

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL METANOGENICO DE EFLUENTES PORCINOS EN CO-DIGESTIÓN CON GLICEROL

V. de la Paz Bernasconi Torres¹, N.I. Riera¹, J. Schapiro², G. Morici², D. Crespo¹ y M. E. Beily

¹Laboratorio de Transformación de los Residuos (LTR), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

²Área de Parasitología, Instituto de Patobiología (IPVet). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). C.C. 25 B1712WAA Castelar, Bs. As.-Argentina. Tel: 4481-2525/4769/9582 e-mail: beily.maria@inta.gob.ar

Recibido: 05-08-19; Aceptado:04-11-19; Publicado en Línea:09-12-19.

RESUMEN.- El uso de la co-digestión en tratamientos anaeróbicos de efluentes porcinos (EP) ha demostrado ser una táctica ideal que permite aumentar la producción de metano. El objetivo del presente estudio fue evaluar el potencial bioquímico de metano (PBM) de un EP en co-digestión con distintas dosis de glicerol (G). Los tratamientos seleccionados fueron: EP solo (ES); EP con 1% de G (E1G), EP con 3% de G (E3G) y EP con 6% de G (E6G). Los resultados mostraron una remoción para DQO soluble (demanda química de oxígeno) de 87%, 93%, 94% y 94% para ES, E1G, E3G y E6G, respectivamente. Con respecto al contenido de patógenos, las muestras iniciales evidenciaron presencia de coliformes fecales, *E. coli* y NGI (huevos de nemátodos gastrointestinales). Luego del proceso anaeróbico la presencia de patógenos fue negativa en todos los tratamientos. La producción de metano acumulado fue de 524, 484, 619 y 655 mL para ES, E1G, E3G y E6G, respectivamente. La prueba PMB demostró que la digestión anaeróbica es una opción viable para reducir la carga orgánica y patogénica y que la co-digestión del efluente porcino con glicerol resulta ser beneficiosa ya que contribuye a la generación de mayor volumen de metano.

Palabras claves: co-sustrato, biogás, metano, digestión anaeróbica, patógenos

EVALUATION OF THE METANOGENIC POTENTIAL OF SWINE SLURRIES IN CODIGESTION WITH GLICEROL

ABSTRACT.- The use of co-digestion has been shown to increase methane production in anaerobic treatments of pig slurries (PS). The aim of this study was to evaluate the biochemical potential of methane (BMP) of a PS in co-digestion with different doses of glycerol (G). The treatments selected were: PS only (PS); PS with 1% G (S1G), PS with 3% G (S3G) and PS with 6% G (S6G). The results obtained for soluble COD removal were of 87%, 93%, 94% and 94% for PS, S1G, S3G and S6G, respectively. Regarding the pathogen content, the initial samples showed the presence of fecal coliforms, *E. coli* and Helminth eggs. However, *Salmonella* spp. was absent. After the anaerobic process, the presence of pathogens was negative in all treatments. The accumulated methane production was 524, 484, 619 and 655 mL for PS, S1G, S3G and S6G, respectively. The BMP test showed that mesophilic anaerobic digestion is a viable option to reduce the organic and pathogenic load, while co-digestion of pig effluent with glycerol is beneficial, by generating greater volume of methane.

Keywords: co-substrate, biogas, methane, anaerobic digestion, pathogenic

1. INTRODUCCIÓN

Desde el comienzo de la Revolución Industrial la demanda energética mundial ha crecido de manera continua. Tal es así que, durante el pasado siglo XX, el consumo mundial de energía se multiplicó diez veces como consecuencia del desarrollo y mecanización del sector industrial, las mejoras de la calidad de vida y el crecimiento de la población mundial. La generación eléctrica que utiliza combustibles convencionales derivados de materiales fósiles presenta varios puntos desfavorables. Entre ellos se encuentran los costos crecientes del abastecimiento de petróleo y la contaminación ambiental generada. Todos estos puntos, generan la necesidad de desarrollar proyectos que trabajen y

utilicen energías renovables para la generación de energía eléctrica y calorímetra (Moncayo Romero, 2013). Las posibles fuentes energéticas alternativas con las que se puede trabajar, y que tomarán cada vez más relevancia a escala global, proceden de fuentes duraderas como biomasa, el viento, el agua y el sol. Entre estas posibilidades para la generación de energía se encuentra el biogás, el cual se produce independientemente de las condiciones atmosféricas, mediante la digestión anaeróbica de productos orgánicos.

La digestión anaeróbica consiste en la degradación de la materia orgánica por acción de microorganismos en ausencia de oxígeno. El proceso consta de 4 etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Los

microorganismos intervinientes en cada parte del proceso tienen propiedades distintas. Esto hace que cualquier cambio brusco en el sistema pueda generar variaciones en la producción de gases y hasta una detención del proceso. La fase metanogénica es la etapa más sensible, principalmente por la baja tasa reproductiva de las bacterias de interés (Kandrachof, 2008). Los productos con los que se cuenta luego de un proceso de digestión anaeróbica son: biogás y una sustancia líquida denominada digerido.

El primer paso para definir la posibilidad de emplear un sustrato específico en el proceso de digestión anaeróbica es mediante la identificación de su biodegradabilidad. Para ello, se realizan pruebas a escala de laboratorio entre las que se destaca el ensayo de potencial bioquímico de metano (PBM). Este ensayo es ampliamente empleado a nivel mundial por su simplicidad, relativa rapidez y bajo costo (Owen et al., 1979). La co-digestión se define como el tratamiento anaeróbico de una mezcla de al menos dos tipos de residuos diferentes con los objetivos de mejorar la eficiencia del proceso, al aprovechar la sinergia de la mezcla y compensar las carencias que podrían llegar a tener cada uno de los sustratos por separado. Mata-Álvarez et al. (2000 y 2011) plantean en sus trabajos que la co-digestión anaeróbica es, en la actualidad, el tema más relevante dentro de la investigación de la digestión anaeróbica y el tratamiento de efluentes, como lo demuestran la gran cantidad de informes publicados en los últimos años.

Por otro lado, se analiza la producción porcina porque la misma está en pleno crecimiento, tanto a nivel local como global. Así lo reconoció el Ministerio de Agroindustria de la nación, quien aseguró que la producción marcó un nuevo récord en el 2017, tras haberse faenado más de 6 millones de cabezas. Sin embargo, dentro de este importante crecimiento del sector, no hay que dejar de tener presente los impactos sobre los recursos renovables que genera, cuando no son gestionados de manera adecuada. Es por ello que desde hace unos años han comenzado a cobrar gran relevancia la gestión y manejo de las excretas en las producciones intensificadas.

De igual manera, en las últimas décadas el glicerol o glicerina ha cobrado una gran importancia ya que aparece como un subproducto de la producción del biodiesel. Este producto es un residuo alcohólico que tiene por nombre químico 1,2, 3 propanotriol con tres grupos-OH. El mismo se logra a partir de aceites vegetales, los triglicéridos presentes se rompen en ácidos grasos libres y en la molécula de glicerol. Seguidamente, los ácidos grasos reaccionan con el metanol para formar biodiesel. Así, el glicerol aparece como un desecho. Se estima que, por cada 100 kg de biodiesel producido, se generan aproximadamente 10 kg de glicerol (Santibáñez et al., 2011). Según datos del 2017 de la Bolsa de Comercio de Rosario, la industria de biodiesel en Argentina cuenta con 37 fábricas, con una capacidad de producción anual conjunta cercana a 4.400.000 toneladas/año, lo que da un aproximado de 440.000 toneladas de glicerol crudo anuales. El glicerol es una sustancia fácilmente digerible, de alta disponibilidad, bajo costo y también puede ser fácilmente almacenado durante un largo período de tiempo. Estas ventajas hacen de la glicerina un co-sustrato ideal para el proceso de digestión anaeróbica (Indiveri et al., 2011).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el potencial bioquímico de metano de un efluente porcino con diferentes porcentajes de glicerol como co-sustrato.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Selección y caracterización del efluente y del inóculo.

El efluente utilizado en el ensayo PBM fue extraído de una granja de 200 madres en confinamiento de ciclo completo en el oeste de la provincia de Buenos Aires. El establecimiento cuenta con galpones tipo *slats* piso enrejillado, en donde el efluente se acumula en una fosa con agua debajo de los pisos donde caminan los cerdos. El agua de las fosas mismo se extrae cada 3 meses y es conducida a una laguna de estabilización para luego ser volcada en el campo.

La toma de muestras se realizó en la granja. El efluente crudo se guardó en bidones de 10 litros y se conservó a 4°C hasta su utilización en el ensayo de biodegradación. De estos bidones se realizó una mezcla compuesta y se separaron 5 litros, asegurando la homogeneidad de la muestra, para realizar la caracterización inicial del efluente. Se midieron por métodos de referencia: pH, conductividad eléctrica (CE), sólidos totales (ST) y volátiles (SV), sólidos suspendidos totales (SST) y volátiles (SSV), nitrógeno total Kjeldahl (NTK), nitrógeno amoniacal (NH₄), demanda química de oxígeno total y soluble (DQO), acidez/alcalinidad (AGV y Alc.), fósforo total (PT), sales y elementos potencialmente tóxicos. Además, se evaluó la presencia de organismos patógenos: coliformes totales y fecales, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. (APHA 1992) y la presencia de huevos de nemátodos gastrointestinales (NGI), por el método propuesto por Roberts & O'Sullivan, (1950).

El inóculo utilizado fue de tipo granular, proveniente de un reactor UASB de una empresa que trata residuos de la industria del maíz. El mismo presentó una actividad metanogénica específica (AME) de 0,17 g DQO/g SSV*día.

2.2. Potencial bioquímico de metano (PBM).

El ensayo fue desarrollado en reactores tipo batch, los cuales consistieron en botellas de vidrio Schott-Duran modelo GL45 de cuello roscado de 600 ml.

Se seleccionaron 4 tratamientos: efluente solo (ES), efluente adicionado con 1% glicerol (E1G), efluente adicionado con 3% glicerol (E3G) y efluente adicionado con 6% glicerol (E6G). Como control se trabajó con un blanco con el agregado solo de inóculo y medio nutritivo, sin efluente. El diseño experimental consistió en un diseño completamente aleatorizado (DCA), con 3 repeticiones por cada tratamiento. Posteriormente, al armado de cada tratamiento, se midió el pH, asegurando un valor neutro mediante adición de una solución alcalina hasta llegar a un valor $7,0 \pm 0,3$. Luego se procedió a sellar los reactores y a realizar una purga con una corriente de gas N₂, para desplazar el oxígeno presente en los reactores y verificar la ausencia de pérdidas de gas, asegurando un ambiente anaeróbico. De cada reactor se separó una muestra inicial, para realizar la caracterización completa inicial de cada tratamiento.

El seguimiento del ensayo consistió en la cuantificación diaria de la producción de biogás mediante método manométrico, con transductor de presión y el análisis de su calidad, mediante cromatografía gaseosa con un equipo Hewlett Packard 6890 GC System. Los valores fueron expresados en CNPT (T° = 273°K, P = 1 atm). La duración del ensayo se prolongó hasta el cese de producción de biogás. Los reactores se mantuvieron en estufa de cultivo a 35°C ± 1°C y se los agitó mediante un agitador orbital 2 veces por

día, durante 20 minutos, con el fin de lograr una mezcla homogénea dentro de cada reactor.

2.3. Análisis estadístico.

El ensayo PBM fue analizado estadísticamente con el programa Prisma 5. Para comparar los resultados físico-químicos finales entre los tratamientos se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguido por el test de Tukey. Para analizar diferencias entre inicio y final de un mismo tratamiento, se empleó el análisis de varianza (ANOVA) de dos vías seguido por el Test de Tukey, con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Caracterización inicial del efluente porcino.

El pH del efluente porcino presentó un valor neutral ($6,87 \pm 0,05$), mientras que la CE fue elevada siendo de $16,71 \pm 0,17$ mS/cm. Esta situación se encuentra en concordancia con las concentraciones de Na ($1006,20 \pm 34,72$ mg/L) y K ($536,40 \pm 5,37$ mg/L) que se hallaron en el presente estudio. Con respecto al contenido de materia orgánica, pudo observarse, a través de los parámetros DQO total ($25,96 \pm 0,57$ g/L), DQO soluble ($15,49 \pm 0,67$ g/L), DBO ($11,85 \pm 0,06$ g/L) y SV ($61,26 \pm 1,35\%$), que el efluente presentó altas concentraciones de este compuesto. De igual manera, sucedió con los nutrientes como el NTK ($2,81 \pm 0,24$ g/L) y el PT ($0,18 \pm 0,01$ g/L). Por otro lado, al analizar la alcalinidad total (6852 ± 236 mg/L), pudo verificarse que el efluente contó con una buena capacidad buffer, al reflejar concentraciones elevadas de este parámetro. Con respecto a los AGV se obtuvo una alta concentración de este parámetro, siendo de $4866,03 \pm 262,03$ mg/L. Esta situación puede explicarse debido a que el efluente, al estar en la fosa almacenado por un periodo prolongado de tiempo en condiciones anaeróbicas,

pudo haber presentado un inicio del proceso degradativo, en donde el material orgánico es consumido por las bacterias acidogénicas, liberando estos compuestos. Es necesario tener en cuenta este parámetro a la hora de vuelco del efluente, ya que puede causar efectos negativos en el suelo.

Los resultados obtenidos para coliformes totales, coliformes fecales, *E. Coli* fueron positivos y con valores promedio de 1600 NMP/mL. Sin embargo, la presencia de *Salmonella* spp. fue negativa.

Por otro lado, se evidenció la presencia de nemátodos gastrointestinales.

3.2. Potencial bioquímico de metano (PBM).

Cantidad y calidad de biogás.

Los tratamientos con agregado de glicerol que generaron más volumen de biogás, al compararlo con el ES, fueron los de las dosis más altas (E3G y E6G). En este sentido, el mayor valor acumulado lo encontró el del 6%, logrando un aumento de casi el 50% frente al ES ($p < 0,05$), mientras que el E3G aumentó un 36% respecto al ES ($p < 0,05$). El E1G no presentó diferencias significativas con el ES.

Como se observa en la Figura 1, la producción de biogás se inició de inmediato desde el día 1 en todos los reactores hasta el día 10, aproximadamente. Los menores valores de volumen de biogás fueron obtenidos con el tratamiento ES, mientras que los mayores con el E3G. Luego del día 10, el E6G superó al resto de los tratamientos y el ES superó los mL generados frente al E1G. Esta situación podría explicarse debido a que el ES no posea un carbono fácilmente degradable como el de los tratamientos con glicerol. En este sentido, se puede inferir que el sustrato rápidamente disponible se agotó en el E1G aproximadamente a los 10 días de iniciado el proceso.

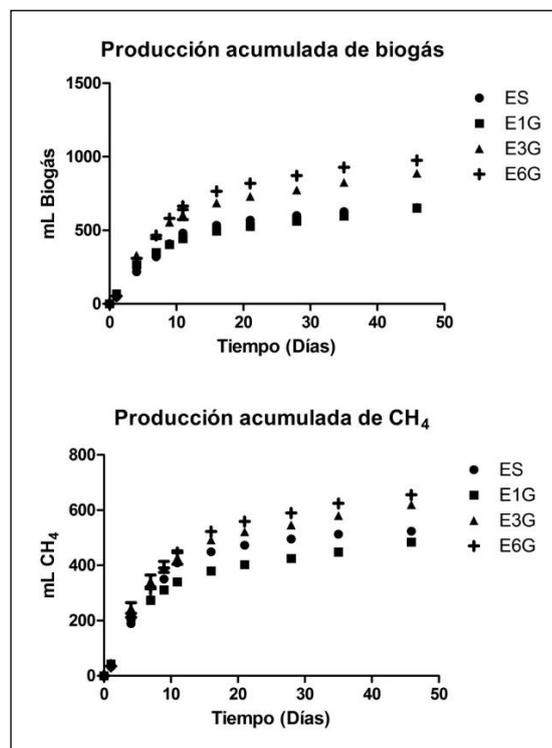


Fig. 1: Curva de producción de biogás y metano durante el ensayo BMP para los distintos tratamientos. Efluente solo (ES), Efluente + 1% glicerol (E1G), Efluente + 3% glicerol (E3G) y Efluente + 6% glicerol (E6G).

En términos de producción acumulada de metano, los tratamientos ES y E1G son los que alcanzaron menores valores (Figura 1). Por otro lado, los tratamientos E3G y E6G presentaron valores similares entre ellos, siendo los primeros días del ensayo mayor la cantidad de metano generado para el E3G y luego este fue superado por el E6G. El análisis estadístico mostró que todos los tratamientos presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ellos para el volumen de metano final alcanzado.

La cinética de producción de biogás y metano acumulado fue coincidente a los trabajos sobre ensayos BMP obtenidos en trabajos previos de bibliografía, en donde la curva crece rápidamente los primeros días para luego estabilizarse (Owen et al., 1979; Espósito et al., 2012; Prabhudessai et al., 2013; Beily et al., 2019).

La mayor actividad hallada en E3G y E6G, puede explicarse debido al aumento en la cantidad de materia orgánica fácilmente degradable que aportó el glicerol y, por ende, una mejor relación Carbono/Nitrógeno (C/N) del sustrato que favorece el desarrollo y actividad de los microorganismos. Los valores óptimos para tratamientos anaeróbicos se encuentran dentro del rango de 20 a 70 de relación C/N (Mata-Alvarez et al., 2011). En este sentido, la relación C/N calculada como DQO total/NTK, fue de 7 para el caso del ES y aumentó a 17, 21 y 32 para E1G, E3G y E6G, respectivamente. En el manual de biogás de la provincia de Buenos Aires, se describe que la relación óptima de C/N es de 30/1. Cuando la relación es muy estrecha (10/1) hay pérdidas de nitrógeno asimilable, lo cual reduce la calidad del material digerido y, si la relación es muy amplia (40/1) se inhibe el crecimiento de las bacterias que llevan a cabo el proceso degradativo debido a falta de nitrógeno. Además de una menor relación C/N, se estima que las bacterias en los reactores ES tuvieron que hidrolizar grandes cantidades de materia orgánica en partículas para obtener alimento, lo que supone un gasto alto de energía, mientras que las bacterias con las distintas dosis no tuvieron necesidad de hacerlo, ya que tenían suficiente sustrato disponible facilitado por la adición de glicerol (Astals et al., 2013). Lo mismo exponen Murto et al. (2004), quienes plantean que al tener el estiércol de cerdo altas cantidades de amoníaco, estos son preferiblemente co-digeridos con desechos que tienen un alto contenido de carbono para mejorar la relación C/N. Por lo cual, es importante considerar los tipos de residuos utilizados en una co-digestión, en donde se puede lograr una mejor manipulación y digestibilidad mezclando desechos sólidos con desechos diluidos.

En este sentido, en el presente trabajo de investigación, se logró aumentar en un 50% la cantidad de biogás producido al utilizar la dosis de 6% de glicerol, siendo la que mejor respuesta obtuvo. Sin embargo, este incremento se encuentra por debajo de lo citado en la bibliografía, en donde frente al agregado de glicerol en dosis semejantes se lograron respuestas del 100% e incluso mayores (Astals et al., 2013; Wohlgemut et al., 2011; González et al., 2018). También se establece en la bibliografía que los mejores resultados se encuentran dentro del rango de 3 - 6% de glicerol, siendo concordante con los resultados obtenidos (Amon et al., 2006). Con respecto a la calidad de biogás, medido como % de metano como índice de pureza, el tratamiento que tuvo mejor rendimiento fue el ES. A medida que la dosis de glicerol aumentó, el valor % CH_4 disminuyó encontrándose valores promedios de 82%, 75%, 71% y 68% para ES, E1G, E3G y E6G, respectivamente. Esta misma situación fue reportada por Amon et al. (2006) en su ensayo, aunque es de destacar

que los valores hallados en la presente investigación fueron mayores a los reportados, tanto en ese estudio, como en otros (Murto et al., 2004). Un estudio realizado por Qatibi et al. (1991) reveló que la degradación anaeróbica del glicerol conduce a la formación de 1,3-propanodiol antes de la formación de propionato y acetato. En ese estudio, el propionato se acumuló a niveles más altos que el acetato y se degradó más lentamente. Esto es importante porque se ha demostrado que los aumentos de acetato en un digestor anaeróbico aumentan la actividad metabólica y la producción de metano, mientras que la degradación del propionato es la más lenta. Viana et al. (2012) también plantearon que, durante la digestión anaeróbica de glicerol, algunos ácidos orgánicos (acético, propiónico, butírico, valérico y otros), formados por las bacterias acidogénicas fermentativas, no pueden ser consumidos por las acetogénicas y las metanogénicas a la misma velocidad a la que se producen.

Por último, se calculó el índice de biodegradabilidad (IB) y el rendimiento de metano (LCH_4/g DQO agregada). Los valores de IB hallados en el presente trabajo fueron de 72,3%; 66,8%; 85,5% y 90,4% para ES, E1G, E3G y E6G, respectivamente. En lo que respecta al rendimiento los valores encontrados fueron de 0,25; 0,23; 0,30 y 0,31 LCH_4/g DQO_{agregada}.

Si bien el tratamiento ES fue el que presentó mejor calidad de biogás, en términos de porcentaje de metano, al medir el IB, el mismo tomó valores menores frente a ciertas dosis de glicerol. Sin embargo, es de notar que el E1G contó con un valor menor frente al ES. De esta forma, se logró un mayor IB en los tratamientos con las dosis de 3% y 6%. Lo mismo ocurre con los valores de rendimientos hallados. Estos resultados están en concordancia con el volumen generado de biogás y metano (Figura 1) en cada tratamiento estudiado. Se halló que el valor IB aumentó en un 27% y 34% para E3G y E6G, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas para el tratamiento de 1% con ES. Así mismo, al evaluar el rendimiento de metano ($LCH_4 / gDQO_{agregada}$) se encontró un patrón similar al IB.

La biodegradabilidad de efluentes porcinos ha sido estudiada y se han propuesto formas de incrementarla mediante pretratamientos: mecánico (separación de fases), químico (agente floculante y adición de ácido o base) y térmico (González Fernández et al., 2008). En este sentido, la co-digestión con glicerol demuestra ser otra forma viable de lograrlo, sobre todo en dosis medias-altas, como las usadas en este trabajo (3% y 6%).

3.3. Evolución de los parámetros físico químicos.

En la Tabla 1 se muestra la evolución de los parámetros físico químicos en los tratamientos evaluados.

Los valores de pH obtenidos al finalizar el experimento no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$). Todos los tratamientos mostraron valores estables y se encontraron dentro del rango óptimo para el desarrollo de las bacterias anaeróbicas que van de 6,5 a 8 (Don Jun et al., 2009). El aumento del pH durante el proceso es explicado por Cendales Ladino (2011), quien plantea que el valor del pH depende de la resistencia que presentan los sistemas buffer (HCO_3/CO_3 y NH_4/NH_3), así como el contenido de AGV. Cuando el contenido de estos ácidos disminuye, producto de la formación de metano, se observa un leve incremento del pH como consecuencia de la acción de los sistemas amortiguadores.

Tabla 1. Evolución de los parámetros físico químicos evaluados en el PBM. Efluente solo (ES), Efluente + 1% glicerol (E1G), Efluente + 3% glicerol (E3G) y Efluente + 6% glicerol (E6G).

	ES inicio	E1G inicio	E3G inicio	E6G inicio	ES final	E1G final	E3G final	E6G final
pH	7,1 ± 0,00	7,1 ± 0,06	7,0 ± 0,12	7,0 ± 0,06	7,2 ± 0,07	6,9 ± 0,00	6,8 ± 0,00	7,1 ± 0,35
CE (mS/cm)	5,13 ± 0,04	3,58 ± 0,04	3,03 ± 0,03	2,7 ± 0,06	6,03 ± 0,10	4,68 ± 0,33	4,18 ± 0,12	3,72 ± 0,12
DQO Soluble (g/L)	1,54 ± 0,17	2,02 ± 0,09	3,65 ± 0,18	4,22 ± 0,03	0,20 ± 0,01	0,13 ± 0,04	0,22 ± 0,05	0,24 ± 0,07
AGV mg/L)	1069,0 ± 28,8	429,6 ± 25,1	346,6 ± 63,8	256,1 ± 38,5	94,0 ± 4,2	72,2 ± 5,0	74,6 ± 3,8	64,8 ± 8,3
AGV/AT	0,56	0,39	0,40	0,35	0,05	0,05	0,06	0,07
NTK (g/L)	1,61 ± 0,30	1,22 ± 0,18	1,09 ± 0,13	0,80 ± 0,08	1,09 ± 0,12	0,71 ± 0,07	1,03 ± 0,06	0,77 ± 0,06
NH ₄ (g/L)	0,51 ± 0,01	0,30 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,00 ± 0,00	0,41 ± 0,05	0,27 ± 0,05	0,29 ± 0,03	0,21 ± 0,02
PT (g/L)	150,3 ± 41,3	228,4 ± 86,8	238,1 ± 37,4	341,6 ± 65,0	100,6 ± 3,01	96,1 ± 9,7	101,6 ± 6,0	104,9 ± 4,1

Por otro lado, al analizar los AGV, todos los tratamientos disminuyeron notablemente su concentración al finalizar el ensayo. Los altos porcentajes de remoción de AGV hallados en el presente estudio se encuentran en concordancia con el funcionamiento correcto del proceso anaeróbico, en donde estos ácidos se encuentran presentes en la fase acidificación y acetogénesis. La materia orgánica presente en el sustrato inicial se transforma primero en AGV, para luego ser gradualmente degradados, mediante el consumo de las bacterias metanogénicas que los utilizan como eslabón para la formación de metano (Cendales Ladino, 2011). Los porcentajes de remoción total de los AGV son similares a los hallados previamente por el mismo grupo de investigación del INTA (Beily, 2015).

Con los datos de AGV y de alcalinidad, se calculó el indicador de estabilidad AGV/AT (Tabla 1). Este varió dentro del rango de 0,05 – 0,6 en todos los tratamientos. Este indicador utilizado para determinar la estabilidad del proceso se mantuvo dentro del rango 0,05 – 0,6, en todos los tratamientos. Este valor indica condiciones estables del proceso anaeróbico, sin riesgo de acidificación (Cecchi et al., 2005).

Con respecto a la CE, pudo observarse que el ES fue el que mayor valor presentó, diferenciándose estadísticamente con E1G, E3G y E6G ($p < 0,05$). A su vez, el E1G presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) con E3G y E6G, mientras que los tratamientos con mayores dosis de glicerol (E3G y E6G), no mostraron diferencias significativas entre ellos. Al finalizar el ensayo, en todos los casos, se obtuvo un aumento de este parámetro. Este mismo comportamiento fue observado por diversos autores (Don Jun et al., 2009; Beily et al., 2010; Bres et al., 2010), quienes demostraron que el aumento de la alcalinidad durante el proceso anaeróbico provoca una elevación del valor de CE. Así, el aumento aproximado de CE en este trabajo fue proporcional al aumento de AT al finalizar el ensayo (30%).

En la Tabla 1, se muestran los resultados de la DQO soluble medidos al inicio y al final del PBM, pudiéndose observar una disminución a lo largo del ensayo, logrando una mayor remoción de la materia orgánica en el caso de los tratamientos con glicerol, al compararse con el ES. La DQO total, también evidenció una remoción al final del ensayo para todos los tratamientos, presentando menores porcentajes de remoción

que para DQO soluble (ES un 57,5%, E1G 82,6%, E3G 71,6% y E6G 71,3%). Sin embargo, los tratamientos con glicerol siempre alcanzaron porcentajes mayores. Todas las dosis de glicerol mostraron resultados adecuados a la bibliografía de manera general, con valores que rondan el 94% de remoción orgánica, además los tratamientos con agregado de glicerol removieron más carga orgánica que ES, que tuvo un valor de 56% para DQO total. De todas formas, estudios realizados por Osorio et al. (2007) demostraron que en sistemas similares se pueden alcanzar remociones de DQO total del 96%, lo cual indica la alta eficiencia de los tratamientos anaeróbicos en general, tanto en producción de metano como en remoción de carga orgánica. Kolesárová et al. (2011), mencionan la opción de realizar el tratamiento bajo condiciones termófilas, si bien éstas hacen que el sistema sea más inestable, sobre todo para las bacterias metanogénicas que son altamente sensibles.

Con respecto a los compuestos nitrogenados, la Tabla 1 muestra los valores de NTK obtenidos al inicio y al final del ensayo. Los resultados obtenidos al finalizar el ensayo mostraron que las mayores concentraciones se dieron en los tratamientos ES y E3G, no presentando diferencias significativas entre ellos. A su vez, ES presentó diferencia con E1G y E6G ($p < 0,05$). Durante la digestión anaeróbica se produce la mineralización del nitrógeno orgánico mediante la hidrólisis enzimática de las proteínas. Como puede observarse en la Tabla 1, el mayor valor de NH₄ se presentó en el ES, mostrando diferencias significativas con E1G, E3G y E6G ($p < 0,05$).

En lo que respecta al fósforo, el mismo disminuyó su concentración al finalizar el ensayo, posiblemente por el consumo como sustrato para el desarrollo y crecimiento microbiano (Tabla 1). Los resultados obtenidos al final del ensayo no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.

3.4. Remoción de patógenos.

La determinación de patógenos mostró que todas las muestras iniciales presentaron valores altos de NMP/mL para *E. Coli*, coliformes fecales y totales (Tabla 2). Luego del proceso anaeróbico, la presencia de bacterias patógenas disminuyó mostrando una alta remoción en todos los tratamientos evaluados.

Tabla 1. Resultados microbiológicos al inicio y al final del ensayo BMP. Efluente solo (ES), Efluente + 1% glicerol (E1G), Efluente + 3% glicerol (E3G) y Efluente + 6% glicerol (E6G).

	Coliformes totales (NMP/mL)	Coliformes fecales (NMP/mL)	<i>E. Coli</i> (NMP/mL)	<i>Salmonella</i> spp. (Presencia)
ES inicial	540	540	430	Negativo
ES final	<1,8	<1,8	<1,8	Negativo
E1G inicial	540	540	350	Negativo
E1G final	<1,8	<1,8	<1,8	Negativo
E3G inicial	350	350	280	Negativo
E3G final	<1,8	<1,8	<1,8	Negativo
E6G Inicial	350	350	280	Negativo
E6G final	<1,8	<1,8	<1,8	Negativo

En cuanto a *Salmonella* spp., tanto en las mezclas iniciales como en las finales, las pruebas evidenciaron presencia negativa. En referencia a los huevos de nemátodos gastrointestinales, todas las mezclas iniciales fueron positivas para la presencia de huevos. Luego del proceso de digestión no se encontraron en ninguno de los tratamientos, esto contribuiría a disminuir la contaminación biológica y posterior infectividad de los potreros.

La remoción de la carga microbiana hallada en el presente estudio se encuentra en concordancia con otros estudios realizados sobre la reducción en el recuento de patógenos bacterianos luego de un proceso de digestión anaeróbica (Olsen et al., 1987; Kearney et al., 1993; Beily et al., 2019). En estos estudios se relacionan a los AGV y al amonio presente en los procesos anaeróbicos, como los principales inhibidores de las bacterias patógenas (Henry et al., 1983). De todas maneras, el adecuado saneamiento del digerido depende de la calidad de los sustratos alimentados en el reactor y de su rendimiento, tanto como de la temperatura de digestión, el tiempo de retención, el pH y la concentración de amonio, entre otros (Ottoson et al., 2008).

En este sentido, la digestión anaeróbica mesofílica como tratamiento para reducir la cantidad de microorganismos patógenos fue eficiente. La cantidad de microorganismos hallados en todos los digeridos finales fue menor a la inicial, condición importante si se piensa en que estos pueden ser luego volcados en el campo como abono orgánico. Lo mismo sucedió con la cantidad de huevos de nemátodos gastrointestinales, la cual fue alta en la mezcla inicial y nula en todos los tratamientos, luego de la digestión. Olsen y Nansen (1987) estudiaron la viabilidad de nemátodos después de digestión anaeróbica mesófila y encontraron que los huevos pierden viabilidad rápidamente a 35°C y que al segundo día de tratamiento ya no logran desarrollarse.

CONCLUSIONES

Los resultados evidenciaron que todos los tratamientos presentaron diferencias significativas en la producción de biogás y metano acumulados, siendo los tratamientos con agregado de glicerol los que mejor respuesta presentaron, demostrando que la co-digestión con glicerol, mejora el rendimiento de metano a la presencia de materia orgánica fácilmente degradable. Por otro lado, se concluyó que el proceso anaeróbico logró reducir la carga de patógenos, tanto para microorganismos como para parásitos.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Laboratorio Alaralab por los análisis cromatográficos realizados, durante el transcurso de esta investigación. Al Proyecto INTA PNNAT 1128042 y al Laboratorio de Transformación de los Residuos por el financiamiento recibido y al Proyecto INTA-AUDES-CONADEV- Sustentabilidad de la producción porcina en la pequeña y mediana escala. Cama profunda y empleo de efluentes líquidos para la generación de energía y biofertilizantes.

REFERENCIAS

- Amon, T., B. Amon, V. Kryvoruchko, V. Bodiroza, E. Potsch, and W. Zollitsch. (2006). Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure: Effects of dairy systems and of glycerine supplementation. *Intl. Congress Series* 1293: 217-220.
- APHA; AWWA; WPCF. (1992). Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales. 17th Ed. Diaz de Santos. Madrid, España. 1816 p.
- Astals, S., Nolla-Ardèvol, V., Mata-Alvarez, J. (2013). Thermophilic co-digestion of pig manure and crude glycerol: Process performance and digestate stability. *Journal of Biotechnology*, **166**(3), 97–104.
- Beily M.E., Bres P., Rizzo P., Giampaoli O. & Crespo D. (2010). Monitoreo de reactor anaeróbico semi-continuo para el tratamiento de residuos de cereales. Parte I. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente* **14**, 37-42
- Beily, M.E. 2015. Caracterización de efluentes de cerdos, con énfasis en su biodegradabilidad anaeróbica. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico Buenos Aires (ITBA).
- Beily, M.E., Morici, G., Crespo, D., Schapiro, J. (2019). Biochemical methane potential of sheep manure: Focus in pathogen removal. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*, **12** (1), 24-31.
- Bres P., Beily M.E., Rizzo P., Giampaoli O. y Crespo D. (2010). Monitoreo de reactor anaeróbico semi-continuo para el tratamiento de residuos de cereales. Parte II. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente* **14**, 29-34.
- Cecchi, F., Battistoni, P.; Paolo Pavan, P., Bolzonella, D., Innocenti, L. (2005). Digestione anaeróbica della frazione organica dei rifiuti solidi. Aspetti fondamentali, progettuali, gestionali, di impatto ambientale ed integrazione con la depurazione delle acque reflue. Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici (APAT). 178 p.

- Cendales Ladino, E. (2011). Producción de biogás mediante la codigestión anaeróbica de la mezcla de residuos cítricos y estiércol bovino para su utilización como fuente de energía renovable. Tesis de Máster. Universidad Nacional de Colombia.
- Don, J., Zhao, Y., Hong, M., Zhang, W. (2009). Influence of alkalinity on the stabilization of municipal solid waste in anaerobic simulated bioreactor. *Journal of hazardous materials*, **163**(2-3): 717-722.
- Espósito G, Frunzo L, Liotta F, Panico A, Pirozzi F. (2012). Bio-methane potential tests to measure the biogas production from the digestion and co-digestion of complex organic substrates. *Open Environ Engine J*. **5**:1-8.
- González Fernández, C., León Cofreces, C., García Encina, P. (2008). Different pretreatments for increasing the anaerobic biodegradability in swine manure. *Bioresource Technology*, **99**(18), 8710-8714.
- González, R., Smith, R., Blanco, D., Fierro, J., & Gómez, X. (2018). Application of thermal analysis for evaluating the effect of glycerine addition on the digestion of swine manure. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. DOI: 10.1007 / s10973-018-7464-8.
- Henry, D.P., Frost, A.J., Samuel, J.L., O'Boyle, D.A., Thomson, R.H. (1983). Factors affecting the survival of Salmonella and Escherichia coli in anaerobically fermented pig waste. *Journal of Applied Bacteriology* **55**, 89-95.
- Indiveri, M.E, Pérez, P., Van Stralen, N., Oliva A., Núñez McLeod, y Llamas S. (2011). Utilización de glicerina residual de producción de biodiesel como co-substrato para la producción de biogás Cuarto Congreso Nacional – Tercer Congreso Iberoamericano Hidrógeno y Fuentes Sustentables de Energía – HYFUSEN 2011.
- Kandrachoff, M. (2008). *Obtención de biogás desde la codigestión de cama de caballo con distintos residuos agroindustriales* (tesis de grado). Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires.
- Kearney, T.E., Larkin, M.J., Levett, P.N. (1993). The effect of slurry storage and anaerobic digestion on survival of pathogenic bacteria. *Journal of Applied Bacteriology* **74**, 89-93.
- Kolesárová, N., Hutňan, M., Bodík, I., & Špalková, V. (2011). Utilization of Biodiesel By-Products for Biogas Production. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 1-15.
- Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Macé, S., Astals, S. (2011). Codigestion of solid wastes: a review of its uses and perspectives including modelling. *Critical Reviews in Biotechnology* **31**(2), 99-111.
- Mata-Alvarez, J., Macé, S., Llabrés, P. (2000). Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology* **74** (1), 3-16.
- Moncayo Romero, G. (2013). Dimensionamiento y diseño de biodigestores y plantas de biogas. Ed Acualimpia Engineering e.K. 1: 36-37.
- Murto, M., Björnsson, L., Mattiasson, B. (2004). Impact of food industrial waste on anaerobic co-digestion of sewage sludge and pig manure. *Journal of Environmental Management*, **70**(2), 101-107.
- Olsen, J. E., Nansen, P. (1987). Inactivation of Some Parasites by Anaerobic Digestion of Cattle Slurry. *Biological Wastes* **22**, 107-114.
- Olsen, J.E., Larsen, H.E. (1987). Bacterial decimation times in anaerobic digestion of animal slurries. *Biological Wastes* **21**, 153-168.
- Osorio, J. A.; Ciro, H. J. & González, H. (2007). Evaluación de un sistema de biodigestión en serie para clima frío. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*. **60** (2):4145-4162,
- Ottoson, J.R., Schnürer, A., Vinnerås, B. (2008). In situ ammonia production as a sanitation agent during anaerobic digestion at mesophilic temperature. *Lett. Appl. Microbiol.* **46**, 325-330.
- Owen, W., Stuckey, D., Healy, J., Young, L., McCarty, P. (1979). Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Water Research*, **13**(6), 485-492.
- Prabhudessai, V., Ganguly, A., Mutnuri, S. (2013). Biochemical Methane Potential of Agro Wastes. *Journal of Energy*, 1-7. DOI: 10.1155/2013/350731.
- Qatibi, A., Bories A., Garcia, J. (1991). Sulfate reduction and anaerobic glycerol degradation by a mixed microbial culture. *Current Microbiol.* **22**(1): 47-52.
- Roberts, F., O'Sullivan, P. (1950). Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. J. Agric. Reser* **1**, 99-102.
- Santibáñez, C., Varnero, M., Bustamante, M. (2011). Residual Glycerol from Biodiesel Manufacturing, Waste or Potential Source of Bioenergy: A Review. *Chilean Journal of Agricultural Research*, **71**(3), 469-475.
- Viana, M. B., Freitas, A. V., Leitão, R. C., Pinto, G. A. S., Santaella, S. T. (2012). Anaerobic digestion of crude glycerol: a review. *Environmental Technology Reviews*, **1**(1), 81-92
- Wohlgemut, O., Cicek, N., Oleszkiewicz, J., Sparling, R. (2011). Co-Digestion of Hog Manure with Glycerol to Boost Biogas and Methane Production. *Transactions of the ASABE*, **54**(2), 723-727.