



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Orizaba

“2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata”

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**OPCIÓN I.- TESIS**

**TRABAJO PROFESIONAL**

“DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS REOLÓGICOS DURANTE LA  
PRODUCCIÓN DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* A PARTIR DE UN  
RESÍDUO DE ORIGEN PORCÍCOLA”

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA**

**PRESENTA:**

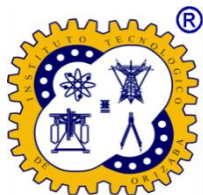
I.B.T. Jael Aidée Aguilar Badillo

**DIRECTOR DE TESIS:**

DR. JUAN MANUEL MÉNDEZ CONTRERAS

**CODIRECTOR DE TESIS:**

DR. EDUARDO HERNÁNDEZ AGUILAR



Orizaba, Veracruz, México



"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

FECHA : 25/11/2019

ASUNTO: Revisión de Trabajo Escrito

**C. MARIO LEONCIO ARRIJOJA RODRIGUEZ**  
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO E INVESTIGACION.  
P R E S E N T E

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C. :

**JAEI AIDEE AGUILAR BADILLO**

la cual lleva el título de:

**"DETERMINACION DE PARAMETROS REOLOGICOS DURANTE LA PRODUCCION DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE A PARTIR DE UN RESIDUO DE ORIGEN PORCICOLA".**

Y concluyen que se acepta.

A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : DR. **JUAN MANUEL MENDEZ CONTRERAS**

SECRETARIO : DR. **EDUARDO HERNANDEZ AGUILAR**

VOCAL : DR. **ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN**

VOCAL SUP. : M.I. **NORMA ALEJANDRA VALEJO CANTU**

FIRMA  
FIRMA  
FIRMA  
FIRMA

EGRESADO (A) DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

OPCION: I Tesis





**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



**TECNOLOGICO NACIONAL DE MEXICO**

Instituto Tecnológico de Orizaba

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

FECHA: 03/12/2019  
DEPENDENCIA: POSGRADO  
ASUNTO: Autorización de Impresión  
OPCIÓN: I

**C. JAEL AIDEE AGUILAR BADILLO**  
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN:  
**CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA**

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

**"DETERMINACION DE PARAMETROS REOLOGICOS DURANTE LA PRODUCCION DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE A PARTIR DE UN RESIDUO DE ORIGEN PORCICOLA".**

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

A T E N T A M E N T E

**MARIO LEONCIO ARRIJOJA RODRIGUEZ**  
JEFE DE LA DIV. DE ESTUDIOS DE POSGRADO



Avenida Oriente 9 Núm. 852, Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94320 Orizaba, Veracruz, México

Tel. 01 (272) 724 4096, Fax. 01 (272) 725 1728 e-mail: orizaba@itorizaba.edu.mx

www.orizaba.tecnm.mx



## AGRADECIMIENTOS

*A Dios quien me permitió llegar hasta aquí, del Señor diré mi escudo es él, fortaleza, mi libertador, mi refugio, torre fuerte, mi ayuda en tiempo de necesidad.*

*A mis padres, que nunca dudaron en darme lo que necesitaba y por compartirme el más grande amor que puede haber, a mi mami por todas las ocasiones que se quedó conmigo despierta haciendo trabajos y a mi papi por ser mi compañía a la escuela todas las mañanas.*

*A mi hermano, el único que tengo, que la vida no sería lo mismo sin él, y de quien siempre estaré orgullosa por haber perseverado, espero un día también verte concluir.*

*A la familia Badillo Sánchez, por su amor, sus oraciones, sus cálidas bienvenidas e incluso sus llamadas de atención. A mis tías, tíos y sus familias, Eli, Miri, Marty, Becky, Toti, Tete, Iris, Moni, Meris, moy, temo, Hur y Dany.*

*A la familia Aguilar López, igualmente por su cariño y preguntar siempre por como estoy. A mis abuelos que nos tienen a todos sus nietos y a sus hijos en oración, y a mis tías y sus familias, July, Toña y Vita.*

*A Cinthia, Celic, Lulú y Carly, mis pequeñas miniCLAMP que admiro de mil y una formas sus ganas de conquistar el mundo y a Erick, que ha sido un gran ejemplo de superación y valentía, gracias por acompañarme en esta etapa, animarme y enseñarme que si se puede.*

*A mis compañeros de laboratorio, maestría y demás personas que me preguntaron cómo iba con los estudios y me alentaron a seguir adelante e ir por más.*

## RECONOCIMIENTOS

*A mi asesor de tesis, el Dr. Juan Manuel Méndez Contreras, por darme su confianza y la oportunidad de participar en este proyecto.*

*Al Dr. Eduardo Hernández Aguilar, al Dr. Alejandro Alvarado Lassman y a la M.I.Q. Norma A. Vallejo Cantú, por sus aportes y observaciones durante la realización del proyecto de investigación.*

*A cada uno de los profesores de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Química por compartir sus conocimientos y por todas sus enseñanzas.*

*A la Universidad Veracruzana por abrir una vez más sus puertas y permitirme realizar parte de la investigación en sus laboratorios.*

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca no. 851016 otorgada durante el periodo comprendido de Octubre del 2017 a Agosto del 2019.*

## RESUMEN

**Elaborado por:** I.B.T. Jael Aidée Aguilar Badillo  
**Dirigido por:** Dr. Juan Manuel Méndez Contreras  
**Co-asesor:** Dr. Eduardo Hernández Aguilar

La actividad porcina ha presentado un continuo crecimiento durante la última década a nivel internacional y nacional; uno de los principales problemas que presenta esta industria es la disposición de las excretas que se generan diariamente y deben ser retiradas. En este trabajo se determinaron los parámetros reológicos de un lodo porcícola crudo y uno con pre-tratamiento térmico caracterizados físicoquímica y microbiológicamente para su uso en el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en dos medios de cultivo orgánico (medio A y B) a base de lactosuero y lodo porcícola pre-tratado térmicamente en diferentes proporciones, llevándose a cabo la cinética en un sistema aerobio a una temperatura de 28.5 °C durante 12 h aplicando un suministro de oxígeno mediante una bomba de aire, haciendo el uso de modelos reológicos de Ostwald-de Waele y Herschel-Bulkley.

Los resultados obtenidos de la caracterización fueron la reducción significativa de los parámetros físicoquímicos y microbiológicos con la aplicación del pre-tratamiento térmico, especialmente la inactivación de microorganismos patógenos; ambos lodos mostraron el comportamiento de un fluido pseudoplástico, encontrándose un mejor ajuste al modelo de Herschel-Bulkley con una  $R^2 > 0.99$ ; también se midieron los parámetros biocinéticos del crecimiento de *S. cerevisiae*, para el medio A y B respectivamente, fueron de  $\mu_{max}$  0.94 y 0.77 h<sup>-1</sup>,  $K_S$  de 6.0 y 6.7 mgS/L y  $Y_{X/S}$  de 0.7 y 6.7 cél/mgS x 10<sup>6</sup>, se calcularon con la ecuación de Lineweaver-Burk, teniendo una  $R^2 > 0.95$ , posteriormente ajustados y simulados con el programa Berkeley Madonna. El modelamiento reocinético se realizó utilizando el software GraphPad Prism 8 empleando el modelo de Herschel-Bulkley con un ajuste de la  $R^2 > 0.99$ , que mostró un comportamiento no newtoniano con características dilatantes que tiende con el tiempo de bioconversión y la temperatura medida a mostrar valores cercanos a un fluido newtoniano.

## ABSTRACT

**By:** I.B.T. Jael Aidée Aguilar Badillo

**Advisor:** Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

**Co-advisor:** Dr. Eduardo Hernández Aguilar

Swine activity has presented a continuous growth over the past decade at international and national levels; one of the main problems in this industry is the disposal of excreta generated daily and it must be removed. In this work the rheological parameters of a crude porcine sludge and one with physicochemical and microbiologically characterized thermal pre-treatment were determined for use in the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in two organic culture mediums (medium A and B) based on whey and porcine sludge pre-heat treated in different proportions, the kinetics being carried out in an aerobic system at a temperature of 28.5 °C for 12 h applying an oxygen supply by means of an air pump, making use of rheological models of Ostwald-de Waele and Herschel-Bulkley.

The results obtained from the characterization were the significant reduction of the parameters physicochemical and microbiological with the application of thermal pretreatment, especially in the inactivation of pathogenic microorganisms; both sludges showed the behavior of a pseudoplastic fluid, finding a better fit to the Herschel-Bulkley model with an  $R^2 > 0.99$ ; the biokinetic parameters of the growth of *S. cerevisiae* were also measured, for medium A and B respectively, they were  $\mu_{max}$  of 0.94 y 0.77 h<sup>-1</sup>,  $K_S$  of 6.0 and 6.7 mgS/L and  $Y_{X/S}$  of 0.7 and 6.7 cel/mgS x 10<sup>6</sup>, they were calculated with the Lineweaver-Burk equation, having an  $R^2 > 0.95$  and subsequently adjusted and simulated with the Berkeley Madonna software. Reo-kinetic modeling was performed using GraphPad Prism 8 software using the Herschel-Bulkley model with a setting of  $R^2 > 0.99$ , which showed a non-newtonian behavior with dilating characteristics that tends with bioconversion time and the temperature measured to show values close to a newtonian fluid.

## ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS .....	iv
LISTA DE TABLAS.....	vi
NOMENCLATURA .....	viii
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS .....	2
CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS .....	4
1.1 Producción porcina en México .....	4
1.1.1 Clasificación de granjas.....	4
1.1.2 Residuos porcícolas .....	6
1.1.2.1 Impacto ambiental.....	7
1.1.2.2 Generación de porcinaza .....	8
1.1.2.3 Características fisicoquímicas de las excretas .....	9
1.1.3 Normatividad vigente en México.....	10
1.1.4 Tratamiento de la porcinaza .....	11
1.1.4.1 Digestión aerobia .....	12
1.2 Probióticos .....	14
1.2.1 <i>Saccharomyces</i> como probiótico.....	14
1.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	16
1.3.1 Requerimientos nutricionales .....	17
1.3.2 Cinética de crecimiento y rendimientos .....	18
1.4 Crecimiento microbiano.....	18
1.4.1 Cinética de crecimiento .....	19
1.4.2 Ecuación de Monod.....	21
1.4.3 Ecuación de Lineweaver-Burk.....	23
1.5 Reología: Fundamentos teóricos .....	24
1.5.1 Parámetros reológicos.....	24
1.5.2 Fluidos.....	26
1.5.3 Modelos reológicos.....	27
1.5.3.1 Modelo de Ostwald-de Waele .....	28



1.5.3.2	Modelo de Herschel-Bulkley.....	29
1.6	Estudios previos.....	29
CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS .....		33
2.1	Metodología experimental .....	33
2.2	Obtención del residuo de origen porcícola .....	34
2.3	Caracterización del residuo de origen porcícola .....	35
2.3.1	Caracterización física del residuo de origen porcícola.....	36
2.3.1.1	Determinación de pH.....	36
2.3.1.2	Determinación de densidad.....	36
2.3.1.3	Determinación de viscosidad.....	37
2.3.1.4	Determinación de sólidos totales.....	37
2.3.1.5	Determinación de sólidos totales volátiles.....	37
2.3.2	Caracterización química del residuo de origen porcícola .....	38
2.3.2.1	Determinación de carbohidratos.....	38
2.3.2.2	Determinación de proteínas .....	39
2.3.2.3	Determinación de lípidos .....	39
2.3.3	Caracterización microbiológica del residuo de origen porcícola .....	40
2.3.3.1	Determinación de coliformes fecales.....	40
2.3.3.2	Determinación de <i>Salmonella</i> spp.....	41
2.3.3.3	Determinación de huevos de helminto .....	41
2.4	Caracterización de los parámetros reológicos del residuo de origen porcícola. ....	42
2.4.1	Modelación reológica.....	43
2.5	Pre-tratamiento térmico del residuo de origen porcícola .....	44
2.6	Obtención de los parámetros reocinéticos del crecimiento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> con el residuo de origen porcícola como sustrato .....	44
2.6.1	Microorganismo .....	44
2.6.2	Medios de cultivo .....	45
2.6.3	Condiciones de cultivo.....	45
2.6.4	Obtención de los parámetros reológicos .....	46
2.6.5	Concentración celular .....	47
2.6.6	Cuantificación de azúcares reductores (Método de DNS) .....	48

2.7	Caracterización reológica de la biomasa final obtenida de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en el residuo de origen porcícola .....	49
CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....		51
3.1	Obtención y caracterización residuo de origen porcícola .....	51
3.2	Caracterización reológica del residuo de origen porcícola .....	53
3.2.1	Modelación reológica .....	54
3.3	Obtención de los parámetros reocinéticos del crecimiento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> con el residuo de origen porcícola como sustrato .....	55
3.3.1	Concentración celular .....	55
3.3.2	Cinéticas de crecimiento de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	56
3.3.3	Cálculo de los parámetros biocinéticos de Monod.....	56
3.3.4	Cálculo de los parámetros reocinéticos .....	59
3.3.5	Caracterización reológica de la biomasa final obtenida de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en el residuo de origen porcícola .....	66
CONCLUSIONES.....		69
ANEXO A .....		72
ANEXO B .....		73
ANEXO C .....		74
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....		79

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Crecimiento de <i>Saccharomyces</i> por gemación .....	16
Figura 1.2 Fases de la curva de crecimiento microbiano. ....	20
Figura 1.3 Modelo de Monod básico que ilustra la relación entre la tasa de crecimiento específico y la concentración de sustrato .....	22
Figura 1.4 Diagrama de Lineweaver-Burk. ....	23
Figura 1.5 Relación del esfuerzo cortante y la velocidad de deformación en diferentes materiales viscosos. ....	27
Figura 1.6 Reograma para un fluido pseudoplástico en escala log-log .....	28
Figura 2.1 Diagrama de bloques con la metodología general. ....	33
Figura 2.2 Granja porcina comercial semi-tecnificada en Mariano Escobedo, Ver. ...	34
Figura 2.3 Preparación del lodo porcícola crudo. ....	35
Figura 2.4 Viscosímetro marca Brookfield modelo DV2T. ....	43
Figura 2.5 Digestión aerobia de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . ....	46
Figura 2.6 Rejilla de cámara Neubauer. ....	47
Figura 3.1 Comportamiento reológico del lodo porcícola. ....	53
Figura 3.2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> visto a través del microscopio. ....	55
Figura 3.3 Fase lag y log del crecimiento de <i>S. cerevisiae</i> en medio orgánico. ....	56
Figura 3.4 Simulación con Berkeley Madonna del modelo de Monod en el crecimiento de <i>S. cerevisiae</i> en el medio orgánico A. ....	58
Figura 3.5 Simulación con Berkeley Madonna del modelo de Monod en el crecimiento de <i>S. cerevisiae</i> en el medio orgánico B. ....	58
Figura 3.6 Reograma de la cinética en el medio orgánico A, medido a 20 °C. ....	59
Figura 3.7 Reograma de la cinética en el medio orgánico A, medido a 28.5 °C. ....	61
Figura 3.8 Reograma de la cinética en el medio orgánico B, medido a 20 °C. ....	62
Figura 3.9 Reograma de la cinética en el medio orgánico B, medido a 28.5 °C. ....	64
Figura A.1 Curva de calibración de solución de antrona. ....	72
Figura A.2 Interfaz inicial del software Berkeley Madonna. ....	74
Figura A.3 Programas AIn y BIn utilizados en la simulación del modelo de Monod. .	75

Figura A.4 Ajuste de curva del modelo de Monod a los datos experimentales. ....	76
Figura A.5 Ventana de selección de “Sliders”. ....	77
Figura A.6 Calculo de “RMS Error”:.....	77

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 Clasificación de granjas por UPOA's.....	5
Tabla 1.2 Tabla de equivalencia en UPOA's.....	6
Tabla 1.3 Producción diaria de excretas según el tipo de cerdo .....	9
Tabla 1.4 Composición promedio de nutrientes de excretas colectadas a diferentes tiempos de residencia en el estercolero .....	10
Tabla 1.5 Tecnologías aplicadas al tratamiento de residuos porcícolas .....	12
Tabla 1.6 Ejemplos de fórmulas probióticas utilizadas en nutrición de ganado .....	15
Tabla 1.7 Modelos reológicos que describen el comportamiento de fluidos en el tiempo .....	27
Tabla 2.1 Parámetros de caracterización del lodo generado. ....	35
Tabla 2.2 Modelos reológicos a comparar.....	43
Tabla 2.3 Composición de medios de cultivo orgánico en porcentaje.....	45
Tabla 3.1 Caracterización del lodo porcícola crudo y el pre-tratado térmicamente...	51
Tabla 3.2 Parámetros de modelos reológicos del lodo porcícola crudo. ....	54
Tabla 3.3 Parámetros de modelos reológicos del lodo porcícola pre-tratado térmicamente.....	54
Tabla 3.4 Parámetros biocinéticos de la ecuación de Lineweaver-Burk. ....	57
Tabla 3.5 Parámetros biocinéticos obtenidos de la simulación con Berkeley Madonna. .....	57
Tabla 3.6 Parámetros reocinéticos del modelo de Ostwald-de Waele de la cinética en el medio orgánico A, medido a 20 °C. ....	60
Tabla 3.7 Parámetros reocinéticos del modelo de Herschel-Bulkley de la cinética en el medio orgánico A, medido a 20 °C. ....	60
Tabla 3.8 Parámetros reocinéticos del modelo de Ostwald-de Waele de la cinética en el medio orgánico A, medido a 28.5 °C. ....	61
Tabla 3.9 Parámetros reocinéticos del modelo de Herschel-Bulkley de la cinética en el medio orgánico A, medido a 28.5 °C. ....	62

Tabla 3.10 Parámetros reocinéticos del modelo de Ostwald-de Waele de la cinética en el medio orgánico B, medido a 20 °C. ....	63
Tabla 3.11 Parámetros reocinéticos del modelo de Herschel-Bulkley de la cinética en el medio orgánico B, medido a 20 °C. ....	63
Tabla 3.12 Parámetros reocinéticos del modelo de Ostwald-de Waele de la cinética en el medio orgánico B, medido a 28.5 °C. ....	64
Tabla 3.13 Parámetros reocinéticos del modelo de Herschel-Bulkley de la cinética en el medio orgánico B, medido a 28.5 °C. ....	65
Tabla 3.14 Parámetros reológicos del modelo de Herschel-Bulkley del cultivo A y B con dos diferentes temperaturas. ....	66
Tabla A.1 Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos. ....	73

## NOMENCLATURA

COA	Carga Orgánica Aplicada.
$\mu_{max}$	Coefficiente de crecimiento específico máximo.
$Y_{X/S}$	Coefficiente de rendimiento.
S	Concentración del sustrato.
$K_s$	Constante de saturación media.
DQO	Demanda Química de Oxígeno.
$\tau$	Esfuerzo cortante.
$T_0$	Esfuerzo de cedencia.
GEI	Gases de Efecto Invernadero.
HH/g ST	Huevos de Helmintos por gramo de Sólido Total.
K	Índice de consistencia.
n	Índice de flujo.
NMP	Número Más Probable
NMP/g ST	Número Más Probable por gramo de Sólido Total.
pH	Potencial de Hidrógeno.
SST	Sólidos Suspendidos Totales.
ST	Sólidos Totales.
STV	Sólidos Totales Volátiles.
$\mu$	Tasa de crecimiento específico.
UFC/kg	Unidades Formadoras de Colonias por kilogramo.
UPOA's	Unidades Porcinas Adultas.
$\dot{\gamma}$	Velocidad de corte.
$\mu$	Viscosidad.
$\mu_A$	Viscosidad aparente

## INTRODUCCIÓN

En México la producción de carne de cerdo alcanzó un nivel de 1.38 millones de toneladas en el 2016, ocupando la novena posición en la producción mundial, previéndose para el 2017 un crecimiento en 3.8 % anual en la producción nacional. Tan sólo en el estado de Veracruz, en 2016, se produjo el 8.8 % del total nacional, siendo el quinto mayor productor del cárnico (FIRA, 2017).

De acuerdo con Domínguez-Araujo *et al.* (2014) la producción diaria promedio de excretas de cerdo es de 2.35 kg/día para el estiércol y 5.8 kg/día de estiércol y orina. Cuando estos residuos no tienen un adecuado manejo, producen problemas ambientales, causando contaminación del aire, agua y suelo, debido a su composición alta en nutrientes no aprovechados, principalmente nitrógeno y fósforo, al igual que la existencia de microorganismos patógenos.

Una alternativa sustentable es la digestión aerobia, la cual lleva a cabo la remoción de contaminantes usando residuos como sustrato en la producción de biomasa. *Saccharomyces cerevisiae* es uno de los microorganismos empleados en la industria por su fácil manipulación y requerimientos nutricionales poco estrictos, además de demostrar efectos positivos como probióticos en los cerdos y lechones (Jiang *et al.*, 2015; Sarris *et al.*, 2014).

La reología de fluidos abarca el estudio de la deformación y flujo de las materias primas, los productos intermedios y los productos finales de la industria, por ello ofrece una solución en el monitoreo de los procesos biológicos, haciendo uso de variables como la viscosidad y el esfuerzo de corte como parámetros de control los cuales ya se han demostrado en diversos estudios para determinar la velocidad de cambio en lodos crudos y digeridos aeróbica y anaeróticamente (Méndez-Contreras *et al.*, 2016).



## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Obtener los parámetros reológicos durante la producción de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de un residuo de origen porcícola.

### Objetivos específicos

- Caracterizar física, química y microbiológicamente el residuo de origen porcícola.
- Caracterizar los parámetros reológicos del residuo de origen porcícola.
- Obtener los parámetros reocinéticos del crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* con el residuo de origen porcícola como sustrato.
- Caracterizar reológicamente la biomasa final obtenida de *Saccharomyces cerevisiae* en el residuo de origen porcícola.

# **CAPÍTULO 1**

## **FUNDAMENTOS TEÓRICOS**

## CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 1.1 Producción porcina en México

En México la producción de carne de cerdo alcanzó un nivel de 1.38 millones de toneladas en el 2016, ocupando la novena posición en la producción mundial, con una participación del 1.3 %, previéndose para el 2017 un crecimiento en 3.8 % anual en la producción nacional, siendo su nivel más alto reportado desde 1984. Tan sólo en el estado de Veracruz, en 2016, se produjo el 8.8 % del total nacional, siendo el quinto mayor productor del cárnico en el país (FIRA, 2017).

#### 1.1.1 Clasificación de granjas

En México los sistemas de producción porcina, de acuerdo con el sistema de producción en que se les explota se clasifican en tres tipos de instalaciones (Domínguez-Araujo *et al.*, 2014):

- **Tecnificadas.** Los porcinos son criados en granjas generalmente grandes que pueden llegar a tener más de 100,000 cerdos de diferentes edades, están ubicados en instalaciones automatizadas, utilizando lo último en tecnología para su producción. Los procesos de limpieza y recolección de residuos se rigen por la infraestructura con la que cuentan estos sistemas, siendo contraproducente, ya que en el proceso de lavado no se obtiene el máximo de potencial de las excretas, para su transformación.
- **Tradicional o semi-tecnificadas.** Los cerdos son criados en explotaciones de diferente tamaño, donde tienen desde 100 animales en adelante y su objetivo es la venta del ganado para abasto. Estas instalaciones son tradicionales y no usan lo último que hay en tecnología para esta especie. Este tipo de producción se ajusta para la implementación de buenas prácticas de manejo, dentro de la

línea de producción, así como el manejo de residuos, aprovechando al máximo su potencial nutritivo para su transformación.

- **Traspatio, sistema rural o de autoabastecimiento:** Los porcinos son mantenidos en corrales rústicos construidos sin tecnología alguna con materiales de la región, en la mayoría de los casos no pasan de 10 animales. No existe ningún manejo de los residuos generados en este tipo de sistema, más aún potencializan el grado de contaminación, sin embargo, son candidatos ideales para el desarrollo e implementación de buenas prácticas de manejo de excretas.

MAGAP (2017) determinó una clasificación de granjas, véase Tabla 1.1, por sistemas de producción y Unidades Porcinas Adultas (UPOA's), para seleccionar las diferentes alternativas de tratamiento de residuos.

Tabla 1.1 Clasificación de granjas por UPOA's (MAGAP, 2017).

<b>Categorías</b>		<b>Número de UPOA's</b>
Familiar	Pequeño	1 – 10
	Comercial	11 – 30
Comercial	Pequeño	31 – 80
	Mediano	81 – 100
	Grande	101 – 300
Industrial	Industrial	301 – 600
	Integrado	> 600

Una UPOA equivale a un cerdo macho adulto utilizado para la reproducción (verraco) y para el resto de las fases etarias existe una tabla de cálculo que se expone en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2 Tabla de equivalencia en UPOA's (MAGAP, 2017).

<b>Categoría etaria</b>	<b>Equivalencia en UPOA's</b>
Verraco	1
Cerdo de engorde	0.8
Madre	0.8
Chanchilla	0.6
Levante	0.6
Lechón	0.1

### 1.1.2 Residuos porcícolas

Los residuos se definen como todo material o producto que, desechado tras su vida útil, puede ser susceptible de ser valorizado o sujetarse a tratamiento o disposición final conforme a lo dispuesto en la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. Los residuos generados en las granjas de producción porcina se pueden clasificar de la siguiente manera (Valenzuela, 2017):

- Residuos comunes o sólidos urbanos: como plásticos, cartón, papel, restos de comida, ropa, etc.
- Residuos de manejo especial: como envases vacíos de alimento y desinfectantes, sacos y residuos de alimentos, agua residual, lodos residuales, materiales de inseminación, placentas, fetos y mortalidad en general.
- Residuos peligrosos: como medicamento caduco, envases de pesticidas, herbicidas, fumigantes, pinturas, tintas, solventes, aceites lubricantes gastados, estopas con residuos de los antes mencionados, lámparas fluorescentes.
- Residuos biológico-infecciosos: como los punzocortantes que tuvieron contacto con algún fluido animal; por ejemplo, agujas, bisturís, cortadoras de ombligos, etc.

Las aguas residuales están formadas por residuos sólidos y líquidos acarreados por el agua de lavado, sus principales ingredientes son una mezcla de excretas (heces y orina), agua, alimento desperdiciado, cama, suelo, desechos producidos durante el parto, entre otros materiales (Pinelli *et al.*, 2004).

### **1.1.2.1 Impacto ambiental**

Estos residuos sólidos y líquidos contaminan el ambiente debido a la alta concentración de sólidos en suspensión, materia orgánica, compuestos de nitrógeno, fósforo y potasio y sustancias gaseosas, como el amoníaco, metilmercaptano y sulfuro de hidrógeno, que poseen y que al no tener un adecuado tratamiento generan Gases de Efecto Invernadero (GEI), entre ellos: metano, dióxido de carbono y óxido nitroso. Por ello se han realizado estudios en la caracterización y tratamiento de los residuales porcinos, con el propósito de disminuir sus efectos negativos en el ambiente. Demostrándose que aproximadamente, 60.0 % de la materia orgánica total en las aguas residuales porcinas y estiércol porcino fácilmente biodegradable, y constituye un buen sustrato base para procesos biológicos, (Pérez-Pérez *et al.*, 2016).

Los problemas que los residuos porcícolas causan al ambiente se dividen en tres tipos (COMARCARENA, 2015):

- Causados al agua: Agotamiento del recurso y contaminación por nitratos y nitrógeno amoniacal.
- Causados al aire: Emisión de gases de efecto invernadero (principalmente de amoníaco y metano) y olores desagradables.
- Causados al suelo: Agotamiento del recurso, contaminación por nitratos, acidificación por amoniaco, degradación de la cobertura, erosión.

Los desechos porcinos influyen directamente sobre el medio ambiente, por lo que es necesario determinar el impacto ambiental que generan los desechos, sobre los

recursos de agua, aire y suelo, factores como olores indeseables y plagas de insectos, además de los efectos sociales y políticos (Pinelli *et al.*, 2004).

### **1.1.2.2 Generación de porcinaza**

La porcinaza, también conocida como cerdaza o purín porcino, es el principal y más abundante subproducto que se genera en las granjas porcícolas, incluye la mezcla de heces y orina de los cerdos, con agua en diferentes diluciones dependiendo de la cantidad de agua usada para la limpieza en los recintos porcícolas. Los principales contaminantes de los purines pueden ser físicos, como la materia orgánica y los sólidos en suspensión (descamaciones, pelo, comida no digerida y en algunos casos contiene material vegetal usado como cama); o químicos como nitrógeno, fósforo y potasio (MAGAP, 2017; COMARCARENA, 2015).

Un mal manejo puede ocasionar impactos al ambiente. Por el contrario, una buena gestión y el aprovechamiento de la porcinaza permite otras actividades agropecuarias como la fertilización o la transformación de su biomasa para la producción de biogás (COMARCARENA, 2015). Las excretas son un desecho que propicia la proliferación de microorganismos potencialmente patógenos en los corrales, además de que en altas concentraciones libera amoníaco al ambiente y malos olores (SAGARPA, 2016).

Existen muchos factores que determinan las tasas de excreción de heces y orina: edad, estado de salud y madurez fisiológica del animal, cantidad, composición, calidad y estado del alimento ingerido, volumen de agua consumida, clima, entre otros (SAGARPA, 2016; Domínguez-Araujo *et al.*, 2014); es por ello que se han realizado estudios para estimar la cantidad de materia fecal (Tabla 1.3) incluyendo las heces, orina y agua.

Tabla 1.3 Producción diaria de excretas según el tipo de cerdo  
(Domínguez-Araujo *et al.*, 2014).

	<b>Estiércol [kg/día]</b>	<b>Est. + orina [kg/día]</b>	<b>Volumen [L/día]</b>	<b>Volumen [m<sup>3</sup>/animal/mes]</b>
25 – 100 kg	2.3	4.9	7.0	0.25
Hembra	3.6	11.0	16.0	0.48
H. lactación	6.4	18.0	27.0	0.81
Semental	3.0	6.0	9.0	0.28
Lechón	0.35	0.95	1.4	0.05
Promedio	2.35	5.8	8.6	0.27

### 1.1.2.3 Características fisicoquímicas de las excretas

El alimento y el animal son los factores que más influyen sobre la composición química de las excretas; la cantidad que absorbe el animal depende de la composición nutritiva del alimento y de la capacidad del animal por fijar los diferentes nutrimentos, principalmente el nitrógeno y el fósforo (Domínguez-Araujo *et al.*, 2014).

La composición de purines de granjas comerciales tiene una amplia gama de variación en las principales características fisicoquímicas. Algunas de estas características, principalmente pH, nitrógeno, nitrógeno amoniacal total, potasio, calcio, cobre, sodio, zinc y ácidos grasos volátiles, se ven afectadas por la categoría del animal (Antezana *et al.*, 2016).

Se pueden encontrar cantidades variables de diferentes nutrientes, las fracciones más importantes que se pueden encontrar son la proteína cruda debido a su posibilidad de rehúso como nutrientes para el ganado y para el suelo; también es importante la fibra cruda como nutrimento animal o como mejorador de suelo (Tabla 1.4).



Tabla 1.4 Composición promedio de nutrientes de excretas colectadas a diferentes tiempos de residencia en el estercolero (INIFAP *et al.*, 2002).

Parámetros	Frescas (1 día)	Intermedias (1 – 2 meses)	Deshidratadas (2 – 4 meses)
Materia seca [%]	32.1	70.6	86.1
Proteína cruda [%]	25.9	20.1	9.6
Extracto etéreo [%]	6.3	6.0	6.0
Fibra cruda [%]	7.1	7.5	10.6
Cenizas [%]	12.0	11.7	13.0
Calcio [g/kg]	28.0	28.1	28.4
Fósforo [g/kg]	18.7	17.8	19.4
Potasio [g/kg]	11.1	12.9	14.9
Cobre [mg/kg]	3.7	4.2	4.8
Zinc [mg/kg]	16.5	18.4	23.5

### 1.1.3 Normatividad vigente en México

SAGARPA en 2016 realizó una actualización al *Manual de Buenas Prácticas de Producción en Granjas Porcícolas*, elaborado por Pinelli *et al.* (2004); este manual hace referencia al manejo y eliminación de desechos, donde se deberá implementar y documentar un programa para la eliminación de desechos, tanto para evitar problemas de salud de los cerdos, contaminación de la carne y peligro a la salud pública, así como para preservar el ambiente y evitar la contaminación del agua.

La unidad de producción no deberá descargar las aguas residuales en los sistemas de drenaje y alcantarillado urbano o municipal, estas deberán ser vertidas en una fosa para este fin, y previamente recibir un tratamiento de separación de sólidos y por ningún motivo se desecharán en canales, ríos, arroyos o cualquier otra fuente de agua (SAGARPA, 2016).

El control de contaminación por descargas de aguas residuales porcinas está regulado por las siguientes leyes y normas de regulación ambiental:

- Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente -1982
- Ley Federal de Derechos de 1991 (Parámetros: DQO, SST)
- Ley de Aguas Nacionales -1992- y su Reglamento -1994.
- Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.
- Norma Oficial Mexicana NOM-002-ECOL-1996, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.

#### **1.1.4 Tratamiento de la porcinaza**

La tecnología de tratamiento para lodos generados por las plantas de tratamiento de aguas residuales se realiza utilizando alguno de los siguientes procesos (Amador-Díaz *et al.*, 2015): físicos (centrifugación, filtración, secado e incineración), químicos (estabilización con cal, el acondicionamiento y la desinfección química), o biológicos (digestión anaerobia y aerobia).

En el caso del manejo de excretas sólidas o líquidas, se deberá considerar el medio para su eliminación, por tanto, será necesario tener el equipo, instalaciones, mano de obra y uso posterior que se le dará al producto (SAGARPA, 2016).

Cada una de las tecnologías presentadas para el manejo de purines que se explican en la Tabla 1.5, son dimensionadas y adaptadas a los requerimientos de cada granja, ya que la composición del purín y el tipo de recolección difieren una de otra y éstas se han desarrollado considerando el número de animales en la granja, su relación con la

cantidad de desechos y el tipo de recolección que posee cada granja, ya sea seca con o sin cama (sólida) o líquida (MAGAP, 2017).

Tabla 1.5 Tecnologías aplicadas al tratamiento de residuos porcícolas (MAGAP, 2017).

Tipo de recolección del purín	Tecnologías	Tipo de granja		
		Familiar	Comercial	Industrial
Seca	Compostaje	X	X	X
	Lombricultura	X	X	X
Líquida	Fertilización con purines	X	X	X
	Digestión anaerobia	X	X	X
	Pantano artificial		X	X
	Lagunas en serie			X
	Lodos activados			X
	Filtro percolador			X

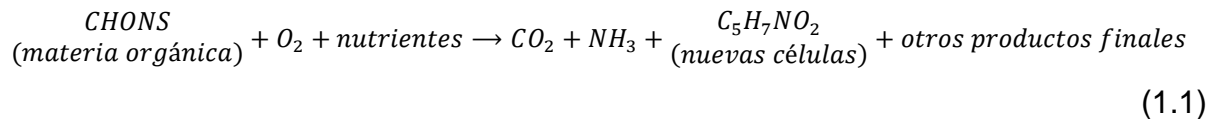
#### 1.1.4.1 Digestión aerobia

La digestión aerobia es un proceso de aireación prolongada (aportando al sistema de oxígeno) para provocar el desarrollo de microorganismos aerobios hasta sobrepasar el periodo de síntesis de las células y llevar a cabo su propia auto-oxidación, reduciendo así el material celular. Este proceso, dependen de la aireación o el mezclado físico, los cuales requieren de mucha energía y recursos. La digestión aerobia, en función del rango en el que se opere, puede ser psicrófila (5 – 20 °C), mesófila (20 – 40 °C) o termófila (50 – 70 °C). Algunos estudios han encontrado que indican que mediante digestión aerobia termófila es posible conseguir una garantía simultánea de estabilización y desinfección (Lara y Del Romero, 2016).

El sistema de tratamiento biológico más común es un sistema de crecimiento suspendido llamado proceso de lodo activado, porque involucra la producción de una masa activa de microorganismos capaces de estabilizar un residuo en condiciones

aeróbicas. La tecnología de lodos activados consiste en agitar y airear el purín homogeneizado, separando sólidos de líquidos, dentro de un reactor aerobio, donde se produce una reacción (Ecuación 1.1) en presencia de oxígeno, generando una masa diversa de microorganismos que comprenden bacterias, hongos, rotíferos y protozoos que, a su vez, forman flóculos o “grumos”, que varían en tamaño desde 50 hasta 200  $\mu\text{m}$ , y se les denomina “lodos activados” que son los que depuran el purín (MAGAP, 2017; Mihelcic y Zimmerman, 2012; Madigan *et al.*, 2009; Tchobanoglous *et al.*, 2003).

Oxidación y síntesis:



El reactor aerobio consiste en un tanque abierto con agitadores mecánicos que producen una aireación adecuada que permite la formación de los flóculos, el tiempo de permanencia del líquido en el reactor es de más de 8 h; normalmente, el agua residual permanece en un tanque de lodo activado durante 5 – 10 h, que es un tiempo demasiado corto para la oxidación completa de toda la materia orgánica. Sin embargo, durante este tiempo la mayoría de la materia orgánica soluble se adsorbe a los flóculos y se incorpora en las células microbianas (Madigan *et al.*, 2009; Tchobanoglous *et al.*, 2003).

Los flóculos formados en el reactor aerobio deben ser trasladados a un decantador o sedimentador para separar los sólidos de los líquidos; los tiempos medios de retención celular necesarios para conseguir una buena sedimentación oscilan entre 3 y 4 días. Parte de este material se devuelve al aireador como inóculo para una nueva agua residual, y el resto se bombea al digestor de lodos anaeróbico o se extrae, se seca y se quema, o bien se emplea como fertilizante (MAGAP, 2017; Madigan *et al.*, 2009; Tchobanoglous *et al.*, 2003).

Muchas de las plantas de tratamiento someten el efluente a cloración después del tratamiento secundario para reducir aún más la posibilidad de contaminación biológica. El efluente así tratado puede verterse en ríos o lagos, para ello es indispensable realizar un análisis físico, químico y microbiológico del efluente, que cumpla con las normativas vigentes antes de ser descargado (MAGAP, 2017; Madigan *et al.*, 2009).

## 1.2 Probióticos

Los probióticos son cepas de microorganismos vivos que cuando se administran en la cantidad adecuada, le generan un efecto benéfico al huésped, disminuyen los problemas de salud y pueden aumentar la productividad, gracias a que con ellos se pueden afectar las proporciones de las diferentes especies de bacterias en la microbiota del tracto gastrointestinal (Giraldo-Carmona *et al.*, 2015). Entre las cepas de mayor utilización como probióticos se encuentran principalmente bacterias Gram positivas como *Bacillus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Streptococcus*. También algunos hongos y cepas de levadura de las especies *Saccharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces* son probióticos (Markowiak y Śliżewska, 2018).

### 1.2.1 *Saccharomyces* como probiótico

Las células de levadura son ricas en vitaminas y en proteínas, excepto en aminoácidos con azufre (Madigan *et al.*, 2009). Los probióticos a base de levaduras como *Saccharomyces* han demostrado un efecto positivo sobre los rendimientos productivos, el estado sanitario y la respuesta inmunitaria, especialmente en cerdas reproductoras y en lechones (Jiang *et al.*, 2015).

Hay informes que indican que el uso de probióticos bacterianos es más eficaz en el caso de pollos, cerdos y terneras jóvenes, mientras que la administración de cepas de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y hongos (*Aspergillus oryzae*) ofrece mejores resultados en rumiantes adultos. En el caso de los lechones, el principal efecto

esperado de los probióticos es una reducción de la frecuencia de diarrea, lo que plantea un problema en las semanas iniciales posteriores al destete, la eficacia de los probióticos para combatir la diarrea es uno de los aspectos más estudiados. El origen de las cepas que pueden usarse como suplementos alimenticios puede ser diferente, algunos ejemplos de ellos en los que participa *Saccharomyces* en su formulación se muestran en la Tabla 1.6. Es importante que los organismos probióticos estén presentes en cantidades apropiadas, la dosis recomendada para la mayoría de las cepas probióticas es de  $10^9$  UFC/kg de alimento (Markowiak y Śliżewska, 2018).

Tabla 1.6 Ejemplos de fórmulas probióticas utilizadas en nutrición de ganado (Markowiak y Śliżewska, 2018).

Denominación comercial del preparado (productor)	Microorganismos	Destino
Bro-biofair (Vitality Co.)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cerdos
Cerbiopor	<i>Lactobacillus: acidophilus, brevis, casei, fermentum, lactis, plantarum; Bacillus: subtilis, megaterium, pumilus; Enterococcus faecium, Cellulomonas sp., Saccharomyces cerevisiae</i>	Cerdos
Doctor Em® (Biotron)	<i>Lactobacillus: paracasei, plantarum; Lactococcus lactis, Saccharomyces cerevisiae</i>	Aves, cerdos, terneras
Lavipan® (JHJ)	<i>Lactobacillus: plantarum, casei; Lactococcus lactis, Carnobacterium divergens, Saccharomyces cerevisiae</i>	Aves, cerdos
Microguard (PeterLab Holdings)	<i>Bacillus: licheniformis, megaterium, mesentericus, polymyxa, subtilis; Saccharomyces boulardii; Bifidobacterium bifidum; Lactobacillus: acidophilus, bulgaricus, plantarum; Streptococcus faecium</i>	Aves, cerdos
Probiosacc C-I	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Terneras
Pro-Biotyk em15® (ProBiotics)	<i>Bacillus subtilis, Bifidobacterium: animalis, bifidum, longum, Lactobacillus: acidophilus, casei, delbrueckii subsp. bulgaricus, fermentum, plantarum; Lactococcus lactis subsp. lactis; Saccharomyces cerevisiae; Streptococcus thermophilus</i>	Aves, cerdos, terneras, caballos
Super-CyC (Choong Ang Biotech Co. Ltd.)	<i>Bacillus subtilis, Saccharomyces cerevisiae</i>	Aves, cerdos, vacas, caballos

### 1.3 *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* es la especie de levaduras más utilizada a nivel industrial por ser un microorganismo de fácil manipulación y recuperación (con características de floculación y sedimentación para el procesamiento posterior), no requiere un cultivo complejo, posee alta viabilidad celular, es osmotolerante siendo capaz de utilizar concentraciones elevadas de azúcares y tolerar altas concentraciones de etanol, presenta un bajo costo de inversión y produce bajos niveles de subproductos en la fermentación, la mayoría de las levaduras son anaerobios facultativos, capaces tanto de un metabolismo totalmente aeróbico como de un metabolismo fermentativo (Sarris *et al.*, 2014; Castillo y Hernández, 2013; Madigan *et al.*, 2009).

Las células de *Saccharomyces* y de otros ascomicetos unicelulares son normalmente esféricas, ovales o cilíndricas, presentan un diámetro de 8 – 10  $\mu\text{m}$ , y su división celular normalmente se produce por gemación (Figura 1.1). En el proceso de gemación, la nueva célula se forma como una pequeña excrecencia de la célula progenitora; esta yema va engrosándose gradualmente y se acaba separando de la célula progenitora. Las células de levadura son normalmente mucho más grandes que las células bacterianas y pueden distinguirse microscópicamente de los procariontes gracias a su mayor tamaño y a la presencia obvia de estructuras intracelulares como el núcleo o vacuolas citoplasmáticas (Madigan *et al.*, 2009).

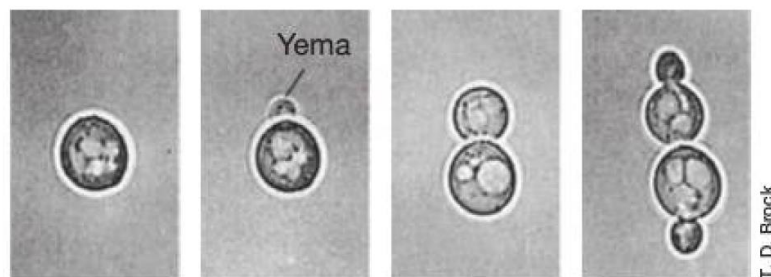


Figura 1.1 Crecimiento de *Saccharomyces* por gemación (Madigan *et al.*, 2009).

Las aplicaciones modernas de esta especie de levadura se han expandido mucho más allá de las aplicaciones clásicas, presenta una amplia utilización y aceptación en la industria actual. La biomasa de origen unicelular tiene aplicaciones como suplemento proteico en alimentación animal y humana, además, se ha investigado su utilización en la fabricación de ingredientes funcionales, suplementos proteicos, para resaltar el sabor de alimentos procesados, la producción heteróloga de enzimas y proteínas farmacéuticas, entre otros con aplicaciones medioambientales (Türker, 2015).

### **1.3.1 Requerimientos nutricionales**

Las levaduras prosperan en hábitats donde hay azúcares disponibles, como en frutas, flores o la corteza de los árboles. Sin embargo, las levaduras comerciales son bastante diferentes de las cepas silvestres, porque han sido mejoradas a lo largo de los años mediante una cuidadosa selección y manipulación genética. La levadura que se utiliza en panadería o para fines alimentarios se cultiva en grandes fermentadores aireados, en un medio que contiene melaza como ingrediente principal. La melaza contiene grandes cantidades de azúcar que sirven como fuente de carbono y de energía, y también contiene minerales, vitaminas y aminoácidos que son utilizados por la levadura. Para crear un medio completo para el crecimiento de la levadura, se añaden ácido fosfórico (una fuente de fósforo) y sulfato amónico (una fuente de azufre y de nitrógeno) (Madigan *et al.*, 2009).

De las fuentes de carbono y energía que puede emplear *Saccharomyces cerevisiae* en primer lugar están la glucosa y la sacarosa, también puede emplear fructuosa, galactosa, maltosa, etanol y suero hidrolizado, ya que la levadura de cerveza no puede asimilar lactosa. El nitrógeno asimilable debe administrarse en forma de amoníaco, urea o sales de amonio, aunque también se pueden emplear mezclas de aminoácidos. Ni el nitrato ni el nitrito pueden ser asimilados. Otros macroelementos indispensables son el fósforo que se emplea en forma de ácido fosfórico y el magnesio como sulfato de magnesio, que también provee azufre. Son también necesarios el calcio, hierro,



cobre y zinc como elementos menores. Se ha establecido que *S. cerevisiae* requiere 200 µg de zinc, 75 µg de hierro y 12 – 15 µg de cobre por litro de medio para crecimiento óptimo. Como requerimiento nutricional para la producción de levadura, se necesita 1 g de oxígeno para la producción de 1g de levadura seca en el caso de crecimiento en condiciones óptimas. La presencia de azúcares asimilables superiores a 0.16 gL<sup>-1</sup> produce invariablemente formación de alcohol en el proceso de crecimiento de *S. cerevisiae* aún en presencia de exceso de oxígeno, denominado efecto Crabtree, es por ello que la producción de levadura se debe llevar a cabo con sistemas de "batch" alimentado con alimentación programada de azúcares para maximizar la formación de biomasa e impedir la formación de alcohol (Ertola *et al.*, 2006).

### 1.3.2 Cinética de crecimiento y rendimientos

Para *Saccharomyces cerevisiae* se ha establecido un valor de  $K_S = 25 \text{ mg}_{\text{glucosa}}\text{L}^{-1}$ , siendo  $\mu$  dependiente de la concentración de sustrato por debajo de  $S = 10 K_S$ , o sea 250 mgL<sup>-1</sup>. La eficiencia de un proceso industrial de producción de biomasa se mide en base al valor  $Y_{X/S}$ . Los valores óptimos a partir de azúcares están alrededor de 0.5 g de biomasa seca por gramo de azúcar asimilada. En el caso de emplearse etanol, el rendimiento puede alcanzar valores de 0.78 a 0.80 (Ertola *et al.*, 2006).

## 1.4 Crecimiento microbiano

Cuando se siembran microorganismos en un medio de cultivo apropiado comienzan a dividirse empleando los nutrientes que le aporta el medio de cultivo y formar nuevos microorganismos. Este proceso continúa hasta que algún nutriente del medio de cultivo se agota (sustrato limitante) y el crecimiento se detiene. También puede detenerse el crecimiento por acumulación de alguna sustancia inhibidora formada por los mismos microorganismos (Ertola *et al.*, 2006).

### 1.4.1 Cinética de crecimiento

La velocidad de crecimiento está influenciada por las condiciones ambientales (temperatura, composición del medio de cultivo) así como por las características genéticas del organismo. La Figura 1.2 representa el comportamiento de crecimiento de un microorganismo a través del tiempo. Posee 4 fases y con ella se determina el momento en que se produce la mayor cantidad de biomasa (Madigan *et al.*, 2009).

- Fase de adaptación (latencia o lag). Es el periodo de adaptación del microorganismo a las nuevas condiciones nutricionales y ambientales. Ocurre gran actividad metabólica, las células no se dividen, puede tardar de minutos a horas. Para que ocurra crecimiento en un medio de cultivo particular, las células deben tener un equipamiento enzimático completo que permita la síntesis de los metabolitos esenciales que no están presentes en el medio. Al pasar a otro medio, se necesita tiempo para la síntesis de las nuevas enzimas.
- Fase exponencial (logarítmica o log). Aumento regular de la población que se duplica a intervalos regulares de tiempo. El crecimiento puede ser cuantificado con el número de células que se producen por unidad de tiempo. La fase termina cuando se agotan los nutrientes, las condiciones ambientales se modifican o el microorganismo produce metabolitos tóxicos que inhiben su reproducción. En general, las células en crecimiento exponencial están en el estado fisiológico más sano y por ello las células tomadas en crecimiento exponencial son a menudo las más indicadas para estudios enzimáticos y estructurales.
- Fase estacionaria. Cese del crecimiento por agotamiento de nutrientes o por acumulación de productos tóxicos, frecuentemente ocurren ambas, el número de células nuevas es igual a las células que mueren, este fenómeno se llama crecimiento críptico. Aunque no suele haber crecimiento en la fase estacionaria,

muchas funciones celulares continúan, incluyendo el metabolismo energético y algunos procesos biosintéticos. En un sistema de cultivo cerrado, monofásico o en batch, el crecimiento exponencial no se puede prolongar de modo indefinido.

- Fase de muerte. También conocida como de declinación, inicia cuando los nutrientes no son suficientes para que el microorganismo se reproduzca o cuando existe una acumulación de sustancias tóxicas, el número de células que mueren es mayor al número de células que se dividen, disminuyendo así la cantidad de células viables, en algunos casos la muerte se acompaña de una lisis celular real. en la mayoría de los casos la velocidad de muerte celular es mucho más lenta que la de crecimiento exponencial.

El recuento de viables mide las células que son capaces de dividirse en el cultivo. La densidad óptica (turbidez) es una medida cuantitativa de la dispersión de la luz en un cultivo líquido y se incrementa cuando aumenta el número de células.

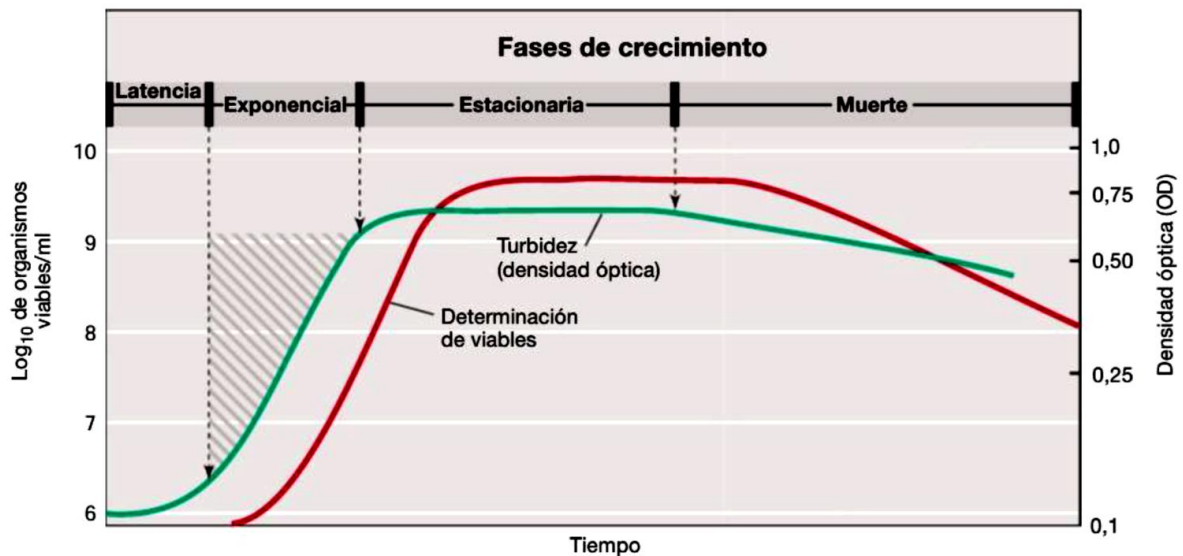


Figura 1.2 Fases de la curva de crecimiento microbiano (Madigan *et al.*, 2009).

### 1.4.2 Ecuación de Monod

El modelo de Monod (Ecuación 1.2) describe la interacción entre el crecimiento de microorganismos en un cultivo por lotes y la utilización del sustrato limitativo del crecimiento en aquellos sistemas donde prácticamente todo el sustrato es transformado en biomasa (Prifti *et al.*, 2017). En él, el coeficiente de crecimiento específico máximo toma en cuenta los efectos de las limitantes (Mihelcic y Zimmerman, 2012), se expresa:

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} \frac{S}{K_S + S} \quad (1.2)$$

Donde:

$\mu$  es la tasa de crecimiento específico, (día<sup>-1</sup>)

$\mu_{m\acute{a}x}$  es el coeficiente de crecimiento específico máximo, (día<sup>-1</sup>)

$S$  es el nutriente o la concentración del sustrato, (mgS/L)

$K_S$  es la constante de saturación media, (mgS/L)

El sustrato puede ser un macronutriente (por ejemplo, carbono orgánico en el tratamiento de desechos biológicos) o un micronutriente que limite el crecimiento (como el fósforo de los lagos). Como se ilustra en la Figura 1.3, la constante de saturación media ( $K_S$ ) se define como la concentración del sustrato ( $S$ ) a la cual la tasa de crecimiento es la mitad de su valor máximo, es decir,  $\mu = \mu_{m\acute{a}x}/2$ . La magnitud de  $K_S$  refleja la capacidad que tiene un organismo de consumir el sustrato a diferentes niveles. Los organismos con un bajo  $K_S$  se aproximan a su tasa de crecimiento específica máxima ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ) a concentraciones de sustrato comparativamente bajas, en tanto que aquéllos cuyos altos valores de  $K_S$  requieren de niveles más altos de sustrato para alcanzar el mismo nivel de crecimiento (Mihelcic y Zimmerman, 2012).

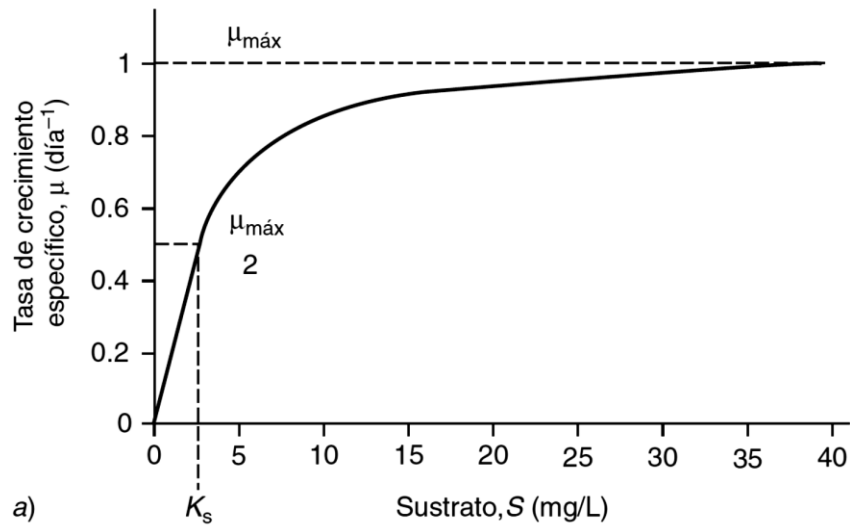


Figura 1.3 Modelo de Monod básico que ilustra la relación entre la tasa de crecimiento específico y la concentración de sustrato (Mihelcic y Zimmerman, 2012).

Para modelar las concentraciones de sustrato, o para relacionar el consumo del sustrato con el crecimiento de un organismo, se aplica el coeficiente de rendimiento ( $Y_{X/S}$ ), que se define como la cantidad de organismos que se producen por unidad de sustrato que se consume (Prifti *et al.*, 2017):

$$Y_{X/S} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (1.3)$$

Donde  $X_0$  y  $S_0$  son los valores iniciales de la concentración de la biomasa y del sustrato limitante. Se expresa en unidades de biomasa que se producen por masa de sustrato consumido y en el caso de carbono orgánico siempre es menor que 1.0, porque los microorganismos no son 100% eficientes al convertir el sustrato en biomasa, ya que destinan cierta energía a su propio mantenimiento (Mihelcic y Zimmerman, 2012).

Es común aplicar el coeficiente de rendimiento para relacionar la tasa de utilización del sustrato ( $dS/dt$ ) con la tasa de crecimiento del organismo ( $dX/dt$ ) (Prifti *et al.*, 2017; Mihelcic y Zimmerman, 2012):

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y_{X/S}} * \frac{dX}{dt} \quad (1.4)$$

### 1.4.3 Ecuación de Lineweaver-Burk

Lineweaver y Burk introdujeron otra forma de expresar la Ecuación 1.2, graficando los recíprocos de la velocidad y de la concentración del sustrato, obteniendo una línea recta en lugar de la hipérbola durante la fase exponencial (Prifti *et al.*, 2017). La ecuación es:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_S}{\mu_{m\acute{a}x}} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{m\acute{a}x}} \quad (1.5)$$

Este método de linealización es útil para determinar  $\mu_{m\acute{a}x}$  y  $K_S$ . La representación gráfica de  $1/\mu$  versus  $1/S$  (Figura 1.4), en el caso de microorganismos que se comportan de acuerdo con el modelo de Monod, corresponde a una línea recta, cuya intersección es  $1/\mu_{m\acute{a}x}$  y pendiente es  $K_S/\mu_{m\acute{a}x}$ .

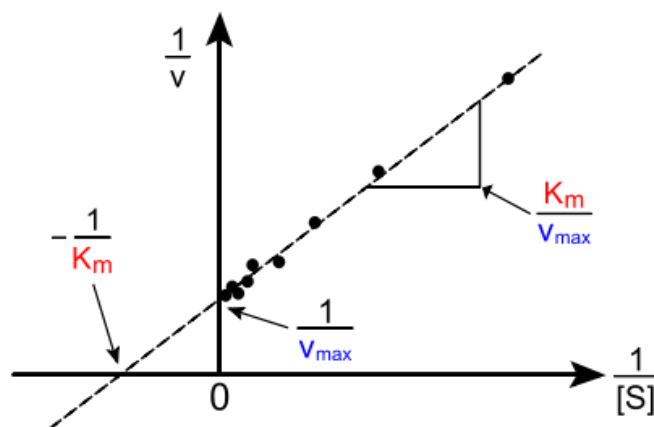


Figura 1.4 Diagrama de Lineweaver-Burk.

## 1.5 Reología: Fundamentos teóricos

La reología (del griego *reos*, fluir y *logos*, estudio) es la ciencia del flujo y la deformación de la materia, describe la interrelación entre fuerzas, deformaciones y tiempo. La reología es aplicable a todos los materiales, desde los gases hasta los sólidos; abarca el estudio de la deformación y flujo de las materias primas sin procesar, los productos intermedios o semielaborados, y los productos finales de la industria (White, 2008).

El uso de propiedades reológicas como la viscosidad y el esfuerzo cortante resultan ser un método alternativo de monitoreo para determinar la velocidad de cambio en lodos crudos y digeridos aeróbica y anaeróbicamente usando factores como: la degradación de la materia orgánica que está presente en los lodos activados, temperatura, parámetros eléctricos como la impedancia y la concentración de sólidos suspendidos totales. (Méndez-Contreras *et al.*, 2016).

### 1.5.1 Parámetros reológicos

La reología de fluidos estudia la relación que existe entre la fuerza motriz que provoca el movimiento del fluido, esfuerzo cortante  $\tau$ , y la velocidad de flujo que se origina, gradiente del perfil de velocidad  $\dot{\gamma}$  (Rojas *et al.*, 2012).

- El esfuerzo cortante ( $\tau$ ) es la fuerza por unidad de área aplicada paralelamente al desplazamiento (cortante), es decir, la fuerza mínima necesaria para mover un fluido. Tiene unidades de fuerza dividido por superficie, en el sistema internacional de unidades se mide en Pa.

$$\tau = \frac{F}{A} [=] \frac{\text{dina}}{\text{cm}^2} [=] \frac{\text{N}}{\text{m}^2} [=] \text{Pa}$$

(1.6)

- La velocidad de corte ( $\dot{\gamma}$ ) es el gradiente (velocidad espacial de cambio) del perfil de velocidades. La velocidad de corte (gradiente de velocidad) se mide en tiempo<sup>-1</sup> (1/s).

$$\dot{\gamma} = \frac{dv}{dy} [=] \frac{\frac{cm}{s}}{cm} [=] s^{-1} \quad (1.7)$$

- La viscosidad ( $\mu$ ) es la propiedad de los fluidos a oponerse al flujo cuando se le aplica una fuerza, describe la relación entre el esfuerzo de corte aplicado y la velocidad de corte adoptada por el fluido, entre más alta sea la viscosidad de un fluido mayor resistencia interna al flujo tendrá.

$$\mu = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} [=] Pa * s \quad (1.8)$$

- La viscosidad aparente ( $\mu_A$ ) es la viscosidad real o viscosidad verdadera observada, se mide en Pas.
- Índice de consistencia (K) es el factor de consistencia del flujo laminar, un aumento de K indica un aumento en la concentración de sólidos o disminución del tamaño de las partículas, es decir indica la consistencia de un fluido, se expresa en Pas.
- Índice de flujo (n) es la relación numérica entre el esfuerzo de corte y la velocidad de corte, entre más alejado de la unidad sea el valor de n, más no newtoniano es el comportamiento del fluido, es adimensional.



- Esfuerzo de cedencia ( $\tau_0$ ) es el esfuerzo mínimo de corte que debe aplicarse a un fluido para que comience a desplazarse, se mide en Pa.

### 1.5.2 Fluidos

Un fluido se define como una sustancia que se deforma continuamente bajo la aplicación de esfuerzos cortantes. Existen dos diferentes tipos de comportamientos reológicos marcados: fluidos newtonianos y fluidos no newtonianos. En el primero la viscosidad es constante independientemente del esfuerzo de corte al cual se somete el fluido. En el segundo la viscosidad depende del esfuerzo de corte aplicado (White, 2008). Existen diversos tipos de comportamiento no newtoniano:

- Dilatante, es aquel fluido en el que la resistencia a la deformación aumenta al aumentar el esfuerzo cortante, como ocurre con las suspensiones de almidón o como las arenas movedizas, que se espesan a medida que uno se mueve en ellas.
- Pseudoplástico, es el fluido en el que disminuye su resistencia al aumentar el esfuerzo. Si este efecto es muy importante, el fluido se denomina *plástico*. Algunos ejemplos son suspensiones coloidales, pulpa de papel en agua, el plasma en sangre, resina y melazas.
- Plástico de Bingham, es una idealización del fluido plástico; es el caso límite de sustancia plástica, en el que se requiere un esfuerzo finito (límite de fluencia) antes de comenzar a fluir. El comportamiento en la fluencia puede ser también no lineal. Algunos ejemplos son las suspensiones de arcillas, los lodos para sondeos, la pasta de dientes, el chocolate y la mostaza.

En la Figura 1.5 se puede ver la diferencia en cuanto al comportamiento reológico de un fluido newtoniano y los fluidos no newtonianos mencionados anteriormente.

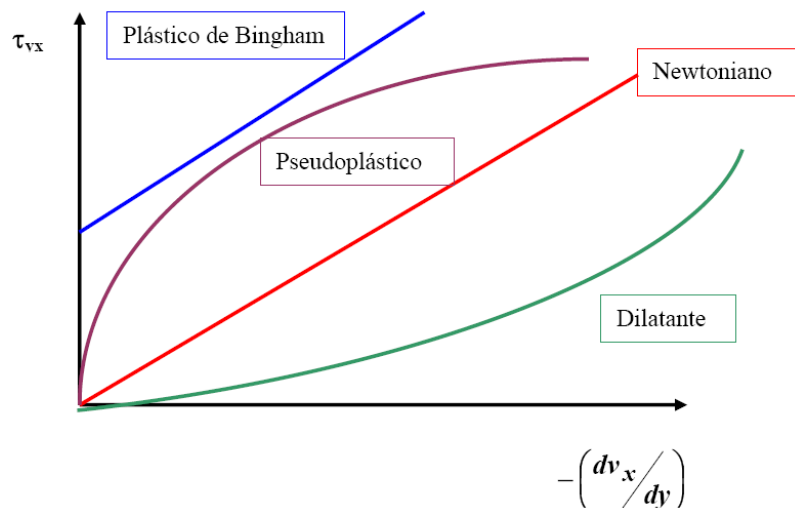


Figura 1.5 Relación del esfuerzo cortante y la velocidad de deformación en diferentes materiales viscosos.

### 1.5.3 Modelos reológicos

El comportamiento reológico de un fluido alimentario puede describirse según distintas ecuaciones que relacionan el esfuerzo cortante con la velocidad de deformación. En la literatura se reportan diversas ecuaciones para describir el comportamiento reológico de los fluidos no newtonianos independientes del tiempo (Rodríguez, 2006). Las más comunes se muestran en la Tabla 1.7.

Tabla 1.7 Modelos reológicos que describen el comportamiento de fluidos en el tiempo (Rodríguez, 2006).

Modelo	Ecuación
Ostwald-de Waele ó Ley de Potencia	$\tau = K\dot{\gamma}^n$
Herschel-Bulkley	$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n$
Casson modificada	$\tau^{0.5} = \tau_0^{0.5} + K_1\dot{\gamma}^{n_1}$
Herschel-Bulkley modificada	$\tau^{n_1} = \tau_0^{n_1} + K_1\dot{\gamma}^{n_2}$
Serie de potencias	$\tau = K_1\dot{\gamma} + K_2\dot{\gamma}^3 + \dots$

En estas expresiones  $K$ ,  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $n$ ,  $n_1$ ,  $n_2$ ,  $\tau$  y  $\tau_0$  son constantes características del sistema. Corresponde al investigador la selección de una u otra ecuación en dependencia del ajuste logrado a los resultados experimentales.

El valor de  $K$  recibe el nombre de índice de consistencia y el valor de  $n$  el de índice de comportamiento de flujo (o índice de flujo). En el caso de los fluidos plásticos  $\tau_0$  es el esfuerzo de cedencia, tensión límite a partir de la cual comienza a fluir el material.

### 1.5.3.1 Modelo de Ostwald-de Waele

También conocida como ley de potencia. Para  $n = 1$  se transforma en la ley de viscosidad de Newton, cuando  $n < 1$  el comportamiento es pseudoplástico, mientras que  $n > 1$  el comportamiento es dilatante, este modelo no contempla la existencia de un esfuerzo de cedencia (Rojas *et al.*, 2012). La ecuación de Ostwald es sencilla y sirve para interpolar. Normalmente se trabaja con escalas  $\log \tau$  vs.  $\log \dot{\gamma}$ , obteniendo reogramas lineales (Figura 1.6).

$$\tau = K\dot{\gamma}^n$$

$$\text{ó} \tag{1.9}$$

$$\log \tau = \log K + n \log \dot{\gamma} \tag{1.10}$$

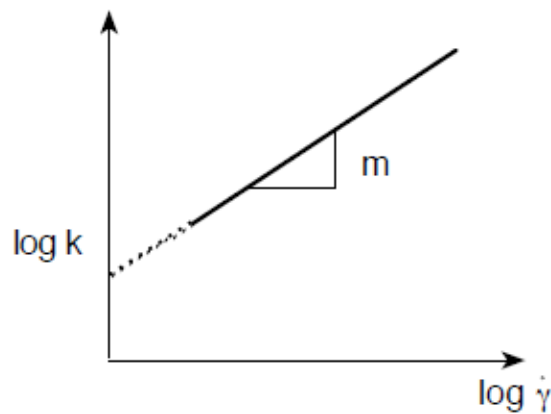


Figura 1.6 Reograma para un fluido pseudoplástico en escala log-log (Rojas *et al.*, 2012)

### 1.5.3.2 Modelo de Herschel-Bulkley

Este modelo es una relación general para describir el comportamiento de fluidos no newtonianos. En este modelo se añadió el término de esfuerzo de cedencia ( $\tau_0$ ) para describir el comportamiento de fluidos pseudoplásticos y dilatantes (Rojas *et al.*, 2012).

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad (1.11)$$

## 1.6 Estudios previos

Romero *et al.* (2017) emplearon residuos porcícolas, de una granja localizada en el municipio de Mariano Escobedo, Veracruz, en la obtención de ácido láctico y así mismo evaluar la inactivación de microorganismos patógenos (coliformes totales y *Salmonella*) en el sustrato a partir de tres especies de lactobacilos, *L. acidophilus*, *L. fermentum* y *L. reuteri*, llevando a cabo el estudio cinético para cada especie, variando la concentración de carbohidratos y el pH. En los resultados se pudo observar que a mayor concentración de carbohidratos se obtiene mayor producción de ácido láctico. Las tres fermentaciones donde el sustrato se diluyó en solución con sacarosa presentaron el mismo grado de inactivación de patógenos, logrando reducir los coliformes totales de  $4.6 \times 10^9$  a  $2.4 \times 10^7$  NMP/g ST y para *Salmonella* de  $2.4 \times 10^4$  a  $4.6 \times 10^3$  NMP/g ST; las fermentaciones en las que no se adicionó sacarosa se observó para *Lactobacillus fermentum* y *reuteri* la inactivación de coliformes totales de  $4.6 \times 10^9$  a  $2.4 \times 10^7$  NMP/g ST y para *Salmonella spp.* de  $2.4 \times 10^4$  a  $4.6 \times 10^3$  NMP/g ST, sin embargo para *L. acidophilus* no se observó inactivación de patógenos.

Calderón (2017) igualmente empleó residuos porcícolas de la granja localizada en el municipio de Mariano Escobedo, Veracruz, para la producción de algas *Chlorella spp.* y *Spirulina maxima* en condiciones aerobias, realizando un pre-tratamiento alcalino

con bicarbonato de sodio para elevar el pH y desdoblar los enlaces peptídicos del residuo, favoreciendo así el aprovechamiento de nutrientes.

Méndez-Contreras *et al.* (2016) evaluaron el comportamiento reológico de lodos digeridos obtenidos a partir de la modificación de la Carga Orgánica Aplicada (COA), probando cuatro COAs (1, 5, 10 y 15 gSV L<sup>-1</sup><sub>reactor</sub> d<sup>-1</sup>) para suprimir la actividad metanogénica de lodos generados de un rastro de aves y producir hidrogeno anaeróbicamente; el comportamiento reológico fue caracterizado por el modelo Herschel-Bulkley en el cual los lodos crudos y digeridos mostraron un comportamiento de flujo pseudoplástico y dilatante, respectivamente, independientemente de la COA utilizada.

Montalvo (2015) realizó la reocinética en el proceso de producción de ácido láctico con suero de leche como sustrato con la levadura *Kluyveromyces marxianus*, evaluando los efectos de la concentración inicial de sustrato, inóculo y oxígeno; modeló la cinética de crecimiento empleando el método de Lineweaver-Burk y encontró en la caracterización reológica que la biomasa presentaba un comportamiento no newtoniano con características dilatantes, donde el crecimiento de la levadura no fue significativo para modificar la viscosidad del caldo y la reocinética se expresó mediante un modelo lineal, demostrando que existe una correlación entre el esfuerzo de corte inicial y la concentración de la levadura.

Giraldo-Carmona *et al.* (2015) y Gutiérrez *et al.* (2013) realizaron una revisión bibliográfica del uso de probióticos como remplazo a los antibióticos como promotores de crecimiento en la alimentación del cerdo, entre ellos se encontraban las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *bouardii* que en combinación con otras cepas, principalmente *Lactobacillus acidophilus* y *Bacillus subtilis*, tienen efectos positivos en los lechones y algunos cerdos en etapa de crecimiento, los cuales fueron: ganancia de peso, mayor consumo de alimento y conversión alimenticia, mejor consistencia en las heces y disminución de la diarrea postdestete, cambios en la microbiota del tracto

gastrointestinal mostrando aumento en el recuento de las bacterias ácido lácticas y disminución en el recuento de bacterias patógenas como *E. coli*, así como el de los coliformes fecales.

Solis (2013) calculó los parámetros reológicos en la producción de etanol con la levadura *Kluyveromyces marxianus* utilizando como materia prima suero de leche y como sustrato la lactosa presente en el suero y adicionada, encontrando que la biomasa generada poseía un comportamiento no newtoniano con características dilatantes y un ajuste de 0.97 al modelo de Ostwald-de Waele y de 0.98 al de Herschel-Bulkley.

Rodríguez (2006) llevó a cabo un estudio comparativo para la Cervecería BAVARIA S.A. del comportamiento reológico de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (variedad *uvarum*) empleada para el proceso de producción de cerveza en tanques cilindro – cónicos versus tanques convencionales, con el fin de dar conocimiento de propiedades reológicas que aporten a la industria fundamentos científicos útiles en el desarrollo e implementación de nuevas alternativas tecnológicas que permitan la optimización de procesos de producción. Los parámetros obtenidos de viscosidad aparente fueron de la levadura empleada en la Cervecería de Boyacá a 4 °C y 30 s<sup>-1</sup> oscila entre 0.03 y 0.08 Pa\*s y de la levadura empleada en la Cervecería de Bogotá a 4 °C y 30 s<sup>-1</sup> oscila entre 0.02 y 0.04 Pa\*s. El comportamiento reológico de la levadura cervecera empleada en BAVARIA S.A. fue estudiado en el rango de temperatura, generación, viabilidad y pH determinados de acuerdo con las condiciones normales de proceso, y se logró determinar que su comportamiento reológico se ajustaba al de un fluido pseudoplástico.

## **CAPÍTULO 2**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

## CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Metodología experimental

En la Figura 2.1 se describe la metodología utilizada para el desarrollo de los objetivos de este proyecto.

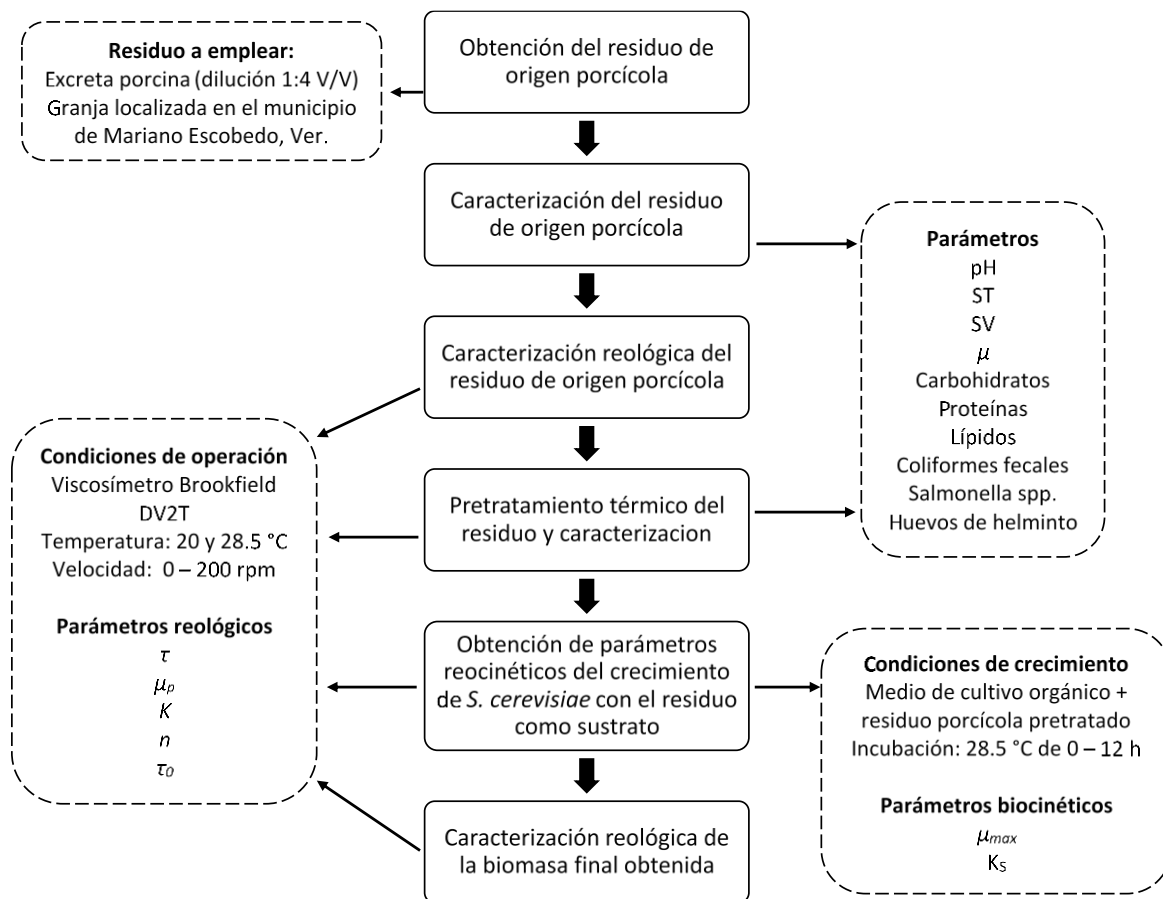


Figura 2.1 Diagrama de bloques con la metodología general.



## 2.2 Obtención del residuo de origen porcícola

La selección y obtención del residuo porcícola se realizó en una granja porcina comercial semi-tecnificada localizada en el municipio de Mariano Escobedo, Veracruz, México (Figura 2.2), dedica a la crianza de un promedio de 60 cerdos de distintas especies y fases etarias.



Figura 2.2 Granja porcina comercial semi-tecnificada en Mariano Escobedo, Ver.

Las muestras obtenidas estuvieron conformadas de excretas frescas de cerdos y fueron depositadas en recipientes de 2 L para su fácil manejo y transporte. Posterior a su recolección se procedió a realizar una dilución de 1:4 V/V con agua destilada, para simular el proceso de lavado y obtener una muestra con un 2 – 4% de Sólidos Totales para su caracterización (anteriormente propuesto por Herrera, 2019; Romero, 2018), se realizó un tamizado que permitió remover todo tipo de residuo ajeno a las excretas, ejemplo de ello: alimento no digerido, pelo, piedras y otros materiales que puedan tener un efecto negativo en la caracterización.

El “lodo porcícola crudo” generado en la dilución (Figura 2.3) se guardó en refrigeración a una temperatura constante de 4 °C para su conservación. La recolección, preparación y caracterización de la muestra, se realizó cada 2 meses durante los 12 meses en que se desarrolló la investigación, para confirmar que los valores en la caracterización fuesen similares y no afectaran significativamente los resultados obtenidos.



Figura 2.3 Preparación del lodo porcícola crudo.

### 2.3 Caracterización del residuo de origen porcícola

Se llevó a cabo una caracterización fisicoquímica y microbiológica del lodo porcícola crudo con la finalidad de conocer sus propiedades, composición y los niveles de contaminantes de este. En la Tabla 2.1 se resumen los parámetros evaluados junto con las unidades en las que fueron reportados, así como el método bajo el cual se realizó cada análisis (propuesto por Herrera, 2019; Amador, 2018; Romero, 2018).

Tabla 2.1 Parámetros de caracterización del lodo generado.

Naturaleza	Parámetro [Unidad]	Método
Física	pH	Potenciométrico
	Densidad [g/cm <sup>3</sup> ]	Densimetría
	Viscosidad [cP] a 20 °C	Viscosimetría
	Sólidos Totales [%]	Método estándar 2540G de la APHA-AWWA-WPFC (1999)
	Sólidos Totales Volátiles [%]	Método estándar 2540G de la APHA-AWWA-WPFC (1999)
Química	Carbohidratos [g/L]	Antrona-sulfúrico
	Proteínas [%]	Nitrógeno Kjeldahl
	Lípidos [g/L]	Extracción Soxhlet
Microbiológica	Coliformes fecales [NMP/g ST]	NOM-004-SEMARNAT-2002
	<i>Salmonella spp</i> [NMP/g ST]	NOM-004-SEMARNAT-2002
	Huevos de helminto [HH/g ST]	NOM-004-SEMARNAT-2002

### 2.3.1 Caracterización física del residuo de origen porcícola

En los siguientes apartados se detallan los métodos empleados por Herrera (2019), Amador (2018), Romero (2018) y Montalvo (2015) para determinar los parámetros físicos.

#### 2.3.1.1 Determinación de pH

El pH es el parámetro que indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución, este parámetro se midió de forma directa en la muestra con un potenciómetro Orión (modelo 250a) el cual se calibró con soluciones tampón de pH 4.0 y 7.0, la resolución de la lectura es de 0.01 unidades de pH y la precisión es de  $\pm 0.01$ .

#### 2.3.1.2 Determinación de densidad

Por definición, toda la materia tiene masa y ocupa volumen. La densidad de una sustancia es el cociente de su masa a su volumen. A temperatura y presión constante la densidad de una sustancia es constante. Haciendo uso de una probeta limpia y seca se pesaron 100 mL de la muestra en una balanza analítica, calculándose la densidad en g/mL con la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{m}{V} \tag{2.1}$$

Donde:

$m$  = Peso de la muestra

$V$  = Volumen medido de la muestra

### 2.3.1.3 Determinación de viscosidad

Viscosidad es la propiedad de un fluido que tiende a oponerse a su flujo cuando se le aplica una fuerza. La viscosidad de un fluido disminuye con la reducción de densidad que tiene lugar al aumentar la temperatura. La viscosidad se determinó con el uso de un viscosímetro marca Brookfield modelo DV2T, a una temperatura de  $20 \pm 0.1$  °C.

### 2.3.1.4 Determinación de sólidos totales

Los Sólidos Totales se definen como el material residual después de evaporación y secado de una muestra a cierta temperatura, esta determinación se realizó mediante la técnica gravimétrica descrita en el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999). Para ella, se evaporó la muestra en un crisol a peso constante en una estufa marca Felisa a  $103 - 105$  °C por un lapso de 24 h. El aumento de peso sobre el peso del crisol vacío representa los Sólidos Totales; y el cálculo se realiza con la siguiente ecuación:

$$\% ST = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} \cdot 100 \quad (2.1)$$

Donde:

$P_1$  = Peso del crisol a peso constante

$P_2$  = Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra antes de evaporación

$P_3$  = Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco

### 2.3.1.5 Determinación de sólidos totales volátiles

El residuo producido en la determinación de Sólidos Totales según el método descrito anteriormente se calcinó a  $550$  °C en una mufla marca Thermo Scientific, durante 2 h. El peso perdido en el crisol tras la incineración del residuo seco representa el contenido en Sólidos Volátiles. De la misma forma que los Sólidos Totales, esta técnica analítica

se realizó de acuerdo con el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999), y el porcentaje se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\% STV = \frac{P_3 - P_4}{P_3 - P_1} \cdot 100 \quad (2.2)$$

Donde:

$P_1$  = Peso del crisol a peso constante

$P_3$  = Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco

$P_4$  = Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra calcinada

### 2.3.2 Caracterización química del residuo de origen porcícola

En los siguientes apartados se detallan los métodos empleados por Herrera (2019) y Romero (2018) para determinar los parámetros físicos.

#### 2.3.2.1 Determinación de carbohidratos

Los carbohidratos son polihidroxialdehídos y polihidroxicetonas derivados de alcoholes. Se clasifican de acuerdo con el número de carbonos que contiene la cadena (triosas, tetrasas, pentosas, etc.) y de acuerdo con el número de monómeros que posea la molécula (monosacáridos, disacáridos, polisacáridos, etc.).

El método de antrona–sulfúrico se basa en la hidrólisis del enlace glucosídico de ciertos carbohidratos y sacáridos en medio ácido fuerte (ácido sulfúrico), en donde los monosacáridos resultantes reaccionan con la antrona produciendo un derivado de furano de color verde–azulado que tiene su máximo de absorción en 620 nm.

La determinación de carbohidratos se realizó con una muestra previamente diluida en 1:10, de esta dilución se tomaron 2 mL para cada tubo de ensaye. Posteriormente, se adicionaron 8 mL de la solución de antrona a cada tubo y se calentaron a una

temperatura de 94 °C durante 12 min. Por último, se dejaron enfriar por 15 min para después realizar su lectura en un espectrofotómetro Thermo Scientific modelo Genesys 20 ajustado a una longitud de onda de 620 nm.

Antes de leer las muestras, el espectrofotómetro se calibró con un blanco (2 mL de agua destilada). Las unidades de carbohidratos obtenidas estuvieron dadas en g/L. Se realizó una curva de calibración para la solución de antrona (Anexo A).

### **2.3.2.2 Determinación de proteínas**

Las proteínas son compuestos orgánicos que contienen nitrógeno, son importantes para el mantenimiento del cuerpo animal, crecimiento, desarrollo, producción y reproducción. La proteína bruta o materia nitrogenada total se determinó mediante método Kjeldahl. Como consecuencia de su estructura a base de aminoácidos individuales, el contenido de nitrógeno de las proteínas varía sólo entre unos límites muy estrechos (15 a 18%). Para la determinación analítica del contenido en proteína total o “proteína bruta” se utilizó el valor obtenido de nitrógeno total y un factor que varía según el origen de la muestra y se aplicó la ecuación:

$$\% \text{ Proteínas} = \%N \cdot F \quad (2.3)$$

Donde:

% N = por ciento de nitrógeno

F = factor de conversión

### **2.3.2.3 Determinación de lípidos**

El contenido de grasas se determinó mediante el método 5520 E de la APHA-AWWA-WPFC (1999), el cual consiste en acidificar (con ácido sulfúrico) una muestra para extraer las grasas, aceites y otras sustancias en solución, la grasa es entonces separada por filtración y extraída con un solvente (hexano) con ayuda del equipo

Soxhlet, posteriormente se evapora el solvente y se cuantifica gravimétricamente el material. El cálculo para obtener la cantidad de grasas presentes en la muestra se realiza mediante la ecuación:

$$\frac{mg}{L} \text{grasa} = \frac{(M_2 - M_1) \cdot 10^6}{V}$$

(2.4)

Donde:

$M_1$  = peso del matraz a peso constante

$M_2$  = peso del matraz con la muestra seca

$V$  = volumen obtenido del filtrado, en litros

### 2.3.3 Caracterización microbiológica del residuo de origen porcícola

En los siguientes apartados se detallan los métodos empleados por Herrera (2019), Amador (2018) y Romero (2018) para determinar los parámetros físicos.

#### 2.3.3.1 Determinación de coliformes fecales

Para esta determinación se utilizó el método descrito en el Anexo III de la NOM-004-SEMARNAT-2002, el cual describe la técnica para la cuantificación del grupo coliformes fecales en lodos y biosólidos. A través de diluciones sucesivas se obtienen inóculos, al menos, de una célula para obtener crecimiento en el medio de cultivo (tubos positivos), y otros que al sembrarse dan resultado positivo en por lo menos un tubo de la serie. La combinación de resultados positivos y negativos permite realizar una estimación de la densidad bacteriana reportada como NMP.

El NMP de coliformes fecales se obtiene a partir del código compuesto por los tubos con resultado positivo en el medio EC. Si se inoculan tres series de tres tubos y se utilizan volúmenes decimales diferentes, se obtiene el código formado por el número

de tubos con resultados positivos en las tres series consecutivas, verificando el valor del NMP correspondiente, siguiendo la ecuación:

$$\frac{NMP}{gST} = \frac{NMP \text{ tablas} \cdot 10^6}{\text{mayor volumen inoculado}} \quad (2.5)$$

### 2.3.3.2 Determinación de *Salmonella* spp.

Para la determinación se utilizó el método descrito en el Anexo IV de la NOM-004-SEMARNAT-2002, y se basó en el enriquecimiento de la muestra con medios selectivos, que contienen sustancias inhibitoras, que favorecen el crecimiento de *Salmonella* spp.; reconstituyendo a su vez la vitalidad de las células dañadas y, de igual forma, impidiendo el desarrollo de bacterias coliformes asociadas. Una vez realizada la selección, las bacterias presentes en una muestra pueden ser separadas por agitación, dando por resultado una suspensión de células bacterianas, uniformemente distribuidas, a través de diluciones sucesivas de la muestra.

El NMP de *Salmonella* spp; se obtiene a partir del código compuesto por los tubos con resultado positivo en el caldo de selenito cistina. Se obtiene el código formado por el número de tubos con resultados positivos en las tres series consecutivas, verificando el valor del NMP correspondiente con la Ecuación 2.5.

### 2.3.3.3 Determinación de huevos de helminto

El método se tomó del Anexo V de la NOM-004-SEMARNAT-2002, la cual tiene por objeto establecer la enumeración, determinación y la viabilidad, en caso requerido, de huevos de helmintos en muestras de lodos y biosólidos, con el fin de evaluar la calidad de estos subproductos y la eficiencia mediante la viabilidad de los huevos de helminto en los sistemas de tratamiento a los que están sujetos. Se utilizó para la cuantificación de los huevos de helminto un disco Doncaster.



$$\frac{HH}{gST} = \frac{H}{2gST}$$

(2.6)

Donde:

H = número de huevos leídos en la muestra

gST = gramos de sólidos totales de la muestra analizados

#### **2.4 Caracterización de los parámetros reológicos del residuo de origen porcícola**

El comportamiento reológico del lodo porcícola crudo se evaluó mediante el uso de un viscosímetro marca Brookfield modelo DV2T del laboratorio 112 de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) de la Universidad Veracruzana ubicada en la ciudad de Orizaba; haciendo uso de la aguja ULA (0) y su adaptador, donde se sirvió 16 mL de la muestra y se procedió a cizallar la muestra a una velocidad de giro de 100 rpm, recomendado por Rodríguez (2006), para eliminar la posible tixotropía que pudiese estar presente.

Los reogramas se obtuvieron, modificando la metodología descrita por Rodríguez (2006), midiendo el esfuerzo de corte en un rango de velocidades de 0 – 200 rpm durante 1 min a dos temperaturas diferentes, una de 20 °C (temperatura a la que la viscosidad del agua es igual a 1.002 cP) y otra de 28.5 °C (temperatura ideal de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* de acuerdo con Ertola *et al.*, 2006). La temperatura fue ajustada mediante recirculación de agua con un baño templado marca Brookfield (Figura 2.4) con variaciones de  $\pm 0.1$  °C. Cada muestra fue analizada por duplicado utilizando la configuración promedio punto único cada 20 segundos.



Figura 2.4 Viscosímetro marca Brookfield modelo DV2T.

### 2.4.1 Modelación reológica

La modelación reológica se realizó utilizando el software GraphPad Prism 8 donde se estableció la relación de esfuerzo de corte y velocidad de corte para la comparación entre los modelos reológicos de Ostwald-de Waele de potencias y lineal (Ecuación 1.9 y 1.10) y Herschel-Bulkley (Ecuación 1.11) y la determinación de constantes reológicas: índice de consistencia ( $K$ ), índice de flujo ( $n$ ) y esfuerzo de cedencia ( $\tau_0$ ) (Méndez-Contreras *et al.*, 2016; Montalvo, 2015; Solis, 2013; Rodríguez, 2006).

Tabla 2.2 Modelos reológicos a comparar.

Modelo	Ecuación
Ostwald-de Waele ó Ley de Potencia	$\tau = K\dot{\gamma}^n$
Ostwald-de Waele linealizado	$\log \tau = \log K + n \log \dot{\gamma}$
Herschel-Bulkley	$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n$

## 2.5 Pre-tratamiento térmico del residuo de origen porcícola

La US EPA ha producido fórmulas para determinar los regímenes de tiempo y temperatura para los lodos de "Clase A" (Anexo B) tratados térmicamente, estos dependen del contenido de sólidos de los lodos (Carrington, 2001). Si el contenido de sólidos del lodo es inferior al 7%, la exposición se calcula a partir de:

$$t = \frac{50.07 \times 10^6}{10^{0.14T}} \quad (2.7)$$

Con base en la ecuación anterior, se realizó un pre-tratamiento térmico de 90 °C durante 30 min, a 2 L del lodo porcícola crudo, para la inactivación de microorganismos patógenos presentes en el lodo; posteriormente se tamizó para eliminar aglutinaciones formadas durante el calentamiento y obtener una muestra homogénea, finalmente se conservó en refrigeración a 4 °C.

Se evaluó de la misma manera que a el lodo porcícola crudo, los parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y reológicos al residuo de origen porcícola ahora denominado "lodo porcícola pre-tratado térmicamente".

## 2.6 Obtención de los parámetros reocinéticos del crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* con el residuo de origen porcícola como sustrato

### 2.6.1 Microorganismo

La levadura seleccionada fue *Saccharomyces cerevisiae*, de una marca comercial en presentación liofilizada obtenida de un distribuidor local. Se decidió manejar la misma cepa de levadura que Herrera (2019) con fines de replicación para la caracterización reológica de la biomasa obtenida, además que las levaduras comerciales son

diferentes de las cepas silvestres, porque han sido mejoradas mediante una cuidadosa selección y manipulación genética (Madigan *et al.*, 2009).

### 2.6.2 Medios de cultivo

Para el presente estudio se emplearon dos medios de cultivo orgánico, anteriormente seleccionados por Herrera (2019), a base de lactosuero (previamente esterilizado en autoclave a 121 °C y 15 lb/in<sup>2</sup> durante 20 min), lodo porcícola pre-tratado térmicamente y agua destilada; denominados como medio A y B. La composición de ambos medios se encuentra en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3 Composición de medios de cultivo orgánico en porcentaje.

Modelo	Medio A	Medio B
Lodo porcícola pre-tratado térmicamente [%]	20	20
Lactosuero [%]	20	25
Agua destilada [%]	60	55

### 2.6.3 Condiciones de cultivo

La digestión aerobia se realizó en reactores de vidrio con volumen útil de 500 mL, en los que se preparó 350 mL de cada medio orgánico, del medio A se prepararon dos reactores y otros dos para el medio B. Los cuatro reactores se inocularon con 0.01 g de la levadura liofilizada comercial y se llevó a cabo la cinética en un sistema aerobio a una temperatura de  $28.5 \pm 0.1$  °C, que se ha establecido en la industria como la temperatura óptima de crecimiento según Ertola *et al.* (2006), durante 12 h aplicando un suministro de oxígeno mediante una bomba de aire marca Hagen (modelo Elite 802).

Se tomaron 10 mL de muestra cada hora para medir el consumo de sustrato, el crecimiento microbiano y el comportamiento reológico. Los parámetros biocinéticos se evaluaron a partir del método de Lineweaver-Burk, basado en el Modelo de Monod; y los parámetros reocinéticos se evaluaron de la misma manera que en el apartado 2.4.



Figura 2.5 Digestión aerobia de *Saccharomyces cerevisiae*.

#### 2.6.4 Obtención de los parámetros reológicos

Las muestras obtenidas, cada hora, durante la cinética de crecimiento y los medios de cultivo orgánico A y B se analizaron de manera similar a la expuesta en el apartado 2.4 haciendo uso del viscosímetro marca Brookfield modelo DV2T, empleando la aguja ULA (0) y su adaptador; en un rango de velocidades de 0 – 200 rpm durante 1 min a dos temperaturas diferentes, una de 20 y otra de 28.5 °C, ajustando la temperatura mediante recirculación de agua con un baño templado marca Brookfield. Cada muestra fue analizada por duplicado utilizando la configuración promedio punto único cada 20 segundos. Además, se determinó la viscosidad.

Los datos experimentales obtenidos se ajustaron a los modelos reológicos de Ostwald-Waele de potencias y lineal (Ecuación 1.9 y 1.10) y Herschel-Bulkley (Ecuación 1.11) para la determinación de las constantes reológicas: índice de consistencia (K), índice de flujo (n) y esfuerzo de cedencia ( $\tau_0$ ).

### 2.6.5 Concentración celular

Para el conteo de la concentración celular de *S. cerevisiae* se manejó la cámara Neubauer, se trata de una gruesa placa de cristal con forma de portaobjetos, de unos 30 x 70 mm y unos 4 mm de grosor. En una cámara simple, la porción central, que es donde se realiza el conteo, está dividida en 3 partes. En la parte central se encuentra grabada una retícula cuadrangular (Figura 2.6); la retícula completa mide 3 mm x 3 mm de lado, subdividida a su vez en 9 cuadrados de 1mm de lado cada uno; el cuadrado central se divide en 25 cuadrados medianos de 0,2 mm de lado, y cada uno de estos cuadros se subdivide a su vez en 16 cuadrados pequeños (Bastidas, 2012).

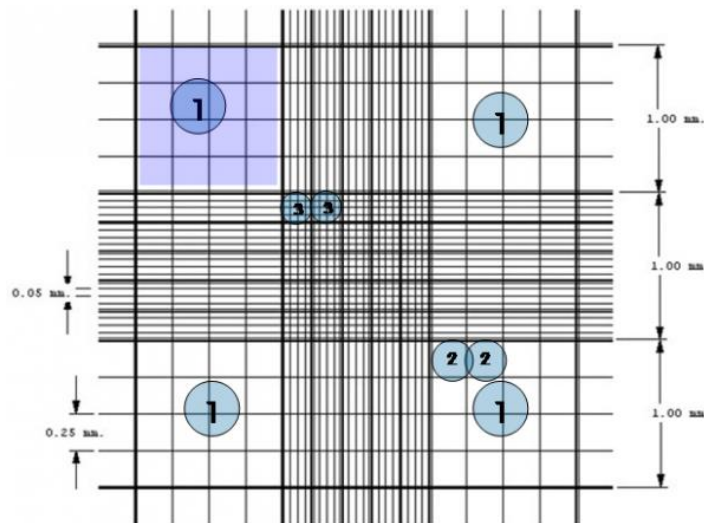


Figura 2.6 Rejilla de cámara Neubauer.

Dependiendo del tipo de muestra a medir, se recomienda preparar una muestra con una concentración apta para su recuento, en torno a  $10^6$  (1 millón) aplicando las diluciones correspondientes. El cálculo de la concentración celular está expresado por el número de células por mililitro (Ecuación 2.8).

$$\text{concentración} = \frac{\text{número de células}}{\text{volumen (mL)}}$$

(2.8)

El recuento para el cuadro central de la cámara Neubauer se expresa en la Ecuación 2.9, la cual se aplicó para el conteo de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

$$\text{concentración celular} = \frac{\text{total de células contadas}}{\text{número de cuadros}} \times 250,000 \quad (2.9)$$

Cuadrante 3

$$\text{Área} = 0.2 \text{ mm} \times 0.2 \text{ mm} = 0.04 \text{ mm}^2$$

$$\text{Volumen} = 0.04 \text{ mm}^2 \times 0.1 \text{ mm} = 4 \times 10^{-3} \text{ mm}^3 = 4 \times 10^{-6} \text{ mL}$$

### 2.6.6 Cuantificación de azúcares reductores (Método de DNS)

La concentración de azúcares reductores se determinó en un espectrofotómetro marca Thermo Scientific modelo Genesys 10S UV-Vis, proporcionado igualmente por el laboratorio 112 de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas (FCQ) de la Universidad Veracruzana, con capacidad para 5 muestras y un blanco, además de estar calibrado para la lectura de glucosa por el método de DNS, esta técnica fue tomada de Bello *et al.*, 2006.

Se agregó 0.5 mL de la muestra en un tubo de ensayo de 10 mL (por duplicado) y se le adicionó 0.5 mL de DNS, posteriormente se calentó a 100 °C por 5 min en baño de agua, se dejó enfriar en una tina de agua fría con hielo, se le añadió 5 mL de agua destilada y se agitó. El blanco (muestra inicial cero) se preparó de la misma manera siendo agua destilada en lugar de muestra. Para las mediciones se utilizaron celdas de polipropileno y se introdujeron en el espectrofotómetro tomándose la lectura de absorbancia a 540 nm.

El DNS se preparó disolviendo 1.6 g de NaOH en 40 mL de agua destilada, se le añadieron 30 g de tartrato de sodio y potasio y 1 g de reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), se aforó a 100 mL con agua destilada y se guardó en un frasco ámbar en refrigeración a 4 °C.

## **2.7 Caracterización reológica de la biomasa final obtenida de *Saccharomyces cerevisiae* en el residuo de origen porcícola**

La determinación reológica, de la biomasa final obtenida en los cuatro reactores con los medios de cultivo orgánico A y B, se realizó de manera similar a la expuesta en el apartado 2.4 haciendo uso del viscosímetro marca Brookfield modelo DV2T; en un rango de velocidades de 0 – 200 rpm durante 1 min a dos temperaturas diferentes, una de 20 y otra de 28.5 °C. Ajustando la temperatura mediante recirculación de agua con un baño templado marca Brookfield. Cada muestra fue analizada por duplicado utilizando la configuración promedio punto único cada 20 segundos. Además, se determinó la viscosidad.

Los datos experimentales obtenidos se ajustaron a los modelos reológicos de Ostwald-de Waele de potencias y lineal (Ecuación 1.9 y 1.10) y Herschel-Bulkley (Ecuación 1.11) para la determinación de las constantes reológicas: índice de consistencia (K), índice de flujo (n) y esfuerzo de cedencia ( $\tau_0$ ).



## **CAPÍTULO 3**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos durante las etapas experimentales a lo largo de la investigación, los resultados se describen de acuerdo con el orden que fueron mencionados en el capítulo anterior.

### 3.1 Obtención y caracterización residuo de origen porcícola

Se escogió trabajar con la excreta fresca debido a su alto contenido en porcentaje de proteína cruda reportado por INIFAP *et al.* (2002), además que su composición química cumple con los requerimientos nutricionales de *Saccharomyces cerevisiae* que son principalmente las fuentes de carbono: carbohidratos, proteínas y lípidos; y otros elementos indispensables como nitrógeno en forma de nitrógeno amoniacal (amoníaco) y aminoácidos, fosforo, calcio, cobre, zinc, sodio y potasio (Ertola *et al.*, 2006; Antezana *et al.*, 2016).

Tabla 3.1 Caracterización del lodo porcícola crudo y el pre-tratado térmicamente.

Parámetros	Lodo porcícola	Lodo porcícola
	crudo	pre-tratado térmicamente
pH [ - ]	7.44	6.79
Densidad [g/cm <sup>3</sup> ]	1.03	1.03
Viscosidad [cP] a 20 °C	31.92	24.22
Sólidos Totales [%]	3.68	2.15
Sólidos Totales Volátiles [%]	71.28	75.77
Carbohidratos [g/L]	0.99	0.49
Proteínas [%]	10.44	2.50
Lípidos [g/L]	7.53	1.35
Coliformes fecales [NMP/g ST]	4.6 x 10 <sup>9</sup>	< 1000
<i>Samonella spp</i> [NMP/g ST]	2.4 x 10 <sup>4</sup>	< 3
Huevos de helminto [HH/g ST]	> 100	< 1

Después de la preparación de la muestra de residuos porcícolas en dilución 1:4 V/V con agua destilada y la realización de un pre-tratamiento térmico, a 90 °C durante 30 min, a 2 L del lodo porcícola crudo para la inactivación de microorganismos patógenos, se caracterizó fisicoquímica y microbiológicamente ambos lodos, los resultados se presentan en la Tabla 3.1.

En la tabla comparativa se observa que se ven reducidos varios parámetros, el pH a pesar de encontrarse en un rango que podría considerarse neutro por la adición de agua destilada en la dilución de la excreta, después del pre-tratamiento se acidifica ligeramente.

Los parámetros físicos como sólidos totales, viscosidad y densidad se vieron reducidos debido al tamizado realizado después del pre-tratamiento térmico para la eliminación de aglutinaciones formadas durante el calentamiento que impedían la obtención de un lodo homogéneo.

Los parámetros químicos después de la aplicación del pre-tratamiento térmico se vieron reducidos considerablemente, especialmente las proteínas y lípidos debido a la posible desnaturalización y solubilización de algunas biomoléculas presentes en el lodo porcícola crudo.

Con la aplicación del pre-tratamiento térmico los parámetros microbiológicos de coliformes fecales, *Salmonella* spp. y huevos de helminto que antes excedían los límites máximos permisibles de un lodo clase C se vieron completamente reducidos, cumpliendo así con la NOM-004-SEMARNAT-2002 para ser un lodo clase A (Anexo B), así como la eliminación de la competencia microbiana por el sustrato.

Los parámetros físicos de pH, sólidos totales y sólidos totales volátiles; al igual que los parámetros microbiológicos de coliformes fecales y *Salmonella* spp. en el lodo porcícola crudo coinciden con los reportados anteriormente por Amador (2018) y

Romero (2018), por el contrario, los parámetros bioquímicos difirieron de los determinados por ellos, esto se explica debido a que la composición química de las excretas se ve afectada por la categoría del animal y su capacidad para absorber los nutrimentos del alimento, o el alimento en sí mismo posee diferentes composiciones nutritivas (Antezana *et al.*, 2016; Domínguez-Araujo *et al.*, 2014).

### 3.2 Caracterización reológica del residuo de origen porcícola

En la Figura 3.1 se muestra el comportamiento no newtoniano del lodo porcícola crudo y el pre-tratado térmicamente, donde se logra observar que ambos presentan características pseudoplásticas ( $n < 1$ ), independientemente de la temperatura medida.

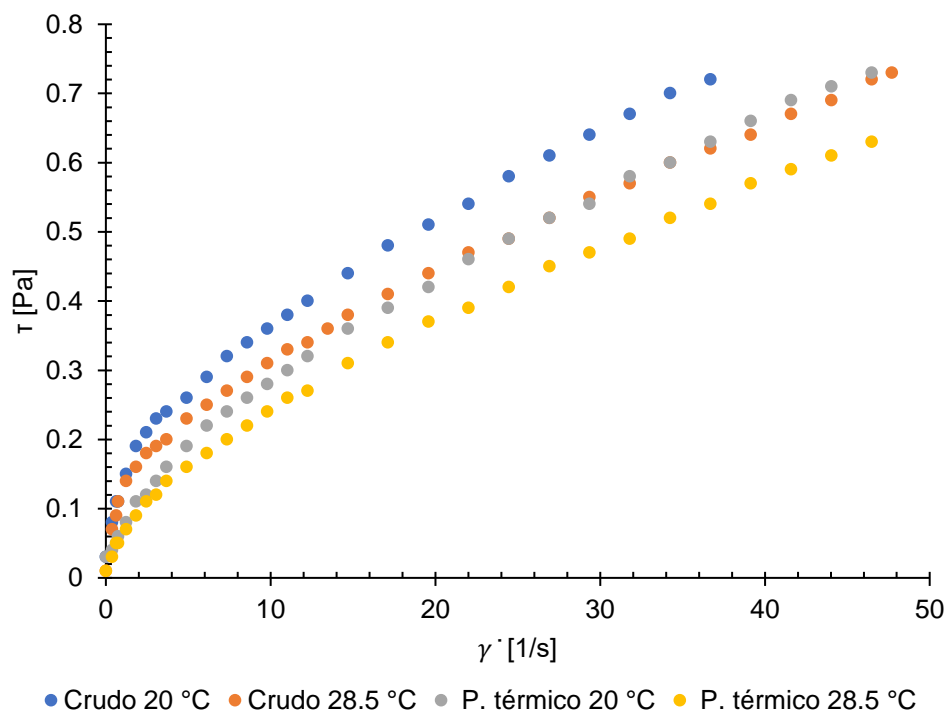


Figura 3.1 Comportamiento reológico del lodo porcícola.

### 3.2.1 Modelación reológica

En la Tabla 3.2 se muestra la comparación de los modelos y los parámetros obtenidos experimentalmente para el lodo porcícola crudo con dos diferentes temperaturas, una de 20 y otra 28.5 °C, que es la temperatura en la que se encuentra el crecimiento óptimo de la levadura *S. cerevisiae*.

Tabla 3.2 Parámetros de modelos reológicos del lodo porcícola crudo.

Temperatura	Modelo	$\tau_0 \times 10^2$	$K \times 10^2$	n	R <sup>2</sup>
20 °C	Ostwald-de Waele lineal		13.194	0.459	0.995
	Ostwald-de Waele		12.392	0.483	0.995
	Herschel-Bulkley	3.836	9.458	0.546	0.998
28.5 °C	Ostwald-de Waele lineal		11.443	0.461	0.994
	Ostwald-de Waele		10.087	0.504	0.995
	Herschel-Bulkley	3.693	7.551	0.568	0.997

En la Tabla 3.3 se muestra la comparación de los modelos y los parámetros obtenidos experimentalmente para el lodo porcícola pre-tratado térmicamente con dos diferentes temperaturas, una de 20 y otra 28.5 °C.

Tabla 3.3 Parámetros de modelos reológicos del lodo porcícola pre-tratado térmicamente.

Temperatura	Modelo	$\tau_0 \times 10^2$	$K \times 10^2$	n	R <sup>2</sup>
20 °C	Ostwald-de Waele lineal		7.164	0.603	0.999
	Ostwald-de Waele		7.013	0.610	0.999
	Herschel-Bulkley	1.626	6.069	0.643	0.999
28.5 °C	Ostwald-de Waele lineal		6.110	0.606	0.998
	Ostwald-de Waele		5.962	0.613	0.999
	Herschel-Bulkley	0.742	5.569	0.628	0.999

El modelo que mejor describió el comportamiento de fluidez del lodo porcícola fue el modelo reológico de Herschel-Bulkley al presentar un ajuste adecuado de  $R^2 > 0.99$ .

### 3.3 Obtención de los parámetros reocinéticos del crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* con el residuo de origen porcícola como sustrato

#### 3.3.1 Concentración celular

La concentración celular medida con la cámara de Neubauer fue tomada cada hora preparando la muestra con una concentración de  $10^6$  (1 millón) aproximadamente para poder ser contada de manera apta; de tal modo que se realizaron diluciones de 1:10 tomando 0.1 mL de la muestra y diluyéndolos en 0.9 mL de agua destilada.

La cámara de Neubauer se colocó en un microscopio y de manera diagonal se contaron cinco de los cuadrantes No. 3 (ver Figura 2.6), se aplicó la Ecuación 2.9.

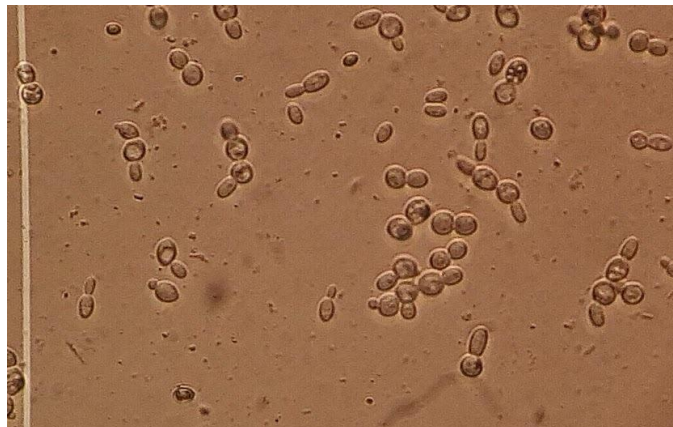


Figura 3.2 *Saccharomyces cerevisiae* visto a través del microscopio.

Las dosis recomendadas para la mayoría de las cepas probióticas son de  $10^9$  UFC/kg de alimento (Markowiak y Śliżewska, 2018), la concentración celular obtenida en este estudio al final de la fase de crecimiento exponencial fue de  $5.0 \times 10^6$  células/mL para el medio orgánico A y de  $1.2 \times 10^7$  células/mL para el medio orgánico B, lo cual determina que además de existir un crecimiento apreciable, también son candidatas para ser utilizadas en un preparado probiótico.

### 3.3.2 Cinéticas de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

En la Figura 3.3 se presenta el promedio de las cinéticas de crecimiento microbiano de la fase de adaptación y exponencial de la levadura en el medio orgánico A y B, en los cuales se tomaron muestras de 10 mL cada hora para evaluar el crecimiento de la levadura, la cual duró en ambas cinéticas 9 h aproximadamente.

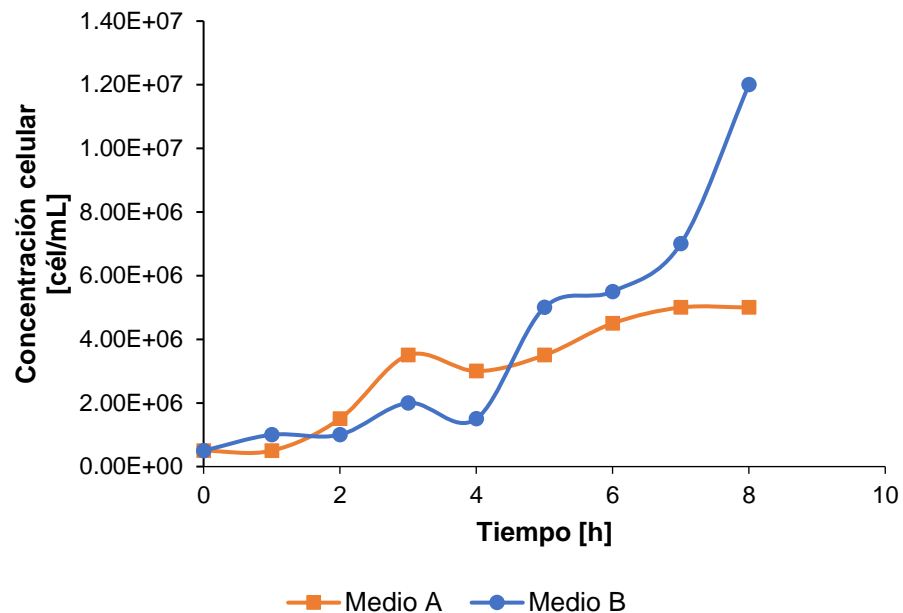


Figura 3.3 Fase lag y log del crecimiento de *S. cerevisiae* en medio orgánico.

### 3.3.3 Cálculo de los parámetros biocinéticos de Monod

Se realizó el cálculo de los parámetros biocinéticos de la ecuación de Monod por el método de linealización de la ecuación de Lineweaver-Burk (Ecuación 1.5). En la Tabla 3.4 se muestran los valores encontrados para la velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{max}$ ) y la constante de saturación media ( $K_S$ ); así como los rendimientos de la biomasa sobre el sustrato ( $Y_{X/S}$ ).

Tabla 3.4 Parámetros biocinéticos de la ecuación de Lineweaver-Burk.

Modelo	$\mu_{max}$ [ $h^{-1}$ ]	$K_s$ [mgS/L]	$Y_{x/s}$ [cél/mgS x $10^{-6}$ ]	$R^2$
Medio A	0.465	6.074	0.67	0.959
Medio B	0.724	6.497	1.41	0.984

Bibliográficamente para *S. cerevisiae* la  $\mu_{max}$  es de 0.45 a 0.6  $h^{-1}$  como máximo, la  $K_s$  es de 25 mg de glucosa/L y el  $Y_{x/s}$  de 0.5 a 0.6 g de biomasa seca por g de azúcar asimilada o en el caso de emplearse etanol puede alcanzar valores de 0.78 a 0.8 g (Ertola *et al.*, 2006). De acuerdo con los parámetros reportados se puede deducir que el valor obtenido de  $K_s$  es bajo debido a la existencia de concentraciones bajas de nutrientes en el sustrato.

También cabe mencionar que el  $Y_{x/s}$  fue de 0.13 y 0.28 g de biomasa seca por g de azúcar asimilada, para el medio A y B respectivamente; y se conoce que el rendimiento siempre será menor a 1.0, porque los microorganismos no convierten el sustrato en biomasa al 100%, sino que destinan cierta cantidad a su propio sustento (Mihelcic y Zimmerman, 2012).

Los parámetros obtenidos a partir de la ecuación de Lineweaver-Burk se utilizaron para comprobar y simular el modelo de Monod con el programa de Berkeley Madonna (Anexo C) que muestra los parámetros establecidos en los valores que proporcionan el mejor ajuste, ejecutando el modelo ajustado con el conjunto de datos en una gráfica (Figura 3.4 y 3.5). Los parámetros biocinéticos obtenidos se observan en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5 Parámetros biocinéticos obtenidos de la simulación con Berkeley Madonna.

Modelo	$\mu_{max}$ [ $h^{-1}$ ]	$K_s$ [mgS/L]	$Y_{x/s}$ [cél/mgS x $10^{-6}$ ]	$RMS_{Error}$
Medio A	0.923	6.050	0.69	0.1327
Medio B	0.739	6.717	6.74	0.2989



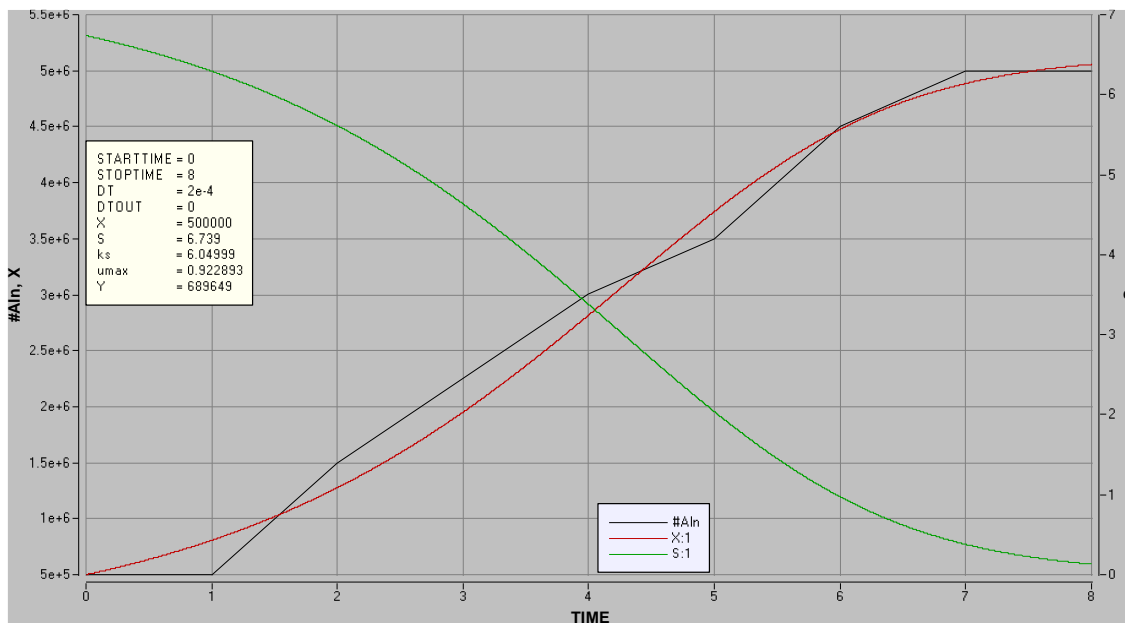


Figura 3.4 Simulación con Berkeley Madonna del modelo de Monod en el crecimiento de *S. cerevisiae* en el medio orgánico A.

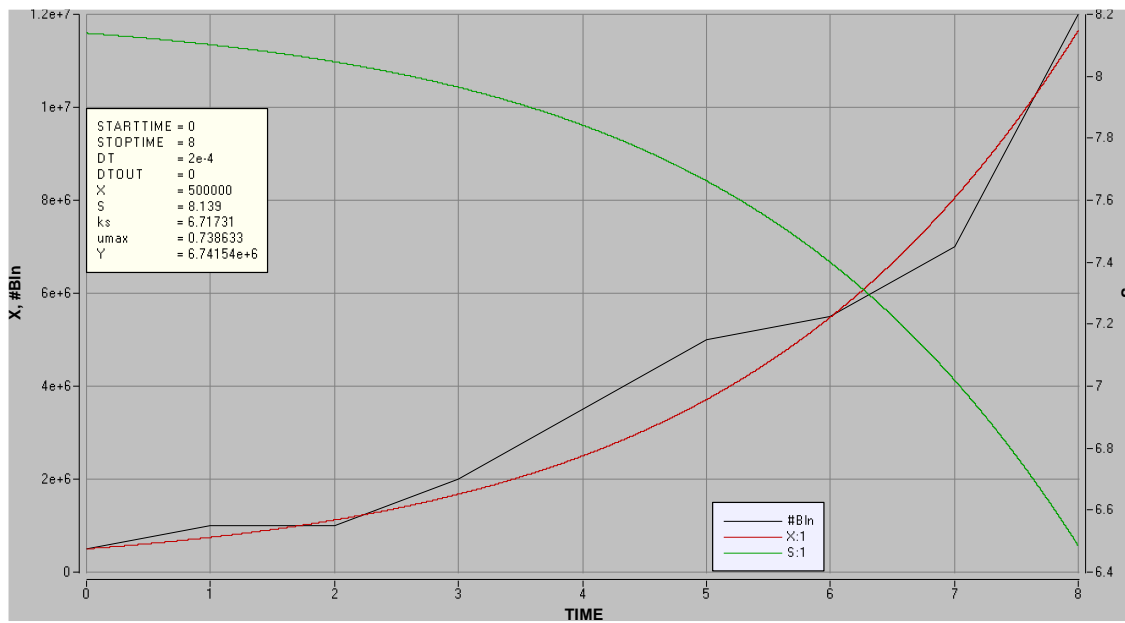


Figura 3.5 Simulación con Berkeley Madonna del modelo de Monod en el crecimiento de *S. cerevisiae* en el medio orgánico B.

### 3.3.4 Cálculo de los parámetros reocinéticos

De las cinéticas experimentales realizadas, se tomaron las muestras de la cinética para analizar en el viscosímetro marca Brookfield modelo DV2T, realizándose el análisis a 20 y 28.5 °C. Los resultados experimentales se ajustaron a los modelos de Ostwald-de Waele (Ecuación 1.9) y Herschel-Bulkley (Ecuación 1.11) para fluidos no newtonianos utilizando el software GraphPad Prism 8.

En la Figura 3.6 se visualizan las muestras tomadas cada hora de la cinética de *Saccharomyces cerevisiae* en el medio orgánico A analizado a 20 °C.

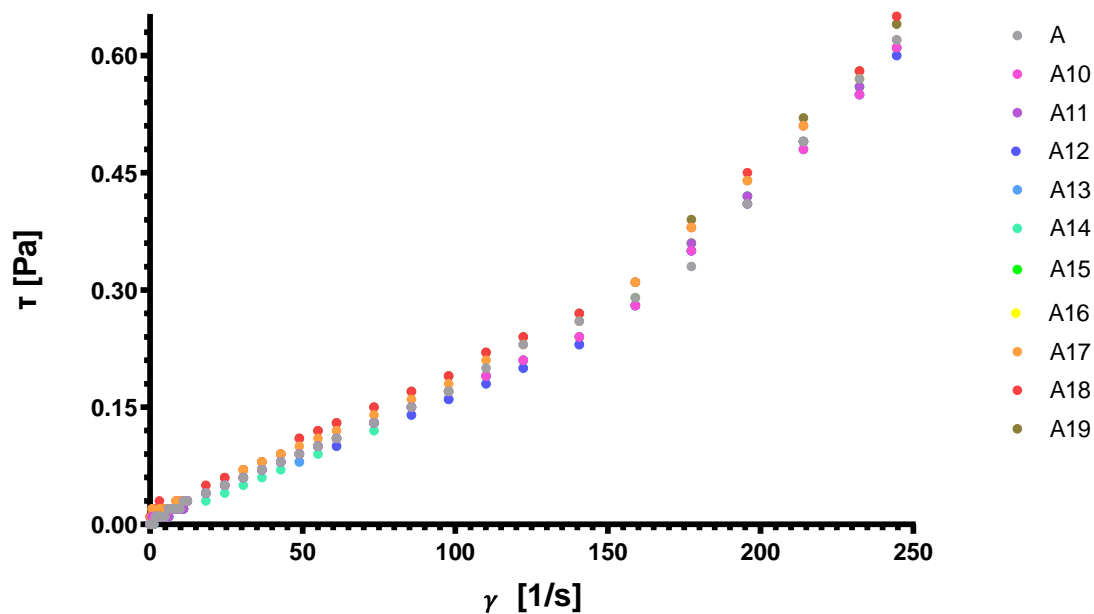


Figura 3.6 Reograma de la cinética en el medio orgánico A, medido a 20 °C.

En la Tabla 3.6 y 3.7 se representan los parámetros del modelo de Ostwald-de Waele y Herschel-Bulkley, respectivamente, para la cinética de la Figura 3.6.

Tabla 3.6 Parámetros reocinéticos del modelo de Ostwald-de Waele de la cinética en el medio orgánico A, medido a 20 °C.

Tiempo [h]	K x 10 <sup>4</sup>	n	R <sup>2</sup>
Control	4.387	1.305	0.988
0	4.310	1.306	0.988
1	4.012	1.322	0.989
2	3.369	1.351	0.988
3	3.752	1.332	0.988
4	2.587	1.401	0.991
5	4.071	1.319	0.990
6	3.828	1.330	0.988
7	6.576	1.235	0.989
8	7.984	1.203	0.986
9	7.859	1.205	0.990

Tabla 3.7 Parámetros reocinéticos del modelo de Herschel-Bulkley de la cinética en el medio orgánico A, medido a 20 °C.

Tiempo [h]	$\tau_0 \times 10^2$	K x 10 <sup>4</sup>	n	R <sup>2</sup>
Control	1.562	2.044	1.443	0.991
0	1.639	1.904	1.453	0.992
1	1.600	1.825	1.463	0.992
2	1.638	1.441	1.503	0.992
3	1.507	1.755	1.468	0.991
4	1.409	1.256	1.531	0.994
5	1.459	2.001	1.446	0.993
6	1.641	1.682	1.478	0.992
7	2.034	2.648	1.398	0.995
8	2.357	2.822	1.389	0.993
9	1.637	3.911	1.330	0.993

El cultivo de *S. cerevisiae* en el medio orgánico A medido a 20 °C mostró un comportamiento no newtoniano con características dilatantes ( $n > 1$ ) mostrando un buen ajuste a ambos modelos con una  $R^2 > 0.98$ .

En la Figura 3.7 se visualizan las muestras tomadas cada hora de la cinética de *Saccharomyces cerevisiae* en el medio orgánico A analizado a 28.5 °C.

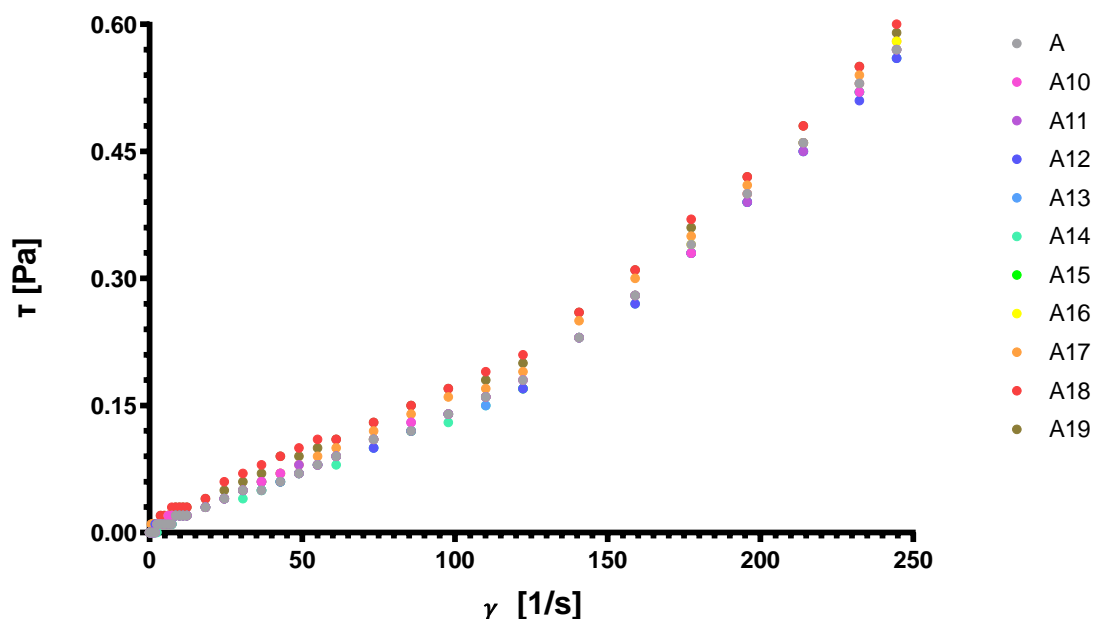


Figura 3.7 Reograma de la cinética en el medio orgánico A, medido a 28.5 °C.

En la Tabla 3.8 y 3.9 se representan los parámetros del modelo de Ostwald-de Waele y Herschel-Bulkley, respectivamente, para la cinética de la Figura 3.7.

Tabla 3.8 Parámetros reocinéticos del modelo de Ostwald-de Waele de la cinética en el medio orgánico A, medido a 28.5 °C.

Tiempo [h]	$K \times 10^4$	$n$	$R^2$
Control	1.921	1.449	0.994
0	2.186	1.422	0.993
1	2.257	1.417	0.992
2	2.047	1.432	0.993
3	1.844	1.453	0.993
4	1.572	1.483	0.994
5	1.873	1.452	0.993
6	1.839	1.458	0.992
7	3.393	1.347	0.994
8	6.553	1.229	0.988
9	5.340	1.265	0.991

Tabla 3.9 Parámetros reocinéticos del modelo de Herschel-Bulkley de la cinética en el medio orgánico A, medido a 28.5 °C.

Tiempo [h]	$\tau_0 \times 10^2$	$K \times 10^4$	n	$R^2$
Control	1.174	1.032	1.561	0.996
0	1.358	1.045	1.555	0.996
1	1.312	1.107	1.545	0.995
2	1.319	0.994	1.562	0.996
3	1.197	0.960	1.570	0.996
4	1.137	0.839	1.595	0.996
5	1.212	0.969	1.570	0.996
6	1.398	0.857	1.595	0.995
7	1.357	1.743	1.466	0.996
8	1.871	2.730	1.386	0.993
9	1.786	2.272	1.419	0.995

El cultivo de *S. cerevisiae* en el medio orgánico A medido a 28.5 °C mostró un comportamiento no newtoniano con características dilatantes ( $n > 1$ ) mostrando un buen ajuste a ambos modelos con una  $R^2 > 0.98$ .

En la Figura 3.8 se visualizan las muestras tomadas cada hora de la cinética de *Saccharomyces cerevisiae* en el medio orgánico B analizado a 20 °C.

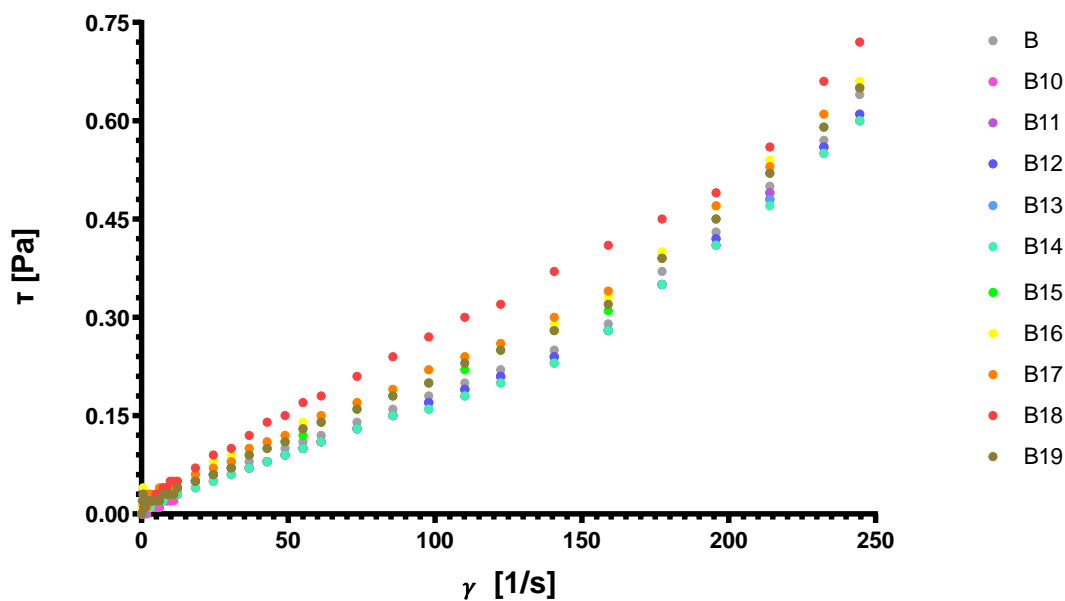


Figura 3.8 Reograma de la cinética en el medio orgánico B, medido a 20 °C.

En la Tabla 3.10 y 3.11 se representan los parámetros del modelo de Ostwald-de Waele y Herschel-Bulkley, respectivamente, para la cinética de la Figura 3.8.

Tabla 3.10 Parámetros reocinéticos del modelo de Ostwald-de Waele de la cinética en el medio orgánico B, medido a 20 °C.

Tiempo [h]	K x 10 <sup>3</sup>	n	R <sup>2</sup>
Control	0.537	1.273	0.985
0	0.397	1.324	0.989
1	0.473	1.289	0.984
2	0.462	1.293	0.982
3	0.414	1.312	0.984
4	0.404	1.315	0.985
5	1.025	1.158	0.984
6	1.562	1.082	0.978
7	1.598	1.079	0.983
8	3.615	0.945	0.990
9	1.044	1.153	0.984

Tabla 3.11 Parámetros reocinéticos del modelo de Herschel-Bulkley de la cinética en el medio orgánico B, medido a 20 °C.

Tiempo [h]	$\tau_0$ x 10 <sup>2</sup>	K x 10 <sup>3</sup>	n	R <sup>2</sup>
Control	1.851	0.223	1.431	0.990
0	1.428	0.196	1.450	0.992
1	2.161	0.157	1.487	0.991
2	2.692	0.112	1.548	0.993
3	2.220	0.128	1.523	0.991
4	2.256	0.123	1.529	0.993
5	2.498	0.352	1.349	0.991
6	3.383	0.375	1.338	0.990
7	2.736	0.541	1.273	0.992
8	1.759	2.177	1.035	0.993
9	2.480	0.364	1.343	0.992

El cultivo de *S. cerevisiae* en el medio orgánico B medido a 20 °C mostró un comportamiento no newtoniano con características dilatantes ( $n > 1$ ) mostrando un buen ajuste a ambos modelos con una  $R^2 > 0.97$ .

En la Figura 3.9 se visualizan las muestras tomadas cada hora de la cinética de *Saccharomyces cerevisiae* en el medio orgánico B analizado a 28.5 °C.

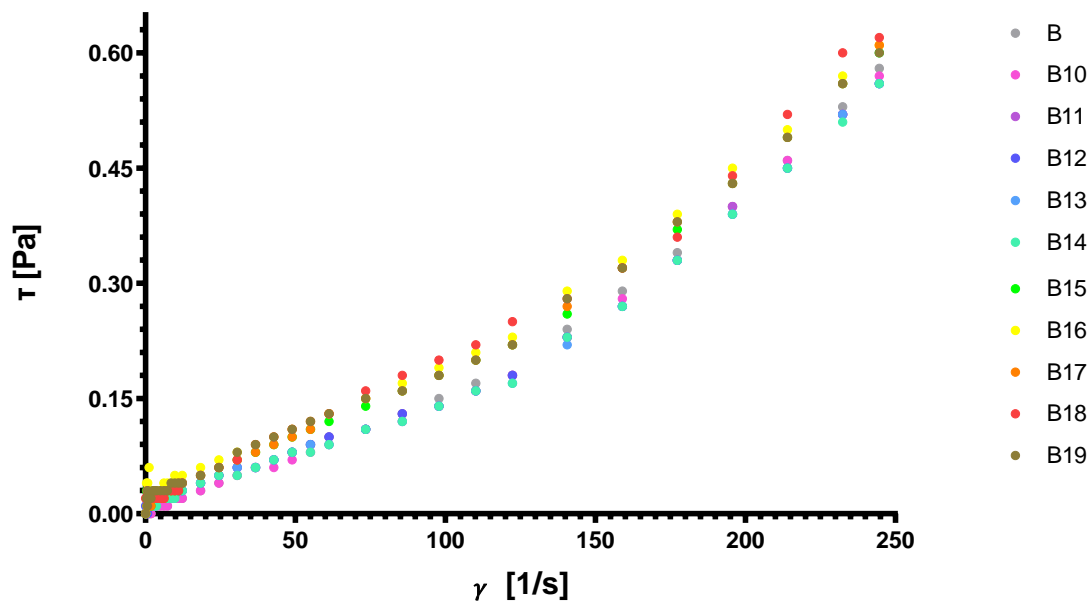


Figura 3.9 Reograma de la cinética en el medio orgánico B, medido a 28.5 °C.

En la Tabla 3.12 y 3.13 se representan los parámetros del modelo de Ostwald-de Waele y Herschel-Bulkley, respectivamente, para la cinética de la Figura 3.9.

Tabla 3.12 Parámetros reocinéticos del modelo de Ostwald-de Waele de la cinética en el medio orgánico B, medido a 28.5 °C.

Tiempo [h]	K x 10 <sup>3</sup>	n	R <sup>2</sup>
Control	0.265	1.389	0.993
0	0.202	1.438	0.994
1	0.295	1.364	0.989
2	0.297	1.362	0.988
3	0.249	1.395	0.984
4	0.249	1.395	0.989
5	0.811	1.191	0.986
6	1.290	1.108	0.978
7	0.856	1.182	0.988
8	1.075	1.145	0.982
9	1.142	1.128	0.982

Tabla 3.13 Parámetros reocinéticos del modelo de Herschel-Bulkley de la cinética en el medio orgánico B, medido a 28.5 °C.

Tiempo [h]	$\tau_0 \times 10^2$	$K \times 10^4$	n	$R^2$
Control	1.210	1.413	1.502	0.995
0	1.204	1.065	1.553	0.996
1	2.095	0.920	1.574	0.995
2	2.234	0.835	1.590	0.995
3	2.385	0.623	1.645	0.994
4	1.830	0.893	1.580	0.995
5	2.517	2.573	1.397	0.995
6	3.587	2.641	1.393	0.995
7	2.165	3.262	1.355	0.994
8	2.638	3.428	1.350	0.991
9	2.908	3.076	1.363	0.994

El cultivo de *S. cerevisiae* en el medio orgánico B medido a 28.5 °C mostró un comportamiento no newtoniano con características dilatantes ( $n > 1$ ) mostrando un buen ajuste a ambos modelos con una  $R^2 > 0.97$ .

De las Figuras 3.6 y 3.7 se observa que la viscosidad aparente del medio orgánico A se mantuvo constante a través del tiempo de crecimiento de biomasa, no habiendo diferencia significativa en las dos temperaturas diferentes en las que fue medida. Mientras que de las Figuras 3.8 y 3.9 se observa que la viscosidad aparente del medio orgánico B aumenta ligeramente a través del tiempo, mostrando una diferencia en las temperaturas en las que fue medida la muestra con concentración máxima de levadura, mostrando una tendencia casi lineal a 20 °C.

El modelo de Herschel-Bulkley a pesar de mostrar valores de  $\tau_0$  bajos, predice con un buen ajuste el comportamiento reológico de las cinéticas de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* con lodo porcícola pre-tratado térmicamente, con un coeficiente de correlación de  $R^2 > 0.99$ .



### 3.3.5 Caracterización reológica de la biomasa final obtenida de *Saccharomyces cerevisiae* en el residuo de origen porcícola

La Tabla 3.14 resume los parámetros de control, iniciales, de crecimiento máximo y finales encontrados con el modelo de Herschel-Bulkley, que mostraron un comportamiento no newtoniano con características dilatantes ( $n > 1$ ), las cuales midiéndose a temperaturas diferentes a través del tiempo de digestión mostraban un aumento en el esfuerzo de corte inicial ( $\tau_0$ ). Los datos experimentales se ajustaron al modelo con una  $R^2 > 0.99$ .

Tabla 3.14 Parámetros reológicos del modelo de Herschel-Bulkley del cultivo A y B con dos diferentes temperaturas.

Tiempo [h]	$\tau_0 \times 10^2$	$K \times 10^3$	n	$R^2$
<b>Cinética A 20 °C</b>				
Control	1.562	0.204	1.443	0.991
0	1.639	0.190	1.453	0.992
8	2.357	0.282	1.389	0.997
9	1.637	0.391	1.330	0.993
<b>Cinética A 28.5 °C</b>				
Control	1.174	0.103	1.561	0.996
0	1.358	0.105	1.555	0.996
8	1.871	0.273	1.386	0.993
9	1.786	0.227	1.419	0.995
<b>Cinética B 20 °C</b>				
Control	1.851	0.223	1.431	0.990
0	1.428	0.196	1.450	0.992
8	1.759	2.177	1.035	0.993
9	2.480	0.364	1.343	0.992
<b>Cinética B 28.5 °C</b>				
Control	1.210	0.141	1.502	0.995
0	1.204	0.107	1.553	0.996
8	2.638	0.343	1.350	0.991
9	2.908	0.308	1.363	0.994

Otros trabajos anteriormente realizados con sustratos o microorganismos similares han mostrado resultados parecidos a los presentados en este trabajo.

Méndez-Contreras *et al.* (2016) evaluaron el comportamiento reológico de lodos generados de un rastro de aves y que fueron digeridos a partir de la modificación de cuatro COA's; el comportamiento reológico fue caracterizado por el modelo Herschel-Bulkley que describió adecuadamente la reología de este tipo de fluidos ( $R^2 > 0.98$ ) en el cual los lodos crudos y digeridos mostraron un comportamiento de flujo pseudoplástico y dilatante, respectivamente, que aumentaron conforme a la cantidad de la COA utilizada.

Montalvo (2015) y Solis (2013) encontraron el mismo comportamiento para caldos de fermentación de suero de leche con la levadura *Kluyveromyces marxianus*, encontrando que la biomasa generada poseía un comportamiento no newtoniano con características dilatantes y los datos experimentales se ajustaban al modelo de Herschel-Bulkley con un coeficiente de correlación  $R^2 > 0.98$ ; además Montalvo (2015) demostró que existe una correlación entre el esfuerzo de corte inicial y la concentración de la levadura debido a que el crecimiento no fue significativo para modificar la viscosidad del caldo, expresando la reocinética mediante un modelo lineal.

**CONCLUSIONES  
Y RECOMENDACIONES**

## CONCLUSIONES

La caracterización fisicoquímica del lodo porcícola crudo y con pre-tratamiento térmico mostró que existe un decremento en la mayoría de los parámetros físicos y químicos, entre ellas una disminución apreciable de la viscosidad, debido a la solubilización de compuestos orgánicos; mientras que la caracterización microbiológica mostró una completa inactivación de los microorganismos patógenos la cual es deseable para eliminar la competencia de sustrato por otros microorganismos que no sean *Saccharomyces cerevisiae*.

En la caracterización reológica del lodo porcícola crudo y el pre-tratado térmicamente se encontraron valores de los parámetros reológicos correspondientes a un comportamiento no newtoniano con características de un fluido pseudoplástico ( $n < 1$ ) aún después de ser aplicado el pre-tratamiento térmico, independientemente de la temperatura medida. El modelo que mejor describió el comportamiento de fluidez de ambos lodos porcícolas fue el modelo de Herschel-Bulkley al presentar un coeficiente de correlación de  $R^2 > 0.99$ .

El crecimiento de la levadura en el medio de cultivo orgánico B mostró una mejor adaptación que en el medio A después de pasadas las primeras 4 h, así como una mayor producción de biomasa. De acuerdo con los parámetros biocinéticos obtenidos por el método de Lineweaver-Burk, con una  $R^2 > 0.95$ , y los parámetros obtenidos con la simulación con el programa Berkeley Madonna del modelo de Monod a partir de los valores experimentales, se puede concluir que *S. cerevisiae* posee una mejor afinidad al sustrato cuando hay mayor cantidad de lactosuero, observando que el parámetro de la constante de saturación media es más próximo al de la velocidad máxima.

La biomasa de *S. cerevisiae* producida en las cinéticas no fue suficiente para cambiar de manera significativa la viscosidad aparente con el tiempo en los medios orgánicos con lodo porcícola pre-tratado termicamente, A y B.

El modelamiento reocinético del crecimiento de *S. cerevisiae* en los medios orgánicos, analizados a dos diferentes temperaturas, 20 y 28.5 °C, mostró un comportamiento no newtoniano con características dilatantes que tiende con el tiempo de bioconversión y la temperatura medida a mostrar valores cercanos a un fluido newtoniano ( $n = 1$ ), ajustándose el modelo de Herschel-Bulkley con una  $R^2 > 0.99$ .

# **ANEXOS**

## ANEXO A

La ecuación que se utilizó para el cálculo de carbohidratos disponibles en el lodo porcícola crudo y pre-tratado térmicamente se obtuvo mediante la curva de calibración de la Figura A.1.

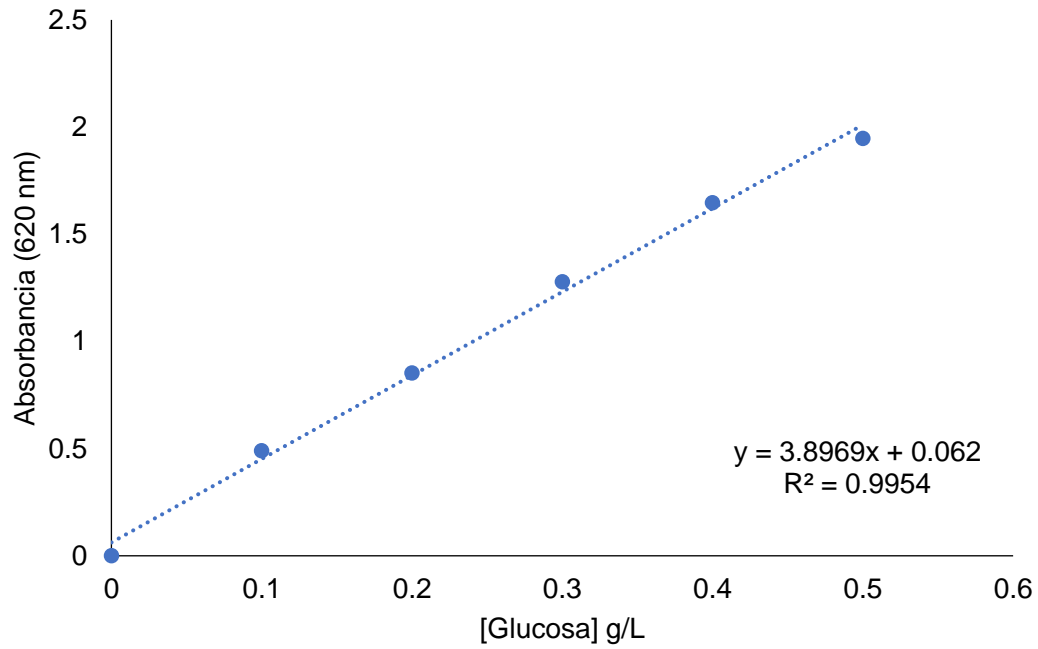


Figura A.1 Curva de calibración de solución de antrona.

## ANEXO B

Para efectos de la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 los biosólidos se clasifican en clase: A, B y C en función de su contenido de patógenos y parásitos.

Los límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en los lodos y biosólidos se establecen en la Tabla A.1.

Tabla A.1 Límites máximos permisibles para patógenos y parásitos en lodos y biosólidos.

Clase	INDICADOR	PATÓGENOS	PARÁSITOS
	BACTERIOLÓGICO DE CONTAMINACIÓN Coliformes fecales NMP/g en base seca	<i>Salmonella</i> spp. NMP/g en base seca	Huevos de Helminto HH/ g en base seca
A	Menor de 1 000	Menor de 3	Menor de 1(a)
B	Menor de 1 000	Menor de 3	Menor de 10
C	Menor de 2 000 000	Menor de 300	Menor de 35

(a) Huevos de Helminto viables



## ANEXO C

Berkeley Madonna es un paquete de software de modelado matemático, desarrollado en la Universidad de California en Berkeley por Robert Macey y George Oster. Resuelve numéricamente ecuaciones diferenciales ordinarias y ecuaciones diferenciales, desarrolladas originalmente para ejecutar STELLA.

La versión utilizada para el cálculo de los parámetros biocinéticos de Monod fue 8.3.14. Al iniciar el programa la interfaz que muestra es la de la Figura A.2.

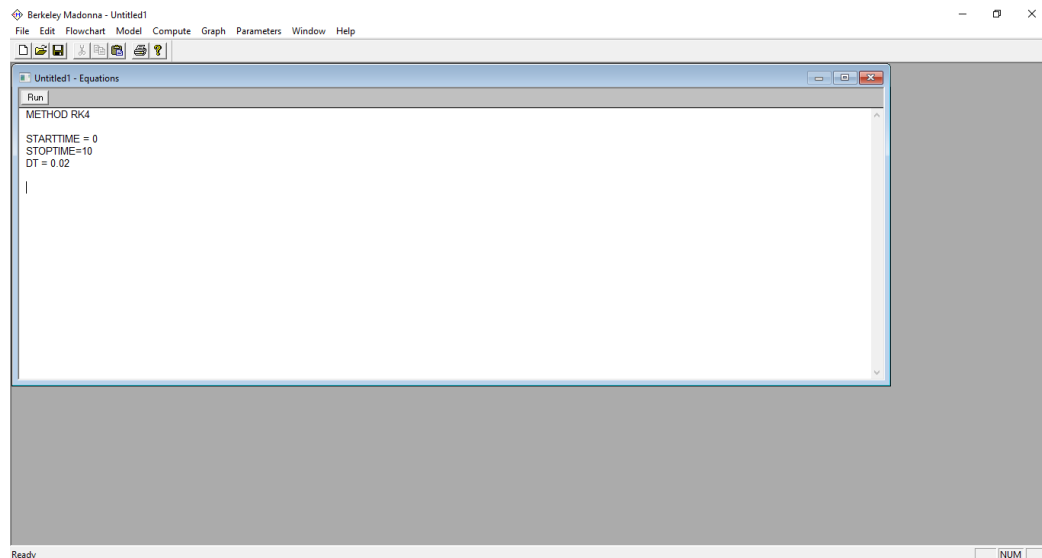


Figura A.2 Interfaz inicial del software Berkeley Madonna.

El modelo de Monod fue ingresado en la ventana titulada “Equations” como una ecuación diferencial ordinaria, con el lenguaje expresado a continuación.

$$d/dt(X) = ((u_{max} * S) / (k_s + S)) * X$$

init X =

$$d/dt(S) = (((-u_{max} * S) / (k_s + S)) * X) / Y$$

init S =

Para ambas cinéticas de crecimiento en el medio A y B, el método de integración utilizado fue el de Runge-Kutta 4, el tiempo inicial fue de 0 y el final de 8, ya que se buscaba únicamente modelar el crecimiento celular de *Saccharomyces cerevisiae* durante la fase exponencial. Los valores iniciales de X (concentración inicial de células) y S (azúcares reductores medidos por el método de DNS) se ingresaron a partir del promedio obtenido de los resultados de cada cinética.

Los valores ingresados para los parámetros biocinéticos: velocidad máxima de crecimiento ( $\mu_{max}$ ), constante de saturación media ( $K_S$ ) y rendimiento de la biomasa sobre el sustrato ( $Y_{X/S}$ ), fueron los obtenidos de las cinéticas A y B, a partir de la ecuación de Lineweaver-Burk y presentados en la Tabla 3.4.

El programa ingresado para cada modelo se presenta en la Figura A.3, con la cinética del medio A del lado izquierdo y la cinética del medio B del lado derecho.

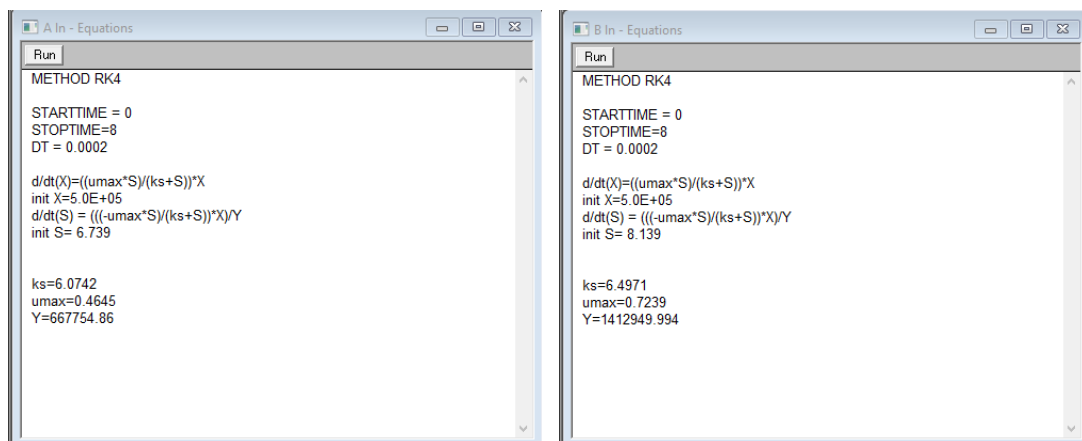


Figura A.3 Programas AIn y BIn utilizados en la simulación del modelo de Monod.

Para poder ajustar los modelos a los resultados experimentales obtenidos primero se agregan las cinéticas de crecimiento, para eso en la barra de tareas se selecciona la pestaña "Parameters" y después "Curve Fit..." (Figura A.4 lado superior izquierdo) la cual abrirá una ventana (Figura A.4 lado superior derecho) donde se seleccionará la opción "Import Dataset" para importar un archivo tipo "Texto" con extensión "\*.txt o

\*.csv” (Figura A.4 lado inferior central); para este trabajo las cinéticas de crecimiento se crearon a partir del “Bloc de notas”.

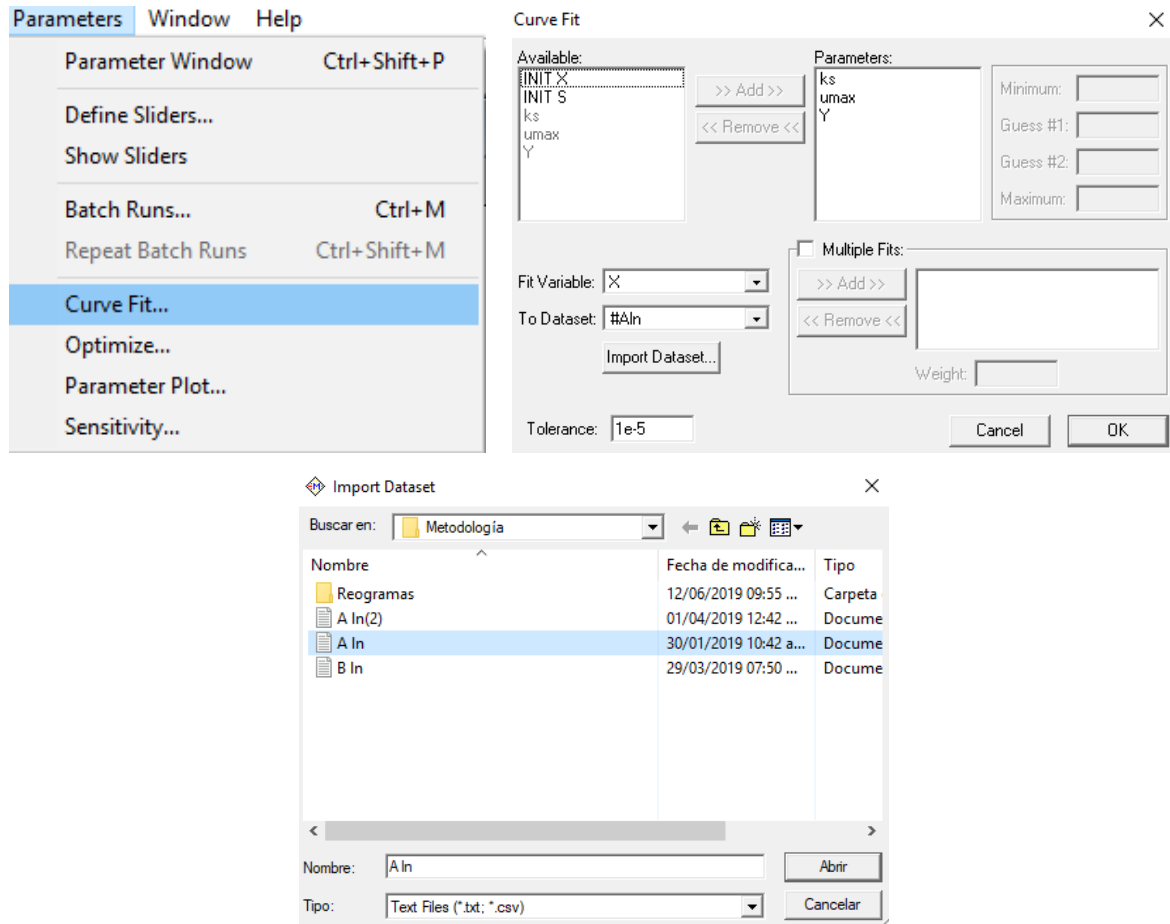


Figura A.4 Ajuste de curva del modelo de Monod a los datos experimentales.

Una vez importada la cinética de crecimiento, en “Parameters” se seleccionarán  $\mu_{max}$ ,  $K_s$  y  $Y_{X/S}$ , en “Fit Variable” se selecciona “X”, que es el crecimiento celular, en “Tolerance” se indicó que fuera de “1e-5”; con el programa del modelo de Monod abierto se selecciona “OK” en la parte inferior de la ventana (Figura A.4 lado superior derecho) que procede a simular y ajustar los valores que aparecerán en una ventana color crema dentro de la simulación de la cinética de crecimiento de *S. cerevisiae* (Figura 3.4 y 3.5), donde la línea negra son los valores experimentales y los rojos los valores simulados.

Cada uno de los parámetros se puede seleccionar individualmente para definir valores mínimos o máximos en donde se espera encontrar los valores de ajuste, igualmente se puede ajustar manualmente la línea roja de la simulación de la cinética mediante la opción “Define Sliders...” ubicada en la pestaña de “Parameters”, que abrirá la ventana de la Figura A.5 y en “Sliders” se seleccionan los parámetros de  $\mu_{max}$ ,  $K_S$  y  $Y_{X/S}$ .



Figura A.5 Ventana de selección de “Sliders”.

Para revisar el ajuste de la curva se calcula la raíz del error cuadrático medio o el root-mean-square error, en inglés, que representa la precisión del modelo para un conjunto de datos observados, valores cercanos a 0 indican un ajuste perfecto a los datos; para realizarlo se selecciona en la barra de tareas la pestaña “Compute” en donde se seleccionará la opción “Check DT/TOLERANCE” (Figura A.6 lado izquierdo) que abre la ventana “Check DT Report”, en “Variable” se escoge “X” y aparece “RMS Error” en el reporte (Figura A.6 lado derecho).

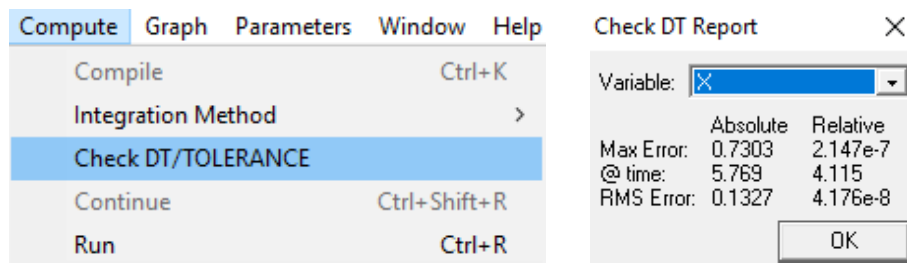


Figura A.6 Cálculo de “RMS Error”:

# **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antezana, W., C. De Blas, P. García-Rebollar, A. Beccaccia, P. Ferrer, A. Cerisuelo, V. Moset, F. Estellés, M. Cambra-López y S. Calvet. 2016. Composition, potential emissions and agricultural value of pig slurry from Spanish commercial farms. *Nutrient Cycling Agroecosystems*. **104**: 159 – 173.
- Amador-Díaz, A., E. Veliz-Lorenzo y M. Bataller-Venta. 2015. Tratamiento de lodos, generalidades y aplicaciones. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*. **46**: 1 – 10.
- Amador, G.L.P. 2018. Efecto de la digestión anaerobia termofílica en la inactivación de *Trichuris suis* y la remoción de compuestos orgánicos en residuos porcícolas. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.
- Bastidas, O. 2012. Conteo celular con hematocitómetro, uso elemental del hematocitómetro. Celeromics. <http://www.celeromics.com/2012/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf> (consultado enero, 2019)
- Bello, G.D., B.E. Carrera y M.Y. Díaz. 2006. Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar. **40** (2): 45 – 50.
- Calderón, B.M.P. 2017. Producción de *Chlorella spp.* y *Spirulina máxima* en el tratamiento de residuos de las industrias: avícola, porcícola y azucarera. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.
- Carrington, E.G. 2001. Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction. European Communities. Luxemburgo.
- Castillo, R.T.J. y V.A. Hernández. 2013. Implementación del cultivo en medio sumergido de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Ethanol Red Fermentis®) en un biorreactor tipo tanque agitado. Tesis en Ingeniería. Universidad Veracruzana. México.
- CORMACARENA. 2015. Guía ambiental: Para sistemas de producción porcícola en el departamento del meta. NMC Publicidad e impresos. Colombia.
- Domínguez-Araujo G., A.J. Gallindo-Barboza, G. Salazar-Gutierrez, G. Barrera-Camacho y F.J. Sánchez-García. 2014. Las excretas porcinas como materia prima para procesos de reciclaje utilizados en actividades agropecuarias. Folleto Técnico Núm. 6. Campo Experimental Centro-Altos de Jalisco, Tepatlilán de Morelos, Jalisco, México.

- Ertola R., O. Yantom y C. Mignone. 2006. Microbiología industrial. Departamento de Educación, Cultura, Ciencia y Tecnología. Estados Unidos.
- FIRA. 2017. Carne de cerdo 2017. Panorama Agroalimentario. México.
- Giraldo-Carmona J., W. Narváez-Solarte y E. Díaz-López. 2015. Probióticos en cerdos: resultados contradictorios. *Revista Biosalud*. **14** (1): 81 – 90.
- Herrera, Q. L. 2019. Producción de la especie *Saccharomyces cerevisiae* mediante la bioconversión de excretas porcinas. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.
- INIFAP, UNAM, Swiss College of Agriculture y FAO. 2002. Reporte de la Iniciativa de la Ganadería, el Medio Ambiente y el Desarrollo (LEAD) - Integración por Zonas de la Ganadería y de la Agricultura Especializadas (AWI) - Opciones para el Manejo de Efluentes de Granjas Porcícolas de la Zona Centro de México. <http://www.fao.org/wairdocs/LEAD/X6372S/x6372s00.htm#Contents> (consultado noviembre, 2018)
- Jiang, Z., S. Wei, Z. Wang, C. Zhu, S. Hu, C. Zheng, Z. Chen, Y. Hu, L. Wang, X. Ma y X. Yang. 2015. Effects of different forms of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, intestinal development, and systemic immunity in early-weaned piglets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. **6**: 1 – 8.
- Lara, M.L. y R.L. Del Romero. 2016. Alternativas para la gestión de lodos de fosa séptica en micropueblos. 13° Congreso Nacional del Medio Ambiente (CONAMA2016). Congreso llevado a cabo en Madrid, España.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, P.V. Dunlap y D.P. Clark. 2009. Brock, Biología de los microorganismos. 12a Edición. Pearson Education. UK.
- MAGAP, AGROCALIDAD y Asociación de Porcicultores ASPE. 2017. Manual de alternativas de tratamiento de purines porcinos. AGROCALIDAD. Ecuador.
- Markowiak, P. y K. Śliżewska. 2018. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathogens*. **10**: 21 - 40.
- Méndez-Contreras J.M., L.A. López-Escobar, S. Martínez-Hernández, D. Cantú-Lozano y A.I. Ortiz-Ceballos. 2016. Rheological behavior of physicochemical sludges during methanogenesis suppression and hydrogen production at different organic loading rates. *Journal of Environmental Science and Health*. **51** (7): 515 – 522.
- Mihelcic, J.R. y J.B. Zimmerman. 2012. Ingeniería ambiental: fundamentos, sustentabilidad, diseño. Alfaomega Grupo Editor, S.A. de C.V., México.

- Montalvo, S.D. 2015. Reocinética del proceso de producción de ácido láctico a partir de levadura *Klyveromyces marxianus* en suero de leche. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.
- Pérez-Pérez, T., I. Pereda-Reyes, D. Olivia-Merencio y M. Zaiat. 2016. Anaerobic digestion technologies for the treatment of pig wastes. Cuban Journal of Agricultural Science. **50** (3): 343 – 354.
- Pinelli, S.A., E. Acedo, J. Hernández, R. Belmar y A. Beltrán. 2004. Manual de Buenas Prácticas de Producción en Granjas Porcícolas. Centro de Investigación y Desarrollo, A.C. Unidad de Hermosillo del CIAD, A. C. y el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, SAGARPA. Hermosillo, Sonora.
- Prifti, T., L. Pinguli e I. Malollari. 2017. A comparative study of kinetic immobilized yeast parameters in batch fermentation processes. European Journal of Advanced Research in Biological and Life Sciences. **5** (3): 1 – 8.
- Rodríguez, P.N.M. 2006. Estudio comparativo de las propiedades reológicas que presenta la levadura cervecera empleada en tanques cilindro – cónicos versus tanques convencionales en BAVARIA S.A. Tesis en Ingeniería. Universidad de La Salle. Colombia.
- Rojas, O., M.I. Briceño y J. Avendaño. 2012. Fundamentos de reología. Laboratorio de formulación, interfases, reología y procesos. Universidad de los Andes. Venezuela.
- Romero, M.D.I. 2018. Acción fermentativa de *Lactobacillus: acidophilus, reuteri y fermentum* en la bioconversión de sustratos orgánicos en productos con potencial alimenticio. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.
- Romero, M.D.I., J.M. Méndez-Contreras, A. Alvarado-Lassman y N.A. Vallejo-Cantú. 2017. Acción fermentativa de *Lactobacillus: acidophilus, fermentum y reuteri* en la bioconversión de sustratos orgánicos. Journal CIM. **5** (2): 1380 – 1385.
- SAGARPA. 2016. Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en la Producción de Granjas Porcícolas. 2<sup>da</sup> ed. SENASICA.
- Sarris, D., L. Matsakas, G. Aggelis, A.A. Koutinas y S. Papanikolaou. 2014. Aerated vs non-aerated conversions of molasses and olive mill wastewaters blends into bioethanol by *Saccharomyces cerevisiae* under non-aseptic conditions. Industrial Crops and Products. **56**: 83 – 93.
- Solis, M.A. 2013. Modelación reológica durante el proceso de producción de bioetanol a partir de suero de leche con la levadura *Klyveromyces marxianus*. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.



- Tchobanoglous, G., F.L. Burton y H.D. Stensel. 2003. Metcalf y Eddy, Inc. Wastewater Engineering Treatment and Reuse. Fourth Edition. Mc Graw Hill Education. Estados Unidos.
- Türker M. 2015. Yeast Biotechnology: Diversity and Applications. *27th VH Yeast Conference: Advances in Science and Industrial Productionss of Baker's Yeast*. Congreso llevado a cabo en Estambul, Turquía.
- Valenzuela, S.M.L. 2017. Manejo de residuos sólidos en granjas porcícolas. Porcicultura. <https://www.porcicultura.com/destacado/Manejo-de-residuos-s%C3%B3lidos-en-granjas-porc%C3%ADcolas> (consultado mayo, 2018)
- White, F.M. 2008. Mecánica de Fluidos. 6ta Edición. Mc Graw Hill Education. Estados Unidos.