

## VARIACIÓN DEL pH DURANTE LOS PROCESOS ANAEROBIOS DE EMISIÓN DE METANO POR EL SECADO Y LA FERMENTACIÓN DE EXCRETAS DE GANADO BOVINO EN EL CENTRO DE MÉXICO

Eugenio GONZÁLEZ-ÁVALOS y Rigoberto LONGORIA-RAMÍREZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Mexicano del Petróleo, Eje Central Norte Lázaro Cárdenas No. 152, Col. San Bartolo Atepehuacan 07730 México, D.F. Tel.: (55) 9175-6757; fax: (55) 9175-8272. Correo electrónico egavalos@imp.mx

<sup>2</sup> Centro Nacional de Investigación y Desarrollo Tecnológico, Interior Internado Palmira s/n, Col. Palmira 62490 Cuernavaca, Morelos, México. Correo electrónico: rlr@cenidet.edu.mx

*(Recibido diciembre 2004, aceptado agosto 2005)*

Palabras clave: pH, excretas de bovino-pH, metano, ganado bovino-excretas-fermentación, México

### RESUMEN

En México se han realizado dos inventarios de emisiones de metano por excretas de ganado bovino. El primero (González-Ávalos 1994) siguió la metodología de la EPA (Environmental Protection Agency), mientras que el segundo (González y Ruiz 1995) estuvo apoyado en un procedimiento experimental del IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). Los Factores de Emisión de Metano involucrados en ambas metodologías no eran aplicables a los climas, la producción pecuaria y el manejo de excretas en México. Este trabajo resultó de la necesidad de estimar los Factores de Emisión de Metano (FEM) por excretas de ganado bovino especializado en la producción de leche, carne y doble propósito para diferentes climas, razas, tipos de alimentación y sistemas de manejo de excretas, con el fin de obtener un inventario representativo de emisiones de metano acorde a las condiciones de México. En este estudio presentamos la relación entre los valores de pH durante los procesos de secado y fermentación de excretas de ganado bovino, de diferentes climas, sistemas y funciones de producción. También se muestra la cantidad de gas generado, con la inclusión del contenido de metano como función del tipo de alimentación, la temperatura y la fermentación de excretas en laguna anaeróbica a 35 °C. Aún cuando la variación del pH durante la fermentación en laguna anaeróbica fue similar a la del proceso de secado, la generación de metano fue 46 veces mayor en laguna anaeróbica con respecto al proceso de secado y fermentación. Asimismo, a partir de diferentes valores iniciales, si el pH descendía rápidamente hasta valores cercanos a 6 unidades, entonces la generación de metano era inhibida drásticamente. Por el contrario, la producción máxima de metano correspondió a procesos con pH inicial mayor a 7 unidades, con un descenso lento del pH durante el proceso de fermentación, pero sin alcanzar el mínimo de 6.0 unidades. Finalmente, el  $R^2 = 0.9646$  entre las tendencias exponenciales del pH y de la humedad de las muestras está relacionado con la población de bacterias en las muestras de excretas y, por tanto, con la producción de biogás y metano.

Key words: pH, cattle manure-pH, methane, cattle manure-fermentation, México

## ABSTRACT

In Mexico, two inventories of methane emissions from cattle manure have been conducted. In the first one (González-Avalos 1994), Environmental Protection Agency (EPA) methodology was followed, while the second inventory (González and Ruiz 1995) was supported on an experimental methodology from the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Methane Emission Factors used in both methodologies were not appropriate to climate, cattle production, and handling of manure in México. This work resulted from the necessity of estimating the Methane Emission Factors (MEF) from cattle manure, specialized for milk, meat, and dual-purpose, from several climates, breeds, feed, and manure management systems in order to obtain a representative inventory of methane emissions from cattle manure, in agreement to Mexican conditions. In this study we show the relation among pH values during the drying and fermentation processes of cattle manure, from different climates, cattle production systems and production functions. The quantity of formed biogas included methane contents as a function of the types of feeding, temperature, and the manure fermentation in an anaerobic lagoon at 35 °C, are shown too. Although the variation of pH for the period of fermentation in the anaerobic lagoon was similar to that of the drying process, methane produced was a factor of 46 greater in the anaerobic lagoon than that of the drying and fermentation process. Also, for any initial values, if pH descended quickly close to 6 units, then methane production was inhibited drastically. On the contrary, maximum production of methane was linked to an initial pH value greater than 7 units, with a slow descent of pH during the fermentation process, but without reaching a minimum of 6 units. Finally,  $R^2 = 0.9646$  obtained among the exponential trends of pH and the samples humidity, is related to the bacteria population in the manure samples and, therefore, to the production of biogas and methane.

## INTRODUCCIÓN

Además de actuar como un gas de efecto invernadero, el metano afecta la composición química de la atmósfera, influyendo en la concentración del ozono, del radical hidroxilo y del monóxido de carbono (O'Neill 1994, Winfield 1995).

El metano reacciona con átomos de cloro en la estratosfera para formar cloruro de hidrógeno ( $\text{CH}_4 + \text{Cl} \rightarrow \text{CH}_3^* + \text{HCl}$ ), una especie inactiva en las condiciones dadas en esa región de la atmósfera terrestre (Baird, 2001) y evita la participación del átomo de cloro en la destrucción de la capa de ozono.

En la troposfera el metano reacciona, en forma competitiva por el radical hidroxilo libre, con el monóxido de carbono, dando origen a otras especies de efecto invernadero como agua y dióxido de carbono ( $\text{CH}_4 + \text{HO}^* \rightarrow \text{CH}_3^* + \text{H}_2\text{O}$  y  $\text{CO} + \text{HO}^* \rightarrow \text{H}^* + \text{CO}_2$ ).

Actualmente el metano, tanto el generado por fuentes naturales como antropogénicas, ha sido señalado, junto con el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), el óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) y los compuestos halogenados del carbono (CFC), como factor de cambio en las propiedades de la atmósfera de la Tierra, en donde juega un doble papel, como contribuyente al calentamiento

de la atmósfera por su potencial de calentamiento 21 veces mayor que el del dióxido de carbono (Wuebbles y Edmonds 1991) y, por otra parte, como energético derivado de un recurso renovable, la biomasa.

Entre los diferentes mecanismos biológicos que se dan en la naturaleza, la transformación de la materia orgánica por microorganismos anaerobios (fermentación), es el que mayor importancia tiene en el mantenimiento de la vida en nuestro planeta por su contribución al ciclo del carbono. La formación de metano y dióxido de carbono es la característica más sobresaliente en la descomposición de la materia orgánica, proceso en el que microorganismos metanógenos combinan su capacidad de oxidar el hidrógeno y de reducir el dióxido de carbono, en la última de tres etapas distinguibles en las que se tienen, dependiendo de la materia orgánica fermentada, variaciones en el pH que constituyen el motivo de este trabajo.

En una primera etapa de fermentación, bacterias anaerobias hidrolizan las proteínas, grasas y polisacáridos para generar aminoácidos, péptidos de cadena corta, monosacáridos, disacáridos y ácidos grasos. En una segunda etapa de este proceso se da la transformación de los productos de la hidrolización,

a alcoholes simples y diversos ácidos orgánicos como el acético, el propiónico y el butírico, mediante la participación de bacterias acetógenas. En la tercera etapa, donde se genera metano, el pH y la temperatura tienen una influencia decisiva en la rapidez y cantidad de metano generado, por lo que, cuando el objetivo es la producción y cuantificación de este hidrocarburo, el pH habrá de mantenerse en un intervalo de 6 a 7.8 unidades y la temperatura por encima de 10 °C (Safley *et al.* 1992).

Debido a que el pH, la temperatura, la humedad de las muestras, así como la alimentación del ganado afectan la producción de metano durante la fermentación de sus excretas (Safley *et al.* 1992), en el presente trabajo se presentan las variaciones de pH, tanto en procesos de secado, como de fermentación de muestras en laguna anaeróbica, y su relación con la variación en la producción total de biogás y las emisiones de metano para excretas de ganado bovino de los estados del centro de México (Distrito Federal, Hidalgo, México, Michoacán, Morelos, Querétaro, Tlaxcala), con climas templados y cálidos, bajo sistemas de producción intensivo, semi-intensivo y extensivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sistemas de producción de ganado bovino y manejo de excretas

Este trabajo se realizó con excretas de ganado bovino adulto de diferentes razas. Los sistemas de los que se colectaron muestras de excretas para este estudio se identificaron tomando en cuenta: a) el grado de explotación de los hatos, intensivo (I), semi-intensivo (S-I) y extensivo (E); b) de acuerdo con la función de producción, lechero (L), de carne (Ca) y de doble propósito (DP); c) de acuerdo con las características del clima del lugar de procedencia de las muestras, clima templado (T) o clima cálido (A). Considerando lo anterior, los sistemas se identificaron como: ILT (intensivo, lechero de clima templado); ICaT (intensivo productor de carne de clima templado); EDP (extensivo de doble propósito); ILA (intensivo, lechero de clima cálido); ICaA (intensivo productor de carne en clima cálido); S-ILT (semi-intensivo, lechero de clima templado). Además se tomó en cuenta el manejo de excretas por almacenamiento en estercoleros, para su posterior esparcimiento en campos agrícolas, en corral y en pastoreo. El **cuadro I** proporciona la información antes descrita, así como acerca de la alimentación y de los principales lugares de proce-

dencia de las excretas. Se observa que para los sistemas de producción, el alimento difiere de una región a otra, en función del clima y de la producción agrícola local. La calidad del alimento es menor en los sistemas extensivos (EDP), mejora en los semi-intensivos (S-IL) y es de mayor calidad en los sistemas intensivos (IL e ICa). La cantidad por tipo de alimento consumida por los animales es muy variable, ya que depende de la raza del animal y del sistema de producción, de la función de producción, del tamaño, edad y salud del animal, de la disponibilidad regional del alimento acorde a la estación del año, del tamaño del hato y de la capacidad económica del productor, entre otros.

Con la finalidad de evitar la fermentación sin control de las muestras frescas, luego de ser colectadas en bolsas de polietileno en cantidades de aproximadamente 5 kg por hato, se depositaron en recipientes de poliestireno expandido (unicel) con paredes de 5 cm de espesor, cubiertas en su totalidad con hielo, para el transporte del lugar de procedencia al laboratorio.

Las muestras frescas de excretas correspondientes a un mismo sistema, función y clima, fueron mezcladas mecánicamente para contar con muestras homogéneas.

La experimentación en el laboratorio se realizó con muestras a una temperatura específica predefinida, variando la humedad de las excretas mediante la simulación del proceso natural de secado que ocurre al ser acumuladas a la intemperie, dispersadas en pastizales o fermentadas en una laguna anaeróbica. Tanto los procesos de secado como los de fermentación se simularon para climas templados y cálidos.

Para la simulación del secado de excretas de cada sistema de producción de un clima determinado, se emplearon 39 réplicas de muestras frescas de 400 g cada una, cuya pérdida de humedad con control de ventilación y temperatura, se efectuó mediante un secador diseñado y construido ex profeso. Las muestras frescas de 400 g fueron colocadas en canastas cilíndricas de polietileno, de 8 cm de diámetro interno y 11 cm de altura. Las canastas presentaban perforaciones de 0.5 cm de diámetro que cubrían el total de las paredes. Luego, 3 canastas con muestras fueron sometidas al proceso de fermentación anaeróbica, así como a la medición respectiva de los gases producidos (incluido el metano); las 36 canastas restantes fueron colocadas en el secador. Tanto el secador como el baño isotérmico donde se fermentaban las muestras tenían capacidad para procesar simultáneamente tres grupos de excretas provenien-

**CUADRO I. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE GANADO BOVINO**

| Sistema;<br>Razas;<br>Manejo de desechos  | Tipo de alimento   | Procedencia   |
|---|--|---|
| ILT <sup>‡</sup> ;<br>Holstein y Suizo;<br>Almacenamiento                           | Cascarilla de cítricos, semilla de algodón, silo de maíz, melaza, alfalfa fresca, alfalfa achicalada, pastos inducidos, alimento balanceado de granos y sales minerales. | Tizayuca y Pachuca (Hgo); Zumpango, Texcoco y Tepozotlán (Estado de Méx); Pedro Escobedo (Qro), Apizaco y Huamantla (Tlax)      |
| EDP (T) <sup>‡</sup> ;<br>Cruzas indefinidas;<br>Pastoreo                           | Gramina nativa, rastrojo de maíz, paja de cebada, paja de trigo y paja de avena.   | Angangueo (Mich); San Felipe del Progreso y Axapusco (Estado de Méx); Apan y Zimapán (Hgo); Calpulalpan (Tlax); Cadereita (Qro) |
| ICaA <sup>‡</sup> ;<br>Cruzas Zebuinas;<br>Corral                                   | Cáscara de cacahuete, maíz molido, melaza, pollinaza, sorgo molido, harina de pan, rastrojo picado y sales minerales.  | Amacuzac, Cuautla, Huajitlán, Puente de Ixtla, Yecapixtla y Jantetelco (Mor)  |
| S-ILT <sup>‡</sup> ;<br>Cruzas Holstein e indefinidas;<br>Almacenamiento y Pastoreo | Pasto inducido, grama nativa verde, silo de maíz, rastrojo de maíz molido, paja de avena y suplemento balanceado.  | Sahagún (Hgo); Tepetlixpa (Mor); Texcoco y San Mateo (Estado de Méx), Apizaco, Calpulalpan y Huamantla (Tlax)                   |
| ICaT <sup>‡</sup> ;<br>Cruzas Zebuinas y Europeas;<br>Almacenamiento y Corral       | Maíz molido, sorgo molido, pollinaza, pasta de soya, zacate y rastrojo de maíz molido, harina, suplemento balanceado y pastos inducidos.                                 | Texcoco, Tepetlaoxtoc, San Cristóbal y Axapusco (Estado de Méx); Huamantla (Tlax).  |

<sup>‡</sup> ILT = Intensivo Lechero en clima Templado; EDP = Extensivo de Doble Propósito; ICaA = Intensivo para Carne en clima cálido; S-ILT = Semi-Intensivo Lechero en clima Templado; ICaT = Intensivo para carne en clima Templado. I = Intensivo; S-I = Semi-intensivo; E = Extensivo; L = Lechero; Ca = Carne; DP = Doble Propósito; T = Templado; A = Cálido

tes cada uno de un sistema de producción. Los procesos de fermentación, la medición de la producción total de gas y metano, así como el secado de las muestras se efectuó en un máximo de dos días, después de lo cual las muestras fermentadas en ese primer periodo fueron desechadas. Este procedimiento continuó por periodos sucesivos hasta concluir con la fermentación de las muestras que tenían un contenido mínimo de humedad. La pérdida de humedad de las muestras se asoció directamente con la pérdida de masa registrada.

La masa de las muestras fermentadas en laguna anaeróbica fue de 100 g, sin pérdida de humedad durante el proceso. La fermentación con simulación de la laguna anaeróbica y de las muestras secadas a 20 °C se llevó a cabo en recipientes cilíndricos (biorreactores) de aluminio de 25 cm de largo por 10 cm de diámetro, sellados con tapa e inmersos en un baño térmico a temperatura constante. En la tapa de cada biorreactor se insertó una septa de silicón sólido por donde, mediante una jeringa, se extraían las muestras de biogás que serían analizadas por

cromatografía de gases para la cuantificación del metano. En la misma tapa se colocaron dos válvulas de aguja; una para purgar el aire del biorreactor y crear luego una atmósfera inerte con nitrógeno a presión controlada; la otra, para conectarse a un transductor que registrara el incremento de la presión total del biogás en el biorreactor conforme se desarrollaba el proceso de fermentación. La descripción detallada de las características de los equipos experimentales empleados durante el secado y la fermentación de muestras, aparece en González-Ávalos (1999) y en González-Ávalos y Ruiz-Suárez (2001).

### Análisis proximal

Los nutrientes de los alimentos al ser digeridos y absorbidos por los animales, son utilizados por éstos para su mantenimiento y reproducción. No obstante, una parte de los nutrientes consumidos no son aprovechados, ya que se expulsaron a través de las heces fecales y la orina. Los nutrientes residuales en las excretas son utilizados por las bac-

terias acidofílicas para la generación de metano. Los componentes presentes en el estiércol son en general: agua, materia seca, materia orgánica (carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas) y materia inorgánica. Donde la materia seca es todo lo que queda después de eliminar al 100 % el agua y la materia inorgánica comprende a los minerales, que generalmente constituyen las cenizas.

El análisis proximal es un tipo de análisis químico global mediante el cual se determina la composición de una muestra en términos de sus principales grupos de nutrimentos, considerando para ello su calidad en función de grupos de compuestos con características físicas y químicas semejantes, pero con diferente valor nutritivo. Este tipo de análisis no dice cuáles compuestos y cuánto de cada uno de ellos contiene cada determinación, sin embargo, es un buen indicador del porcentaje de nutrientes y de la energía digestible y metabolizable en el estiércol (Sosa 1981, Tejeda 1992).

A las muestras frescas colectadas, clasificadas por sistema y función de la producción y clima de los lugares de procedencia, se les aplicó un análisis proximal, siguiendo los Métodos Oficiales de Análisis de la "Association of Official Agricultural Chemists" (AOAC, 1990) en el Laboratorio de Análisis Químicos para Alimentos (SARH 0950693), del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México. El análisis de las excretas incluyó las siguientes determinaciones: proteína cruda, extracto etéreo, cenizas, fibra cruda, extracto libre de nitrógeno, energía digestible y energía metabolizable.

### Cuantificación del metano

El metano se determinó por cromatografía de gases (Pye Unicam serie 204), con columna de tubin de 1.83 m de largo y 4.8 mm de diámetro, empacada con malla molecular 13X y a una temperatura de 70 °C. La concentración del metano fue determinada para cada periodo de fermentación, tomando el promedio de 6 cromatogramas (dos cromatogramas por cada uno de los tres biorreactores por sistema), con una incertidumbre dada por la desviación media.

La incertidumbre en el número de moles totales de gas, por periodo de fermentación, es el resultado de la propagación de las incertidumbres absolutas de la presión, el volumen y la temperatura. De esta manera, la incertidumbre en los moles totales de gas generado es la suma de las incertidumbres de cada periodo de fermentación.

### Determinación del pH

Para el seguimiento y la comparación de las variaciones del pH, se consideró la temperatura de 20 °C para muestras con secado y de 35 °C para muestras con secado y fermentación, así como para las muestras fermentadas en laguna anaeróbica. Se seleccionó 20 °C porque a esa temperatura hay suficiente producción de metano con respecto a la producción a temperaturas más bajas y porque a temperaturas mayores el secado total de las muestras ocurre antes de 17 días, tiempo aproximado total requerido para la fermentación en lagunas anaeróbicas.

La temperatura de 35 °C fue seleccionada debido a que en ese caso se obtienen los potenciales de máxima producción de metano ( $B_0$ ) de excretas provenientes de cualquier sistema de producción y que sean fermentadas en laguna anaeróbica. Sin embargo, también es importante comparar las emisiones de metano de este sistema de manejo de desechos con aquellas provenientes de excretas con secado y fermentación a esta misma temperatura.

Las mediciones del pH para muestras con secado se llevaron a cabo en periodos consecutivos de 1 ó 2 días para asegurar que, de un periodo de secado al siguiente, tuvieran un contenido notablemente diferente de humedad a 20 °C. Para las mediciones de pH en excretas se aplicó un método potenciométrico con una resolución en el instrumento (Conductronic PC18-3145) de 0.01 y, para evitar la variación debida a la dilución, se utilizó el criterio de saturación de la muestra con agua a una relación muestra:agua de 1:5.

En la simulación de fermentación de muestras en laguna anaeróbica las mediciones del pH se efectuaron al inicio y al final del proceso completo de fermentación, ya que en esta simulación el biorreactor permaneció cerrado durante los 17 días que tomó el proceso.

El método de medición del pH consistió en los siguientes pasos:

1. El medidor de pH se calibró previamente con soluciones patrón de  $4.00 \pm 0.02$  y  $7.00 \pm 0.02$  unidades de pH, a 20 °C.
2. Se pesaron 5g de muestra, se introdujeron a un vaso de precipitados de 100 ml y se añadieron 25 ml de agua destilada. Luego se agitó durante diez minutos con una varilla de vidrio.
3. Se introdujo en la muestra diluida el electrodo combinado y se tomó directamente la lectura de pH.

La incertidumbre absoluta en los datos del pH corresponde a la mitad de la mínima escala del potenciómetro utilizado (0.005 unidades), más la mis-

**CUADRO II.** ANÁLISIS PROXIMAL DE EXCRETAS DE BOVINO EN BASE SECA

| Sistema            | MS <sup>¥</sup> ,<br>% | PC <sup>¥</sup> ,<br>% | EE <sup>¥</sup> ,<br>% | Ce <sup>¥</sup> ,<br>% | FC <sup>¥</sup> ,<br>% | ELN <sup>¥</sup> ,<br>% | ED <sup>¥</sup> ,<br>kcal/kg | EM <sup>¥</sup> ,<br>kcal/kg |
|--------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|
| ILT <sup>‡</sup>   | 14.48                  | 13.81                  | 1.80                   | 22.86                  | 29.00                  | 32.53                   | 369.18                       | 302.69                       |
| ICaT <sup>‡</sup>  | 15.43                  | 14.78                  | 1.94                   | 28.58                  | 21.13                  | 33.57                   | 379.71                       | 311.33                       |
| EDP <sup>‡</sup>   | 16.28                  | 11.27                  | 2.51                   | 27.12                  | 25.36                  | 33.74                   | 404.73                       | 331.84                       |
| ICaA <sup>‡</sup>  | 26.03                  | 15.60                  | 2.38                   | 14.37                  | 33.63                  | 34.02                   | 733.94                       | 601.77                       |
| S-ILT <sup>‡</sup> | 17.05                  | 11.88                  | 1.83                   | 16.56                  | 21.18                  | 48.56                   | 502.60                       | 412.09                       |

¥ PC = Proteína Cruda; EE = Extracto Etéreo; Ce = Cenizas; FC = Fibra Cruda; ELN = Extracto Libre de Nitrógeno; ED = Energía Digestible; EM = Energía Metabolizable

‡ ILT = Intensivo Lechero en clima Templado; EDP = Extensivo de Doble Propósito; ICaA = Intensivo para Carne en clima cálido; S-ILT = Semi-Intensivo Lechero en clima Templado; ICaT = Intensivo para carne en clima Templado

ma cantidad por haberse medido dos veces el valor del pH, es decir, 0.01 unidades.

## RESULTADOS

### Análisis proximal

Los resultados del análisis proximal de las muestras de excretas, reportados en base a peso seco, se dan en el **cuadro II**. Con relación al contenido promedio de nutrientes en las excretas, se obtuvieron las siguientes proporciones: proteína cruda (PC), 12.94 %; extracto etéreo (EE), 2.07 %; cenizas (Ce), 20.86 %; fibra cruda (FC), 25.41 %; extracto libre de nitrógeno (ELN), 38.72 %.

En el mismo cuadro se observa que la materia seca (MS) para el sistema ICaA, es casi 40 % mayor al promedio de los demás sistemas. Lo cual indica que estos animales consumen alimentos más secos que el resto. La proteína para el mismo sistema (ICaA) sobrepasa a los demás con el 108 %. Esto se debe, seguramente, a que la dieta de los animales productores de carne se compone principalmente de granos, que tienen un porcentaje de proteínas mayor que el resto de los alimentos. El EE –grasas y aceites– del mismo sistema ICaA es mayor en un 98 %, que las demás excretas. En cuanto a la fibra, son otra vez las excretas del sistema ICaA las que tienen una mayor cantidad de estos nutrientes. Ello debido a que buena parte de los granos que consumen los animales no son triturados por los productores a tamaños tales que puedan digerirse; además de haber una preponderancia de este tipo de alimento sobre los forrajes, de modo que no todo el grano ingerido es debidamente digerido. Esta es la razón para que también las cantidades de ELN, es decir, azúcares y almidones, así como las energías ED y

EM, presentes en las excretas, sean mayores en este sistema, con el 41 % para el ELN, el 73 % para la ED y el 73 % también para la EM; todo ello respecto al promedio de los valores, de los mismos grupos de nutrientes en los demás sistemas de producción.

Adicionalmente, al considerar todos los sistemas de producción, el contenido promedio de materia seca es del 17 %, obteniéndose un máximo de 26 % para excretas de ganado en producción intensiva de carne ICaA.

El **cuadro III** representa una normalización de los resultados del análisis proximal reportado en el **cuadro II**, para un contenido de materia seca de 26 % en las excretas de todos y cada uno de los sistemas de producción que se estudian, considerando un cambio proporcional en los porcentajes asociados a los grupos de nutrientes (PC, EE, ELN, etc.) de las muestras analizadas. A partir del **cuadro III** se pudieron relacionar los grupos de nutrientes y su contenido en las excretas analizadas, con el tipo de alimentación de cada uno de los sistemas descritos en el **cuadro I**, lo que posteriormente es identificado con el pH y la cantidad de biogás y metano generados.

Con el propósito de hacer práctica la visualización de los contenidos de nutrientes, en el **cuadro III** se ordenaron en forma descendente tales contenidos, de manera que se puede considerarlos en la parte superior del cuadro, en la parte media o en la parte inferior.

Los contenidos de nutrientes de las excretas del hato identificado como sistema ILT, se localizan en la parte media del cuadro con respecto al contenido de proteínas, aminoácidos y ácidos nucleicos; así como valores en la parte baja del cuadro para grasas, aceites, lipoproteínas y lípidos en general (EE), que corresponden además a energías digestible y

**CUADRO III.** VALORES DE NUTRIENTES EN EXCRETAS EN BASE SECA NORMALIZADA A 26 % DE MATERIA SECA; POR SISTEMA DE PRODUCCIÓN Y CLIMA

|                    | PC <sup>¥</sup> , % | EE <sup>¥</sup> , % | Ce <sup>¥</sup> , % | FC <sup>¥</sup> , % | ELN <sup>¥</sup> , % | ED <sup>¥</sup> , kcal/kg | EM <sup>¥</sup> , kcal/kg |
|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|
| ICaA <sup>‡</sup>  | 16.04               | EDP 2.60            | ICaT 31.02          | ICaA 33.63          | S-ILT 50.73          | ICaA 733.94               | ICaA 601.77               |
| ICaT <sup>‡</sup>  | 15.60               | ICaA 2.58           | EDP 28.11           | ILT 31.48           | ICaA 37.54           | S-ILT 547.67              | S-ILT 449.04              |
| ILT <sup>‡</sup>   | 15.11               | ICaT 2.12           | ILT 25.01           | EDP 27.83           | EDP 37.29            | EDP 446.00                | EDP 365.68                |
| S-ILT <sup>‡</sup> | 13.11               | S-ILT 2.01          | S-ILT 18.38         | S-ILT 23.54         | ICaT 37.13           | ICaT 419.92               | ICaT 344.30               |
| EDP <sup>‡</sup>   | 12.52               | ILT 1.99            | ICaA 16.09          | ICaT 23.37          | ILT 36.28            | ILT 413.41                | ILT 338.95                |

‡ ILT = Intensivo Lechero en clima Templado; EDP = Extensivo de Doble Propósito; ICaA = Intensivo para Carne en clima cálido; S-ILT = Semi-Intensivo Lechero en clima Templado; ICaT = Intensivo para carne en clima Templado.

¥ PC = Proteína Cruda; EE = Extracto Etéreo; Ce = Cenizas; FC = Fibra Cruda; ELN = Extracto Libre de Nitrógeno; ED = Energía Digestible; EM = Energía Metabolizable

metabolizable, también situadas en la parte baja de el cuadro. Esta caracterización corresponde a una dieta a base de alfalfa fresca, alfalfa achicalada y pastos inducidos, complementada en primera instancia con alimento balanceado en granos molidos y sales minerales, así como con cascarilla de cítricos, semilla de algodón, maíz ensilado y melaza. En las excretas de este ganado generalmente no pueden observarse granos, pero sí fracciones no digeridas del alimento balanceado y de los alimentos no verdes, lo cual explica el hecho de que el contenido de proteína cruda sea abundante en las excretas. De acuerdo con el **cuadro III**, para el sistema ILT las energías digestible y metabolizable son las de menor valor (413 kcal/kg y 339 kcal/kg, respectivamente) en sus excretas, por lo que se puede decir que en este sistema de producción se aprovecha eficientemente la energía suministrada por la dieta alimenticia.

En las excretas colectadas de los sistemas ICaA e ICaT, los valores de PC se situaron en la parte superior del cuadro, así como valores en la parte media o alta del mismo para EE y energías ED y EM.

La alimentación suministrada al ganado en el sistema ICaA consiste de maíz y sorgo molidos, harina de pan, melaza y pollinaza, complementados con rastrojo picado, cáscara de cacahuate y sales minerales. En el sistema ICaT la alimentación tiene como base el maíz y el sorgo molidos, melaza, pollinaza y pasta de soya, complementados con forraje y rastrojo de maíz. En ambos sistemas los granos no se alcanzan a digerir en su totalidad, ya que su presencia en las excretas es evidente, lo cual está relacionado, por estar en la parte superior del cuadro, con el contenido de PC y energía.

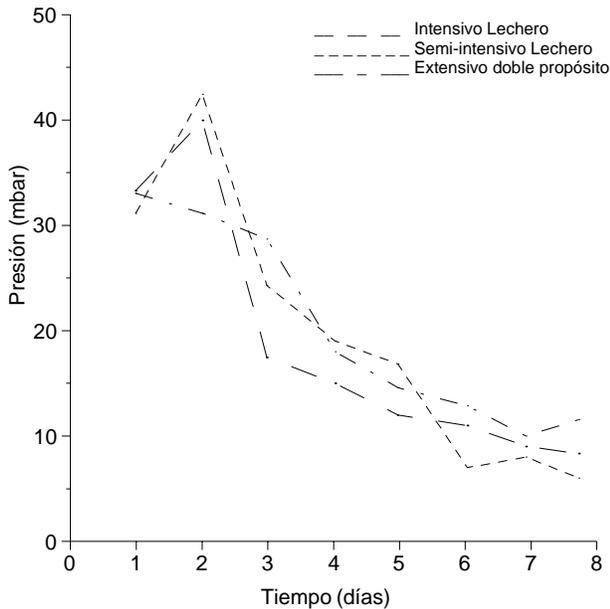
Los análisis de las excretas del sistema EDP, mostraron un contenido de proteína cruda en la parte

baja del cuadro y valores de EE en la parte media o superior del mismo. Los contenidos de FC, ELN y de energía también se situaron con valores en la parte media. El alimento típico predominante en estos sistemas de producción consiste en grama nativa, rastrojo de maíz y pajas de cebada y avena. Adicionalmente, se determinó experimentalmente que la masa de las excretas producidas por este sistema en pastoreo EDP sólo representaron 34 % de la masa de las excretas producidas por ganado lechero y el 48 % de la masa de las excretas producidas por el ganado productor de carne.

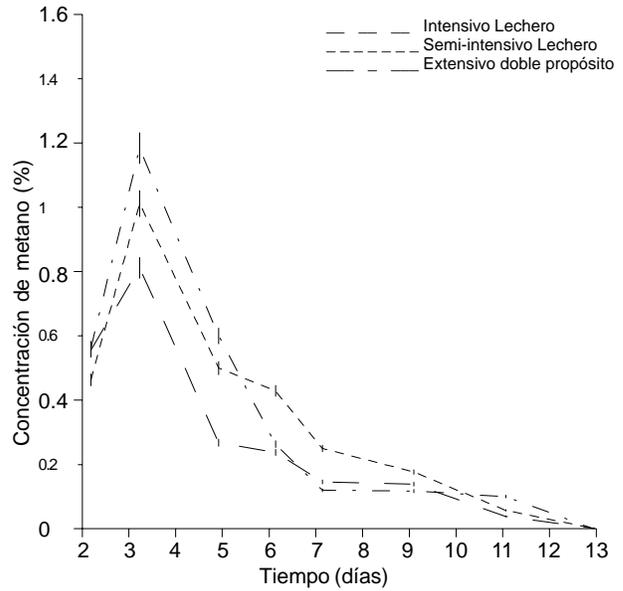
### Emisiones de biogás y de metano

Las emisiones de biogás y de metano a 22 °C muestran la tendencia general del proceso de fermentación, registrándose un máximo de emisiones de biogás al segundo día del proceso (**Fig. 1**), mientras que el máximo de emisión de metano se observa desplazado aproximadamente un día respecto al máximo de biogás (**Fig. 2**). Sin embargo, es importante señalar que los máximos de generación de metano, con respecto al tiempo, dependen de la temperatura de fermentación ya que a temperaturas menores los máximos en generación de metano coinciden con tiempos más prolongados de fermentación.

Es interesante que los máximos para biogás y metano (**Figs. 1 y 2**) no corresponden al mismo día, es decir, mientras que en la **figura 1** (presión total de biogás) el máximo y el mínimo corresponden a los sistemas S-IL y EDP, respectivamente, en la **figura 2** (concentración de metano en porcentaje) corresponden el máximo al sistema EDP y el mínimo al IL. La observación anterior indica que gran parte del biogás que se produce no es metano, y que por tanto la máxima generación de biogás no necesariamente tiene una relación directa con la producción de metano,



**Fig. 1.** Variación de la presión total de biogás en mbar, con respecto al tiempo en el proceso de secado/fermentación a 21 °C para tres sistemas de producción. La incertidumbre por ser muy baja no se representa en la gráfica



**Fig. 2.** Variación de la concentración de metano en %, a 21 °C, para tres sistemas de producción

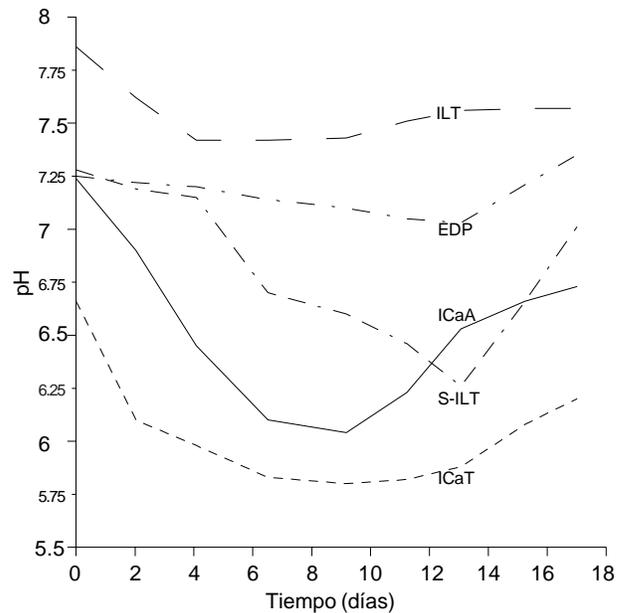
la cual está más estrechamente relacionada con la temperatura y con el pH que se tengan en el biorreactor. Este tipo de comportamiento ocurre para todas las temperaturas de fermentación.

**Variación del pH**

En la **figura 3** se observa que hay dos sistemas que muestran variaciones de aproximadamente 0.4 unidades en el pH durante el tiempo total de secado y que además se mantienen en un rango de pH entre 7.8 y 7.1. Estos sistemas son el ILT y el EDP. Se observa además, que los sistemas S-ILT, ICaA e ICaT, muestran durante el tiempo total de secado una variación mayor de pH, siendo de aproximadamente 1 unidad, alcanzando mínimos de pH de 6.2 el sistema ICaA y de 5.8 el ICaT.

Durante el periodo total de secado hubo dos intervalos principales, uno que parte con el inicio del secado, hasta alcanzar los valores mínimos de pH; y un segundo intervalo que inicia con los valores de pH mínimos alcanzados y la tendencia de incremento del pH hasta concluir el periodo de secado, (**Fig. 3**). Al comparar el primer intervalo con las observaciones del **cuadro III** y al considerar las emisiones de biogás y de metano graficadas en las **figuras 1 y 2**, se deduce que los valores de PC (15 %) están asociados con los valores bajos de EE (≈ 2 %) y de energía (412 kcal/kg). Sin embargo, los valores de pH son los más

altos encontrados en las excretas de los sistemas analizados (entre 7.8 y 7.2 unidades de pH), la generación de biogás es baja pero con un porcentaje alto de



**Fig. 3.** Variación del pH de excretas con el tiempo de secado a 20 °C. Los sistemas de producción y climas aquí representados son: Intensivo Lechero en clima Templado (ILT); Extensivo de Doble Propósito (EDP); Intensivo para Carne en clima cálido (ICaA); Semi-Intensivo Lechero en clima Templado (S-ILT); Intensivo para Carne en clima Templado (ICaT). La incertidumbre por ser muy baja no se representa en la gráfica

metano (3.8 mg de CH<sub>4</sub>/g de materia seca). El sistema ILT es representativo de este comportamiento.

Por el contrario, valores relativamente altos de PC (16 %) con valores medios o altos de EE (2.58 %), que se asocia a valores altos de energía (733 kcal/kg), tuvo una producción alta de biogás con porcentajes bajos de metano ( $\approx$  0.32 mg CH<sub>4</sub>/g de materia seca) y valores relativamente bajos de pH ( $\approx$  7.2 de inicio y  $\approx$  6.1 mínimo). De aquí que la mayor parte del gas que se genera no es metano.

El sistema EDP con un contenido relativamente bajo de PC en sus excretas (12 %), así como valores medios o altos de EE (2.6 %), combinados con valores medios de energía ( $\approx$  446 kcal/kg), valores de pH máximo y mínimo de 7.3 y 5.5 unidades, respectivamente, se situó con una producción de metano de 0.8 mg de CH<sub>4</sub>/g de materia seca.

Por otro lado, las excretas del sistema ICaA tuvieron un pH de 7.24 al inicio del proceso de secado a una temperatura de 20 °C (**Fig. 3**), alcanzando en aproximadamente 9 días un pH mínimo de 6.04 (variación en promedio de 0.13 unidades de pH por día). Así mismo, en el sistema ICaT el pH descendió de 6.66 a 5.80 en el mismo periodo (variación de 0.09 unidades de pH por día). Estos dos sistemas (**Cuadro IV**), fueron los que en términos generales produjeron menos metano por gramo de materia seca, en los dos procesos: secado/fermentación a 35 °C y

fermentación en laguna anaeróbica a 35 °C.

Otro sistema que presenta una importante variación del pH es el S-ILT que inició el proceso de secado a 20 °C con un pH de 7.28 unidades y alcanzó un mínimo pH de 6.26 después de 13 días. Este sistema se diferenció de los sistemas ICaA e ICaT en que el cambio del pH es más lento (0.08 unidades de pH por día) y la producción de metano con respecto a estos sistemas a 35 °C, fue ligeramente superior para los dos procesos de secado/fermentación a 35 °C y fermentación en laguna anaeróbica a 35 °C (0.062 y 0.65 mg de CH<sub>4</sub>/g de materia seca, respectivamente, **cuadro IV**).

El sistema con menor variación en pH a lo largo del proceso total de secado fue el EDP, que muestra una variación máxima de pH de 0.26 (de 7.30 a 7.04) en un lapso de 13 días (variación de 0.02 unidades de pH por día). Este sistema generó 0.81 mg de metano por gramo de materia seca en un proceso de fermentación en laguna anaeróbica y 0.06 mg de CH<sub>4</sub> por g de materia seca en el proceso de secado/fermentación.

De acuerdo con la variación del pH en los diferentes sistemas (**Fig. 3**), se puede concluir que si el pH desciende rápidamente hasta valores cercanos a 6 unidades, la generación de metano es inhibida drásticamente. Por el contrario, si el pH inicial tiene valores superiores a 7 unidades su variación es lenta

**CUADRO IV.** EMISIONES DE METANO POR GRAMO DE MATERIA SECA Y VARIACIÓN DEL pH

| Sistemas           | Emisiones de CH <sub>4</sub> en laguna anaeróbica a 35 °C                 |                     |                        |             |             |
|--------------------|---|---------------------|------------------------|-------------|-------------|
|                    | CH <sub>4</sub> , mg <sup>a</sup>   | MS <sup>§</sup> , g | CH <sub>4</sub> / g MS | pH- Inicial | pH- Final   |
| ICaA <sup>‡</sup>  | 8.3 ± 26.07 %   | 25.94 ± 3.83 %      | 0.32 ± 6.8 %           | 7.24 ± 0.01 | 5.73 ± 0.01 |
| S-ILT <sup>‡</sup> | 11.0 ± 29.27 %  | 17.74 ± 5.72 %      | 0.62 ± 5.12 %          | 7.28 ± 0.01 | 5.37 ± 0.01 |
| ICaT <sup>‡</sup>  | 12.0 ± 29.24 %  | 26.67 ± 3.84 %      | 0.45 ± 7.62 %          | 6.66 ± 0.01 | 5.39 ± 0.01 |
| ILT <sup>‡</sup>   | 55.0 ± 28.16 %  | 14.47 ± 6.90 %      | 3.80 ± 4.08 %          | 7.86 ± 0.01 | 6.35 ± 0.01 |
| EDP <sup>‡</sup>   | 13.0 ± 52.44 %  | 16.05 ± 6.27 %      | 0.81 ± 8.37 %          | 7.25 ± 0.01 | 5.47 ± 0.01 |
| Sistemas           | Emisiones de CH <sub>4</sub> en el proceso de secado/fermentación a 35 °C |                     |                        |             |             |
|                    | CH <sub>4</sub> , mg <sup>b</sup>   | MS, g               | CH <sub>4</sub> / g MS | pH- Inicial | pH- mínimo  |
| ICaA <sup>‡</sup>  | 6.1 ± 2.29 %  | 103.39 ± 3.42 %     | 0.059 ± 0.67 %         | 7.24 ± 0.01 | 6.04 ± 0.01 |
| S-ILT <sup>‡</sup> | 3.8 ± 6.18 %  | 58.46 ± 1.87 %      | 0.065 ± 3.30 %         | 7.28 ± 0.01 | 6.26 ± 0.01 |
| ICaT <sup>‡</sup>  | 1.8 ± 33.58 %   | 64.29 ± 3.11 %      | 0.028 ± 10.81 %        | 6.66 ± 0.01 | 5.80 ± 0.01 |
| ILT <sup>‡</sup>   | 5.2 ± 21.82 %   | 57.78 ± 2.64 %      | 0.090 ± 8.26 %         | 7.86 ± 0.01 | 7.42 ± 0.01 |
| EDP <sup>‡</sup>   | 4.0 ± 22.60 %   | 63.49 ± 3.87 %      | 0.063 ± 5.84 %         | 7.30 ± 0.01 | 7.04 ± 0.01 |

<sup>a</sup> La masa de las muestras fermentadas a 35 °C en laguna anaeróbica simulada fue de 100 g.

<sup>b</sup> La masa de las muestras secadas y fermentadas a 35 °C fue de 400 g.

§ MS = Materia seca

‡ILT = Intensivo Lechero en clima Templado; EDP = Extensivo de Doble Propósito; ICaA = Intensivo para Carne en clima cálido; S-ILT = Semi-Intensivo Lechero en clima Templado; ICaT = Intensivo para carne en clima Templado

**CUADRO V.** VARIACIÓN MÁXIMA DEL pH EN LAGUNA ANAERÓBICA Y DURANTE EL PROCESO DE SECADO/FERMENTACIÓN A 35 °C

| Sistema <sup>‡</sup> | ICaA <sup>‡</sup> | S-ILT <sup>‡</sup> | ICaT <sup>‡</sup> | ILT <sup>‡</sup> | EDP <sup>‡</sup> |
|----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|------------------|------------------|
| Δ pH (LA)            | 1.53 ± 0.02       | 1.85 ± 0.02        | 1.25 ± 0.02       | 1.35 ± 0.02      | 1.70 ± 0.02      |
| Δ pH (S)             | 1.20 ± 0.02       | 1.02 ± 0.02        | 0.86 ± 0.02       | 0.44 ± 0.02      | 0.26 ± 0.02      |

S = Secado/fermentación a 35 °C; LA = Fermentación a 35 °C en laguna anaeróbica;  
<sup>‡</sup>ILT = Intensivo Lechero en clima Templado; EDP = Extensivo de Doble Propósito;  
 ICaA = Intensivo para Carne en clima cálido; S-ILT = Semi-Intensivo Lechero en clima templado;  
 ICaT = Intensivo para carne en clima templado

y no se alcanza un mínimo de 6 unidades, la generación de metano es máxima, sólo en función del tipo de alimentación.

El sistema ICaT es el que menor pH inicial y final tiene en los procesos de fermentación en laguna anaeróbica y de secado/fermentación a 35 °C (**cuadro IV**) y también corresponde al sistema con menores emisiones de metano por gramo de materia seca a esta temperatura. Así mismo, el sistema ILT es el que mayores valores de pH presenta al inicio y al final de los dos procesos y esto corresponde a las mayores emisiones de metano por gramo de materia seca.

En el **cuadro V** se muestran los cambios de pH que experimentaron los diferentes sistemas, tanto en el proceso de fermentación en laguna anaeróbica como en el proceso de secado a 35 °C. La generación de metano en un proceso de fermentación de biomasa es propiciada en un intervalo de pH entre 6.0 y 7.8 (Safley *et al.* 1992, Heinz 1993); en el presente trabajo se observa que el pH de las excretas de ganado del sistema ILT, fermentadas en laguna anaeróbica, se mantuvo dentro de este intervalo y generó la mayor cantidad de metano por gramo de materia seca.

### Relación entre el secado, el pH y las emisiones de metano

El proceso de secado pudo representarse mediante la ecuación:

$$M = 392.06 e^{-0.155 t} \quad (1)$$

donde M representa la masa de las excretas, en gramos, después de un tiempo t de secado, en días.

Este comportamiento exponencial negativo de la masa de las excretas como respuesta al secado (**Fig. 4**), se observa en todos los sistemas de producción considerados en este trabajo.

En el intervalo de secado comprendido entre el inicio del proceso y los valores mínimos de pH a los 9 días (**Fig. 3**), periodo en el que comúnmente ocurre la

mayor parte de las emisiones de metano, se observó en general un descenso exponencial del pH en el tiempo para los sistemas de producción, dados por:

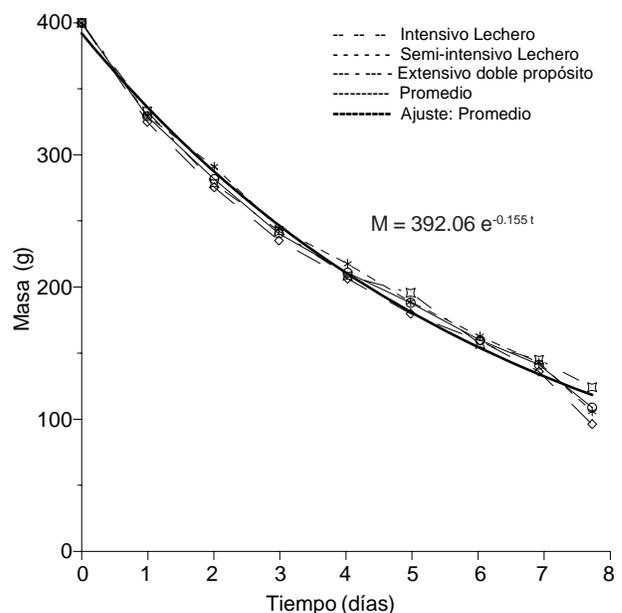
$$pH_{(ICaA, ICaT)} = 6.797 e^{-0.0175 t} \quad (2)$$

$$pH_{(S-ILT, EDP)} = 7.2997 e^{-0.007 t} \quad (3)$$

$$pH_{(ILT)} = 7.7423 e^{-0.0052 t} \quad (4)$$

En cada una de las ecuaciones anteriores se agrupan aquellos sistemas de producción de bovinos bajo la consideración de que son compatibles en cuanto al tipo de alimentación.

A partir de las tendencias que se obtuvieron al graficar el pH contra el tiempo (ecuaciones 2 a 4) resultaron ser muy semejantes, permitiendo

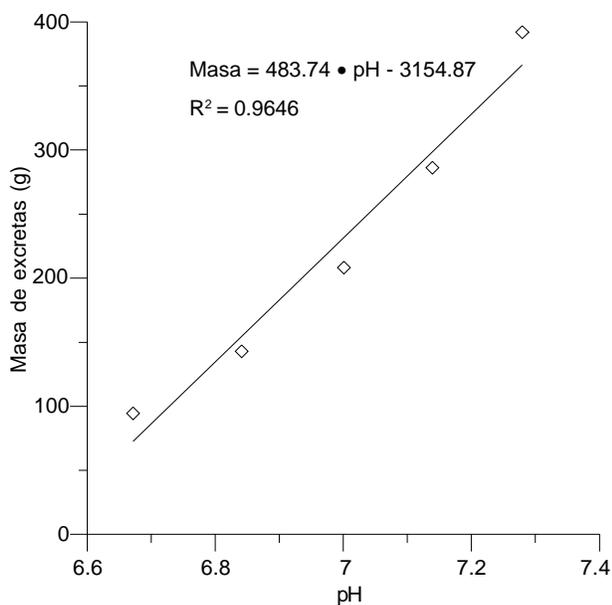


**Fig. 4.** Variación de la masa en g, de las excretas durante el proceso de secado en tres sistemas de producción. La incertidumbre por ser muy baja no se representa en la gráfica

graficar los valores de pH obtenidos de cualquiera de estas tres ecuaciones, a un tiempo dado, contra el valor de la masa del proceso de secado a ese mismo tiempo (ecuación 1).

De la gráfica del pH resultante de las tres ecuaciones contra la variación de la masa de excretas por efecto de la pérdida de humedad durante el proceso de secado (dada por la ecuación 1) se obtiene la relación que existe entre el contenido de humedad de las muestras y el pH de las mismas. La **figura 5** muestra que hay un coeficiente de determinación dado por  $R^2 = 0.9646$  indicando una dependencia alta del pH de la muestra con su contenido de agua.

El metano es producido por bacterias metanogénicas de géneros como *methanobacterium*, *methanobrevibacter*, *methanococcus*, *methanomicrobium*, *methanogenium*, *methanospirillum* y *methanosarcina*, entre otras (Galicia 1982), las cuales por ser acidófilas provocan, en la medida en que se reproducen, que las muestras de excretas incrementen su acidez, esto es, que el pH descienda hasta en tanto la humedad de las muestras sea suficiente para que la colonia de bacterias sobreviva, en cuyo caso el metano se incrementa significativamente. En caso contrario, es decir, cuando la humedad desciende demasiado, entonces la población de bacterias empieza a bajar hasta llegar a cero, coincidiendo este hecho con un ligero incremento del pH a partir de su valor mínimo, pero no con un aumento del metano debido al



**Fig. 5.** Relación entre el pH y el cambio en la masa de excretas por efecto del secado. La incertidumbre por ser muy baja no se representa en la gráfica

decremento continuo en el número de bacterias metanogénicas por el descenso de humedad en las muestras.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las emisiones de metano a partir de excretas de ganado bovino de los estados del centro del país y el Distrito Federal para la producción de leche, carne o de doble propósito, muestran una clara dependencia con la acidez de las muestras, tanto en lagunas anaeróbicas simuladas como en el proceso secado/fermentación.

La generación de metano en una laguna anaeróbica puede ser hasta 46 veces mayor a aquella de un proceso de secado/fermentación a la intemperie. Esto sin duda resulta interesante y factible cuando el objetivo sea optimizar la obtención de metano a partir de biomasa.

Se pudo observar que es la alimentación el factor que más influye en los cambios de pH y en las emisiones de biogás y de metano. Para excretas de determinados sistemas y climas, el cambio de pH máximo durante el proceso de secado a 20 °C, y el cambio máximo de esta misma variable durante el proceso de fermentación en laguna anaeróbica, son de la misma magnitud y la relación de pH y emisiones se conserva al variar las temperaturas de secado/fermentación o fermentación a 35 °C en laguna anaeróbica.

Dado el valor  $R^2 = 0.9646$  para datos de secado y pH, se estima que la disminución exponencial de la humedad y el pH de las muestras corresponde al comportamiento en general en cuanto al crecimiento o disminución de las emisiones de biogás y de metano.

Se recomienda realizar estudios sobre el incremento del pH en las lagunas anaeróbicas al final de la etapa de acetogénesis y medir el suplemento de metano que aún se pudiera obtener incrementando el pH por encima de 6 unidades.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (Proyecto MEX/95/G31/A/IG/99), al Instituto Nacional de Ecología, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y al Programa de Apoyo a Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por el apoyo económico a este proyecto. Agradecemos también al Dr. L. G. Ruiz-Suárez por sus comentarios durante la realización de los experimentos, al

Ing. A. Rodríguez y colaboradores por su ayuda en la construcción de los dispositivos experimentales, al Mtro. A. Díaz-Cruz y colaboradores por el análisis químico de las muestras y al Quím. J. M. Hernández-Solís por su apoyo en cromatografía de gases.

## REFERENCIAS

- Baird C. (2001). *Química ambiental*, University of Western Ontario, Reverté, Barcelona, 622 p.
- Galicia Rosas E.A. (1982). Estudio sobre la obtención de metano en digestores de estiércol de bovino. Tesis de Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo), UNAM, Facultad de Química, 85 p.
- González-Ávalos E. (1994). Inventario de emisiones de metano por actividades pecuarias. El caso de los desechos del ganado bovino y su relación con los climas actuales y futuros de México, Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias de la UNAM, México, 213 p.
- González E. y Ruiz L. (1995). *Agriculture*. En: *Preliminary National Inventory of Greenhouse Gas: Mexico* (C. Gay, L.G Ruiz-Suárez, M. Imaz, J. Martínez, Eds). Instituto Nacional de Ecología, Programa de las Naciones Unidas para el medio Ambiente, US Country Studies Program, México, pp. 36-55.
- González Ávalos E. (1999). Determinación experimental de los factores de emisión de metano por excretas de bovino en México, Tesis Doctoral, Universidad Nacional Autónoma de México. 151 p.
- González-Ávalos E. and Ruiz-Suárez L.G. (2001). Methane emission factors from cattlemannure in Mexico, *Biores. Technol.* 80, 63-71.
- Heinz Ulrich Neue (1993). Methane emission from rice fields. Wetland rice field may make a major contribution to global warming, *Bio Sci.* 43, 466-73.
- O'Neill P. (1994). *Environmental Chemistry*, Chapman y Hall, 2a. Ed. 230 p.
- Safley L.M. (1992). *Global methane emissions from livestock and poultry manure*. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 175 p.
- Sosa E. (1981). *Manual de procedimientos analíticos para alimentos de consumo animal*. Chapingo, Méx., Universidad Autónoma Chapingo.
- Tejeda I. (1992). *Control de calidad y análisis de alimentos para animales*. Sistemas para Educación Continua en Producción Animal, México, 397 p.
- Winfield A. (1995). *Environmental Chemistry*, Cambridge University Press, 76 p.
- Wuebbles D.J. and Edmonds J. (1991). *Primer on greenhouse gases*, Lewis, Chelsea, Michigan, 230 p.