

DIGERIDOS DE FERMENTACIÓN DE ESTIÉRCOL: CONSIDERACIONES PARA SU RECOMENDACIÓN EN AGRICULTURA DE TRASPATIO

FERMENTATION DIGESTATES FROM MANURE: CONSIDERATIONS FOR THEIR RECOMMENDATION IN BACKYARD AGRICULTURE

Cruz-Hernández, J.^{1*}, Águila-Muñoz, J.C.², Rojano-Hernández, R.¹; Morales-Jiménez, J.¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Boulevard Forjadores de Puebla No. 205, Santiago Momoxpan, Municipio San Pedro Cholula, Estado de Puebla. CP 72760. ²Universidad Politécnica de Puebla. Juan C. Bonilla, Puebla. México.

*Autor de correspondencia: javiercruz@colpos.mx

RESUMEN

En agricultura de traspatio se recomienda, sin control alguno, elaborar y usar los digeridos de fermentación o "biolos" como fertilizantes orgánicos líquidos (FOL), sin embargo, pueden contener microorganismos dañinos a la salud humana y provocar fitotoxicidad, por lo que se deben medir parámetros de calidad antes de su uso. Se realizó una caracterización fisicoquímica, microbiológica y fitotóxica (por bioensayos de germinación) de digeridos de estiércol de conejo, equino, vacuno y ovino provenientes de traspatios, procesados durante 45 días en digestores tipo Batch de 70 L de capacidad. En muestras compuestas se determinaron por triplicado once parámetros fisicoquímicos y cuatro variables microbiológicas a 45 días de iniciado el proceso. Los digeridos alcanzaron pH ácidos (5.38-5.55) y relación C/N de 1.37-1.77. Se observaron coliformes en cantidades de 4 a 7/10 mL, con mayor contenido en estiércol vacuno. Los niveles de fitotoxicidad resultaron elevados a moderados, dependiendo del estiércol, lo que sugiere dejar mayor tiempo de fermentación para recomendar su uso como FOL en forma segura para la producción de cultivos.

Palabras clave: Coliformes, fitotoxicidad, caracterización química, digeridos.

ABSTRACT

Making and using fermentation digestates or "biolos" as liquid organic fertilizers (LOFs) is recommended in backyard agriculture without any control; however, these can contain microorganisms that are harmful to human health and cause phytotoxicity, so that quality parameters should be measured before their use. A physical-chemical, microbiological and phytotoxic characterization was performed (through germination bioassays) with rabbit, equine, bovine and ovine manure digestates from backyards, processed during 45 days in Batch type digestors of 70 L capacity. In compound samples, eleven physical-chemical parameters were determined by triplicate, and four microbiological variables 45 days after the process started. The digestates reached acid pH (5.38-5.55) and a C/N relation of 1.37-1.77. Coliforms were observed in the amount of 4 to 7/10 mL, with a higher content in bovine manure. The levels of phytotoxicity were high to moderate, depending on the manure, which suggests a longer period of fermentation should be used to recommend their use as FOL safely for crop production.

Keywords: Coliforms, phytotoxicity, chemical characterization, digestates.

INTRODUCCIÓN

Los digeridos de metanización son lodos o deyecciones líquidas obtenidas después de la fermentación de estiércol u otros residuos en el proceso de obtención de metano (Bernal *et al.*, 2011; Ward *et al.*, 2009; Nishio y Nakashimada, 2013). Los digeridos de fermentación, también denominados "bioles", son biofertilizantes líquidos elaborados mediante un proceso de fermentación de estiércol o residuos vegetales, enriquecida con suero de leche o leche, melaza, ceniza, carbón y minerales como harina de roca, etcétera, colocados en suspensión en agua bajo condiciones anaerobias en digestores discontinuos tipo Batch (Criollo *et al.*, 2011; Nishio y Nakashimada, 2013; Ward *et al.*, 2009) y donde la producción de metano puede ser, o no, aprovechada. Después de uno a tres meses de fermentación se separa el digerido líquido del digerido sólido. Por el contrario, los digeridos de metanización se recolectan del digestor de manera continua, por lo que resultan inestables y con bajo valor fertilizante (Albuquerque *et al.*, 2012). Durante este tiempo, en ambos tipos de digeridos, se suceden las fases de hidrólisis, acidofílica, acetogénica, metanogénica y maduración, donde participan microorganismos anaerobios obligados o facultativos que permiten la digestión de la materia orgánica (Nishio y Nakashimada, 2013). Los digeridos de fermentación, aplicados directamente al suelo o de manera foliar, han manifestado efectos beneficiosos en el crecimiento, desarrollo y producción de cultivos, tales como lechuga (*Lactuca sati-*

va), col, nabo (Criollo *et al.*, 2011; Vetayasuporn, 2009; Wang *et al.*, 2014). Estos efectos se asocian a su contenido y aporte de materia orgánica, minerales, hormonas, aminoácidos y metabolitos producidos por microorganismos que digieren la materia orgánica (Criollo *et al.*, 2011; Riddech *et al.*, 2009; Nishio y Nakashimada, 2013), principalmente aportan nitrógeno amoniacal, fósforo y potasio (Bernal *et al.*, 2011). Se consideran como fertilizantes con amplia actividad microbiológica, cuyas poblaciones de microorganismos fluctúan en función de la fase de fermentación (Riddech *et al.*, 2009), pero presentan microorganismos beneficiosos y dañinos a la salud humana (Araya, 2010). En

otros casos los efectos no han sido del todo consistentes (Galindo *et al.*, 2007), han reducido la acumulación de biomasa y germinación de maíz (*Zea mays* L.), dependiendo de la dosis, del residuo fermentado (Pacheco, 2003; Carhuancho *et al.*, 2012), de la duración de la fermentación y de su contenido de sustancias fitotóxicas. En la Comunidad Económica Europea y en otros países se dispone de normativas para el uso de digeridos de metanización en agricultura (Saveyn y Eder, 2014). En México, por la facilidad de su elaboración, bajo costo y efectos en los cultivos, es común la recomendación de los digeridos de fermentación elaborados de forma artesanal sin ningún control en su aplicación en cultivos de traspatio (Figura 1). Por tal motivo, se evaluaron algunas características físico-químicas, población de bacterias lácticas, amilolíticas, levaduras totales y coliformes, así como grado de fitotoxicidad de digeridos de fermentación de estiércol de conejo, equino, vacuno y ovino a 45 días de fermentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se usaron estiércoles de conejo, equino, vacuno y ovino recolectados de traspatios de unidades familiares campesinas de Santa María Nepopualco Huejotzino Puebla, México. La producción de digeridos se realizó bajo condiciones de invernadero (29 °C y 80% HR Dataloguer RTH10 Extech®), en instalaciones del Colegio de Postgraduados Campus Puebla. Los digeridos se elaboraron por triplicado en digestores tipo Batch de 70 L de capacidad, acondicionados con una llave frontal de salida para la toma de muestras



Figura 1. Producción de digeridos de fermentación o "bioles" en traspatios de unidades familiares campesinas en Santa María Nepopualco Puebla, México.

y otra en la cara externa de la tapa conectada a una manguera y a una botella con agua (Figura 2). En cada contenedor se colocaron 20 L de estiércol (conejo, equino, vacuno u ovino), más 3.5 kg de alfalfa fresca y picada, 700 mL de leche entera, 1.5 L de melaza, 180 g de levadura fresca (Levitan[®]), 1.3 kg de carbón molido y ceniza, y agua suficiente para alcanzar un volumen total de 60 L. Las mezclas fueron agitadas con un compresor a 65 psi por 10 minutos y posteriormente se cerraron con una tapa de cierre a presión. Se prepararon 12 biodigestores, y en 45 días de iniciado el proceso, se recolectaron muestras compuestas de 400 mL por cada biodigestión.

En cada muestra se determinó por triplicado: pH, conductividad eléctrica (CE), porcentaje de sólidos disueltos, porcentaje de sales totales presentes y resistividad (Ω) con un potenciómetro marca Hannainst[®], modelo HI3512, se midió el porcentaje de humedad,

cenizas, materia orgánica y nitrógeno total siguiendo las metodologías descritas en normas NMX-AA-018-1984, NMX-AA-024-1984 y NMX-AA-021-1985. En las muestras compuestas se contabilizaron bacterias lácticas, bacterias amilolíticas, levaduras totales y coliformes, por el método de dilución en placa especificado en NOM-004-SEMARNAT (2002). Las bacterias lácticas se cultivaron en el medio MRS agar (35 ± 2 °C por 24 ± 2 h). Las bacterias amilolíticas se cultivaron en Agar nutritivo adicionado con almidón al 0.02%. La cuantificación de levaduras tota-

les se realizó en Agar papa dextrosa (30 ± 2 °C por 24 ± 2 h). La determinación de coliformes fecales se realizó en agar bilis y rojo violeta (35 ± 2 °C 24 h). Cada prueba se realizó por triplicado en cajas Petri estériles, las cuales se colocaron en cámara de crecimiento (BL Barnstead/Lab-line[®]) a los tiempos indicados. Se usó un contador de colonias (Scientific CVP-CM3[®]) y los resultados se expresa en UFC/mL o en g 10 mL^{-1} de muestra para el caso de coliformes.

Se realizó un bioensayo de germinación con semillas de rabanito

indica Tiquia (2000). El Crr y el Ig se usan como indicadores de fitotoxicidad. Si el Ig es menor a 50% indica una alta fitotoxicidad, si va de 50% a 80% la fitotoxicidad es moderada y si es superior a 80%, el material no presenta fitotoxicidad (Emino y Warman, 2004). Se realizó una prueba de comparación de medias entre digeridos, con el paquete estadístico computacional Statistical Analysis System (SAS) versión 9.1 para Windows[®]. Previo al análisis estadístico las variables en porcentaje y conteo se transformaron con fórmulas indicadas por Montgomery (2011).



Figura 2. Digeridos para la producción de digeridos de fermentación.

(*Raphanus sativus* L.) como planta indicadora de manera indirecta de la presencia de sustancias fitotóxicas en las muestras compuestas de los digeridos. Para ello se usó la metodología descrita por Zucconi *et al.* (1981). A partir de datos de porcentaje de germinación y crecimiento de raíz de 60 semillas humedecidas con cada digerido a 10% en cajas Petri. Después de cinco días en cámara de germinación (22.5 °C, 85% HR, BL Barnstead/lab-Line[®]), se calcularon las variables de porcentaje de germinación relativo (Pgr), crecimiento radicular relativo (Crr) e índice de germinación (Ig) como lo

elevada (15.67), sólidos totales disueltos, sales totales y nitrógeno total superiores al resto de digeridos, valores más altos de cenizas, únicamente similares a los observados en el digerido de equino, así como valores superiores de materia orgánica y carbono orgánico comparables solo con los valores observados en el digerido de estiércol vacuno, pero con los valores más bajos de resistividad. El digerido de estiércol vacuno presentó los valores más bajos de conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos, sales totales y porcentaje de cenizas, pero con los mayores valores de resistividad en

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la caracterización fisicoquímica de los digeridos, se presentaron diferencias significativas en las variables, excepto en humedad y relación C/N (Cuadro 1)

El digerido a base de estiércol ovino presentó valores de pH cercanos a la neutralidad (6.57), una CE



Cuadro 1. Características físicas y químicas de cuatro digeridos líquidos.

	pH	CE (mS cm ⁻¹)	STD (%)	ST (%)	Res. (Ω)	Hum (%)	Cen (%)	MO (%)	CO (%)	Nt (%)	C/N
Conejo	5.27 c	14.38 b	7.27 b	28.50 b	69.00 c	97.57 a	37.85 ab	0.50 c	0.29 c	0.21 b	1.36 a
Equino	5.57 b	13.91 c	7.18 c	28.3 b	71.00 b	97.89 a	39.80 a	0.61 bc	0.35 bc	0.24 b	1.49 a
Vacuno	5.47 b	13.47 d	6.79 d	26.1 c	74.00 a	97.65 a	35.97 b	0.70 ab	0.41 ab	0.23 b	1.80 a
Ovino	6.57 a	15.67 a	7.79 a	30.60 a	63.90 d	97.30 a	39.10 a	0.77 a	0.45 a	0.29 a	1.56 a
DMS	0.120	0.183	0.038	0.455	0.593	0.614	2.152	0.124	0.078	0.032	0.450
CV	0.517	0.312	0.129	0.394	0.210	0.155	1.385	4.734	5.094	3.277	7.133
ANOVA	***	***	***	***	***	NS	**	**	**	**	NS

Grupo de letras diferentes en la misma columna por factor indican diferencia estadística Tukey (p≤0.01).

comparación con el resto de digeridos, mientras que el de equino se caracterizó por valores elevados de cenizas, y el de estiércol de conejo resaltó por los niveles más bajos de pH, de materia orgánica y carbono orgánico, en comparación con el resto de productos estudiados. Las características fisicoquímicas de los digeridos coinciden con los indicados por Riddech *et al.* (2009) y con los valores de pH ácido presentados por Araya (2010) y Criollo *et al.* (2011). Sin embargo, un pH ácido como el observado en el digerido de conejo (Cuadro 1), puede estar asociado a un bajo grado de estabilidad y madurez, derivado de la liberación de ácidos orgánicos volátiles durante la fase acidofílica de la fermentación como lo indica Bernal *et al.* (2011). Los mayores valores de pH, CE, sales totales y nitrógeno en el digerido de ovino, podrían indicar que presentó mayor liberación de amonio y nitratos, así como un menor contenido o mayor digestión de ácidos orgánicos por acción de bacterias.

Análisis microbiológico de los digeridos de fermentación

El Cuadro 2 presenta el conteo de microorganismos en los digeridos después de 45 días de fermentación. Se observan contenidos elevados de microorganismos pero en niveles similares entre digeridos. Es de resaltar el mayor contenido de coliformes en el digerido de estiércol vacuno.

Araya (2010) encontró a 30 días de fermentación, coliformes fecales de 2 a 160 NMP mL⁻¹ en bioles de estiércol vacuno, y no más de 2 NMP mL⁻¹ en el de pasto, niveles que dependieron del residuo base de la fermentación; siendo mayor en estiércoles debido a que los mamíferos son hospederos naturales. El pH ácido de los digeridos y la posible presencia de *Lactobacillus* adicionado con el suero, podrían reducir la presencia de coliformes en los digeridos de conejo, equino y ovino (Cuadro 2). La población de microorganismos presentes en los digeridos se puede explicar por el pH ácido observado en las muestras estudiadas (Cuadro 1 y 2), que permiten el crecimiento de bacterias ácido lácticas y otro tipo de microorganismos (Nishio y Nakashimada, 2013).

Fitotoxicidad de los digeridos de fermentación

Al realizar bioensayos de germinación con semillas de rabanito como planta indicadora, con los digeridos de estiércol de conejo, equino y vacuno se presentó un crecimiento radicular relativo inferior en relación al testigo e índices de germinación de semillas por debajo del 50% (Cuadro 3). Lo cual indica que estos digeridos presentaron un elevado grado de fitotoxicidad a los 45 días de iniciado el proceso de fermentación (Tiquia, 2000).

Con el digerido de estiércol de ovino se consiguió un Crr y un Ig superior al 50% en semillas de rabanito, indicativo

Cuadro 2. Conteo de microorganismos en cuatro digeridos líquidos a 45 días de fermentación.

Digerido	Bacterias ácido lácticas (UFC mL ⁻¹)	Levaduras (UFC mL ⁻¹)	Bacterias amilolíticas (UFC mL ⁻¹)	Coliformes totales (g 10 mL ⁻¹)
Conejo	1.00E+07	1.00E+07	1.00E+07	4.0
Equino	2.00E+07	1.00E+07	1.00E+07	4.0
Vacuno	1.00E+07	1.00E+07	1.50E+07	7.0
Ovino	1.00E+07	1.50E+07	1.00E+07	4.0

de un grado de fitotoxicidad moderado (Tiquia, 2000). El grado de fitotoxicidad resultó: conejo > equino > vacuno > ovino. La fitotoxicidad se debe medir previo a la recomendación generalizada como un fertilizante orgánico, ya que se asocia a la presencia de sustancias que pueden ocasionar un efecto negativo en el crecimiento y desarrollo de las plantas, tales como ácidos orgánicos, sales minerales, metales pesados entre otros (Selim *et al.*, 2012). La elevada fitotoxicidad (lg < 50%) se relaciona con un bajo grado de madurez de los fertilizantes orgánicos y puede ser detectada de manera indirecta por bioensayo de germinación, el cual resulta un método sencillo, rápido, reproducible y económico (Albuquerque *et al.*, 2012). El Crr e lg de semillas de rabanito (Figura 3) presentaron correlación positiva y significativa con el pH de los digeridos usados en el bioensayo de germinación ($r=0.7881$, 0.7644 y $R^2=0.8310$, 0.8296). Al respecto, Selim *et al.* (2012) observaron una correlación positiva entre la concentración de $N-NO_3$ y el lg de *Lepidum sativum* L., e indican que el contenido de amonio y metales pesados son los principales factores que inhiben la germinación y la elongación radicular de las semillas; coinciden con Albuquerque *et al.* (2012), quienes encontraron además una correlación negativa con la CE de los digeridos y el lg de lechuga.

Con base en los resultados obtenidos, se puede indicar que se requiere más tiempo de fermentación para ob-

Cuadro 3. Efecto de digeridos de fermentación en variables de germinación de *Raphanus sativus* L.

Digerido	Pgr (%)	Crr (%)	lg (%)
Conejo	25.86 b	2.48 c	0.85 c
Equino	93.07 a	27.17 b	26.24 b
Vacuno	110.31 a	35.54 b	39.61 b
Ovino	93.58 a	61.82 ab	59.63 ab
Control	100 a	100 a	100 a
DMS	46.53	43.80	50.22
CV	20.48	35.91	41.29
ANOVA	**	***	***

tener mayor estabilidad o degradación de la materia orgánica, así como menor fitotoxicidad (lg y Crr superiores al 50%) o mayor madurez de los digeridos. Así mismo, antes de la recomendación de este tipo de fertilizantes en la producción de cultivos en condiciones de traspatio, se deben tomar medidas preventivas, aplicar tratamientos de desinfección,

previos o posteriores a la elaboración de los digeridos, para reducir la población de microorganismos dañinos. La fermentación no garantiza la obtención de digeridos sanitizados como lo indica Albuquerque *et al.* (2012), quienes reportaron presencia de *Salmonella* spp., en 25 g de digerido fresco. También se debe considerar la forma, momento de aplicación y cultivos en los cuales se debe utilizar, para reducir el riesgo en especies que se consumen en fresco. Es necesario consultar las normas y reglamentos establecidos en otros países como referencia de parámetros de calidad de este tipo de biofertilizantes (Figura 4).

CONCLUSIONES

Las características físicas, químicas y microbiológicas de los digeridos dependen del estiércol empleado en el proceso de fermentación, origen, y factores no contemplados como la alimentación y condiciones de conservación de los estiércoles estudiados. El contenido de coliformes depende del tipo de estiércol usado, siendo mayor en el digerido de vacuno. A los 45 días de fermentación, los digeridos de estiércol de cone-

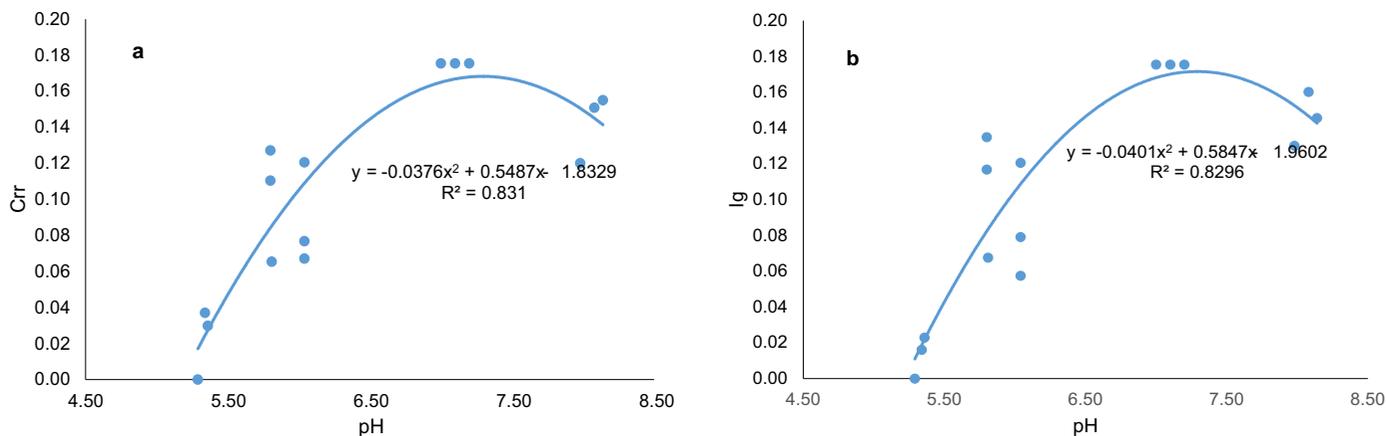


Figura 3. Relación entre pH de los digeridos con el crecimiento radicular relativo (a) e índice de germinación (b) de semillas de *Raphanus sativus* L.



Figura 4. Aplicación al suelo de digeridos de fermentación antes de la siembra de especies ornamentales en Santa María Nepopualco Puebla, México.

jo, vacuno y equino presentaron elevada fitotoxicidad, y el digerido de ovino una fitotoxicidad moderada, por lo que se requiere mayor tiempo de fermentación previo a la valoración agronómica y recomendación de los digeridos como fertilizantes orgánicos.

LITERATURA CITADA

- Albuquerque J.A., de la Fuente C., Ferrer C.A., Carrasco L., Cegarra J., Abad M., Bernal M.P. 2012. Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues. *Biomass and Bioenergy*. 40:181-189.
- Araya A.F. 2010. Producción y caracterización de bioles para su uso en el cultivo de banano (*Musa sp*) Rio Frio, Sarapiquí, Hereida Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Costa Rica. San Carlos, Costa Rica. 124 p.
- Bernal C.Ma.P. Albuquerque M.J.A. Bustamante M.Ma.A., Clemente C.R. 2011. Guía de utilización agrícola de los materiales digeridos por biometanización. Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Murcia, España. 106 p.
- Carhuancho L.F.M., Guerrero B.J., Ramírez C.J. 2012. Aprovechamiento del estiércol de gallina para la elaboración de biol en biodigestores tipo Batch como propuesta al manejo de residuo avícola. XIX Simposio Peruano de Energía Solar y del Ambiente, Pumo Perú. 12-17.11.2012. 12 p.
- Criollo H., Lagos T., Piarpuezan E., Pérez R. 2011. The effect of three liquid bio-fertilizers in the production of lettuce (*Lactuca sativa* L) and cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*). *Agronomía Colombiana*. 29(3):4015-421.
- Emino E.R., Warman P.R. 2004. Biological assay for compost quality. *Compost Sci. Util.* 12(4):342-348.
- Galindo A., Jerónimo C., Spaans E., Weil M. 2007. Los abonos líquidos fermentados y su efectividad en plántulas de papaya (*Carica papaya* L.). *Tierra Tropical*. 3(1):1-6
- Montgomery, D. C. 2011. Diseño y análisis de experimentos. Segunda edición. Editorial Limusa Wiley. México. p 81.
- Nishio N., Nakashimada Y. 2013. Manufacture of biogas and fertilizer from solid food waste by means of anaerobic digestion. *In*: Kasseva, M. and Webb, C. (Eds.) 2013. Food industry waste. Assessment and recuperation of commodities. Food Science and Technology International Series. Academic Press – Elsevier. EEUU. Chapter 7 p 121-133.
- Pacheco R.F. 2003. Evaluación del efecto de un abono líquido orgánico fermentado (biofermento) sobre el crecimiento de morera (*Morus alba*) en bancos de forraje en la Región Tropical Húmeda de Costa Rica. Tesis de licenciatura. Universidad Earth. Guácimo, Costa Rica. 54 p.
- Riddech N., Bunyatrachata W., Polsan Y. 2009. Change of microbial population in liquid fertilizer. *KKU Science Journal*. 37:77-82.
- Saveyin H., Eder P. 2014. End of waste criteria for biodegradable waste subjected to biological treatment (compost & digestate): Technical proposals. European Commission. JRC Scientific and Policy Reports. Joint Research Centre. European Union. 312 p.
- Selim Sh. M., Zayed M.S., Atta H.M. 2012. Evaluation of fitotoxicity of compost during composting process. *Nature and Science*. 10(2):69-77.
- SEMARNAT.2002. Norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental, lodos y biosólidos: Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Diario Oficial. Edición 25. No. 2. pp. 18-60.
- Tiquia S.M. 2000. Evaluating phytotoxicity of pig manure from the pig on litter system. *Proceeding of the International Composting Symposium*. CBA Press Inc. p 625-667.
- Vetayasuporn S. 2009. Effect of dried-grass fermented fertilizer on growth and yield of chinese kale (*Brassica oleracea*) production. *Research Journal of Agriculture and Biological Science*. 5(6):1110-1114.
- Wang J., Liu Z., Wang Y., Cheng W., Mou H. 2014. Production of a water-soluble fertilizer containing amino acids by solid-state fermentation of soybean meal and evaluation of its efficacy on the rapeseed growth. *Journal of Biotechnology* 187:34-42.
- Ward A.J., Hobbs P.J., Holliman P.J., Jones D.L. 2008. Optimization of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Review. Bioresorce Technology*. 99:7928-7940.
- Zucconi F., Perea A., Forte M. 1981. Evaluation toxicity in manure compost. *Biocycle*. 22:54-57.