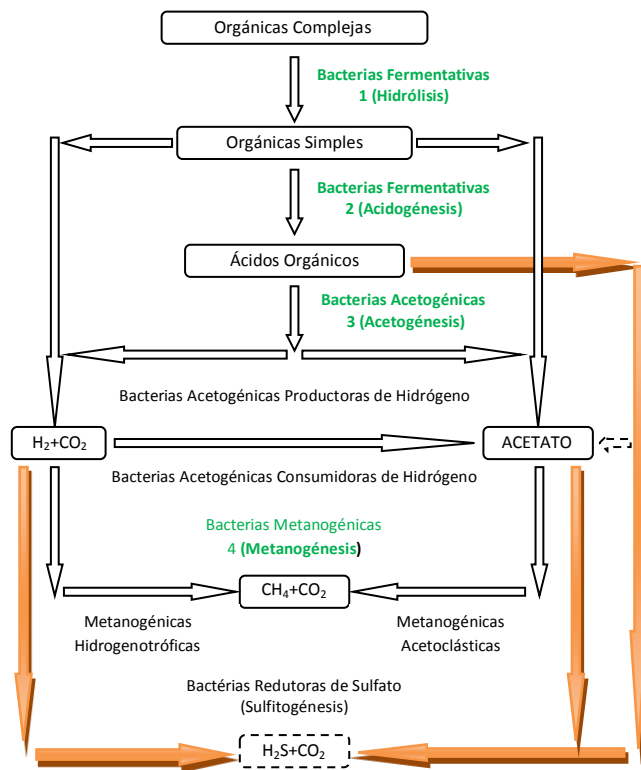
Este proceso se divide en cuatro etapas las cuales se detalla "ver Fig. 1" 1) Hidrólisis, 2) Acidogénesis, 3) Acetogénesis y 4) Metanogénesis. Cada etapa del proceso anaeróbico esta mediada por una comunidad específica de bacterias.

1) HIDRÓLISIS

Esta etapa también llamada licuefacción, las bacterias no pueden ingresar intracelularmente compuestos complejos (polímeros) de alta masa molecular como polisacáridos, proteínas o lípidos. Estos polímeros precisan una digestión extracelular o hidrólisis, proceso que ocurre por la acción de exo-enzimas específicas, excretadas por las bacterias hidrolíticas. El resultado de esta etapa, se expresa en la formación de compuestos más simples como azúcares, ácidos grasos, aminoácidos, los cuales pueden atravesar las paredes celulares de las bacterias.

La hidrólisis es un proceso lento y delicado dependiendo de las características del sustrato a ser digerido. Cuando la materia orgánica presente es compleja y de difícil degradación, la hidrólisis tiene una gran relevancia en la velocidad global de la digestión anaeróbica, pudiendo ser considerada como una etapa limitante en la velocidad de la digestión anaerobia (Lettinga *et al.*, 1996)

Fig. I (1-4) Etapas de la digestión anaeróbica. 1.-Hidrólisis, 2.-Acidogénesis, 3.-Acetogénesis 4.-Metanogénesis



Fuente.: Adaptado, seminario Operações Unitárias II. Michael Mannich 2009.

2) ACIDOGÉNESIS

En esta fase, los productos más simples (monómeros) originados de la hidrólisis, ya pueden entrar a la célula y ser metabolizados a moléculas aún más simples al interior de la célula como ácidos orgánicos simples de cadena corta, que son moléculas de entre 1 a 5 carbonos (por ejemplo. ácido butírico, propiónico y acético), alcoholes, ácido láctico, dióxido de carbono, hidrógeno, amonio y sulfito de hidrógeno y generar nuevas células bacterianas (Kunz, 2006).

La generación de ácidos grasos volátiles destaca entre todos los productos resultantes, por lo cual se denomina a este grupo de bacterias, como bacterias fermentativas acidogénicas. Estas bacterias son fundamentalmente anaerobias estrictas y sólo 1% de ellas son facultativas. Las bacterias facultativas pese a su

escasa participación, cumplen el rol fundamental de consumir el oxígeno que podría afectar el consorcio de bacterias anaerobias estrictas.

3) ACETOGÉNESIS.

La acetogénesis, mediada por las bacterias acetogénicas transforman sustratos recibidos de la etapa anterior y disponen de los sustratos necesarios para la etapa siguiente (metanogénesis) (Chernicharo, 2007). Estas reacciones acetogénicas son endotérmicas, lo que hace considerar a esta etapa como, una etapa crítica a el proceso anaeróbico.

Las bacterias acetogénicas establecen una relación de simbiosis con las arqueas metanogénicas y las bacterias homoacetogénicas. En esta etapa los ácidos de cadena mayor son transformados en ácidos grasos volátiles con apenas uno o dos átomos de carbono (fórmico y acético) con la concomitante producción de hidrógeno y dióxido de carbono (Wellinger *et al.*, 2013).

En esta etapa, el principal ácido orgánico es el acetato, ruta principal para la producción de metano, no obstante, hay otros ácidos como el formiato que son buenos sustratos para la producción de metano (Archer & Harris, 1986). Por otra parte, otro grupo de bacterias llamadas homoacetogénicas rigen el equilibrio de la dirección de la reacción de consumo de hidrógeno y gas carbónico para la producción acetato. Para que esta bio-reacción sea termodinámicamente favorable, la misma debe ocurrir asociada al consumo de hidrógeno gaseoso por las arqueas metanogénicas. La simbiosis entre organismos de grupos microbianos distintos posibilita que la reacción sea termodinámicamente favorable con la resultante que ambos presenten crecimiento, asegurando la viabilidad de producción de acetato a partir de ácidos orgánicos (Wellinger *et al.*, 2013).

Los sustratos generados por las bacterias acetogénicas son hidrógeno, dióxido de carbono y acetato. En esta etapa decrece el pH ocasionado por la gran cantidad de hidrógeno resultante de la síntesis de ácido acético y propiónico. Esta etapa es muy importante porque de todos los sustratos disponibles en las diferentes etapas del

proceso anaeróbico, las bacterias metanogénicas solo pueden disponer directamente del acetato e hidrógeno.

4) METANOGENESIS.

La metanogénesis es la última etapa, mediada por las bacterias metanogénicas pertenecientes al grupo de las arqueobacterias. Las arqueobacterias son bacterias anaeróbicas estrictas que emplean generalmente hidrógeno (H_2) como donante de electrones y usan solo un limitado número de compuestos, los cuales comprenden el ácido acético, ácido fórmico, metanol, metilaminas, hidrógeno/dióxido de carbono y monóxido de carbono (Chernicharo, 2007). Estos microorganismos son considerados como los más importantes en este proceso integrado de conversión anaerobia de compuestos orgánicos en CH_4 y CO_2 .

Las arqueas metanogénicas son divididas de acuerdo con sus vías metabólicas en acetoclásticas e hidrogenotróficas. Las primeras convierten el ácido acético en CO_2 y metano; estas bacterias se desarrollan muy lentamente (tiempo mínimo de duplicación de 2 a 3 días) e influyen apreciablemente en el pH del sistema por la eliminación de ácido acético y la formación de CO_2 . Estas son las responsables de la mayor parte del metano producido (Araneda, 2013). Las segundas, las arqueas metanogénicas hidrogenotróficas, convierten hidrógeno y dióxido de carbono a metano. Estas bacterias se desarrollan muy rápidamente (tiempo mínimo de duplicación 6 horas) y controlan el potencial redox del proceso anaeróbico. Tanto las vías acetoclásticas e hidrogenotróficas son reacciones exotérmicas (Wellinger *et al.*, 2013).

Las trazas de hidrógeno que quedan en el medio regulan la velocidad total de producción de ácidos por las bacterias acidogénicas y la composición de la mezcla formada, regulando de esta manera la formación de ácidos volátiles (Araneda, 2013). El hidrógeno también controla la velocidad a la cual los ácidos propiónico y butírico son convertidos a ácido acético. Ambas reacciones son exotérmicas.

Algunos autores describen la colaboración de 70/30 % en la producción de metano entre arqueas metanogénicas acetoclásticas y las hidrogenotróficas, sin embargo, algunos trabajos recientes muestran la existencia de un dinamismo en esta relación. (Silva *et al.*,2014).

3.3 PARÁMETROS DE LOS PROCESOS DE DIGESTIÓN ANAERÓBICA.

Cuando queremos replicar los procesos de digestión anaeróbica que ocurren en la naturaleza debemos considerar algunos parámetros muy importantes que hacen del proceso anaeróbico un proceso viable y eficiente. Entre los parámetros a considerar más importantes en la digestión anaeróbica tenemos.

a) TEMPERATURA

Este es uno de los parámetros más significativos que influyen en la digestión anaeróbica porque no sólo influye en la actividad de las enzimas y co-enzimas sino que también influye en el rendimiento del metano y la calidad del digestato. La temperatura influye en la proliferación de distintos tipos de microorganismos ya que los microorganismos involucrados en los procesos metabólicos tienen un rango óptimo de temperatura. La variación por encima o por debajo de una faja ideal de temperatura puede llevar a daños irreversibles en los organismos (Kaltschmitt & Hartmann 2001). En función de su temperatura "ver Tabla. I", los microorganismos involucrados en los procesos de degradación anaerobia se dividen en psicrófilos, mesófilos y termófilos (Wellinger *et al.*, 2013).

Tabla I. Bacterias clasificadas de acuerdo con la temperatura.

<i>Bacterias Psicrófilas</i>	<i>Rango entre 10 - 30 °C</i>
Bacterias Mesófilas	<i>Rango entre 30 - 40 °C</i>
Bacterias Termófilas	<i>Rango entre 50 - 60 °C</i>

Las bacterias psicrófilas son las de menor productividad, mientras que en el rango mesofílico es donde las bacterias se reproducen más fácilmente y son más tolerantes a cambios súbitos de temperatura. La mayoría de los microorganismos metanogénicos presentan sus mayores crecimientos en el rango mesofílico, ya que en este rango se encuentran la mayor cantidad de especies de bacterias anaeróbicas. Este rango mesofílico si bien no presenta más alto rendimiento de gas, proporciona al proceso de digestión anaeróbica una mayor estabilidad debido a la mayor variedad especies involucradas en el proceso fermentativo (Weiland, 2001). Por otro lado, las bacterias termofílicas presentan las mayores tasas de crecimiento específico junto a la mayor producción de biogás. La alta temperatura que estas bacterias pueden soportar garantiza más alta tasa de destrucción de gérmenes patógenos, sin embargo algunos estudios muestran que se verían más perjudicadas con la inhibición por acumulación amoníaco (NH₃) que las bacterias asociadas a la biodigestión mesofílica (Hansen *et al.*, 1992).

El rango termofílico, sugiere un gasto energético considerable que sólo se justifica si es necesario el exterminio de gérmenes nocivos como es el caso del tratamiento de aguas negras o cloacales o materias orgánicas como sustrato que pueden ser portadoras de enfermedades (Weiland, 2001). En contrapartida este rango es más inestable y susceptible a disturbios y variaciones en el flujo de suministro de sustrato orgánico.

b) pH

Al igual como ocurre con la temperatura, los microorganismos anaeróbicos involucrados en las diferentes etapas de la descomposición de la materia orgánica necesitan de diferentes valores de pH para un óptimo desarrollo.

El pH del proceso está primeramente determinado por la composición del sustrato orgánico sometido a digestión anaeróbica (ácidos orgánicos e inorgánicos tanto fuertes como débiles y los álcalis) y luego por los ácidos grasos volátiles y otros elementos producidos durante el proceso de fermentación anaeróbica como es el dióxido de carbono.

Las bacterias fermentativas hidrolíticas y acidogénicas son menos sensibles a las variaciones de pH, siendo el ideal entre 5,2 y 6,3 (Weiland, 2000). Estas bacterias pueden seguir transformando el sustrato orgánico a valores que pueden oscilar entre los 4,0 y 8,5 siendo su actividad ligeramente disminuida. Por otro lado las bacterias metanogénicas dependen completamente de un pH cercano a la neutralidad, estando el rango ideal entre los 6,8-8,0 (Lebuhn *et al.*, 2008).

Si el proceso anaeróbico se le adiciona una gran cantidad de alimento en un lapso de tiempo breve o las arqueas metanogénicas resultan inhibidas por alguna razón, la concentración de los metabolitos ácidos se eleva. Sin embargo la biodigestión anaeróbica es un proceso auto regulado por la capacidad tampón o buffer del medio a menos que tenga lugar una perturbación de una magnitud tal, que exceda la capacidad de carga del sistema y agote esta capacidad tampón (Kaltschmitt & Hartmann 2001).

Para garantizar la estabilidad de los procesos anaeróbicos, en todas sus etapas, el valor del pH del sistema es determinado por la capacidad tampón del carbonato CO_3 y del ion amonio (NH_4^+). Así el valor del pH se reduce cuando la capacidad tampón del sistema se agota cuando ocurre una acumulación muy grande de ácidos orgánicos (PROBIOGÄS, 2010).

Los ácidos volátiles producidos en los procesos de digestión anaerobia tienden a reducir el pH del medio y esta baja puede ser drástica cuando la alcalinidad no resulte lo suficientemente elevada, causando un desequilibrio perjudicial a las bacterias acetogénicas y las arqueas metanogénicas que dependen de un pH cercano a la neutralidad (Lebuhn *et al.*, 2008). Esto puede conllevar a una rápida disminución o cese total en la producción de metano y con la consiguiente acumulación de ácidos junto al aumento de sustancias inhibitorias altamente tóxicas como el ácido sulfhídrico (PROBIOGÄS, 2010).

La acidificación del sistema son los causantes de los mayores problemas que generalmente enfrentan las tecnologías de biodigestores que buscan controlar los procesos anaeróbicos.

Este mismo valor de pH puede aumentar cuando la descomposición anaeróbica ocurre en compuestos (nitrogenados) ricos en urea y proteínas que ocasionan la liberación de ion amonio (NH_4^+). El ion amonio en presencia de agua y en función de la temperatura y del pH puede incrementar el desplazamiento del equilibrio $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ hacia el NH_3 (amoníaco) que es tóxico para las arquea metanogénicas (PROBIOGÄS, 2010).

c) NUTRIENTES.

Los diferentes microorganismos involucrados en la descomposición anaeróbica tienen necesidades nutricionales propias tales como vitaminas, macro y micronutrientes. La presencia de nutrientes condiciona el crecimiento y la actividad de las diferentes poblaciones de bacterias anaeróbicas.

Los microorganismos anaerobios tienen una excepcional capacidad adaptiva a parámetros nutricionales, que adicionado a la gran variedad de cultivos, resulta difícil delimitar los máximo y mínimos nutricionales de cada especie de organismo anaeróbico (PROBIOGÄS, 2010).

El carbono y el nitrógeno son las principales fuentes de alimentación de las bacterias metanogénicas. El carbono es el principal nutriente porque constituye la principal fuente de energía mientras que el nitrógeno le sigue en importancia ya que posibilita la síntesis enzimática necesaria para la realización del metabolismo celular. La relación entre estos elementos (C/N) en el sustrato debe ser la correcta. Una relación C/N muy elevada reduce la actividad metabólica, el carbono no es completamente degradado disminuyendo la producción de metano. Si la relación de C/N es muy pequeña la abundancia de nitrógeno puede causar acumulación de amoníaco (NH_3) que puede inhibir el crecimiento de las bacterias anaeróbicas. Una relación C/N adecuada es la que está entre los (10-30/1). Al igual que el carbono y el nitrógeno, el azufre y el fósforo son importantes y la reacción adecuada entre C:N:P:S deber ser 600:15:5:3 (Weiland, 2000).

También los micronutrientes son muy importantes, aunque su importancia puede variar entre las diferentes especies de bacterias anaeróbicas y la concentración que puede tener una amplia variación. Entre los micronutrientes se encuentran, el selenio (Se), magnesio (Mg), níquel (Ni), molibdeno (Mo), tungsteno (W), cobalto (Co), siendo el manganeso Mn (Mn) y el hierro (Fe) nutrientes esenciales para el transporte de electrones (Abdoun, 2009; Bischoff, 2009).

d) INHIBIDORES

Se consideran sustancias inhibidoras a aquellas sustancias que pueden retardar, en pequeñas cantidades, el proceso de fermentación anaeróbica y en concentraciones tóxicas pueden ocasionar la detención del proceso anaeróbico. Hay que distinguir entre las sustancias intermediarias propias de metabolismo anaeróbico, ya que cualquier sustancia en elevadas cantidades y su consiguiente acumulación puede ser perjudicial y traer trastornos a la propia estabilidad del sistema, de aquellas sustancias que son extrañas a la actividad metabólica y son incorporadas al proceso de digestión anaeróbica como parte del sustrato (PROBIOGÄS, 2010). En este sentido los antibióticos, micronutrientes en dosis elevadas, herbicidas, solventes,

metales pesados como el cobre (Cu) son considerados importantes inhibidores de la actividad bacteriana (PROBIOGÄS, 2010).

3.3 CARACTERÍSTICAS DEL BIOGÁS

El Biogás, es una mezcla gaseosa con participación variable de los gases que la componen, debido en parte a la composición del residuo utilizado y a las condiciones inherentes al funcionamiento del proceso de digestión como pH, alcalinidad, dieta suministrada, temperatura y sistema empleado en la producción pecuaria, (Coldebella *et al.*, 2006).

La composición del biogás está dada por la participación de varios gases en concentración variable tales como. Metano (CH₄) 50-80%, Dióxido de Carbono (CO₂), 20-40%, Hidrógeno (H₂) 1-3%, Nitrógeno (N₂) 0,5-3%, Sulfhídrico (H₂S), y otros como (CO y NH₃ 1-5 %), (Zanette, 2009).

Dependiendo de los contenidos de grasas, carbohidratos y proteínas de los distintos sustratos, la fracción de metano contenida en el biogás varía entre 50 % y 75% en volumen. En "ver Tabla II" pueden observarse los principales componentes del biogás y los rangos en que varían sus diferentes concentraciones.

Tabla II. Rendimiento y concentración de metano para distintos tipos de compuestos orgánicos.

Grupos de sustancias	Rendimiento de biogás	Fracción de metano
	m ³ /t SV	[%]
Proteínas digeribles	600-700	70-75
Grasas digeribles	1000-1250	68-73
Carbohidratos digeribles	700-800	50-55

Fuente: Guía de planificación para proyectos de biogás en Chile

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 COLECTA DE LA MUESTRA.

4.1.1 ORIGEN DE LA MUESTRA.

Los peces se encuentran en jaulas flotantes en el mar y están separados por diferentes estados de crecimiento hasta alcanzar las tallas de cosecha (aproximadamente 4.5-5.0 kg). La muestra analizada proviene de mortalidades ocurridas en individuos adultos de salmón (*Salmo salar*), que se encuentran completando la etapa de crecimiento en jaulas en el mar.

La colecta de muestra de mortalidad de salmón (MS) proviene de una empresa salmonera localizada en la comuna de Hualaihué, ubicada en la Provincia de Palena Región de Los Lagos ($41^{\circ}58'15.96''\text{S}$; $72^{\circ}28'38.97''\text{O}$) "ver Fig.2".

Esta unidad de cultivo está destinada exclusivamente a la etapa de engorde de salmones a partir de peces de tamaño smolt (aprox.150gr) provenientes de distintas unidades de producción de agua dulce.

Fig.2 : 1-2 Fotografía satelital área piscicultura. 1.(A) piscicultura. 2. (A) Piscicultura. (B-C): Jaulas de engorda salmón.



4.1.2 ENSILAJE DE MORTALIDAD

Las patologías infecciosas (virus, hongos, bacterias) responden a un porcentaje importante (20%) entre las causales de muerte de peces (salmón). Las crisis sanitarias de la industria salmonera producto de enfermedades infecciosas, indujo a la autoridad sanitaria a establecer rigurosas medidas de manejo y fiscalización de las mismas en todos los procedimientos de los residuos clasificados como mortalidad de salmón (MS). En el marco de estas medidas, todas las empresas salmoneras quedan obligadas a implementar el ensilaje de mortalidad siguiendo protocolos claramente establecidos.

Los peces que mueren durante el proceso de cría en las unidades de cultivo son colectados en forma diaria de las jaulas de cría para ser dispuestos en el mismo día en un estanque de acopio, dando cumplimiento a las reglamentaciones sanitarias vigentes.

De esta manera, la mortalidad de salmón pasa por los siguiente etapas: a) colecta diaria de peces, b) registro de contabilización del número de peces muertos y peso total de la mortalidad diaria, fecha, hora, especie producida, causa de muerte, c) proceso de trituración en un estanque triturador, d) adición de conservante en el estanque triturador, e) bombeo de la materia orgánica a estanque de acopio, f) ensilaje en estanque de acopio (semanas o meses), g) previa cuantificación del residuo, transporte especializado desde el estanque de acopio, h) finalmente disposición en relleno sanitario autorizado para esta biomasa.

Todos los pasos deben estar registrados en una documentación auditable y ser informados a la autoridad (sernapesca) semanalmente. El material y maquinaria utilizada junto al personal de la empresa productora, transportadora y relleno sanitario, deben estar capacitados por el Reglamento de Medidas de Protección, Control y Erradicación Enfermedades de alto riesgo para especies (D.S. NA 319-01).

4.1.3 PROCESO DE ENSILAJE

Los peces muertos son triturados en una maquinaria de ensilaje especialmente destinada para este propósito (Aquainox 770L-EQ), que tiene una capacidad máxima de procesar 10 kg de pescado / minuto y 600 lts de capacidad, de tal modo que los peces son reducidos a una pasta muy fina y homogénea (partículas entre 2 y 5 mm).

Del estanque triturador, la mezcla es bombeada al estanque de acopio "ver Fig.3". El tiempo de permanencia de la mortalidad en este último, en su forma de ensilaje, es variable (semanas o meses), siendo el límite máximo, que fija la autoridad en 6 meses, motivo por el cual, esta debe ser conservada con un agente químico (ácido fórmico (CH_2O_2)) habilitado por la autoridad sanitaria.

Fig.3. 1-2 Fotografía de estanque para mortalidad de salmón. 1:(A) Estanque triturador. (B): Depósito ácido fórmico (C): estanque acopio. 2: (A) Estanque de acopio.



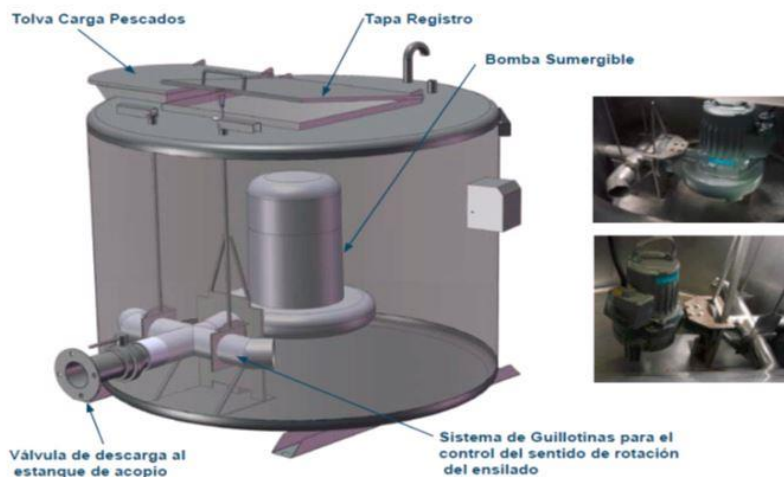
La función del triturador "ver Fig 4" es trabajar en forma continua moliendo y recirculando los residuos hasta alcanzar una mezcla muy homogénea. Una bomba peristáltica (IWAKI Modelo N° EWB21Y2) aplica el ácido fórmico de acuerdo al peso de la materia orgánica.

De esta manera, a la pasta homogénea, se le adiciona ácido fórmico al 60 %, en una relación 35 gramos de ácido fórmico por kilo de salmón triturado.

Una vez que la mezcla (residuo + ácido) es homogénea, el pH es medido utilizando un pH-metro manual (Hanna Instruments, modelo pHep HI 98127) debiendo

ser menor a 4. Luego de concluida esta fase, el residuo es bombeado al contenedor de acopio, el cual posee un agitador que trabaja continuamente. El pH en el estanque de acopio es verificado constantemente. Todo este proceso debe quedar registrado en una planilla auditable de control.

Fig.4. Esquema de estanque triturador



4.1.4 COLECTA DE LA MUESTRA DE MORTALIDAD DE SALMÓN (MS).

En un test de potencial metanogénico específico no es deseable que un agente químico extraño a la materia analizada inhiba o incluso detenga el proceso de fermentación anaeróbica. Por ser el ácido fórmico un buen conservante, este podría influir en la actividad de las bacterias anaeróbicas en un grado no determinado. Por tal motivo, las muestras de mortalidad de salmón (MS) se tomaron del estanque de mezcla ya homogeneizada sin la adición del ácido fórmico.

En concordancia a los protocolos de análisis del Centro Internacional de Energías Renovables y Biogas (Cibiogas-ER), el volumen requerido de la muestra debe ser de 1 litro. Por consiguiente, la colecta de la muestra se realizó deteniendo la agitación del estanque, tomando 3 muestras de 0,35 L, las cuales fueron integradas inmediatamente hasta completar un envase de polipropileno de 1 L.

La muestra fue congelada de inmediato a (-22°C) y almacenada por 5 días esperando el término del proceso de autorización para transporte por parte de las autoridades sanitarias competentes de Chile y Brasil. Concluidos los trámites legales de transporte de material biológico la muestra fue transportada al laboratorio del Centro de Energías Renovables y Biogás (Cibiogas-ER) en Foz de Iguazú-Brasil, en condiciones refrigeradas para su análisis.

4.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS.

Las muestras provenientes de mortalidad de salmón (MS) fueron ingresadas al laboratorio, procediendo para su manipulación a la descongelación de la misma a temperatura ambiente (24 °C). Inmediatamente descongelada, la muestra fue nuevamente homogeneizada con una paleta plástica en forma manual.

Una submuestra de 250 ml se destinó para la determinación de pH, sólidos totales (ST), sólidos fijos (SF) y sólidos volátiles (SV) dejando el volumen restante (750 ml) refrigerado a 2 °C para el ensayo de potencial metanogénico bioquímico específico (PME). Se contempló un volumen adicional de 300ml de reserva por la eventualidad de tener que repetir algún análisis.

Un resumen de las metodologías utilizadas es resumido en "ver Tabla. III".

Tabla III : Análisis físico químicos realizados a la muestra de " Mortalidad de salmón"

Parámetro	Método	Referencia
pH	4500-H ⁺	SMWW (2012).
Sólidos Totales (ST)	SMWW 2540 B	SMWW (2012).
Sólidos Fijos (SF)	SMWW 2540 E	SMWW (2012).
Sólidos Volátiles (SV)	SMWW 2540 E	SMWW (2012).

a) pH.

El pH fue verificado electroquímicamente (SMWW, 2012 – Método 4500 – H⁺). Para ello, una fracción de la muestra 250 ml se colocó en un vaso de precipitado, dejando en reposo hasta alcanzar la temperatura ambiente del laboratorio (24°C, temperatura controlada). Alcanzada la temperatura ambiental, se procedió a homogeneizar el contenido y realizar tres lecturas de pH y temperatura en un pH-metro (Metrohm modelo: 827 pH Lab).

b) SÓLIDOS TOTALES (ST)

Los sólidos totales (ST) se determinaron siguiendo un análisis gravimétrico determinó la concentración de los sólidos totales (ST) a través de las siguientes etapas.

- I. Tres (3) crisoles de porcelana de 90 mm de diámetro son secados a 105 °C y tarados en una balanza analítica de precisión (0,1gr) (BEI serie M5). Determinando el peso (P1).
- II. Seguidamente se adiciono 65 ml volumen de la muestra de mortalidad (MS) en el crisol. Los crisoles son llevados a una estufa para evaporación de la humedad presente en la muestra de MS. La temperatura de funcionamiento de la estufa está entre 104±1°C por 12 horas o hasta alcanzar el peso constante (P2).
- III. Los crisoles fueron retirados de la estufa y llevados a un desecador donde se enfriaron hasta alcanzar la temperatura ambiente (24°C) para proceder seguidamente a registrar el peso de los mismos.

El ciclo de secado, enfriamiento y desecado debe repetirse hasta alcanzar un peso constante entre mediciones o sea que, la diferencia con respecto al pesaje anterior sea menor a un 4 % o una diferencia menor a 0,5 mg. Solo el primer secado

de la materia orgánica en la estufa tiene una duración de 12 horas. De ser necesario repetir el secado en la estufa, los tiempos de los mismos se reducen a 1 hora. La ecuación para determinar los ST fue la siguiente.

$$ST = \text{mg/L} = (P2 - P1)/V_m$$

Donde: P1= peso en gramos del crisol seco a 105°C, P2= peso en gramos del crisol seco + muestra de mortalidad de salmón (MS), seco a 105°C, V_m = volumen de la muestra en mililitro (ml).

c) SÓLIDOS FIJOS (SF)

Los Sólidos fijos corresponden a los residuos que permanecen después de someter a incineración los sólidos totales (ST). Los sólidos fijos (SF) fueron determinados por análisis gravimétrico como se describe a continuación.

- I. Una vez cuantificados los ST, se colocan los crisoles de porcelana en una mufla a 550°C (Nobus modelo N1100HC) por una 1 hora, para reducir a cenizas la materia orgánica presente en la muestra. La calcinación a 550 °C gasifica la materia orgánica, restando en el crisol únicamente la materia inorgánica correspondiente a los SF. Luego de este procedimiento, los crisoles se llevan temperatura ambiente (24°C) dentro de un desecador. para luego registra el peso del crisol (P3).
- II. El ciclo de secado, enfriamiento y desecado debe repetirse hasta alcanzar peso constante entre mediciones o sea que la diferencia con el pesaje anterior sea menor a un 4 % o una diferencia menor a 0,5 mg. La ecuación para determinar los SF es la siguiente.

$$SF = \text{mg/L} = (P3 - P1)/V_m$$

Donde: P1= peso en gramos del crisol seco a 105°C, P3= peso en gramos del crisol seco + muestra de mortalidad de salmón (MS), calcinada a 550 °C, Vm= volumen de la muestra en mililitro (ml).

d) SÓLIDOS VOLÁTILES (SV)

Los sólidos volátiles son todos aquellos sólidos que pueden ser volatilizados por calcinación a 550 °C por 1 hora, los cuales pueden ser determinados por la diferencia entre ST y SF. La ecuación para determinar los SV es la siguiente.

$$SV = ST - SF.$$

4.3 POTENCIAL METANOGENICO BIOQUÍMICO ESPECÍFICO (PME).

4.3.1 INÓCULO.

Para dar comienzo a un test de tipo fermentativo para la determinación de los potenciales metanogénicos de la muestra de mortalidad, resulta primordial disponer de las bacterias anaeróbicas que iniciaran el proceso fermentativo de la materia orgánica contenida en la muestra de mortalidad de salmón (MS).

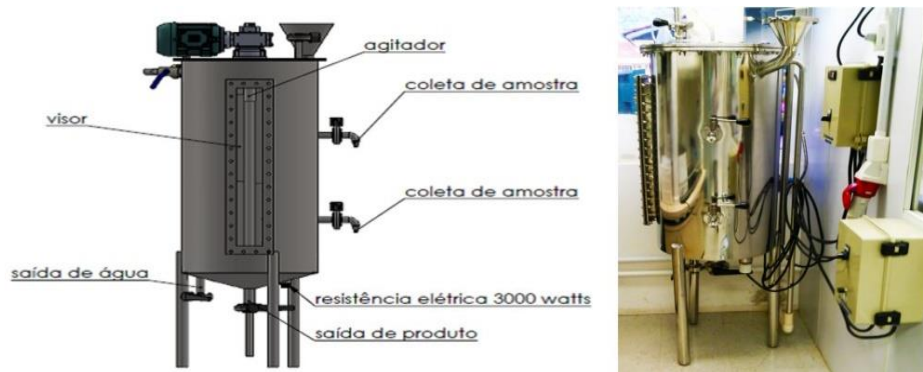
El inóculo es quien contiene a las bacterias necesarias para la digestión anaeróbica. El inóculo utilizado fue suministrado desde un Biodigestor semi-continuo perteneciente al laboratorio del Centro Internacional de Energías Renovables y Biogás. Este centro de referencia de las ONU y FAO es el único acreditado en América Latina para la determinación del potencial metanogénico específico y quien mantiene cepas de bacterias anaeróbicas, exclusivamente destinadas al análisis del potencial metanogénico específico a través del método fermentativo.

La biodiversidad de bacterias anaeróbicas presentes en el inóculo, así como su acondicionamiento resultan primordiales en la calidad de los resultados de los ensayos de PME por el método fermentativo.

La composición del inóculo consiste en una mezcla de desechos orgánicos, que son colectados periódicamente de un profuso número de efluentes de cerdos, bovinos y lodo de estación de tratamiento cloacal de la Región Oeste del Estado de Paraná, con el objetivo de mantener una gran biodiversidad de bacterias anaeróbicas.

Cada vez que se realiza un ensayo de PME el inóculo, previo a su utilización, pasa por un periodo de acondicionamiento, garantizando un óptimo desempeño de las bacterias involucradas en la generación de biogás y biometano. Este acondicionamiento consiste en el suministro al biodigestor "ver Fig.5". de una alimentación especial cada 24 horas por 7 días. Esta alimentación consiste en una mezcla de diferentes fuentes de carbono (harina de maíz 20%, aceite 20%, pasto seco 25%, leche en polvo 25%, proteína de soya 10%) en la proporción de 0,5g de SV/L.

Fig.5: Incubadora de Inóculo.



Fuente. De Bona et al., 2015 y Cibiogas-ER

4.3.2 ENSAYO DIGESTIÓN ANAERÓBICA.

El experimento se realizó en biodigestores por lotes o también llamado discontinuo, en que la carga orgánica es adicionada al biodigestor en una sola vez al iniciar el ensayo y que no existe flujo de entrada o salida de productos mientras la reacción está aconteciendo bajo condiciones mesofílicas controladas ($37,0^{\circ}\text{C} \pm 2,0^{\circ}\text{C}$) y anaerobiosis estricta, con el fin de atender las recomendaciones de la norma VDI 4630 (2006) para aplicación en test de PME de residuos agropecuarios y agroindustriales.

Para los propósitos de validación de los ensayos, estos se realizan en triplicado, sometidos a digestión anaeróbica 3 diferentes sustratos:

I) Muestra de mortalidad de salmón (MS) más inóculo. Esta es la muestra a la que se le quiere determinar el PME.

II) Control negativo (Inóculo). El inóculo está constituido de materia orgánica que tiene un potencial de generación de metano (PME). Este PME debe ser sustraído al PME de la muestra analizada (MS).

III) Control positivo (Celulosa microcristalina Sigma-Aldrich® más inóculo): La microcelulosa cristalina tiene un PME conocido, que sirve como referencia y permite validar que todos los protocolos de análisis se han seguido correctamente.

El biodigestor utilizado que alberga el control positivo, negativo y la muestra de mortalidad de salmón (MS) para análisis del PME, son matraces Kitasato que tienen una capacidad de 250 ml. Estos matraces (Kitasato) son acoplados herméticamente a los tubos eudiómetros graduados (escala de 1 ml) con capacidad de 500 ml. Estos eudiómetros son los que registrarán la producción de Biogás proveniente de los biodigestores.

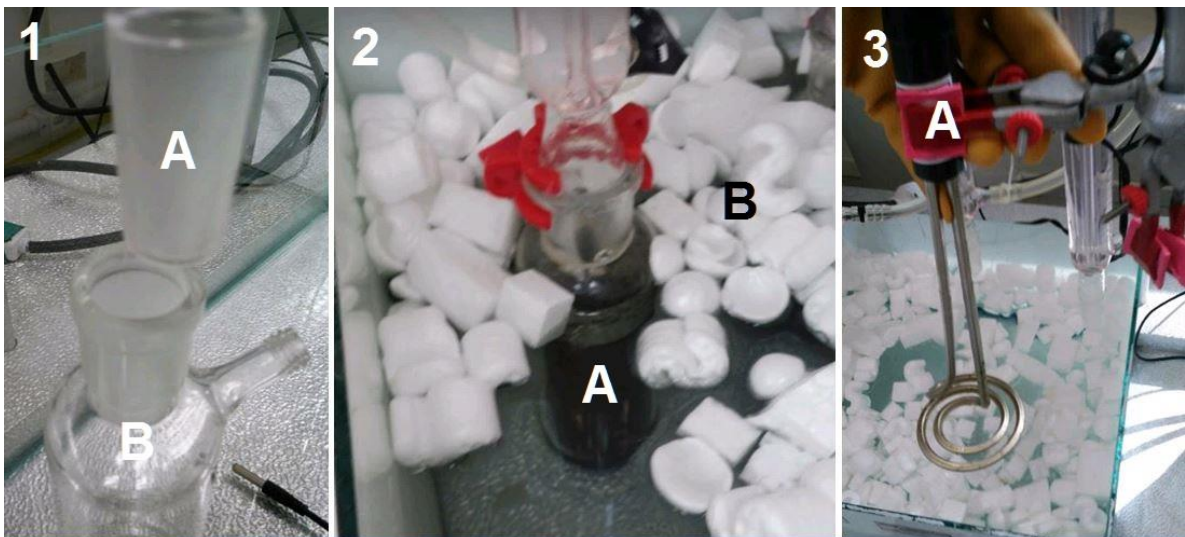
Antes de colocar la materia orgánica al interior de los biodigestores e iniciar el ensayo de PME, los biodigestores, tubos eudiómetros y conexiones son purgados con nitrógeno gaseoso (N_2) para eliminar el O_2 , garantizando las condiciones anaeróbicas

necesarias para las bacterias y asegurar el cierre hermético del digester, descartando fugas de biogás.

Para dar comienzo al ensayo de PME, la muestra de (MS) fue medida en una proporción de 3:1 (Masa: Inóculo,) completando 200 ml.

Una vez colocada la muestra en el biodigestor (kitasato) "ver Fig. 6". y previa verificación que todas las conexiones se encuentran debidamente ajustadas, los biodigestores se sumergen en agua tibia (baño maría) cuya temperatura se controla termostáticamente en un rango de entre 36-38 °C.

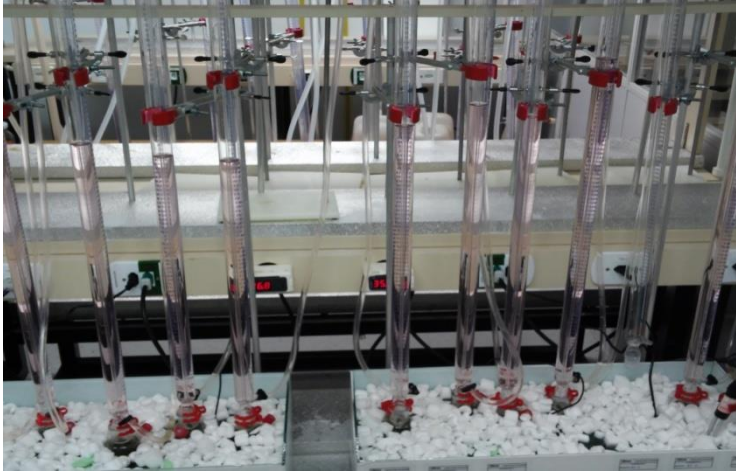
Fig.6: (1-2-3) módulos de incubación. 1:(A) Tubo eudiómetro, (B) Matraz Kitazato. 2: (A) Matraz Kitazato con muestra en su interior acoplado tubo eudiómetro (B) Poliuretano expandido. 3: (A) Resistencia baño maría.



Las piletas de incubación tienen poliuretano expandido en la superficie del agua con el objeto de brindar un aislamiento térmico lo que garantiza una temperatura homogénea en toda la superficie del digester "ver Fig.7" a los largo de los 30 días que tomó el experimento.

La producción de biogás fue medida diariamente por desplazamiento del líquido al interior de los tubos eudiómetros y expresada en litros normalizados por kg de SV (LN.kg.SV⁻¹) a condiciones de temperatura y presión normal (TPN) 273 °K y 101325 Pa.

Fig.7: Tubos eudiómetros en bateas a baño maría



Para determinar la composición porcentual del metano presente en el biogás, esta fue medida dos (2) veces durante el periodo de incubación (siempre que exista volumen de gas suficiente), al finalizar la primera semana de comenzado el ensayo metanogénico (PME) y la segunda medición al finalizar el experimento utilizando para tal efecto un analizador multigas (DRÄGER X-AM 7000) con sensores electroquímicos, infrarrojos y catalíticos de oxidación.

RESULTADOS

5.1 ANALISIS ELECTROQUÍMICOS Y GRAVIMÉTRICOS.

Los resultados obtenidos luego de realizar los ensayos de Potencial Metanogénico Bioquímico Específico (PME) para la determinación de la producción de biogás y metano presentes en los residuos orgánicos se describen a continuación.

En "ver Tabla. IV" se presentan los resultados obtenidos de las mediciones de pH . Este parámetro se mantuvo constante en todo el proceso de análisis (31 días).

Tabla IV. Resultados de pH obtenidos de mortalidad de salmón (*Salmo salar*)

Parámetro	Resultado	Unidad
**pH	7,7 inicio (PME)	----
	7,7 final de (PME)	

En "ver Tabla. V" se expresan los valores mínimos de los triplicados (desvío padrón máx.10%) para Sólidos Totales, Sólidos Fijos y Sólidos Volátiles, en base seca y en base húmeda.

Tabla V. Valores ST, SV, SF para mortalidad de salmón (*Salmo salar*)

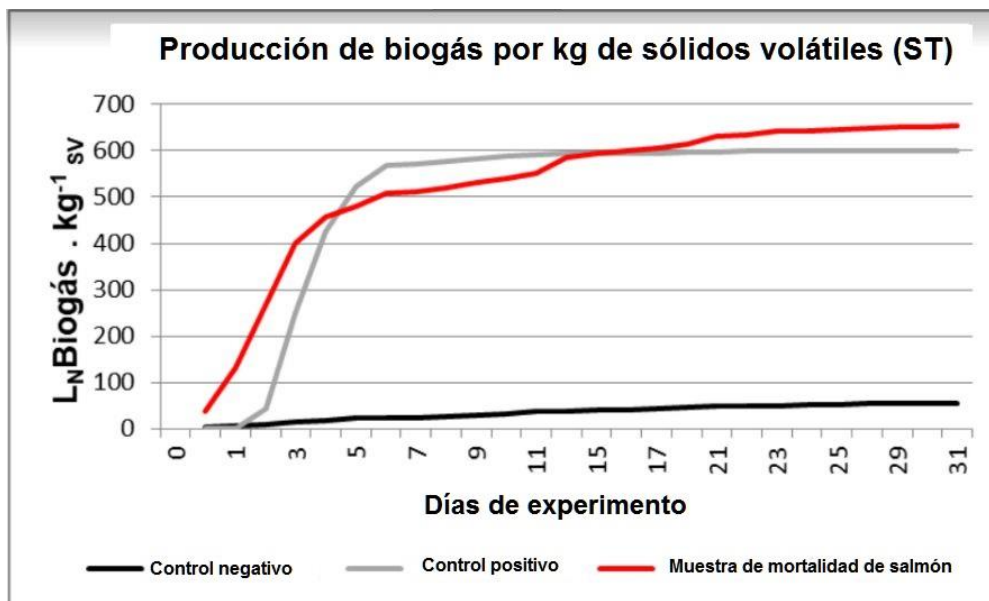
ST (g/kg)*	SV (g/kg)**	SF (g/kg)**
177,0 valor mínimo	921,9 valor mínimo	77,6 valor mínimo
177,6 promedio	922,1 promedio	77,9 promedio
178,3 valor máximo	922,2 valor máximo	78,4 valor máximo

*Base húmeda ** Base seca

5.2 POTENCIAL METANOGÉNICO BIOQUÍMICO ESPECÍFICO (PME).

En "ver Fig. 8", muestra la gráfica de producción comparativa de biogás en la muestra de mortalidad de salmón, control negativo (inóculo) y control positivo (celulosa microcristalina Sigma-Aldrich®). Lo valores se refieren al volumen acumulado a lo largo del experimento. A los 31 días de iniciada la incubación se consideró concluido el experimento de acuerdo al criterio de la norma VDI 4630, (2006) cuando la tasa de producción diaria de biogás fue inferior al 1 % del volumen total de gas producido

Fig. 8. Producción diaria de biogás de RS durante 31 días



Todos los resultados obtenidos de la muestra de mortalidad de salmón (MS) para la producción de biogás y metano, obtenidos del ensayo de potencial metanogénico bioquímico específico (PME), se encuentran expresados en "ver Tabla. VI".

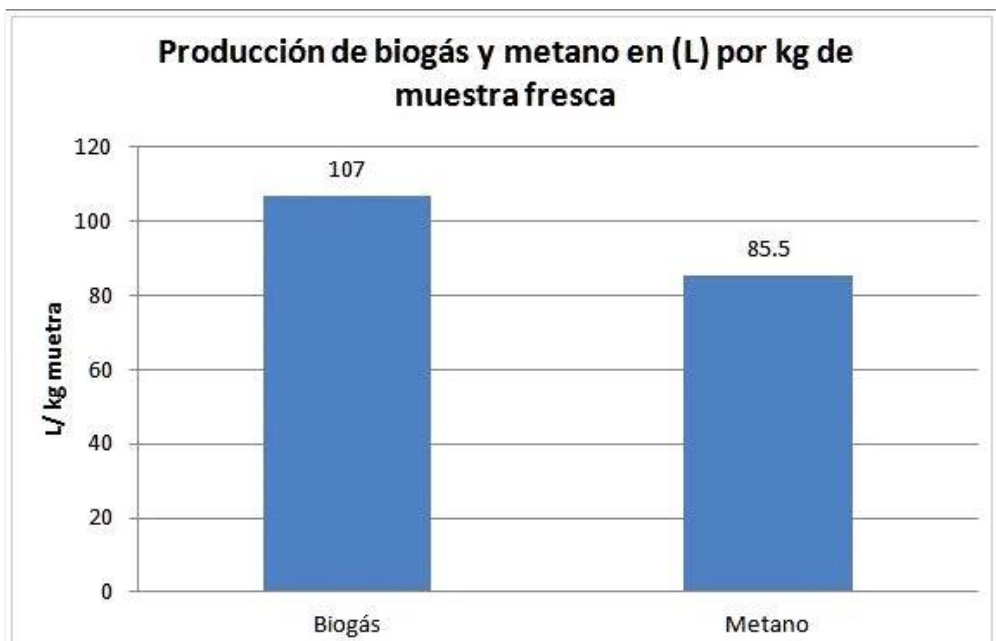
Tabla VI.- producción de biogás y metano del residuo de la mortalidad de salmón (*Salmo salar*)

Muestra	Masa fresca (kg) necesaria para 1 kg de SV	Producción de biogás LN biogás.kg ⁻¹ SV	Producción de biogás (L) por kg de masa fresca	Producción de metano LN CH ₄ .kg ⁻¹ SV	Producción de metano (L) por kg de masa fresca
Mortalidad de salmón	6,1	653	107	522	85,6

LN=Litros Normalizados L=Litros

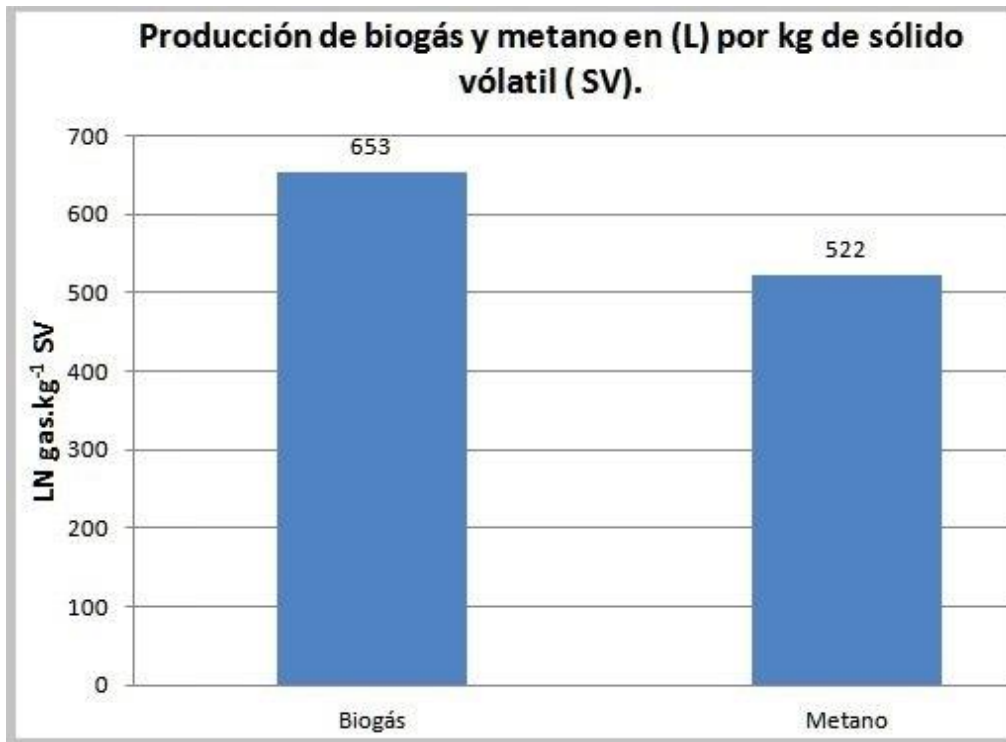
En "ver Fig. 9" se muestra el potencial de producción de biogás y metano (CH₄) presente en la masa fresca de mortalidad de salmón (muestra fresca).

Fig. 9. Producción de biogás y metano en masa fresca de mortalidad de salmón (*Salmo salar*).



En "ver Fig. 10" se muestra el potencial de producción de biogás y metano (CH₄) presente en los sólidos volátiles (SV) de mortalidad de salmón, expresados en (L) por kg de SV.

Fig. 10 Producción de biogás y metano en sólidos volátiles de mortalidad de salmón (*Salmo salar*).



DISCUSIÓN

Los residuos provenientes de la industria de proteína animal suelen ser propicios para la generación de biogás y biometano debido a la alta concentración de materia orgánica de la que están constituidos (Bayr *et al.*, 2012a; Bayr *et al.*, 2012b) entre los que se cuentan fundamentalmente lípidos y proteínas. La biodigestión anaerobia (DA) de estos residuos encaminada a la producción de energía, resulta tremendamente importante debido a los grandes volúmenes que se producen cuando provienen de la industria productora de proteína animal. Este potencial metanogénico específico (PME) es atribuido principalmente a los macro y micro nutrientes que la componen y la óptima capacidad tampón que tiene este tipo sustrato para el adecuado crecimiento bacteriano (Massè *et al.*, 2000).

La materia orgánica más ampliamente usada para la DA con el objeto de producir energía y reducir la materia orgánica, es aquella que no es considerada materia noble, es decir son aquellos residuos para los cuales no existe alternativa de utilización. En esta categoría se encuentra los líquidos cloacales urbanos y los estiércoles o purines de las pecuarias tradicionales (aves, bovinos y cerdos).

Los resultados en la mortalidad de salmón (MS), obtenidos en este trabajo, muestran que la producción de metano, expresada como litros de CH₄ por kilogramo de sólidos volátiles (LNCH₄/kg⁻¹.SV), es mayor a cualquier residuo de pecuarias tradicionales y las propias fecas de salmón (*Salmo salar*) e inferior a los residuos frescos de salmón de plantas de proceso. Un estudio realizado por Palaneck (2015) reporta el número de litros (L) de metano por kg de sólidos volátiles producidos por el estiércol de diferentes pecuarias (aves, cerdos, bovinos) utilizando la misma metodología de análisis para la producción de biogás y metano (VDI 4630, 2006) fueron 210.9 L para bovino de leche; 373,7 L para cerdo y 149,4 L para aves.

El presente estudio expresa que la concentración de CH₄ en el biogás por kg de sólidos volátiles, alcanza el 79,9%, lo que representa una alta presencia de metano en el biogás. En los estiércoles de las pecuarias tradicionales esta relación biogás-metano es menor, fluctuando entre los (45 a 65 %) para aves y bovinos hasta un

máximo de 78 % en algunos estadios de crecimiento (lechones) de cerdos (Palaneck, 2015).

Al comparar los resultados de la mortalidad de salmón (MS) con otros residuos provenientes de la misma cría del salmón, como son las fecas, encontramos que la mortalidad de salmón fue superior tanto en la producción de biogás y metano como en la concentración de metano en el biogás. (fecas: 641 LN.biogás.kg⁻¹ SV y 491 LN.CH₄.kg⁻¹ SV y CH₄ 76 %), (Palaneck 2015) .

Sin embargo, la producción de CH₄ de MS es menor a cualquier residuo fresco de salmón (piel, esqueleto, vísceras) en que el menor valor alcanzado fue de 631 L de CH₄ en piel y la mayor diferencia con MS, se alcanzó en los residuos combinados (piel, esqueleto, vísceras) con 731L de CH₄.kg⁻¹.SV (Datos no publicados 2017).

Las diferencias entre los PME obtenidos para estiércoles o purines y la mortalidad de salmón pueden ser explicadas desde la perspectiva de la calidad nutricional de los residuos orgánicos involucrados. Orrico *et al.*, (2011) señalan que los purines de bovino tienen una alta presencia de carbohidratos de lenta degradabilidad y una elevada cantidad de lignina que acaba dificultando la digestión animal y que no es aprovechada en la digestión anaeróbica (DA) mientras que los purines de aves tienen una alta fracción de lignina y baja concentración de lípidos con respecto a las otras pecuarias. El mismo estudio señala que los purines de cerdo tienen una producción de CH₄ y biogás mayor entre las otras pecuarias, debido a que tienen una alta concentración de sólidos volátiles (87%), con proteínas, lípidos, carbohidratos de rápida degradabilidad y bajos en contenido de lignina y carbohidratos de lenta degradación. Estudios señalan al estiércol enriquecido con macromoléculas degradables, como el más útil para el proceso de DA, puesto que los estiércoles puros tienen bajo desempeño de actividad anaeróbica por un desbalance de nutrientes y la presencia de amoníaco (NH₃) que restringe la actividad metanogénica (Zhang et al., 2014).

La alta producción de biogás y metano a partir de la mortalidad de salmón se debe a que la materia orgánica del salmón se la sitúa como una fuente rica en proteínas, grasas, potasio, fósforo, sodio, magnesio y calcio; elementos importantes para el proceso de digestión anaeróbica (Dore, 1990). La abundancia de proteínas y especialmente de lípidos presentes, preferentemente concentrados en el músculo, hígado y las vísceras, son los mayores precursores de metano en la digestión anaeróbica (Lesteur *et al.*, 2010; Ludorf y Mayer, 1978).

La concentración de (SV) presentes en la mortalidad de salmón en este estudio, fue de un (SV/ST) 92%; la presencia de sólidos volátiles (SV) guarda relación directa con la cantidad de biogás y metano producido ya que es a partir de esta fracción orgánica (SV) desde donde se realiza la conversión a biogás. De este modo, cuanto mayor sea la fracción de SV, mayor es el potencial teórico de un sustrato en producir biogás (Oliveira & Hiragashi (2006) citado por Soethe, 2014).

La concentración de sólidos volátiles (SV/ST) provenientes de la mortalidad de salmón es superior a los valores encontrados en los purines de las principales pecuarias de la Región Oeste de Paraná- Brasil que se sitúan entre los 63 y 78 % y 81,7 % para fecas de salmón Palaneck (2015). Valores mayores en sólidos volátiles son reportados en la literatura para los residuos de alimentos 95,9 % Yang *et al.* (2015) Zhang *et al.* (2007). En la acuicultura, peces como la tilapia se reportan valores de SV entre 83 % y 93,4 % (Soethe, 2014; Souza 2010).

Si bien, los sólidos volátiles presentes en MS de este estudio, superaron el 90%, resultados de la concentración de sólidos volátiles obtenidos a partir de muestras de materia fresca de salmón (plantas de proceso), entregaron valores en piel (89 %), esqueleto (93%), vísceras (98%) (Datos no publicados 2017) y según la FAO citado por (Soethe, 2014) 95,2% proviene de la materia comestible (músculo). De los valores anteriormente citados y considerando la participación de la piel (2%), esqueleto (26,6%), vísceras (9%) y musculo (60%) en la biomasa total de salmón (Cavieres, 2010), existiría una pérdida de un 3 % en los sólidos volátiles en la mortalidad de salmón (MS) con respecto a residuos frescos. Esta pérdida de materia orgánica puede ser atribuida a un grado de degradación de la materia orgánica previa a la toma de la muestra.

Los sólidos volátiles de los residuos de mortalidad mostraron en los resultados de PME una buena degradabilidad, siendo este parámetro determinado por la producción de metano por unidad de sólidos volátiles por unidad de tiempo y a una temperatura determinada (Carlin 2015). El-Mashad y Zhang (2010) mencionan que para temperaturas mesófilas (35 °C) y con 30 días de fermentación anaeróbica, cada kilogramo de sólidos volátiles presentes en residuos de alimentos, tienen un potencial de producir hasta 353 litros de metano, valor inferior a los 522 litros de metano producido en la mortalidad de salmón. Otro estudio que confirma que la materia orgánica presente en el salmón tiene una alta capacidad de ser degradada en condiciones anaeróbicas (bioconversión) son los resultados de la materia orgánica fresca presente en el salmón (consistente en una mezcla de piel, esqueleto, vísceras) obtenidos de plantas de proceso y evaluado en su potencial metanogénico específico con el método fermentativo a (35 °C y 29 días). La fracción orgánica presente, fue determinada antes de entrar la materia residual al digestor (afluente) en 430.8 gr/L de sólidos volátiles (SV), este valor cae a 21,6 gr/L sólidos volátiles (SV), cuando la materia residual sale de un biodigestor (efluente) una vez concluido el proceso de digestión anaeróbica, es decir 95 % de los sólidos volátiles han sido degradados en un lapso de 29 días (Datos no publicados 2017).

Por otro lado, la velocidad de degradación de la materia orgánica en los primeros 8 días y una fuerte pendiente en la curva de producción de biogás desde el primer día de incubación (grafico de cinética de biogás), indican que la materia orgánica (SV), presente en la mortalidad de salmón también es fácilmente degradable en condiciones anaeróbicas y mesófilas.

En el proceso de digestión anaeróbica (DA), el pH de los residuos es importante al favorecer el proceso de producción de metano Angelidaki & Sanders (2004). El pH correspondiente a la muestra de salmón medido antes y después del ensayo de PME indica que este parámetro no retrasó la actividad anaeróbica.

El pH antes de iniciar el ensayo fermentativo fue 7,7 y el pH del digestato (materia orgánica degradada) una vez finalizada la digestión anaeróbica (DA) fue igual. Ambos pH son cercanos a la neutralidad, evidenciando que la muestra estaba en condiciones aceptables de acidez al inicio y al término del ensayo de potencial metanogénico y

que estos valores de pH se sitúan dentro de los parámetros ideales para el crecimiento de las bacterias metanogénicas (arqueas metanogénica), valores que diferentes autores amplían entre pH 6 hasta pH 8, recomendándose no sobrepasar estos valores debido a un grado de inhibición de las arqueas metanogénicas (Soethe, 2014).

Estudios de PME en otros peces de cultivo como es el caso de la Tilapia, muestran valores de pH que fluctúan entre 6,27 al inicio y 7,40 al final del ensayo (Souza, 2010; Konzen, 1980); Souza (2010, citado por Soethe, 2014) reporta valores de pH para Tilapia entre 6,35 y 6.85 para el afluente (flujo de entrada a un biodigestor) y valores de pH entre 7,30 y 7,70 para el efluente (flujo de salida en un biodigestor) con porcentajes de rendimiento de metano de 78,05%.

A diferencia de los valores de pH encontrados en la mortalidad de salmón, en Tilapia (materia orgánica fresca proveniente de plantas de proceso), suelen ser de pH ligeramente ácidos a la entrada del digestor y ligeramente alcalinos concluida la digestión anaeróbica, lo que hace pensar que, en el caso de la MS, valores similares de entrada y salida (alcalinos), podrían evidenciar que existiría ya en curso un proceso de degradación orgánica previo al análisis de PME.

El salmón es un pez con un tenor de proteínas y lípidos considerado alto, existiendo estudios que indican que el exceso de lípidos contribuye a la formación de ácidos grasos de cadena larga (AGCL) que pueden disminuir la eficiencia en la producción de biogás y biometano e incluso provocar una detención total de la digestión anaeróbica (Cavaleiro, 2008). Sin embargo, no se aprecia en la curva de cinética de biogás en los residuos de mortalidad de salmón, oscilaciones que puedan sugerir caídas o detenciones en el proceso fermentativo.

Al ser el salmón un pez con alto contenido en proteínas y baja presencia de hidratos de carbono algunos estudios lo sitúan como un producto con una baja relación C/N (Heyer 2010). Autores como (Wang *et al.* 2014), recomiendan una relación óptima carbono/nitrógeno (C/N) entre 20:1 a 30:1. Relaciones inferiores pueden producir niveles perjudiciales de NH_3 que pueden inhibir e incluso provocar un colapso total de la actividad metanogénica mientras que valores superiores pueden generar menor actividad metabólica y una caída en la producción de biogás.

En el presente estudio, no se realizó la cuantificación de carbono y nitrógeno para obtener la relación precisa entre estos nutrientes. Sin embargo, la curva de cinética de biogás en el ensayo de PME de mortalidad de salmón, muestra una rápida actividad bacteriana en el primer día del ensayo (PME) con un rápido crecimiento en la actividad hasta el día 12 para luego entrar en una disminución de la producción de biogás, característica del agotamiento del alimento en el biodigestor hasta finalizar el ensayo (día 31), no advirtiéndose en el transcurso del ensayo, anomalías en la generación de biogás como resultado de un desbalance de la relación C/N.

En la muestra de mortalidad de salmón, el tiempo de retención hidráulica (TRH) que corresponde a la duración en días del ensayo, se prolongó dentro de los tiempos considerados ideales para este tipo de ensayo. Tiempos similares de TRH son encontrados en otros residuos de la industria del salmón, como son las fecas de salmón Palaneck (2015) y el mismo valor reportado para los residuos frescos de plantas de proceso (mezcla de piel, esqueleto y vísceras) ambos con 29 días (Datos no publicados 2017). Los valores de TRH considerados óptimos están en promedio entre 14 y 30 días en condiciones mesófilas (35°C). Extensiones mayores (40- 50 días) perjudican la producción de biogás y CH₄, ocasionando disminución de hasta el 25% en la producción de gas (Mao *et al.*, 2015).

La codigestión sería un factor importante en el buen desempeño del ensayo de PME de la mortalidad de salmón. En la mortalidad ocurriría un proceso de codigestión donde se combinan sustratos con características fisicoquímicas diferentes (piel, esqueleto, músculo, vísceras) para entregar un rendimiento de producción de biogás y metano superior a los entregados por los sustratos orgánicos del salmón de forma individual. Callaghan *et al.* (1999) obtuvo resultados favorables en aumentar tanto la producción como la concentración de CH₄, cuando se combinaban diferentes sustratos (codigestión) como son los desechos urbanos, estiércol animal, de vacunos y aves, residuos de frutas, verduras y peces.

El resultado de análisis en residuos orgánicos frescos de salmón, (piel, esqueleto, vísceras), analizados combinadamente mostró una producción de biogás y metano

superior a las mismas materias orgánicas analizadas individualmente, evidenciando que diferentes sustratos al ser combinados se potencian (Datos no publicados 2017).

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio, indican que la producción y la concentración de metano fueron elevados en comparación a cualquier otra materia orgánica comúnmente usada para la generación de biometano.

La mortalidad resulta en un impacto económico negativo en cualquier industria productora de proteína animal. La producción de biogás y metano considerando el potencial metanogénico específico con una rápida y fácil degradación de la materia orgánica y dado el creciente volumen de mortalidad anual de salmón en Chile, hace pensar que este recurso puede llegar a ser una fuente importante de generación de energía, contribuyendo a reducir las pérdidas económicas y las consecuencias ambientales negativas de la mortalidad de salmón.

Las variaciones en PME con otras materias orgánicas frescas provenientes de restos de descarte en los procesos de faena del salmón, suponen pérdidas paulatinas en su potencial metanogénico durante el almacenamiento de estos residuos debido a la rápida degradabilidad de esta materia orgánica. Resulta importante para optimizar el aprovechamiento del potencial metanogénico identificar los puntos críticos en lo que se produce la mayor degradación de la materia orgánica proveniente de la mortalidad de salmón y disminuir los tiempos de gestión de estos residuos, evitando pérdidas energéticas en la digestión anaeróbica.

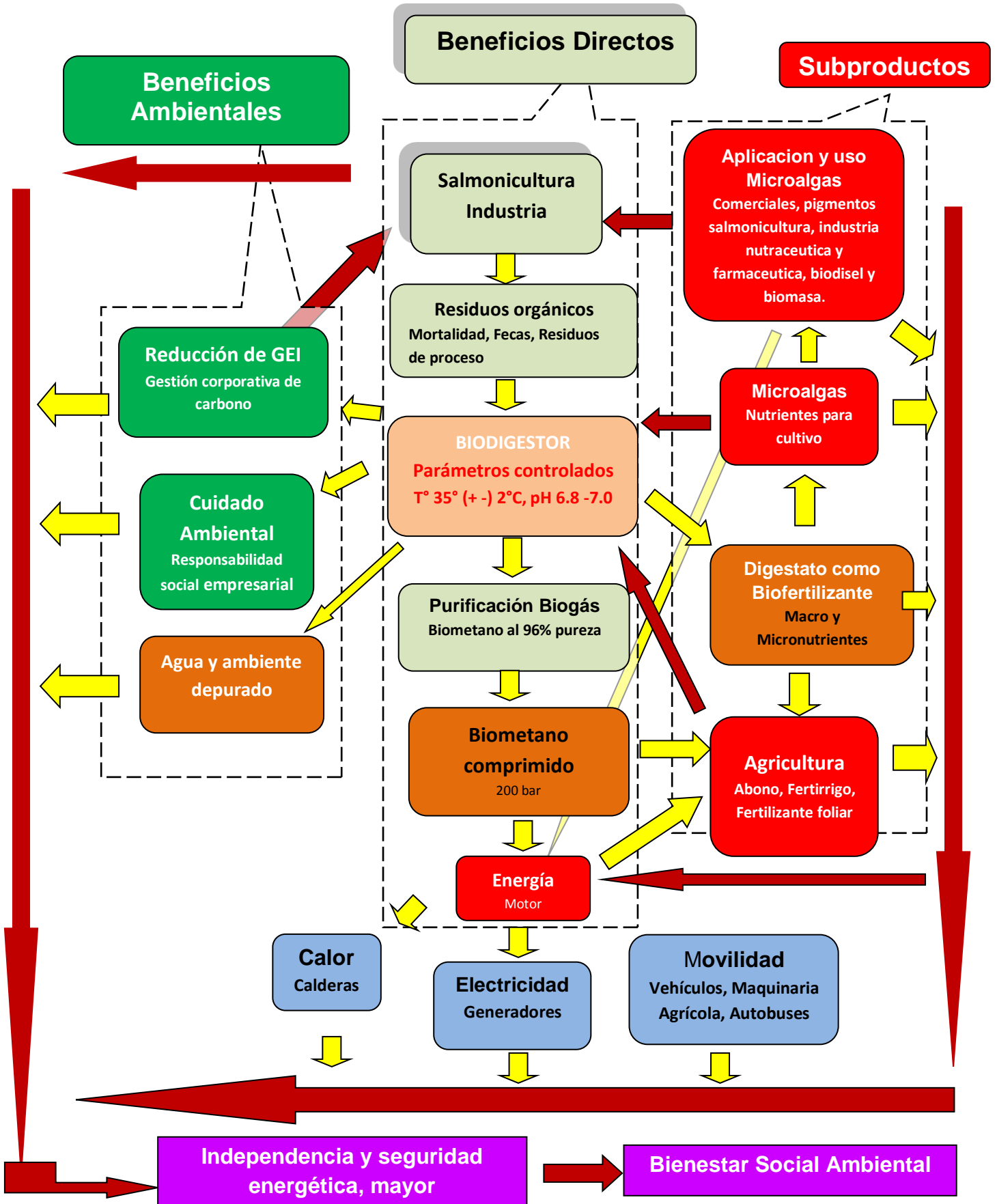
La codigestión resulta óptima en muchas pecuarias, residuos de mataderos y agrícolas. Resulta importante trabajar en estudios de codigestión anaeróbica de los residuos de salmón con otros residuos orgánicos. Esta codigestión podría resultar en un potenciamiento en la producción y los rendimientos metanogénicos de los mismos. Paralelamente se estarían dando un destino ambientalmente correcto a otros residuos que generan impactos en el medio ambiente (urbanos, agrícolas, animales o cloacales).

Los residuos de mortalidad en base a la producción de metano tienen un potencial energético alto, que lo transforma en una buena opción como energía renovable no convencional creando la oportunidad de reducir en forma activa la huella de carbono de la industria acuícola.

Queda como estudio pendiente y necesario un análisis de macro y micronutrientes del digestato (biofertilizante) que determine el potencial uso de este producto en la agricultura y la producción de microalgas.

Después de los auspiciosos resultados de los ensayos de potencial metanogénico específico resulta necesario la construcción de un biodigestor piloto que muestre la eficiencia a escala industrial de la biodigestión anaeróbica adaptado a la realidad local del Sur de Chile para los residuos de mortalidad de salmones, mostrando que no solo la biodigestión anaeróbica tiene por objetivo la producción de energía a gran escala, sino que es parte de un **ciclo virtuoso** " Ver Fig. 10". En este ciclo virtuoso es posible apreciar como un problema se puede transformar en una solución, generando renta con productos en forma directa, subproductos con valor agregado y adicionalmente entregar beneficios ambientales que impactarán positivamente en la calidad de vida de las comunidades del Sur de Chile.

Fig.11. Ciclo Virtuoso de la digestión anaeróbica (beneficios económicos, ambientales y sociales).



BIBLIOGRAFÍA

APHA. 2012.- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Water Works Assn, 22 ed. 2012. 1496 p

ABDOUN, E. & WEILAND, P., 2009.- Optimierung der Monovergärung von nachwachsenden Rohstoffen durch die Zugabe von Spurenelementen; Bornimer Agrartechnische Berichte nº 68, Potsdam.

ARANEDA, P.V., 2013.- Estudio técnico y financiero de un reactor anaeróbico como alternativa al tratamiento de residuos sólidos y líquidos en pisciculturas. Memoria para optar al título de Ingeniero Civil Industrial, Mención Química. Universidad Técnica Federico Santa María. Departamento de Industrias- Valparaíso.

BAYR, S. PAKARINEN, O. KORPPO, A. LIUKSIA, S. & VÄISÄNEN, A., 2012a.- Effect of additives on process stability of mesophilic anaerobic mono- digestion of pig slaughterhouse waste. *Bioresource Technology*, v. 120, p. 106-113.

ARCHER, D. & HARRIS, J.E., 1986.-. Methanogenic bacteria and methane production in various habitats. In E.M., Barness and G.C., Meal (Eds) *Anaerobic bacteria in Habitats other than man*. Blackwell Scientific, Oxford, U.K. pp 185 – 223

BAYR, S. RANTANEN, M. KAPARAJU, P & RINTALA, J., 2012b.- Mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of rendering plant and slaughterhouse wastes. *Bioresource Technology*, v. 104, p. 28-36.

BERGHEIM, A. & ASGARD, T., 1996.- Waste Production from Aquaculture. *Aquaculture and Water Resource Management* (Baird, Beveridge, Kelly and Muir Ed.) Blackwell Science, 50-80.

BEVERIDGE, M., 1986., *Piscicultura en jaulas y corrales*. Modelos para calcular la capacidad de carga y las repercusiones en el ambiente. *Fao Doc. Téc. Pesca* 255, 1-100.

BISCHOFF, M., 2009.- Erkenntnisse beim Einsatz von Zusatzund Hilfsstoffen sowie Spurenelementen in Biogasanlagen; VDI Berichte nº 2057; Biogas 2009 – Energieträger der Zukunft"; VDI Verlag, Düsseldorf.

BLEY, C. JR., 2015.- Biogás, A energia invisível. Planeta, São Paulo- Brasil. ISBN 978-85-67785-04-2. p178.

BUSCHMANN, A. & FORTT, A., 2005.- Efectos ambientales de la acuicultura intensiva y alternativas para un desarrollo sustentable. Revista Ambiente y Desarrollo (Chile) 21: 58-64

CALLAGHAN, F. WASE, D. THAYANITHY, K. & FORSTER, C., 1999.- Co-digestion of waste organic solids: batch studies, Bioresource Technology 67, p 117–122.

CAVALEIRO, A. PEREIRA, M. & ALVES, M., 2008.- Enhancement of methane production from long chain fatty acid based effluents, Bioresource Technology 99, 4086–4095 p.

CARLIN, R., 2015.- Evaluación del Potencial Energético a Partir del Metano Producido por Codigestión de Residuos de Alimentos y Estiércol Vacuno. Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Ambiente y Desarrollo en el Grado Académico de Licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. 31 p. Tegucigalpa, Honduras.

CAVIERES, C., 2010.- Determinación De La Pérdida de Calidad Funcional, Química, Sensorial y Microbiológica del Belly de Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) Durante su Conservación en Refrigeración. Memoria para optar al título de Ingeniero en Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Departamento De Ciencia De Los Alimentos y Tecnología Química. Universidad De Chile, Santiago.

CHERNICHARO, C. A., 2007.- Reactores anaeróbios.2ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais,. 380 p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v.5).

CHERNICHARO, C. & STUETZ, R., 2008.- Improving the design and operation of UASB reactors for treating domestic wastewater: Management of gaseous emissions. IX Taller y Simposio Latinoamericano de Digestión Anaerobia, Isla de Pascua, Chile, 2008.

COLDEBELLA, A., 2006.- Viabilidade da Cogeração de Energia Elétrica com Biogás Da Bovinocultura De Leite. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

DA SILVA, D., 2015.- A questão da energia na contemporaneidade: ações e desafios. Produção e as Tecnologias Sustentáveis Volume 11, Número 09.

DE BONA, E. STEINMETZ. R, MILANI, L. SOMER, J. MENEGOL, T. TRINDADE, E. & KUNZ, K., 2015.- Da Produção e Aclimação de Inoculo para Ensaio pme. En: IV simpósio internacional sobre gerenciamento de residuos agropecuarios e agroindustriais, 05 a 07 de maio de 2015- Rio de Janeiro-RJ.

DILMAS, A., 2013.- Bioenergia e Tecnologia Aplicada. Laboratório de Energia de Biomassa, Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal. Universidade Federal do Paraná, Campus Jardim Botânico, Curitiba – Paraná, 110p.

EEA., 2015.- AGENCIA EUROPA DE MEDIO AMBIENTE. La Agricultura y el cambio climático. Artículo-Señales: Vivir en un clima cambiante. Este reporte está disponible en:

<http://www.eea.europa.eu/es/senales/senales-2015/articulos/laagricultura-y-el-cambio-climatico>.

ELIAS, X., 2009.- Residuos sólidos urbanos y fangos de depuradora. Reciclaje de residuos industriales 2ª Edición. Madrid. ISBN: 978-84-9969-366-8.

EL-FADEL, M. & MASSOUD. M., 2001.- Methane emissions from wastewater management. Environmental Pollution 114: pp 177-185.

EL-MASHAD, H. & ZHANG, R., 2010.- Biogas Production From Co-Digestion Of Dairy Manure And Food Waste. En: Bioresource Technology Volume 101, Issue 11, June 2010, P 4021-4028 p.

FOLKE C, KAUTSKY, N. BERG, H. JANSSON, A. & TROELL, M., 1998.- The ecological footprint concept for sustainable seafood production: a review. *Ecological Applications* 8: 63-71 pp.

FAO. 2010.- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Fishery Information, Data and Statistics Unit FISHSTAT Plus: Universal software for fishery statistical time series. Dataset: Aquaculture production: quantities, pp. 1970-2008.

GAMMA INGENIEROS S.A., 2011.- Modelos de negocio que rentabilicen aplicaciones de biogás en Chile y su fomento. N° 5841058LE10. Informe final corregido para Ministerio de Energía de Chile. Santiago, Abril 2011.

GROPPELLI, E. & GIAMPAOLI, O., 2012.-. Biodigestores. Una propuesta sustentable. UNL Ediciones. Santa Fe, Argentina. 160p.

HEYER, C., 2010.- Potencial Uso del Salmón de Desecho Para la Producción de Biogás. Memoria de Título presentada como parte de los requisitos para optar al título de médico veterinario. Instituto de Tecnología de los Alimentos Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile, Valdivia – Chile.

IPCC. 2007.- Intergovernmental Panel On Climate Change (IPCC). Mudança do Clima 2007: A Base das Ciências Físicas. Contribuição do Grupo de Trabalho I ao Quarto Relatório de Avaliação do Painel Intergovernamental sobre Mudança do Clima. Sumário para os Formuladores de Políticas.

IPEA. 2012.- Relatório de pesquisa. Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvo pastoril e Agroindústrias Associadas. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, Brasília-Brasil.p120

Disponível:

http://ipea.gov.br/agencia/images/stories/PDFs/relatoriopesquisa/120917_relatorio_residuos_organicos.pdf

KALTSCHMITT, M. & HARTMANN, H., 2001.- Energie aus Biomasse–Grundlagen, Techniken und Verfahren; Springer Verlag Berlin, Heidelberg, Nova Iorque.

KONZEN, L.A., 1980.- Avaliação quantitativa e qualitativa dos dejetos de suínos em crescimento e terminação, manejadas em forma líquida. Tese Mestrado. Belo Horizonte: UFMC,. 56p.

KUNZ, A. & OLIVEIRA, P., 2006.- Aproveitamento de dejetos animais para geração de biogás. Revista de Política Agrícola. Embrapa/Conab, (v. 15).

LEBUHN, M.; BAUER, C. & GRONAUER, A.. 2008.- Probleme der Biogasproduktion aus nachwachsenden Rohstoffen im Langzeitbetrieb und molekularbiologische Analytik. VDLUFA-Schriftenreihe 64, 2008, pp. 118 – 125.

LETTINGA, G. HULSHOFF, P. & ZEEMAN, G., 1996.- Biological Wastewater Treatment Part I: Anaerobic Wastewater Treatment. Lecture Notes. Wageningen Agricultural University, edn January 1996.

LESTEUR, B. GONZALEZ, V. LATRILLE, E. ROGER, J. JUNQUA, G. & STEYER, J., 2010.- Alternative Methods for Determining Anaerobic Biodegradability: A review. Process Biochemistry 45, pp 431–440.

LUDORFF, W. & MEYER, V., 1978.- El pescado y los productos de pesca. Editorial Acribia 2ª edición. Zaragoza, España.p339.

MAO, C. FENG, Y. WANG, X. & REN, G., 2015.- Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. Renewable and Sustainable Energy Reviews Volume 45, Pages 540–555.

MANNICH, M., 2009.- Biogás – Produção e Aproveitamento. Seminário da Disciplina de Processos e Operações Unitárias II, Prof. Dr. Miguel Mansur Aisse. Universidade Federal do Paraná, Campus Jardim Botânico, Curitiba- Paraná, Brasil. p19.

MASSÉ, D. & MASSE, L., 2000.- Characterization of Wastewater From Hog Slaughterhouse En: Eastern Canada and evaluation of their in-plant wastewater treatment systems. Canadian Agricultural Engineering, v. 42, pp 139-146.

MCALLISTER, T. & NEWBOLD, C., 2008.- Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. Australian Journal of Experimental Agriculture 48(2) 7-13.

MINISTERIO DE ENERGIA., 2012.- Guía de planificación para Proyectos de Biogás en Chile 2012. Proyecto Energías Renovables No Convencionales (MINENERGÍA/GIZ). Santiago de Chile. ISBN: 978-956-8066-14-7. 134 p

Disponibile:

<http://www.aproval.cl/manejador/resources/guiaplanificacionproyectosbiogasweb.pdf>

OLIVEIRA, P. & HIRAGASHI, M., 2006.- Geração e utilização de biogás em unidades de produção de suínos. Concórdia, SC: Embrapa Suínos e Aves. 42 p.

ONU. 2012.- Naciones Unidas. Asamblea General. Resolución aprobada por la Asamblea General el 27 de julio de 2012. A/RES/66/288*,. Sexagésimo sexto período de sesiones Tema 19 del programa.

ORRICO, M; ORRICO, A & DE LUCAS, J., 2011.- Uma comparação Entre Potencial de Emissão de Metano dos Dejetos e a Quantidade de Alimento. En: Animal e o Meio Ambiente. Eng. Agríc. Jaboticabal, v.31, n.2, p.399-410.

PALANECK, R., 2015.- Evaluación y comparación del potencial metanogénico bioquímico específico, proveniente de materias fecales de la salmonicultura de agua dulce de Chile y las pecuarias (aves, cerdos, ganado de leche) en Brasil. Tesis presentada para optar al título de Especialista em mudanças climáticas, projetos

sustentáveis e mercado de carbono. Universidade Federal Do Paraná, Curitiba, Paraná.

PROBIOGAS, 2010.- Guia Prático do Biogás Geração e Utilização, Publicado pela Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR) .5ª edição, Gülzow, 2010, p.233.

QUESADA, R. SALAS, N. ARGUEDAS, M. & BOTERO, R., 2007.- Generación De Energía Eléctrica A Partir De Biogás. En: Tierra Tropical, Universidad EARTH ISSN: 1659-27513 (2): p 227-235.

SALMON CHILE., 2015.- Asociación de la Industria del Salmón de Chile A.G. - Salmon - Chile. Disponible en : <http://www.salmonchile.cl/es/quienes-somos.php> acceso.

SERNAPESCA., 2013.- Situación Sanitaria Salmonicultura Centros Marinos 2013. Ministerio de Economía, Fomento y Turismo. Gobierno de Chile., Publicado 15 Enero 2014. Disponible en:
http://www.sernapesca.cl/presentaciones/Situaci%C3%B3n_Sanitaria_Salmonicultura_2013.pdf

SILVA, M. CANTÃO, M.; MEZZARI, M. MA, J. & NOSSA, C., 2014.- Assessment of Bacterial and *Archaeal* Community Structure in Swine Wastewater Treatment Processes. Environmental Microbiology.

SIEGMEIER, T. BLUMENSTEIN, B. & MOLLER, D., 2015.- Farm biogas production En: Organic agriculture: System implications. Agricultural Systems Volume 139, , Pages 196–209.

SOETHE, G., 2014.- Aproveitamento Da Massa Visceral Da Tilápia (*Oreochromis niloticus*) Para Produção De Biogás. Projeto de Pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Energia na Agricultura da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre. Cascavel Paraná - Brasil , Enero 2014

SOUZA, M., 2010.- Eficiência do Processo de Ultrafiltração Seguido de Biodigestão Anaeróbia no Tratamento de Efluente de Frigorífico de Tilápia. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 76p.

TEMPORETTI, P., 1999.- Dinámica Del Fósforo En Cuerpos De Agua Con Cría Intensiva de Salmónidos. Tesis presentada para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas. Centro Regional Universitario, Universidad Nacional del Comahue, Bariloche.

TEUBER, N. SALAZAR, F. ALFARO, M. & VALDEBENITO, A., 2006.- Efecto de Diferente Dosis de Lodo de la Crianza de Salmones en el Cultivo de Papa y su Efecto Residual en Ballica Anual. En: Producción Animal. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Remehue. ISSN 0365-2807.

VALLE, S. BEILACQUA, A. MATEUS, G. & MATTOS, M., July 2011.- Generation of bioenergy and biofertilizer on a sustainable rural property. Biomass and Bio- energy Volume 35, Issue 7, Pages 2608–2618

VDI-4630., 2006 Fermentation of organic materials., Characterization of the substrate, sampling (Collection of material data, fermentation tests). Düsseldorf, Germany.

VERGE, X. DE KIMPE, C. & DESJARDINS, R., 2007.- Agricultural production, greenhouse gas emissions and mitigation potential. Agricultural and Forest Meteorology. Volume 142, Issues 2–4, 12, Pages 255–269

WANG, X., LU, X. LI, F. & YANG, G., 2014.- Effects of Temperature and Carbon-Nitrogen (C/N) Ratio on the Performance of Anaerobic Co-Digestion of dairy Manure, Chiken Manure, and Rice Straw: Focusing on Ammonia Inhibition. PLOS ONE 9 (2014).

WEILAND, P., 2000.- Stand und Perspektiven der Biogasnutzung und -erzeugung in Deutschland, Gülzower Fachgespräche, volume 15: Energetische Nutzung von Biogas: Stand der Technik und Optimierungspotenzial, pp.8 – 27, Weimar, 2000

WEILAND, P., 2001.- Grundlagen der Methangärung – Biologie und Substrate; VDI-Berichte, nº 1620 "Biogas als regenerative Energie – Stand und Perspektiven";pp. 19-32; VDI-Verlag.

WELLINGER, A. MURPHY, J. & BAXTER, D., 2013.- The Biogas Handbook: Science, Production and Applications. Cambridge, UK, 2013. 476 p.

YANG, L. HUANG, Y. ZHAO, M. HUANG, Z., MIAO, H. XU, Z. & RUAN, W., 2015.- Enhancing Biogás Generation Performance From Food Wastes by High solids Thermophilic Anaerobic Digstion: Effect of pH Adjustment. International Biodeterioration & Biodegradation 105 (2015) 153–159.

YILMAZ, S. & SELIM, H., 2013.- A review on the methods for biomass to energy conversion systems design. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews Volume 25, Pages 420–430.

ZANETTE, A.L., 2009.- Potencial de aproveitamento energético do biogás no Brasil. Dissertação de (Mestre em Planejamento Energético), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

ZHANG, R. EL-MASHAD, H. HARTMAN, K. WANG, F. LIU, G. CHOATE, C. & GAMBLE, P., 2007.- Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. Bioresource Technology 98 (2007) 929-935.

ZHANG, C. SU, H. BAEYENS, J. & TAN, T., 2014.- Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 38 pp 383–392.