

INFLUENCIA DEL INÓCULO EN LA DIGESTION ANAEROBICA DE PURÍN DE CERDO

V. Córdoba, M. Fernández y E. Santalla

Laboratorio de Bioenergía – Facultad de Ingeniería (FIO) –
Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Bs. As. (UNCPBA)
Av. Del Valle 5737, B7400JWI Olavarría, Buenos Aires.
TE 02284 451055 int. 282, e-mail: vcordoba@fio.unicen.edu.ar

Recibido 12/08/14, aceptado 26/09/14

RESUMEN.- Se evaluó la producción de metano a partir de efluentes de cerdos (purín) utilizando tres inóculos: rumen (I1), purín estabilizado (I2) y lodos de plantas depuradoras (I3). Se aplicó un diseño experimental con cuatro tratamientos por duplicado y análisis de varianza para evaluar la significancia de los tratamientos. Los resultados indicaron que I2 e I3 lograron los mayores porcentajes de remoción de materia orgánica (cerca al 50% en términos de SV y de DQO) en relación al testigo y la mayor productividad de metano alcanzando 0.25 L CH₄/g SV. El uso de rumen no produjo diferencias significativas con respecto a la producción de metano y la remoción de materia orgánica no superó el 15%. La producción de AGV resultó más rápida que su consumo lo que estaría indicando que para este tipo de sustratos complejos, la etapa metanogénica estaría actuando como controlante de la velocidad global de producción de metano.

Palabras claves: digestión anaeróbica, purines de cerdo, inóculos, metano.

THE EFFECT OF INOCULUM ON ANAEROBIC DIGESTION OF SWINE WASTEWATER

ABSTRACT.- Methane production from swine slurry was evaluated by using three inoculums: rumen (I1), stabilized swine slurry (I2) and sludge sewage (I3). Experimental design with four treatments by duplicate and ANOVA were applied to evaluate the significance of treatments. Results indicated that I2 and I3 achieved the highest percentage of organic matter removal (close to 50% in terms of VS and COD) in relation to control test and the higher methane production reaching 0.25 L CH₄/g VS. The use of rumen did not produce significant differences in methane production and organic matter removal did not overmatch 15%. The evolution of VFA and alkalinity explained the observed two stages kinetics for methane production showing that for a complex mixture of substances partially solubilized as swine slurry, the methanogenic phase could be the rate-limiting-step of the global methane production rate.

Keywords: anaerobic digestion, swine wastewater, inoculums, methane

1. INTRODUCCION

Entre los mayores retos del hombre se encuentran dar solución a los problemas de contaminación causada por los residuos de las explotaciones agrícolas e industriales y también satisfacer las demandas crecientes de energía de la población a partir de fuentes de energía renovables (Budiyo et al., 2009). El proceso de digestión anaeróbica (DA) intenta resolver el tema de los residuos y los efluentes industriales con alta carga de materia orgánica, aportando la posibilidad de disponer de una fuente de energía renovable basada en el aprovechamiento del metano generado (Triolo et al., 2013) y un producto estable para la aplicación en la tierra sin efectos adversos para el medio ambiente (Budiyo et al., 2009). Sin embargo, la estimación de la

energía neta a producir en este proceso es una tarea compleja en vista de la cantidad de factores que afectan la producción de metano (Mateescu y Constantinescu, 2011).

La degradación anaeróbica de la materia orgánica es llevada a cabo por un conjunto de microorganismos en una serie de etapas en orden secuencial resultando en una acción sinérgica (Ahring et al., 1995). La primera etapa corresponde a la hidrólisis durante la cual se produce la solubilización de la materia orgánica compleja que no puede ser directamente utilizada por los microorganismos. El resultado es la producción de compuestos orgánicos más simples como ácidos grasos, alcoholes y azúcares. La segunda etapa corresponde a la acidogénesis durante la cual se convierten los ácidos volátiles y alcoholes a sustratos más

simples como ácido acético e hidrógeno que pueden ser utilizados por las bacterias formadoras de metano. La tercera y última etapa del proceso es la metanogénesis que corresponde a la producción de metano y dióxido de carbono (Shuler, y Kargi, 1992; Gerardi, 2003).

En la última etapa de la DA las bacterias más importantes son las acidogénicas y las metanogénicas; mientras que las primeras son de rápido crecimiento y poco sensibles a los cambios ambientales, las metanogénicas son de lento crecimiento (pudiendo variar este tiempo desde unos pocos días hasta algunas semanas dependiendo de las condiciones ambientales) y se inhiben a valores de pH ácidos (Gerardi, 2003; Mateescu y Constantinescu, 2011). De esto se desprende que tanto la producción como el consumo de AGV debe estar balanceado para evitar sobrecargas del sistema y baja degradación de los residuos. Cualquier perturbación en el sistema puede causar cambios en el tipo de especie predominante y en su número de población relativa, lo cual se reflejará en la performance del reactor (Mateescu y Constantinescu, 2011).

El conocimiento sobre la cinética del proceso de DA permite optimizar el sistema, alcanzar un régimen de funcionamiento más estable y lograr un mejor control del proceso (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). La descripción cinética de la digestión anaeróbica de la materia orgánica compleja es llevada a cabo generalmente a través de la identificación de la etapa controlante del proceso, la cual depende del tipo de residuo que se digiere (soluble, partículas, etc). En aguas residuales con alto contenido en material particulado, la etapa hidrolítica suele ser considerada como la etapa controlante de la velocidad (Seghezzi, 2004) aunque otros autores como Pavlostathis y Gossett (1988), Pavlostathis y Giraldo-Gómez (1991) han encontrado que las etapas acidogénica y metanogénica son limitantes del proceso. Por su parte, Veeken y Hamelers (1999) han determinado que la acumulación de AGV como productos intermedios es un indicio de que la velocidad de la etapa hidrolítica es mayor a la de la etapa metanogénica.

Dentro de los residuos ganaderos, los purines de cerdo pueden ser una buena base para la digestión y co-digestión anaeróbica porque generalmente presentan un contenido de agua más alto que la mayoría de los residuos industriales, así como una mayor capacidad tampón. Son sustancias complejas que contienen materia orgánica disuelta y sin disolver tales como polisacáridos, lípidos, proteínas y ácidos grasos volátiles además de una amplia variedad de nutrientes que favorecen el crecimiento de los microorganismos anaerobios (Angelidaki et al., 1993; Campos Pozuelo, 2001). Estudios previos (Córdoba et al., 2013) demostraron que la DA de purines de cerdo fresco en ausencia de un inóculo no permite alcanzar un régimen de producción estable de metano. La inclusión de un inóculo es un factor crucial en la operación del reactor. La calidad y cantidad del mismo son factores importantes que definen la duración del período de arranque y desempeño del digestor, ya que es ahí donde la biomasa activa crece y adquiere las propiedades necesarias para la remoción de la materia orgánica, pudiendo reducir el tiempo de digestión. Este tiempo será corto si el inóculo posee células jóvenes y activas. Diversos autores han evaluado la concentración de inóculo en la muestra y han coincidido en que valores entre 5 y 10% en volumen aseguran un proceso eficiente. (Shuler y Kargi, 1992; Obaja

et al., 2003; Olvera, 2007). González-Fernández y García-Encina (2005) mostraron que cuando se utiliza purín de cerdo como sustrato y lodo de depuradora como inóculo, hay una relación óptima sustrato/inóculo en términos de DQO/SV que favorece una velocidad de degradación de los AGV más rápida evitando la acumulación y retardo de la producción de metano.

Los sustratos más ampliamente utilizados como inóculos para la DA por su concentración en bacterias metanogénicas han sido los purines de cerdo, el rumen y los lodos de depuradora (Budiyono et al., 2009; Mateescu y Constantinescu, 2011). Los purines de cerdo previamente digeridos anaeróbicamente han sido utilizados como inóculos en DA de sustratos tales como residuos sólidos urbanos (Forster-Carneiro et al., 2007) y estiércol de gallina (Kougias et al., 2013). Sin embargo, no se ha encontrado información sobre su utilización como inóculo sobre el mismo sustrato fresco. Budiyono et al (2009) utilizó el rumen como inóculo para promover la producción de biogás en los estiércoles de vacas obteniendo un rango óptimo de concentración de inóculo para aumentar la producción de biogás (aunque sin reportar contenido de metano). Forster-Carneiro et al (2008) analizaron la producción de metano a partir de residuos urbanos inoculados con lodos de depuradora encontrando la mejor performance para una relación sustrato/inóculo de 20/30 en términos de ST.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de utilizar tres inóculos diferentes sobre la productividad de metano en la DA de purín de cerdo y analizar la cinética del proceso.

2. METODOLOGIA

2.1. Sustratos

El sustrato utilizado fue purines de cerdo, compuesto por estiércol, orines y agua de lavado que fue recolectado el mismo día que fue producido en un criadero de cerdos que cuenta con un sistema de drenaje que conduce los efluentes hacia una laguna cubierta.

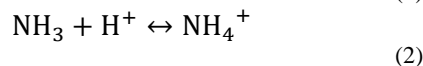
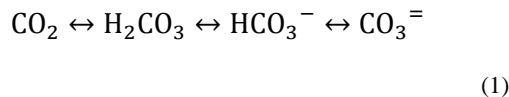
Se utilizaron tres tipos de inóculos: rumen (I1), purines de cerdo digerido (I2) y lodos de depuradora (I3). El rumen utilizado es de vacunos y fue obtenido del matadero local el mismo día de matanza a fin de evitar la degradación y mortandad de las bacterias que porta. Los purines utilizados como inóculo en la presente experiencia fueron obtenidos en el Laboratorio de Bioenergía de la Facultad de Ingeniería – UNCPBA, a partir de un material previamente acondicionado en condiciones mesofílicas, y aplicado cuando el porcentaje de metano alcanzó su valor máximo constante ($67,61 \pm 3,39\%$) a fin de asegurar su actividad metanogénica. Los lodos fueron obtenidos de la planta depuradora de líquidos cloacales de la ciudad de Olavarría y fueron mantenidos en condiciones anaeróbicas a temperatura ambiente hasta su utilización.

2.2. Caracterización de los sustratos e inóculos

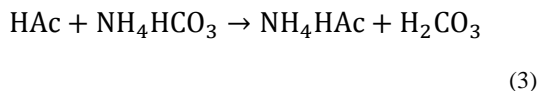
Se determinaron los parámetros físico-químicos sólidos totales (% ST), sólidos volátiles (% SV), demanda química de oxígeno DQO (mg/L), pH y nitrógeno amoniacal ($\text{mg N-NH}_4^+/\text{L}$) mediante los métodos indicados en APHA (1999). Para la determinación de la alcalinidad, se utilizó el método sugerido por Jenkins et al. (1983) que consiste en la

titulación de la muestra a dos valores de pH: 5,75 y 4,3. Se definieron tres parámetros de medida de la alcalinidad: alcalinidad total (AT) medida al punto de pH 4,3; alcalinidad parcial (AP), asociada a la alcalinidad al bicarbonato y a la capacidad buffer del sistema, medida al punto de pH 5,75 y alcalinidad intermedia (AI), asociada a la concentración de AGV, y estimada como diferencia de ambas. La relación de alcalinidad RA, se define como la relación entre la alcalinidad debida a los AGV (AI) y la debida al bicarbonato (AP), recomendándose no sobrepasar un valor de 0,3-0,4 para evitar la acidificación del reactor (Ripley et al., 1986; Campos Pozuelo, 2001; Gerardi, 2003).

Tal como fuera mencionado, la alcalinidad a pH 5,75 está relacionada con la alcalinidad parcial (AP) y estima la capacidad buffer del sistema, la que depende principalmente de los equilibrios $\text{HCO}_3^- - \text{CO}_2$ y $\text{NH}_3 - \text{NH}_4^+$. Cuando los compuestos orgánicos son degradados se libera CO_2 mientras que cuando estos compuestos son proteínas y aminoácidos también se libera amonio, estableciéndose los equilibrios indicados en las ecuaciones 1 y 2 (Gerardi, 2003):



La concentración de los AGV en el digestor está determinada por su velocidad de producción y por su velocidad de remoción por efecto de las bacterias acidogénicas y metanogénicas. Los AGV decrecen la capacidad buffer del sistema disminuyendo la concentración de los iones bicarbonatos de acuerdo a la ecuación 3:



2.3. Diseño Experimental

El estudio de la digestión anaeróbica de los sustratos se llevó a cabo en digestores tipo batch de 1 L de capacidad mantenidos a temperatura constante de 35 ± 1 °C mediante baños termostáticos.

La producción de biogás se determinó utilizando un sistema de medición de gases por desplazamiento de agua acidificada a pH 2 a fin de evitar la disolución del dióxido de carbono producido.

La Figura 1 muestra un digestor y el sistema de medición de biogás. La composición del biogás se midió con un equipo portátil (Langem, GA2000), que utiliza celdas infrarrojas para medir los porcentajes en volumen de metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2) (máximo error $\pm 0,5\%$) y celdas electroquímicas para medir el contenido de oxígeno (máximo error $\pm 1,0\%$).

La calibración del equipo fue realizada con mezclas de gases patrones certificados 60-40 ($\text{CH}_4\text{-CO}_2$) de AGA (Nro de certificado 165342). La experiencia fue realizada durante un período de 140 días.

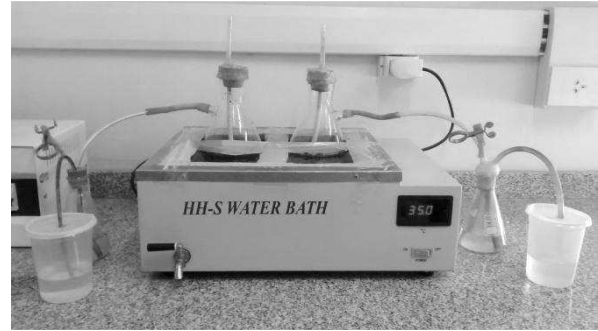


Fig. 1. Digestores y sistema de medición de biogás

El volumen de biomasa utilizado para realizar cada uno de los ensayos fue de 900 mL de purín de cerdo fresco al cual se añadió 10% en volumen de inóculo. El ensayo experimental se basó en la aplicación de cuatro tratamientos con una réplica según se indica a continuación:

- T1: 100% purín fresco (sin inóculo)
- T2: 90% purín + 10% rumen
- T3: 90% purín + 10% purín digerido
- T4: 90% purín + 10% lodos

Los datos de producción de metano se expresaron como valor medio (\pm) la desviación estándar del número de experimentos ($n=2$). El análisis estadístico fue realizado mediante la prueba t-student al 95% de confiabilidad utilizando el programa Statgraphics Centurion XVI (v.16.2.04).

Se colocó la mezcla sustrato-inóculo en los bioreactores durante un período de 140 días. Periódicamente se registró la producción de metano y de biogás en volumen y composición hasta la finalización del ensayo. Se monitorearon los valores de pH, alcalinidad total, parcial e intermedia en forma semanal, y se evaluaron los parámetros ST, SV, DQO y N-NH_4^+ al inicio y al final de la experiencia.

3. RESULTADOS

La Tabla 1 resume la caracterización química inicial del sustrato y de los inóculos utilizados para los cuatro ensayos. El sustrato se caracteriza por contener una mayor proporción de sólidos totales, mayor carga de materia orgánica químicamente degradable y alta concentración de nitrógeno amoniacal. De los tres inóculos, el purín digerido (I2) muestra valores de alcalinidad total y nitrógeno amoniacal sensiblemente mayores al resto. Los lodos (I3) presentan un pH alcalino con menor porcentaje de sólidos volátiles que el resto de los inóculos utilizados.

La Tabla 2 detalla la caracterización química de cada biomasa (sustrato + inóculo). La inoculación provocó mezclas que disminuyeron los valores de los parámetros % ST, % SV (excepto I2) y DQO y un aumento en la alcalinidad total lo cual resulta beneficioso para poder compensar cambios bruscos en los valores de pH (Gerardi, 2003). Respecto a la concentración de nitrógeno amoniacal resulta evidente que T3 contiene la mayor concentración, dada que la naturaleza de ambos (sustrato e inóculo) es la misma y se caracteriza por un alto valor de este parámetro lo que potencia su concentración en la mezcla.

Tabla 1. Caracterización química del sustrato y de los inóculos utilizados.

Parámetro	Sustrato	I1	I2	I3
% ST	7,21±0,39	4,51±0,38	3,53±0,45	4,57±0,07
%SV (b.s.)	86,39±0,24	73,96±1,37	96,47±0,45	56,70±0,43
pH	6,18	6,85	7,88	8,27
Alcalinidad Total (mgCaCO ₃ /L)	4.776±28	5.903±82	11.374±262	5.063±65
DQO (mg/L)	63.724±6.061	28.479±3.756	38.766±1.834	38.034±8.206
Nitrógeno Amoniacal (mg N-NH ₄ ⁺ /L)	1021,0±37,9	163,9±33,1	2.528,5±175,1	882,2±83,8

Tabla 2. Caracterización de las biomásas analizadas bajo DA.

Parámetro	T1	T2	T3	T4
% ST	7,21±0,39	6,94±0,35	6,84±0,42	6,95±0,46
%SV (b.s.)	86,39±0,24	85,58±0,81	85,81±0,35	84,44±0,34
pH	6,18	6,40	6,49	6,45
Alcalinidad Total (mgCaCO ₃ /L)	4.776±28	4.996,49±129	5.264,31±36	5.010,05±155
DQO (mg/L)	63.724±6.061	65.890±6.007	66.747±5.189	67.243±4.694
Nitrógeno Amoniacal (mg N-NH ₄ ⁺ /L)	1021,0±37,9	922,1±76,5	1.198±124,0	1.016,5±176,1

3.1. Producción de metano y eficiencia del proceso en términos de remoción de materia orgánica

La producción acumulada de biogás y metano se muestra en la Fig. 2 (promedio de repeticiones). Se observa que el agregado de un inóculo, cualquiera sea su naturaleza mejora la producción de metano y biogás. La mayor productividad se observó en T4 alcanzando una producción total de 13.538 ± 1.310 mL CH₄, seguido por T3 con una producción de 12.865 ± 85 mL CH₄, T2 con 4.352 ± 44 mL CH₄ y luego T1 (sin inóculo) con 3.250 ± 29 mL CH₄.

Los inóculos utilizados en los tratamientos T3 y T4 aumentaron la cantidad de biogás producido en un 198 % y 219 % con respecto a T1, además de aumentar el volumen

de metano generado en 296 % y 317 % respectivamente durante el periodo de estudio. Por su parte la utilización de rumen (T2) mejoró 32,0 % la producción de biogás y 33,9 % la producción de metano con respecto a T1.

La reducción de la materia orgánica es un indicio de la degradabilidad de los sustratos complejos (Chynoweth et al., 1999; Forster Carneiro et al., 2007). La producción de biogás y metano está directamente relacionada a la cantidad de materia orgánica alimentada al reactor en función de los SV o de la DQO. Es por esto que la producción de metano o biogás suele indicarse en función de estos parámetros en unidades de LCH₄/gr SV ó LCH₄/gr DQO añadida al reactor

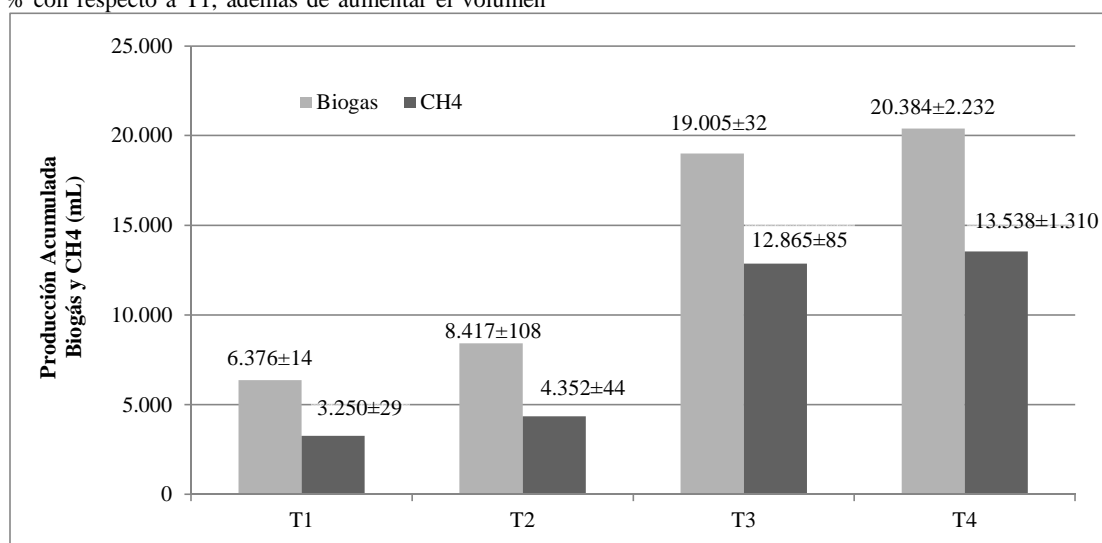


Fig. 2: Producción total de biogás y metano en los tratamientos.

En la Tabla 3 se muestra el porcentaje de remoción de SV y DQO, así como la cantidad de metano producida por gramos de sólidos volátiles agregados al reactor y por unidad de sólidos volátiles removidos.

La mayor remoción de materia orgánica se alcanza con T3 y T4 obteniendo valores de 46,03 y 49,85 % de remoción de SV y de 53,06 y 52,05% de remoción de DQO respectivamente. El sustrato sin inocular (T1) y T2 sólo alcanzaron 32,01 y 35,85 % de remoción de SV y 18,41 y 14,61 % de remoción de DQO respectivamente.

Tabla 3. Resumen de la performance de los distintos tratamientos (SV_i iniciales; SV_f removido)

Tratamiento	Remoción de materia orgánica		Producción de CH ₄	
	% DQO	% SV	L CH ₄ /gr SV _i	L CH ₄ /gr SV _f o
T1	18,41	32,01	0,058±0,0005	0,181±0,010
T2	14,61	35,85	0,078±0,0008	0,227±0,008
T3	53,06	46,03	0,244±0,002	0,534±0,077
T4	52,05	49,85	0,256±0,025	0,517±0,029

Teniendo en cuenta la producción de metano en función de los SV agregados al reactor, se observa que la utilización del rumen como inóculo no produce diferencias significativas con respecto al metano producido en T1 (p<0.05). Tampoco se observan diferencias significativas al comparar la producción de metano por unidad de sólidos volátiles entre los tratamientos T3 (0,244 ± 0,002 L CH₄/gr SV) y T4 (0,256 ± 0,025 L CH₄/gr SV) al mismo nivel de significancia. Los valores obtenidos para estos tratamientos son comparables a los informados por Chynoweth et al. (1999) y por Hansen et al., (1998), que indican una producción típica para la fracción orgánica de los residuos de cerdos de 0,3 L CH₄/gr SV con reducción del 50% en los valores de SV. Por otro lado, este valor también es coincidente con el informado por el IPCC, (2006) para la estimación de las emisiones de metano a partir de efluentes de cerdo que reporta para la región de Latinoamérica un valor de 0,29 m³CH₄/kg SV.

nula velocidad de producción. La extensión de dichas etapas difiere según el tratamiento. Durante los primeros 20 días se observó una elevada velocidad de producción de metano destacándose T2 con un pico de 325 mL CH₄/día a las cuarenta y ocho horas de proceso. A partir del día 20 en adelante, se observa un período de baja producción de metano. Para T1 este período de producción casi nula se extiende hasta aproximadamente el día 75 a partir del cual comienza a aumentar su velocidad de producción alcanzando un máximo de 54,97 mL/día al día 104 para luego descender paulatinamente. Para T2, T3 y T4 esta etapa intermedia resulta más corta ya que a partir del día 40 se inicia la segunda fase en la que se incrementa la velocidad de producción de metano en función del inóculo utilizado. Las velocidades máximas observadas resultaron de 56,09, 256,50 y 298,61 mL CH₄/día para T2, T3 y T4 respectivamente. Puede observarse que T3 y T4 poseen comportamientos similares entre sí y que la utilización de rumen como inóculo no favoreció el aumento en la velocidad de producción de metano en esta segunda etapa (Figura 3).

3.2. Análisis de la cinética producción de metano

Del análisis de la evolución de la producción de metano durante los 140 días de ensayo se identificaron dos etapas de producción de metano, con una etapa intermedia de baja o

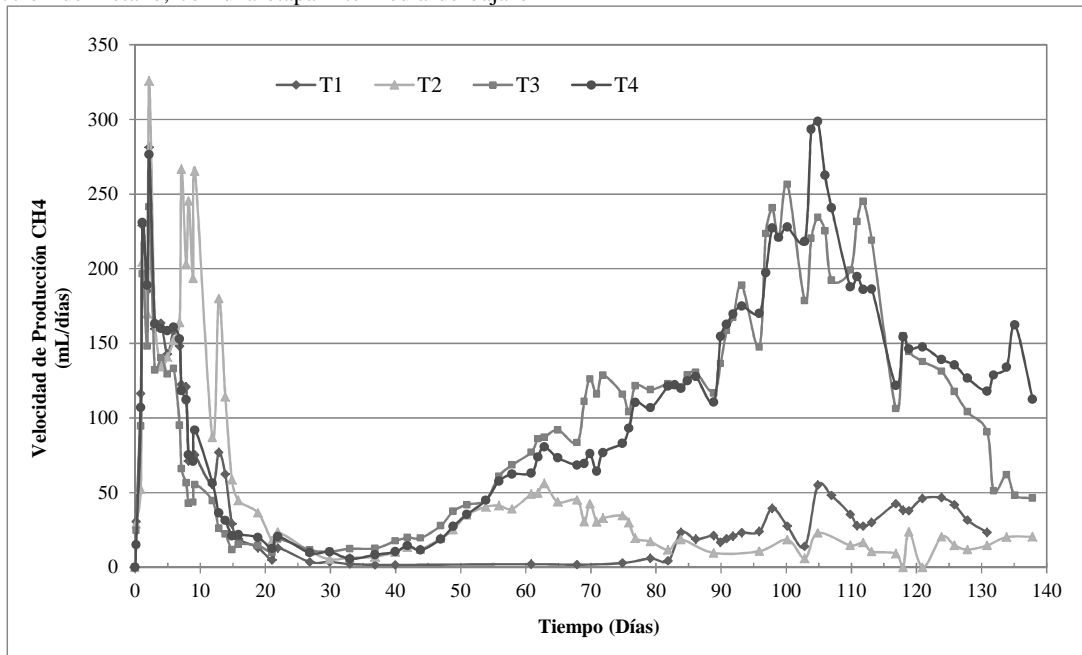


Fig. 3: Velocidad de producción de CH₄

El comportamiento observado coincide con lo reportado por Gerardi, (2003), en cuanto a que la generación de metano se produce en dos etapas y es directamente proporcional a la concentración de bacterias metanogénicas. Durante la primera etapa (20 días), la producción para todos los tratamientos es llevada a cabo principalmente por las bacterias metanogénicas aportadas por el mismo sustrato, con excepción del rumen, que presenta una mayor producción debido a que sus bacterias consumen más rápidamente los AGV, como se ve en la disminución de su concentración (Figura 3), indicando una rápida adaptación al medio. Durante la segunda etapa de producción, las bacterias aportadas por el inóculo propician en T2, T3 y T4 la generación de metano luego de un tiempo de adaptación al medio de aproximadamente 40 días, a partir del cual comienza una fase de crecimiento exponencial seguida por una fase de estabilización y posterior decaimiento (Figura 3). En T1 se observó un aumento de la concentración de AGV que permaneció relativamente constante sin producir metano durante aproximadamente 50 días (Figura 4) mientras que en T3 y T4 a partir del día 40 se observa una

disminución de la misma como consecuencia de la producción de metano. Este comportamiento estaría indicando que cuando la velocidad de formación de AGV es más rápida que su consumo la etapa metanogénica estaría actuando como controlante del proceso. Según Pavlostathis y. Giraldo Gomez (1991) el tipo de residuos, la configuración del proceso, la temperatura y la velocidad de carga determinan las etapas controlantes del proceso. Mientras Seghezzeo (2004) indicó que la hidrólisis de compuestos insolubles es la etapa limitante del proceso global, Kaspar y Wuhrmann (1978) reportaron que en compuestos orgánicos disueltos la metanogénesis puede ser considerada la etapa limitante. Vavilin et. al. (2007) han mostrado que en residuos complejos la acetogénesis o la metanogénesis pueden ser las etapas limitantes de la velocidad a altas cargas orgánicas en donde la etapa hidrolítica podría presentar inhibición.

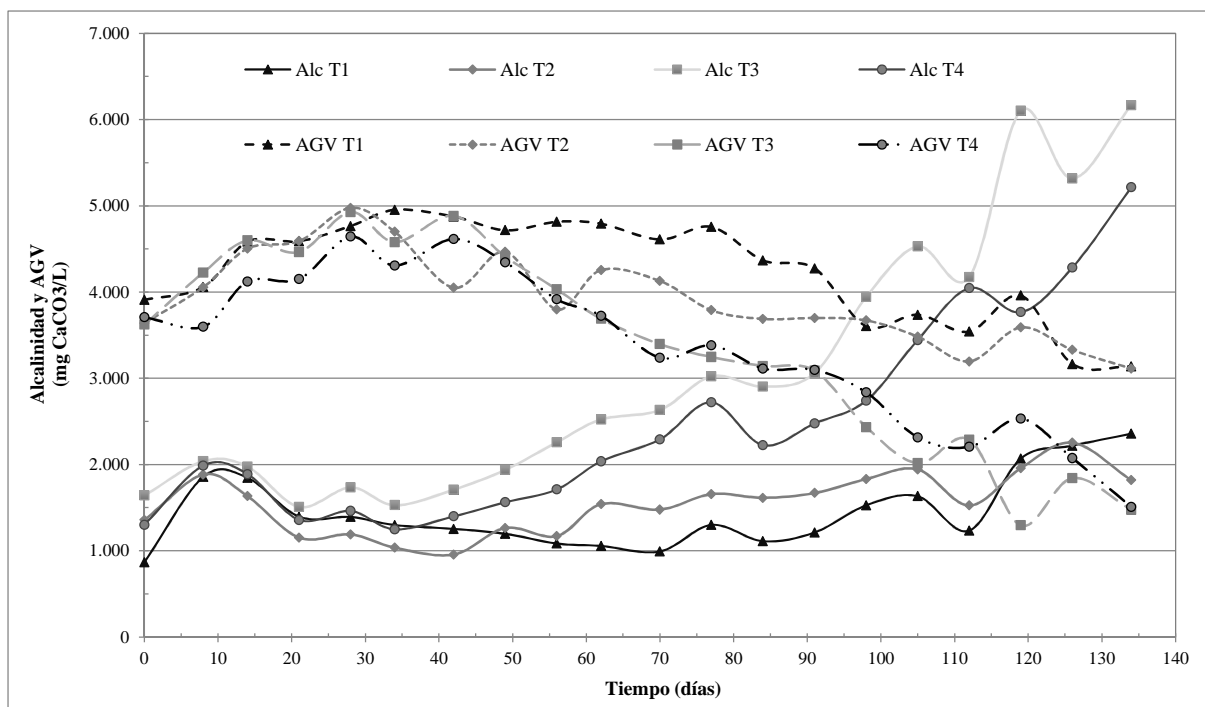


Fig. 4: Alcalinidad y AGV medidos durante el ensayo

Según Forster Carneiro et al., (2007) una alta generación de biogás y metano se asocia al consumo de AGV. Los elevados valores de AGV observados durante la etapa inicial del ensayo (3500 mg CaCO₃/L, Fig. 4) explican la alta producción de metano observada en los primeros 20 días, lo que favorece el aumento de la capacidad buffer del sistema aumentando su alcalinidad a valores cercanos a 2000 mg CaCO₃/L (Figura 4).

Durante la etapa intermedia se observa un incremento en la concentración de AGV hasta alcanzar valores cercanos a 5000 mg/L, lo que modifica la capacidad buffer del sistema, disminuyendo la concentración de la alcalinidad y los valores de pH (Figura 5). Esta situación genera una desestabilización del sistema por la reducción en los valores del pH (7.25 a 6.75) provocando una disminución en la actividad de las bacterias metanogénicas, lo cual se observa

como disminución de la velocidad de producción de metano por debajo de 25 mL/día (Figura 4). El caso más extremo se observa en T1, en el cual este periodo de acumulación de AGV se extiende hasta el día 80 aproximadamente sin producción de metano.

En la segunda etapa, las bacterias metanogénicas aportadas por los inóculos, luego de un tiempo de adaptación al sustrato de aproximadamente 40 días, comienzan a producir metano (Figura 3) a expensas del consumo de los AGV disponibles, lo que puede verse claramente en T3 y T4, mientras que en T2 la velocidad de consumo de AGV es menor y también lo es la producción de metano. En T1, después del día 80 se observa una leve disminución en los AGV, y consecuentemente un leve aumento en la producción de metano (Figura 4).

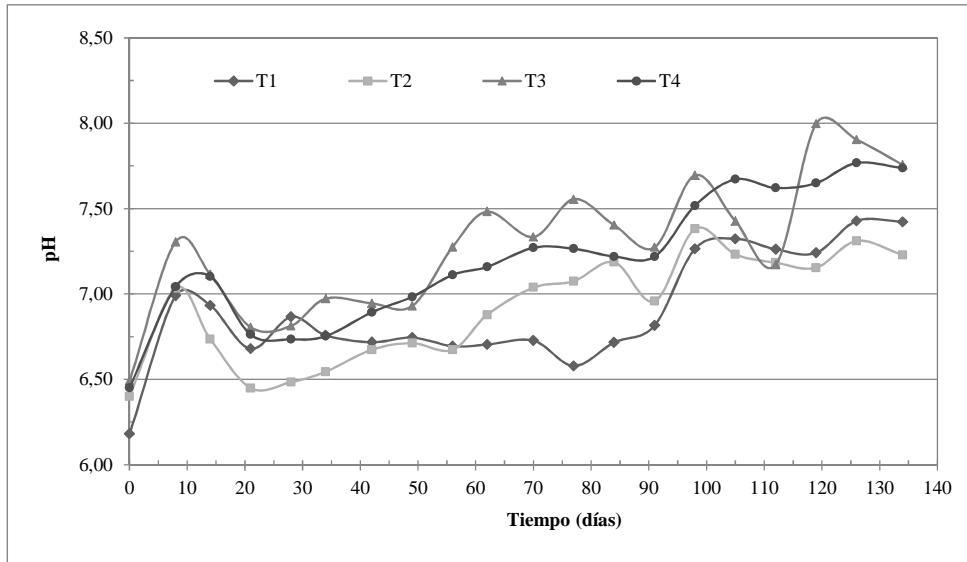


Fig. 5: Cambios de pH durante la experiencia para los tratamientos realizados

El análisis de las etapas en términos del monitoreo de la alcalinidad indica que durante la primera semana se produce un aumento de la AP (Figura 4), coincidente con la producción de metano (Figura 3), seguido por una disminución de la AP cuya duración depende del tratamiento: en T1 este periodo se extiende hasta aproximadamente el día 70 a partir del cual comienza un leve aumento hasta alcanzar un valor final de 2.358 mg CaCO_3/L ; T2 presenta un comportamiento similar a T1, aunque el periodo de disminución de AP se extiende sólo hasta el día 42 alcanzando valores finales de 1.820 mg CaCO_3/L ; en T3 y T4 el periodo de disminución de la alcalinidad es aún menor, extendiéndose hasta el día 35 a partir del cual se presenta un aumento sostenido hasta alcanzar valores de 6.168 y 5.215 mg CaCO_3/L respectivamente. Los valores de pH que se muestran en la Figura 5, siguen un patrón similar al de la alcalinidad.

En relación a la concentración de metano (Figura 6) el inicio del proceso promedia 50 %, luego disminuye durante los primeros 20 días hasta aproximadamente 22 % en T1, y alcanza valores de aproximadamente 40% en T2, T3 y T4. La acción del inóculo con un consorcio microbiano que

aporte suficientes bacterias metanogénicas al sistema evita un decaimiento en la producción de metano a lo largo de la experiencia; los valores de alcalinidad más elevados observados evitaron la inhibición del proceso por la acumulación de los AGV. En T3 y T4 puede observarse que durante la segunda etapa los porcentajes de metano se mantienen aproximadamente constantes entre 70 y 80 %.

Se analizó el comportamiento de la RA considerando que es un parámetro de control que alerta sobre la desestabilización de un sistema de DA. La Figura 7 muestra que la disminución de la RA se asocia con un incremento de la producción de metano. Esto indica que una elevada actividad metanogénica se ve reflejada en el consumo de AGV y en el incremento de la alcalinidad. En T1 y T2 se observa una menor reducción de la RA lo que se manifiesta en una menor producción de metano (Figura 3) mientras que en T3 y T4 el aumento en la velocidad de consumo de AGV se manifiesta en una mayor reducción de este parámetro. En T3 sólo después del día 90, la RA decrece por debajo de 1,00, alcanzando una alcalinidad de 3.058,70 mg CaCO_3/L .

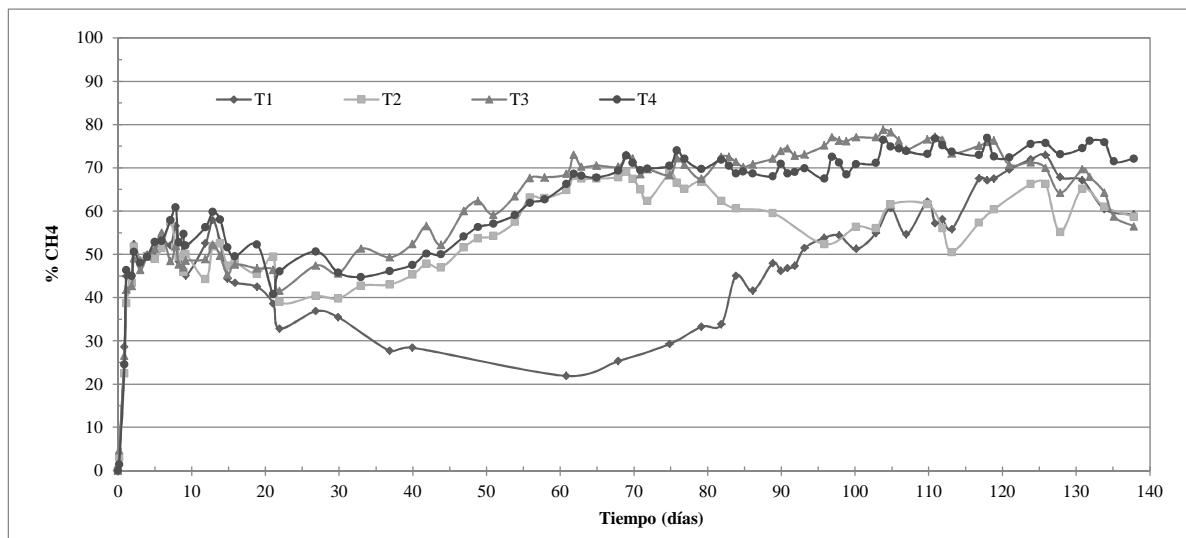


Fig. 6: Porcentajes de metano para cada tratamiento

Mientras que para T4 se alcanza la RA menor a 1,00 al día 98, registrándose una alcalinidad de 2.740,73 mg CaCO₃/L. Tanto en T3 como en T4, la capacidad buffer del sistema en términos de alcalinidad total al ser superior a 3.000 mg CaCO₃/L actúa asegurando la estabilidad del sistema, a pesar de que la RA está por encima del valor sugerido para un “sistema estable” (Molina et al., 2009).

Las curvas de producción acumulada de metano para los distintos tratamientos se muestran en la Figura 7. Según Hegde y Pullammanappallil (2007), estas curvas de producción de metano son una función del crecimiento de las bacterias y se puede definir una fase de retardo, una fase de crecimiento exponencial y una última fase de

decrecimiento. De la Figura 7 se observa una producción acumulada promedio para la primera etapa de 2.318,4 mL CH₄ para T2, seguido por T1 (1.692 mL), T4 (1.668 mL) y T3 (1.271 mL). El metano acumulado difirió sensiblemente entre tratamientos: luego de los 140 días de proceso, T1 alcanzó un valor final de 3.250 mL, T2 de 4.352 mL, mientras que T3 y T4, alcanzaron valores cercanos a 12.865 mL y 13.538 mL con la mayor velocidad de producción de metano (172 y 182 mL CH₄/día respectivamente). Estos resultados indicaron que de los tres inóculos utilizados, los lodos de depuradora (I3) y el purín mesofílico digerido (I2) resultaron los más adecuados para alcanzar la máxima producción de metano del sustrato.

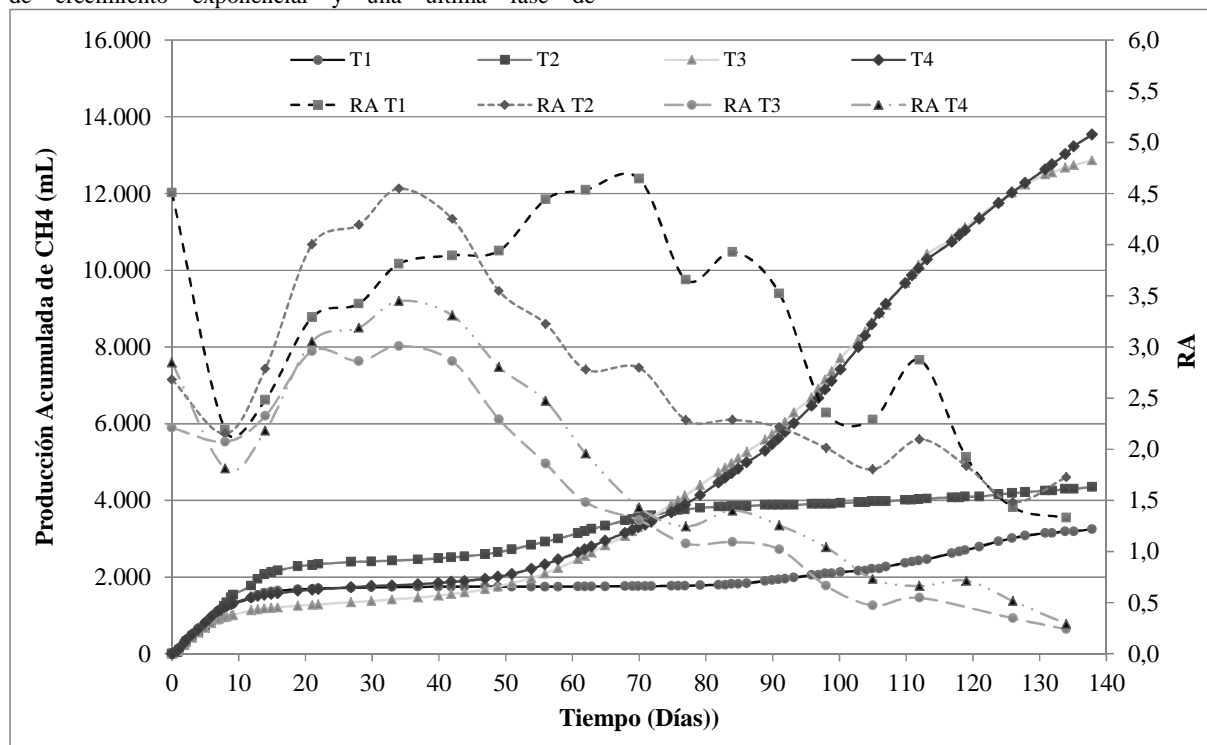


Fig. 5: Producción acumulada de CH₄ (ml) y relación de alcalinidad (RA)

4. CONCLUSIONES

La inoculación del sustrato mejoró la productividad del proceso de DA en términos de producción de metano. Lodos de plantas depuradoras y purín estabilizado mostraron la mejor capacidad para actuar como inóculos cuando se utiliza purín de cerdo como sustrato. Ambos inóculos lograron elevados porcentajes de remoción de materia orgánica (cercanos al 50% en términos de SV y de DQO) y la mayor productividad de metano alcanzando un valor de 0.25 L CH₄/g SV cercano a valores previamente reportados (0.29-0.30 L CH₄/g SV). El rumen como inóculo no produjo diferencias significativas con respecto al metano producido por el sustrato y la remoción de materia orgánica no superó el 15%.

La naturaleza del sustrato como portador de un consorcio microbiano que aporta suficientes bacterias metanogénicas permitió identificar una cinética de producción de metano en dos etapas: una inicial promovida por el propio sustrato y una segunda etapa de crecimiento exponencial donde se alcanza la máxima producción potencial de metano, ambas unidas por una etapa intermedia cuya extensión depende del inóculo utilizado. Tanto la inoculación con lodos como con

purín digerido provocó una disminución del tiempo de retardo reduciendo casi a la mitad extensión de la etapa intermedia. La evolución de AGV y de la alcalinidad explicaron la cinética de producción de metano observada. Para el sustrato utilizado, caracterizado como una mezcla compleja de sustancias parcialmente disueltas, el rápido aumento observado de la concentración de los AGV y su largo tiempo de permanencia serían indicios de que la etapa metanogénica podría ser la controlante de la velocidad global de producción de metano.

NOMENCLATURA

AGV	Ácidos grasos volátiles
b.s.	base seca
DA	Digestión anaeróbica
DQO	Demanda química de oxígeno
I	Inóculo
N-NH ₄ ⁺	Nitrógeno amoniacal
RA	Relación de Alcalinidad
ST	Sólidos totales
SV _i	Sólidos Volátiles iniciales
SV _f	Sólidos Volátiles removidos

REFERENCIAS

- Ahring, B.K., Sandberg, M. y Angelidaki, I. (1995). Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **43**, 3,559–565.
- Angelidaki, I., Ellegaard, L. y Ahring, B.K. (1993). A Mathematical Model for Dynamic Simulation of Anaerobic Digestion of Complex Substrates: Focusing on Ammonia Inhibition. *Biotechnology and bioengineering*, **42**, 159–166.
- APHA, (1999). APHA: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. Washington, DC., American Public Health Association.
- Budiyono, I. N. Widiasta, S. Johari, and Sunarso (2009). Influence of inoculum content on performance of anaerobic reactors for treating cattle manure using rumen fluid inoculum. *International Journal of Engineering and Technology*, **1**, 3, 109–116.
- Campos Pozuelo, A.E. (2001). Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria. Tesis Doctoral. Universidad de Lleida. Departament de Medi Ambient i Ciències del Sòl, Laboratori d'Enginyeria Ambiental. 372 pag
- Chynoweth, D.P., Wilkie, A.C. y Owens, J.M. (1999). Anaerobic processing of piggery waste: a review. *Asian-Australasian Association of Animal Societies*, **12**, 4, 607–628.
- Córdoba, Verónica E., Fernández, Mónica E. y Santalla Estela M. Ensayo batch de co-digestión anaeróbica en purines de cerdo. III Congreso Internacional de Ambiente y Energías Renovables. Tema: Aplicaciones energéticas de residuos y efluentes, págs. 484-494. ISBN 978-987-1930-11-1. Universidad de Villa María Córdoba. Argentina. 2013.
- Forster-Carneiro, T., Pérez, M., Romero, L., y Sales, D. (2007). Dry-thermophilic anaerobic digestion of organic fraction of the municipal solid waste: focusing on the inoculum sources. *Bioresource technology*, **98**, 17, 3195–3203.
- Forster-Carneiro, T., Pérez, M. y Romero, L.I. (2008). Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. *Bioresource technology*, **99**, 15, 6994–7002.
- Gerardi, M.H., (2003). *The microbiology of anaerobic digesters*, 1° ed., John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- González-Fernández, C. y García-Encina, P.A. (2005). Impact of substrate to inoculum ratio in anaerobic digestion of swine slurry. *Biomass and Bioenergy*, **33**,8, 1065–1069.
- Hansen, K.H., Angelidaki, I. y Ahring, B.K. (1998). Anaerobic Digestion of Swine Manure: Inhibition By Ammonia. *Water Research*, **32**, 1, 5–12.
- Hegde, G. y Pullammanappallil, P. (2007). Comparison of thermophilic and mesophilic one-stage, batch, high-solids anaerobic digestion. *Environmental technology*, **28**, 4,361–9.
- IPCC 2006, 2006 IPCC. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme. Egglest H.S., Buendía L., Miwa K., Ngara T., and Tanabe K. (eds). Published: IGES, Japan.
- Jenkins, S.R., Morgan, J., y Sawyer, C. (1983). Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. *Water Pollution Control Federation*, **55**, 5, 448–453.
- Kaspar, H. F., y Wuhrmann, K. (1978). Kinetic parameters and relative turnovers of some important catabolic reactions in digesting sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, **36**, 1, 1-7.
- Kougias, P., Fotidis I., Zaganas I., Kotsopoulos T. y Martzopoulos G. (2013). Zeolite and swine inoculum effect on poultry manure biomethanation. *International Agrophysics*, **27**, 169–173.
- Mateescu, C. y Constantinescu, I. (2011). Comparative analysis of inoculum biomass for biogas potential in the anaerobic digestion. *The Scientific Bulletin*, **73**, 3, 99–104.
- Molina F., Ruiz-Filippi G., Garcia C., Lema , y Roca E. (2009). Pilot-Scale Validation of a New Sensor for On-Line Analysis of Volatile Fatty Acids and Alkalinity in Anaerobic Wastewater Treatment Plants, *Environ. Eng. Sci.*, **26**, 3, 641–649.
- Obaja, D., Mace, S., Costa, J., Sans, C., Mata-Alvarez, J. (2003). Nitrification–denitrification and biological phosphorus removal in piggery waster using sequencing batch reactor. *Bioresource Technology*, **87**, 1, 103–111.
- Olvera, J. del R., 2007. Evaluación y modelado de la cinética de depuración anaerobia de vinazas de la industria alcohólica. Tesis Doctoal. Universidad Veracruzana zona Xalapa. Facultad de Ingeniería Química y Ambiental. 136 pag.
- Pavlostathis, S. G., y Giraldo Gomez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment: a critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **21**, 5-6, 411–490.
- Pavlostathis, S. G., y Gossett, J. M. (1988). Preliminary conversion mechanisms in anaerobic digestion of biological sludges. *Journal of Environmental Engineering*, **114**, 3, 575-592.
- Ripley, L.E.E., Boyle, W.C.C. y Converse, J.C.C. (1986). Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. *J. - Water Pollut. Control Fed.*; **58**, 5, 406–411.
- Seghezzi L. (2004). Anaerobic treatment of domestic wastewater in subtropical regions, Ph.D. thesis, Wageningen. University, Wageningen, the Netherlands.
- Shuler M.L y Kargi F. (1992). *Bioprocess Engineering: Basic Concepts*. 2ª ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, U.S.A.
- Triolo, J, Alastair J, Lene Pedersen, y Sven G. (2013). Characteristics of animal slurry as a key biomass for biogas production in Denmark. In *Biomass Now – Sustainable Growth and Use*. InTech, 307–326.
- Vavilin, V. A., Fernandez, B., Palatsi, J., y Flotats, X. (2008). Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: an overview. *Waste management*, **28**, 6, 939-951.
- Veeken A. y Hamelers, B. (1999). Effect of temperature on hydrolysis rates of selected biowaste components. *Bioresource technology*, **69**, 3, 249-254.