

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA CON AGUA KEFIRADA COMO PRETRATAMIENTO DE HECES CANINAS PARA COMPOSTAJE EN PACAS

Evaluation of the effect of anaerobic digestion with kephrated water as a pretreatment of canine feces for composting in bales.

Laura Montoya¹, Felipe Peña¹, Sebastián González¹, Julián Mesa¹, Dallany Urrego².

¹Aprendiz Tecnoacademia Medellín. Semillero SEMITEC. Centro para el Desarrollo de Hábitat y la Construcción-SENA. ²Facilitador Tecnoacademia Medellín. Línea de Biotecnología. Centro para el Desarrollo de Hábitat y la Construcción-SENA.

Resumen

Las heces caninas hacen parte de los factores más comunes de contaminación actuales; una alternativa viable para reducir el riesgo de estos residuos es utilizarlos como material orgánico para el diseño de pacas biodigestoras, aun así, esta técnica de compostaje no puede estar expuestas a una carga patógena muy amplia. Por esto, el presente artículo pretende evaluar el efecto de la digestión anaerobia con agua kefirada como pretratamiento de heces caninas para compostaje en pacas biodigestoras. Para ello, se hicieron diferentes montajes con concentraciones comprendidas entre 40% y 80% p/v de heces caninas y agua kefirada, a los cuales se les hicieron análisis por 30 días de pH, temperatura y producción cualitativa de gas, además se formularon las medidas y condiciones para diseñar las pacas biodigestoras. Transcurridos 20 días, se ha evidenciado las fases en la digestión anaerobia en todos los montajes, al igual que una disminución de la carga microbiana patógena (especialmente E. coli y coliformes), siendo más significativo el tratamiento A2.

Palabras clave: Heces caninas, agua kefirada, pacas biodigestoras.

Summary

Dog feces are part of the most common current contamination factors; A viable alternative to reduce the risk of these residues is to use them as organic material for the design of biodigester bales, even so, this composting technique cannot be exposed to a very wide pathogen load. For this reason, this article aims to evaluate the effect of anaerobic digestion with kefirized water as a pretreatment of canine feces for composting in biodigester bales. For this, different assemblies were made with concentrations between 40% and 80% w / v of canine feces and kefirized water, which were analyzed for 30 days of pH, temperature and qualitative gas production, in addition the measures and conditions to design biodigester bales. After 20 days, anaerobic digestion phases have been evidenced in all assemblies, as well as a decrease in the pathogenic microbial load (especially E. coli and coliforms), with treatment A2 being more significant.

Key words: Dog feces, kefir water, biodigester bales.

La descomposición de las excretas animales por medio de las condiciones ambientales o por algún tipo de compostaje tradicional, contribuyen a la contaminación atmosférica. Se sabe que estos desechos emiten cantidades considerables de gases invernadero, tales como: dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) y óxido nitroso (N_2O), que contribuyen de manera importante al cambio climático y afectan la salud tanto de personas como de otros animales [1] Según la revista La Patria [2], el excremento de los perros es un residuo peligroso, puesto que contiene diferentes patógenos que pueden causar enfermedades, pero también se clasifica como un residuo orgánico por provenir de un animal y estar compuesto de materia viva; [2] según esto, una alternativa para reducir la problemática de la disposición final de estos desechos es tratarlos por distintas técnicas de compostaje. Entre las técnicas de compostaje utilizadas, según Bertoldi et al., se encuentran: pilas con volteo, pilas estáticas, reactores verticales y reactores horizontales, siendo la técnica de pilas con volteo o pilas estáticas las técnicas más utilizadas. Aun así, las técnicas anteriores presentan diversas desventajas, entre ellas, afecciones a la salud de los operarios derivadas por los gases generados y microorganismos patógenos presentes durante el proceso. Por otra parte, las pacas biodigestoras, una técnica reciente de compostaje, disminuye significativamente la liberación de gases contaminantes generados durante el proceso y que evita exponer a las personas a altas temperaturas en comparación con otras técnicas [3], que incluso requieren la mezcla y volteado periódico de los residuos para enfriamiento. Sin embargo, se han encontrado muy pocos datos acerca del compostaje de heces caninas en pacas y que, además, según los reportes de diferentes autores [3,4] al compostar las heces caninas en pacas biodigestoras, hay un alto riesgo de que el proceso no sea efectivo, ya que, por la alta carga microbiana de las heces, se puede pudrir el compost.

Como se mencionó anteriormente, por la concentración de los organismos patógenos presentes en las heces caninas, se puede ver afectado el proceso de compostaje y por tal razón se propone realizar un pretratamiento a las heces caninas a fin de inhibir la proliferación descontrolada de estos microorganismos en el proceso del compostaje por

pacas. Para ello, se someterá las heces caninas al proceso de la digestión anaerobia a fin de empezar a descomponer parte de la materia orgánica presente y que por la acción del agua kefirada, obtenida a partir de unos nódulos probióticos denominados tibicos, [5,11] se inoculan bacterias ácido lácticas y levaduras que son microorganismos requeridos en el proceso de digestión anaerobia. [6,7]. Además, de que el agua kefirada será la responsable de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos por la presencia de ácidos orgánicos. Por tal razón, con este estudio se pretende evaluar el efecto de la digestión anaerobia con agua kefirada como pretratamiento de heces caninas para compostaje en pacas biodigestoras.

Materiales y métodos

Recolección de las heces

Se recolectó aproximadamente 600 g de heces caninas domésticas y 600 g de heces caninas callejeras, registrando la fecha y zona de recolección, además del tamaño del perro. Para la recolección de las heces caninas se contactaron a distintas personas que tuvieran perros como mascota, dándoles a conocer los objetivos del proyecto. A cada una de ellas se les pidió que recolectan las heces de dos días y que luego de ello nos informaran para proceder con la recolección de las heces, seguido a esto, se le hizo una serie de preguntas a los dueños de los perros con el fin de tener una breve descripción del perro. Entre esas preguntas estuvieron las siguientes: edad, tamaño, tipo de alimentación, número de deposiciones diarias, enfermedades, tratamientos suministrados en los últimos días, alimentos poco usuales, estado de las heces. Las características anteriores se consignaron en una tabla a modo de resumen y finalmente, las heces fueron llevadas a la sede de Tecnoacademia Medellín.

Obtención del agua kefirada

Para obtener el agua kefirada, se tomaron 30 g de gránulos de kéfir adquiridos en la tienda virtual *Kéfir Medellín*. La primera fermentación se preparó según las indicaciones del proveedor: 30g de kéfir en un litro de agua desionizada y 20 g de panela; se tapó el frasco con una tela y se sujetó con un caucho para dejarlo fermentar durante 4 días. Para la fermentación posterior se aumentaron las cantidades

iniciales (preparando 1 litro de agua desionizada, 50 g de panela y 70 g de gránulos de kéfir), se tapó el recipiente durante 4 días nuevamente, para el proceso fermentativo; a esta segunda fermentación, se le retiran los gránulos y se recupera el agua kefirada para almacenarla a temperatura ambiente en frascos de vidrio y a partir de esta se hace un registro de condiciones iniciales, tomando el pH, temperatura y tomando una alícuota para conteo de viabilidad celular.

Montaje experimental y control de la digestión anaerobia

Se emplearon 17 recipientes de aproximadamente 420 mL, los cuales se dispusieron para preparar 4 series de 3 frascos cada una, (ver Tabla 1), cuatro para los controles (240 mL de agua desionizada + 80 g de estiércol para controles positivos y 240 mL de agua desionizada para controles negativos) y otro que contenía 240 mL de agua de grifo y 80 g de heces caninas.

Luego de realizar todos los montajes se dejaron reposar por una hora las dos primeras series para homogeneizar y que las condiciones tomadas fueran representativas en la muestra; pasado ese tiempo se tomó la primera medida de pH a cada uno de los contenedores y se registró en una tabla de control. El montaje tuvo una duración de 30 días, en este tiempo se realizaron controles periódicos cada 3 días, en los cuales se validó las mediciones de las variables de interés para comprobar la digestión anaerobia, que son: pH y temperatura en las primeras series, y producción de gases en las dos series finales (*Imagen 1*).



Imagen 1. Montaje completo para la evaluación de patrones fisicoquímicos y producción de biogás.

● ● ● Tabla 1. Condiciones para cada serie en el tratamiento.

Serie		Agua kefirada	Heces caninas
A	A1	240 mL	80 g
	A2	180 mL	80 g
	A3	120 mL	80 g
B	B1	240 mL	80 g
	B2	240 mL	60 g
	B3	240 mL	40 g
A (PG)*	Aa	240 mL	80 g
	Ab	180 mL	80 g
	Ac	120 mL	80 g
B (PG)*	Ba	240 mL	80 g
	Bb	240 mL	60 g
	Bc	240 mL	40 g

*Series específicas para evaluar la producción de gas (PG) cualitativamente.

Verificación de la disminución de agentes patógenos

Se realizaron siembras en agar chromocult, agar CASO, agar sabouraud con cloranfenicol, con métodos de siembra por extensión y con hisopo; de igual modo, se prepararon aislamientos en agar chromocult y sabouraud con la técnica de siembra por agotamiento. La identificación de los microorganismos y su morfología se llevó a cabo haciendo montajes para microscopía, haciendo uso de tinciones simples y diferenciales para conocer aspectos más específicos de los cultivos que se sembraron.

Diseño y montaje experimental de pacas biodigestoras

Finalizado el pretratamiento a las heces, se pasó a realizar el montaje de las pacas biodigestoras. El montaje se realizó en las instalaciones de Tecnoacademia Medellín, ubicando las pacas en uno de los pasillos externos del laboratorio de biotecnología. Para el montaje se tomaron residuos orgánicos domiciliarios, material seco y/o de poda y las heces tratadas junto con el agua kefirada. Se armó un cubo de 20 x 20 x 20 cm con madera, el cual

serviría como molde para las pacas. Se cubrió todo alrededor del molde con material seco, haciendo una especie de cuna; seguido a esto, se agregaron los residuos orgánicos domiciliarios y las heces caninas en todo el centro de la paca y finalmente se cubrieron estos con más material seco. En total se montaron 9 pacas, correspondientes a cada uno de los pretratamientos realizados y se les enumeró en orden a cada una de ellas. Finalmente, se hizo seguimiento a los parámetros definidos.

Mediciones fisicoquímicas y microbiológicas de las pacas

Se medirán los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos periódicamente entre el mes de agosto y el mes de diciembre del año 2021, como lo indica la tabla 2 haciendo uso de los métodos mencionados en esta misma.

● ● ● Tabla 2. Mediciones fisicoquímicas y microbiológicas de las pacas de compostaje.

Mediciones	Agosto				Septiembre				Octubre				Método
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Temperatura				X		X		X		X		X	Termómetro
pH				X		X		X		X		X	Medición con pHmetro
Humedad				X		X		X		X		X	Medición en balanza de humedad x
Hongos					X							X	Recuento en placa agar PDA y Sabouraud
Coliformes					X							X	Recuento en placa Agar MacConkey
Volumen				X									Medición con flexómetro
Peso				X									Medición en balanza x

Mediciones	Noviembre				Diciembre				Método
	1	2	3	4	1	2	3	4	
Temperatura		X	X	X		X	X		Termómetro
pH				X		X	X		Medición con pHmetro
Humedad				X		X	X		Medición en balanza de humedad x
Hongos							X		Recuento en placa agar PDA y Sabouraud
Coliformes							X		Recuento en placa Agar MacConkey
Volumen							X		Medición con flexómetro
Peso							X		Medición en balanza x

Caracterización del compost obtenido

Como resultado final se espera obtener un compost a partir de residuos orgánicos domiciliarios, heces caninas pretratadas y material orgánico seco. Por ello, se evaluarán los parámetros establecidos por la NTC 5167 para enmienda orgánica, buscando así, que el compost producido pueda utilizarse como un abono totalmente orgánico.

Resultados y discusión

Recolección de las heces caninas

Entre los días 12 y 22 de julio del 2021 se realizó la recolección de heces caninas en el corregimiento de San Antonio de Prado. Se tomaron muestras sólidas: 500 g de deposiciones de perros callejeros que frecuentan el parque principal y la vereda Potreritos; y, 1 kg de heces de mascotas de vecinos cercanos. A estos últimos, se les pidió hacer un reporte de las características de cada perro, las cuales se muestran en la Tabla 3. Para el proceso de preservar los excrementos y el transporte, se emplearon neveras de poliestireno expandido (icopor) y bolsas herméticas para diferenciar las muestras según el can. En las instalaciones de Tecnoacademia se procedió a mezclar las heces de perro doméstico y callejeros en recipientes diferentes para introducir en los frascos.



Imagen 2. Clasificación de las heces recolectadas.

Tabla 3. Caracterización de las heces domésticas recolectadas

#	Edad del perro	Tipo de alimentación	Número de deposiciones diarias	Enfermedades y/o padecimientos	Tratamientos suministrados en los últimos días	Alimentos poco usuales
1	3 años y 6 meses	Pedigree, cabanos, galletas caninas, alimento húmedo, agua.	1	Hernia estomacal	Desparasitación oral y vacuna antirrábica	Helado canino, oblea
2	2 años y 2 meses	Concentrado, cabanos, galletas caninas, zanahorias, mango, manzana, kiwi, alimento húmedo, agua.	5 a 6	Ninguna	Valeriana, gotas reconfort	Salchicha, helado, pasas, (robo de comida de sal), caldo de pollo.
3	1 año y 7 meses	Concentrado, carnes crudas, cabanos, verduras variadas, pollo sofreído, agua.	3 a 4	Ninguna	Ninguno	Cucarachas que caza

Estos datos permitieron diferenciar las heces, especialmente las domésticas, para conocer su alimentación, edades, enfermedades, parásitos, enzimas bacterianas y otros microorganismos característicos de su microbiota que se encontrarán al realizar siembras. Además, de especies y grupos comunes en las heces callejeras como ooquistes de *Cystoisospora canis*, huevos de helmintos en cualquier de sus estados de evolución (tomeros, mórula y larvados). Ya que la presencia de alguno de estos agentes parasitarios, como lo es *Toxocara canis*, son parte de la principal fuente de infecciones humanas [1].

Montaje experimental y control de la digestión anaerobia

Las variables consideradas en el tratamiento son las que permite reconocer la fase en la que va el proceso para darse la digestión anaerobia; éste debe mantenerse en unas condiciones de equilibrio de pH

en entre la basicidad (7.5–8.5) en sus primeras fases y, posteriormente mantenerse a 5.5-6.5 y temperatura mayor a 30 °C, siendo 35 °C la temperatura óptima de la digestión anaerobia hasta finalizar el proceso [10]. Como se puede ver en la Tabla 4 las condiciones de pH de las series A y B oscilan en un pH de 5 a 6, esto debido a que el agua kefirada se comprende por un pH ácido, por ende, como se puede ver para la muestra de agua de grifo y el control positivo que aún están en medidas de basicidad, el tratamiento no ha llegado a las etapas finales (acidogénesis y metanogénesis) [8] como para tener las condiciones que se reportan en la bibliografía. Es importante mantener el pH dentro de los rangos mencionados, y que este no varíe de forma extrema en el sistema, ya que las bacterias características en cada fase no realizan sus procesos metabólicos de forma correcta [9], provocando que la digestión anaerobia no tenga los productos esperados.

● ● ● Tabla 4. Medidas de pH en el pretratamiento hasta la fecha.

	Fechas	Serie A			Serie B			Muestra con agua de grifo	Control positivo	Control negativo
		A1	A2	A3	B1	B2	B3			
Julio	Viernes 23	4,3	4,8	4,9	4,5	3,9	4	6,4	8,1	7,1
	Lunes 26	4,6	4,6	5,1	4,6	4,7	4,2	6,1	7,1	7,9
	Miércoles 28	4,6	4,7	5,1	4,6	4,5	4,2	6,1	7,3	7,8
	Viernes 30	4,7	4,8	5	4,7	4,6	4,4	5,6	6,9	7,6
Agosto	Lunes 02	4,8	4,9	5,1	4,7	4,6	4,3	6,5	7,1	7,7
	Miércoles 04	4,8	5,1	5,3	4,7	4,5	4,4	6,3	6,9	7,7
	Viernes 06	5	5,2	6,5	6	6	5,8	7,6	8,3	7,6
	Lunes 09	4,7	5,2	5,9	5,2	5,2	5,4	7	8,3	9
	Miércoles 11	5,8	5,9	7,2	5,8	6	5,8	7,8	8,4	8,9

● ● ● Tabla 5. Medidas de temperatura (°C) en el pretratamiento hasta la fecha.

		Serie A			Serie B					
	Fechas	A1	A2	A3	B1	B2	B3	Muestra con agua de grifo	Control positivo	Control negativo
Julio	Viernes 23	22 °C	22 °C	22 °C	22 °C	22 °C	22 °C	22 °C	22 °C	22 °C
	Lunes 26	23 °C	23 °C	23 °C	22 °C	22 °C	23 °C	22 °C	22 °C	22 °C
	Miércoles 28	24 °C	24 °C	23 °C	23 °C	23 °C	23 °C	23 °C	23 °C	23 °C
	Viernes 30	23 °C	23 °C	23 °C	23 °C	23 °C	23 °C	23 °C	23 °C	23 °C
Agosto	Lunes 02	24 °C	24 °C	24 °C	24 °C	24 °C	24 °C	23 °C	24 °C	23 °C
	Miércoles 04	22 °C	22 °C	22 °C	22 °C	21 °C	21 °C	22 °C	22 °C	21 °C
	Viernes 06	21 °C	21 °C	21 °C	20 °C	20 °C	21 °C	20 °C	20 °C	21 °C
	Lunes 09	25 °C	27 °C	27 °C	27 °C	27 °C	27 °C	25 °C	25 °C	23 °C
	Miércoles 11	25 °C	25 °C	25 °C	25 °C	25 °C	25 °C	25 °C	25 °C	25 °C

Verificación de la disminución de agentes patógenos

Con el fin de realizarle un seguimiento a la carga microbiana presente en los montajes, se realizaron siembras con asa de vidrio y posteriormente se hicieron recuentos. De lo anterior, se obtiene la siguiente tabla.

Al comparar los distintos montajes de la serie A y B, con los controles positivos y negativos en la tabla 6, Se puede evidenciar una notable disminución de las unidades formadoras de colonia (UFC), ya que ambos controles presentan una cantidad considerable de UFC (entre 43 UFC y 90 UFC), mientras que los tratamientos de ambas series, disminuyen considerablemente, encontrando entre 0 y 20 UFC. Se puede observar, además, que en el montaje A1, donde se tiene mayor cantidad de agua kefirada entre los montajes de la serie A, es donde ocurre una mayor disminución de las UFC, considerando que esto se debe a la fermentación de la fuente de carbono por gránulos de kéfir, lo que produce ácidos orgánicos, los cuales, según Vivit et al. actúan mediante la inhibición enzimática causada por la molécula no disociada. De igual forma, por los metabolitos producidos por las bacterias ácido lácticas presentes en el kéfir y su capacidad para controlar microorganismos patógenos y alterantes [10], es que se le puede atribuir al agua kefirada, la propiedad antimicrobiana, que ha disminuido progresivamente los coliformes y *E. coli*.

● ● ● Tabla 6 Cuantificación de células viables en los montajes experimentales en Agar chromocult dilución 10-3.

Montaje	Siembras (UFC)		
	23/07	27/07	02/08
A1	12	8	5
A2	18	10	7
A3	21	20	10
B1	15	7	7
B2	13	3	11
B3	7	0	4
Control positivo	83	89	81
Control negativo	43	90	63

Conclusiones

Según los resultados obtenidos hasta el momento, podría decirse que el tratamiento con agua kefirada para disminuir la concentración patógena (coliformes y *E. coli*) de los residuos caninos, es efectivo, más aún cuando se mezcla una cantidad baja de heces en un volumen alto de agua kefirada, como se describe en la Tabla 6 para el tratamiento A1 y B3, en donde se puede evidenciar una reducción en UFC de patógenos con respecto al control positivo. De igual forma, el proceso no ha finalizado, ya que faltan varias etapas formuladas en la metodología, donde se pueden emplear pruebas más estrictas que confirmen la viabilidad del diseño experimental aquí planteado y permitir la construcción de pacas digestoras sostenibles que contribuyan a la mitigación de la problemática de las heces caninas tanto a nivel ambiental como de la salud.

Referencias

[1] Martínez, I. (2008). Contaminación parasitaria en heces de perros, recolectadas en calles de la ciudad de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. <http://www.scielo.org.mx/pdf/vetmex/v39n2/v39n2a6.pdf>

[2] La Patria. (2011). Excremento de perros, grave peligro para niños y adultos. <https://impresa.lapatria.bo/noticia/69945/excremento-de-perros-grave-peligro-para-ninos-y-adultos>

[3] Ardila, J, Cano, J., Silva, G., López, Y. (2015). Descomposición de residuos orgánicos en pacas: aspectos fisicoquímicos, biológicos, ambientales y sanitarios. *Producción + Limpia*, 10(2), 38–52. <http://repository.lasallista.edu.co:8080/ojs/index.php/pl/article/view/896/619>

[4] Digestión anaerobia. (2010). Agencia de Residuos de Cataluña. http://www.arc.cat/ca/publicacions/pdf/agencia/bioresidus2010/situacio_cat0210_esp.pdf

[5] Lucero, A. Noriega, J. Rodríguez, J. Tejada, A. (2017). Avances en el estudio de la bioactividad

multifuncional del kéfir. *Redalyc*. <https://www.redalyc.org/pdf/339/33951621003.pdf>

[6] Abarza, F. (2014). Efecto de las heces caninas sobre la producción de biogás. Universidad de Chile. https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/172781/Efecto_de_las_heces_caninas_.pdf?sequence=1&isAllowed=y

[7] Lorenzo, Y. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120659006.pdf>

[8] Bernal, J., Orozco, J., (2019). Comparación del estiércol bufalino y bovino como potenciales inóculos en el proceso de digestión anaerobia. Universidad Pontificia Bolivariana. <https://repository.upb.edu.co/bitstream/handle/20.500.11912/8441/39175.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

[9] Diaz, M., Espitia, S., Molina, F. (2002). Digestión anaerobia. Una aproximación a la tecnología. Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Biotecnología. Bogotá, Colombia. p (46-66).

[10] Ortega, A. Vivit, A. M. D. D. i (2019). Ácidos orgánicos y sus derivados: Actúan mediante la inhibición enzimática causada por la molécula Vol. 15 no.7.

[11] Vásquez, S., Suárez, M., Zapata, B. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182009000100007