



**UNIVERSIDAD DE LA SERENA
FACULTAD DE INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE MINAS**

TOXICIDAD METANOGENICA DE PURÍN DE CERDO MEDIANTE ENSAYOS DISCONTINUOS

CHIA-FANG HSIEH

Memoria para optar el título de
Ingeniería Civil Ambiental

Profesor patrocinante:

Dr. Hugo Maturana Contardo

Memoria realizada en:

Centro EULA-Chile
Universidad de Concepción

Profesionales guías:

Dra. Gladys Vidal Sáez

Dra. © Marisol Belmonte

La Serena, 2009

DEDICATORIA

*En especial a mis padres,
quienes me han educado y enseñado,
me entregan su amor y protección en forma incondicional.*

*A mis hermanas,
por escucharme y darme consejos.*

*A mi abuelo,
por su cariño y preocupación,
a la memoria de mi abuela,*

*y a Minglun,
por su apoyo constante.*

MUCHAS GRACIAS

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas aquellas personas que de una u otra forma me han ayudado a finalizar este trabajo exitosamente, y de forma especial:

A la Dra. Gladys Vidal, por darme la oportunidad de trabajar junto a ella, y a Marisol Belmonte, quien tuvo mucha paciencia para explicarme y ayudarme en todo. A Jacqueline Decap, por su enseñanza que fue importante para el desarrollo experimental de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Producción Limpia por otorgarme el primer lugar del concurso “Tesis sobre Producción Limpia en la Región del Bío-Bío 2008”, que me facilitó bastante sobre el desarrollo experimental del trabajo realizado.

Y a todo el grupo de Biotecnología Ambiental del Centro Eula-Chile, por su gran compañía y amistad.

Agradezco también a mi profesor guía, Dr. Hugo Maturana Contardo, por su atención y los conocimientos profesionales que me ha entregado durante los años de la carrera.

A mis compañeros y amigos de la Universidad, por su simpatía y amistad durante los 6 años de estudio.

A mis queridos padres y hermanas, por su preocupación incondicional en todo momento.

Y finalmente a la familia de Chiguayante, por acogerme cariñosamente durante los 9 meses del desarrollo de la memoria, y a Minglun, por su tolerancia y apoyo permanente.

... Muchas gracias...

ÍNDICE

CAPÍTULO I: ANTECEDENTES GENERALES	12
1. INTRODUCCIÓN	12
1.1 Hipótesis	20
1.2 Objetivos	20
<i>1.1.1 Objetivo general</i>	20
<i>1.1.2 Objetivos específicos</i>	20
CAPÍTULO II: ANTECEDENTES DE LA INSTITUCIÓN	21
2. DESCRIPCIÓN GENERAL	21
2.1 Estructura Institucional y Unidades académicas	22
<i>2.1.1 Unidad de Sistemas Acuáticos</i>	22
<i>2.1.2 Unidad de Planificación Territorial</i>	23
<i>2.1.3 Unidad de Ingeniería ambiental</i>	23
2.2 Laboratorios del Centro EULA-CHILE	24
<i>2.2.1 Biología Ambiental</i>	24
<i>2.2.2 Informática y Geomática</i>	24
<i>2.2.3 Meteorología y Contaminación Atmosférica</i>	25
<i>2.2.4 Química Ambiental</i>	25
<i>2.2.5 Laboratorio de Biotecnología Ambiental</i>	26
2.3 Asistencia Técnica y Prestación de Servicios	28

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	29
3. METODOLOGÍA DE TRABAJO	29
3.1 Efluente	29
3.2 Inóculo	29
3.3 Ensayos de toxicidad metanogénica	29
3.3.1 Materiales	30
3.3.2 Procedimiento	32
3.3.3 Montaje de ensayos	34
3.3.4 Monitoreo del ensayo	37
3.3.5 Cálculo y expresión de actividad metanogénica	37
3.3.6 Cálculo de inhibición	38
3.4 Métodos analíticos	39
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	43
4. RESULTADOS	43
4.1 Caracterizaciones del efluente de purín de cerdo	43
4.2 Ensayos de toxicidad metanogénica: purín de cerdo	45
4.2.1 Producción de CH₄ en el tiempo	45
4.2.2 Actividad metanogénica	53
4.2.3 Eficiencia de eliminación de materia orgánica	57
4.2.4 Concentración inhibitoria 50% (CI50%)	62
4.2.5 Conductividad eléctrica	63
4.2.6 Alcalinidad y pH	66

4.3 Ensayos de toxicidad metanogénica: Compuesto específico, clortetraciclina	70
<i>4.3.1 Producción de CH₄ en el tiempo</i>	70
<i>4.3.2 Actividad metanogénica</i>	72
<i>4.3.3 Eliminación de materia orgánica</i>	73
<i>4.3.4 Concentración inhibitoria 50% (CI50%)</i>	74
<i>4.3.5 Conductividad eléctrica</i>	75
<i>4.3.6 Alcalinidad y pH</i>	76
CAPÍTULO V: DISCUSIONES	77
5. DISCUSIONES	77
5.1 Caracterizaciones del efluente de purín de cerdo	77
5.2 Ensayos de toxicidad metanogénica: purín de cerdo	79
<i>5.2.1 Producción de CH₄ en el tiempo</i>	79
<i>5.2.2 Actividad metanogénica</i>	82
<i>5.2.3 Eliminación de materia orgánica</i>	84
<i>5.2.4 Concentración inhibitoria 50% (CI50%)</i>	86
<i>5.2.5 Conductividad eléctrica</i>	87
<i>5.2.6 Alcalinidad y pH</i>	87
5.3 Ensayos de toxicidad metanogénica: clortetraciclina	89
<i>5.3.1 Producción de CH₄ en el tiempo</i>	89
<i>5.3.2 Actividad metanogénica</i>	89
<i>5.3.3 Eliminación de materia orgánica</i>	90
<i>5.3.4 Concentración inhibitoria 50% (CI50%)</i>	90

<i>5.3.5 Conductividad eléctrica</i>	90
<i>5.3.6 Alcalinidad y pH</i>	91
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	92
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Materiales utilizados durante el ensayo.	30
Tabla II. Equipamiento utilizado durante el ensayo.	31
Tabla III. Reactivos químicos usados durante el ensayo.	31
Tabla IV. Soluciones de nutrientes, de sulfuro y de ajuste de pH.	32
Tabla V. Contenidos y porcentajes de muestras de efluente en cada una de las botellas para la primera y segunda alimentación del ensayo 1.	34
Tabla VI. Contenidos y porcentajes de muestras de efluente en cada una de las botellas para la primera y segunda alimentación del ensayo 2.	35
Tabla VII. Contenidos y porcentajes de muestras de efluente en cada una de las botellas para la primera y segunda alimentación del ensayo 3.	36
Tabla VIII. Contenidos y porcentajes de muestras de efluente en cada una de las botellas para la primera y segunda alimentación del ensayo 4.	36
Tabla IX. Métodos evaluado mediante Spectrocuant NOVA-60.	40
Tabla X. Valores promedio y desviación estándar (D.S.) de 3 muestras de efluente de purín de cerdo extraído a la salida del tratamiento primario.	44
Tabla XI. Resumen de los distintos ensayos y su CI50% determinado para cada uno de ellos.	62
Tabla XII. CI50% obtenido de las distintas alimentaciones del quinto ensayo.	74

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Ensayo de toxicidad metanogénica.	33
Figura 2. Espectrofotómetro.	41
Figura 3. Proceso de secado y proceso de calcinación.	41
Figura 4. Determinación de AT y AP.	42
Figura 5. Producción de metano en el tiempo del primer ensayo.	46
Figura 6. Producción de metano en el tiempo del segundo ensayo.	48
Figura 7. Producción de metano en el tiempo del tercer ensayo.	50
Figura 8. Producción de metano en el tiempo del cuarto ensayo.	52
Figura 9. Actividad metanogénica del primer ensayo.	53
Figura 10. Actividad metanogénica del segundo ensayo.	54
Figura 11. Actividad metanogénica del tercer ensayo.	55
Figura 12. Actividad metanogénica del cuarto ensayo.	56
Figura 13. Eficiencia de eliminación de materia orgánica, primer ensayo.	57
Figura 14. Eficiencia de eliminación de materia orgánica, segundo ensayo.	58
Figura 15. Eficiencia de eliminación de materia orgánica, tercer ensayo.	59
Figura 16. Eficiencia de eliminación de materia orgánica, cuarto ensayo.	60
Figura 17. Comparación de eficiencia de eliminación de materia orgánica.	61
Figura 18. Conductividad eléctrica, segundo ensayo.	63
Figura 19. Conductividad eléctrica, tercer ensayo.	64
Figura 20. Conductividad eléctrica, cuarto ensayo.	65
Figura 21. AI/AT y pH, segundo ensayo.	66
Figura 22. AI/AT y pH, tercer ensayo.	67
Figura 23. AI/AT y pH de purín de cerdo crudo, cuarto ensayo.	68
Figura 24. AI/AT y pH de purín de cerdo filtrado, cuarto ensayo.	69
Figura 25. Producción de metano en el tiempo del quinto ensayo.	71
Figura 26. Actividad metanogénica del quinto ensayo.	72
Figura 27. Eficiencia de materia orgánica del quinto ensayo.	73
Figura 28. Conductividad eléctrica del quinto ensayo.	75
Figura 29. AI/AT y pH del quinto ensayo.	76

RESUMEN

La digestión anaerobia, es considerada como uno de los procedimientos biológicos más adecuados para el tratamiento de efluente de purín de cerdo. Mediante la utilización de microorganismos, estos sistemas degradan la materia orgánica en ausencia de oxígeno, produciendo el biogás, el cual constituye a una recuperación de energía. Para efectuar el tratamiento del efluente de purín de cerdo mediante este proceso anaeróbico, se requiere evaluar la toxicidad metanogénica de éste, para luego evaluar la existencia de sustancias inhibitoras o tóxicas presentes en el vertido sobre las poblaciones bacterianas, lo que ocasionaría una disminución en la producción de CH_4 .

El objetivo de este trabajo es evaluar la toxicidad metanogénica de un efluente de purín de cerdo mediante ensayos discontinuos, donde se determinó el porcentaje de actividad metanogénica que pierde un lodo anaeróbico en presencia del purín de cerdo y de compuesto específico como el clortetraciclina presente en este tipo de residuos, expresados en la producción de metano (CH_4) en el tiempo, actividad metanogénica (%), eficiencia de eliminación de materia orgánica (%), concentración inhibitoria 50% (CI50%), conductividad eléctrica y alcalinidad.

Con respecto al purín de cerdo, el CI50% resultó entre 9 y 13,8 g DQO/L para las segundas alimentaciones de los primeros 4 ensayos. Y la producción de metano, la actividad metanogénica y la eficiencia de eliminación de materia orgánica disminuían mientras aumentaba la concentración del efluente de purín de cerdo, en cambio, la conductividad eléctrica y la alcalinidad resultaron valores más altos mientras mayor era la concentración del vertido. Para el caso del antibiótico clortetraciclina, no se detectó CI50%, tampoco hubo cambio notorio en cuanto a producción de metano, actividad metanogénica, eficiencia de eliminación, conductividad eléctrica y alcalinidad. Esto indica que el efluente de purín de cerdo puede provocar toxicidad metanogénica entre 9-13,8 g DQO/L, en cambio, el antibiótico clortetraciclina no provocó toxicidad metanogénica evidente entre concentraciones de 1-24 mg/L.

Palabras clave: purín de cerdo, toxicidad metanogénica, CI50%.

ABSTRACT

The anaerobic digestion is considered to be one of the most suitable biological procedures for the treatment of effluent of swine wastewater. This system through microorganism's utilization degrades organic matter with no oxygen, producing biogas, which constitutes a recovery of energy. To execute the effluent treatment of swine wastewater through this anaerobic process, it is needed to evaluate the methanogenic toxicity of this one, at that point, to evaluate the existence of inhibiting substances or toxic substances in the spillage on the bacterial populations, which would cause a decrease in the production of CH₄.

This work's objective is to evaluate the effluent of methanogenic toxicity by swine wastewater through discontinuous essays, which established the methanogenic activity's percentage, that loses an anaerobic mud in swine wastewater appearance and a specific compound as chlortetracycline in this type of residues, expressed in the production of methane (CH₄) in the time, methanogenic activity (%), efficiency of elimination of organic matter (%), inhibitory concentration 50 % (IC50 %), electrical conductivity and alkalinity.

Regarding to the swine wastewater, IC50 % turned out between 9 and 13.8 g DQO/L for the second nourishments of the first 4 essays of swine wastewater. While the concentration of swine wastewater was increasing, the methane production, the methanogenic activity and the efficiency of elimination of organic matter were decreasing. On the other hand, the electrical conductivity and the alkalinity turned out to have higher values when the spillage's concentration was higher. About the case of the antibiotic chlortetracycline, IC50% was not detected, the methane's production, methanogenic activity, efficiency of elimination, electrical conductivity and alkalinity neither had evidence's change. These indicate the effluent of pork's urine can cause methanogenic toxicity among 9-13.8 g DQO/L, on the other side, the antibiotic chlortetracycline evidently did not cause methanogenic toxicity among concentrations of 1-24 mg/L.

Key words: swine wastewater, methanogenic toxicity, IC50 %.

CAPÍTULO I: ANTECEDENTES GENERALES.

1. INTRODUCCIÓN.

La producción mundial de carne de cerdo ha aumentado notoriamente desde el año 1993 a la fecha, especialmente en China, el cual presenta un 49% de la producción mundial. En Chile, la producción de carnes en general ha tenido un extraordinario crecimiento durante los últimos 17 años, debido principalmente al aumento en el consumo interno y a las exportaciones. En el año 2007 se produjeron aproximadamente 498.706 toneladas de carne de cerdo. La producción de esta carne ha tenido un crecimiento extraordinario en la última década, con un aumento de un 9,3% anual aproximadamente. Chile ha registrado un incremento sostenido de las exportaciones de carne de cerdo, con aumentos promedio de 42% anual en los últimos 4 años, actualmente se está llegando a mercados de alta exigencia como son Corea del Sur, Japón, México, Canadá y UE, entre otros (Asprocer, 2008). Este crecimiento económico involucra a su vez una buena gestión ambiental, sobre todo a los residuos generados por este sector, haciéndose necesario un buen manejo de los desechos (Peralta, 2005).

El principal residuo generado por este sector lo constituyen los purines de cerdo, constituido por la mezcla de excretas del animal (55% fecas y 45% orina), junto con el agua de lavado utilizado para la limpieza de los planteles. La excreta contiene principalmente sólidos que flotan, sólidos que sedimentan, y sólidos en suspensión. La tasa de producción de excretas y su composición es altamente variable. Esta variabilidad en parte se debe a factores asociados a la explotación y al manejo de los animales, por ejemplo la alimentación (calidad, cantidad y composición del alimento ingerido por el animal, número y madurez fisiológica del animal, número de fases de alimentación, etc), el clima local, el tipo de bebedero, el volumen de agua consumida, el sistema de alojamiento y frecuencia de limpieza (Babot *et al.*, 2008; Peralta, 2005).

Este residuo se caracteriza por presentar altas concentraciones de materia orgánica evaluada como DQO (Demanda Química de Oxígeno) y/o DBO₅ (Demanda Bioquímica de Oxígeno medida a los 5 días) (> 4 g DQO/L, y > 2,5 g O₂/L, respectivamente), sólidos totales y volátiles (> 3 g/L para ambos casos), y de nutrientes (> 300 mg/L de nitrógeno total (NH₄⁺) y > 100 mg/L de fósforo total (P)), y otros tipos de compuestos más específicos (Peralta, 2005). Debido a las características de estos vertidos, la reducción de estos parámetros para disminuir los impactos ambientales de una posible descarga a un sistema de aguas superficiales es indiscutible, entre otras cosas, para cumplir con la normativa ambiental vigente. Obaja *et al.* (2003), señalan que el purín de cerdo contiene cantidades considerables de materia orgánica no estabilizada y altas cantidades de amonio que puede alcanzar valores alrededor de 8,0 g N-NH₄⁺ dependiendo de las características de la granja. Otros compuestos presentes en los purines de cerdo como: desinfectantes, antibióticos, patógenos, y metales pesados, en exceso pueden inhibir significativamente procesos biológicos como la nitrificación, en el caso de algunos antibióticos (Choi, 2007).

Mucho de estos compuestos (antibióticos, promotores del crecimiento) añadidos en el alimento diario de los individuos y utilizados durante su proceso de crecimiento o para evitar las enfermedades, son excretados por los cerdos en los purines. Actualmente, los antibióticos juegan un papel principal en la agricultura moderna e industrias de ganadería. Son considerados como un grupo importante de productos farmacéuticos en la medicina humana y veterinaria. Se caracterizan por ser sustancias difícilmente biodegradables, son persistentes en los suelos, y especialmente, las tetraciclinas son los antibióticos más persistentes. Cuando a un animal se le suministran antibióticos, un 25% a 75 % de estas sustancias es excretada en las heces o la orina o como metabolitos procedentes de su degradación. De este modo, los antibióticos pueden llegar a los suelos si los purines son utilizados como abonos e incluso pueden pasar de los suelos a las aguas superficiales y subterráneas, se acumulan en lagunas de tratamiento primario o en sistemas fluviales, dando lugar a una contaminación ambiental cuyo principal riesgo es la generación de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos que ponen en peligro la salud humana y animal, y además efectos negativos sobre bacterias de ecosistema importante (por muerte o

inhibición) (Macauley *et al.*, 2006; Arslan-Alaton I. and Efe A., 2006; Montes *et al.*, 2008; Constanzo *et al.*, 2008).

A parte de los antibióticos, también los metales pesados, principalmente Zinc y Cobre (50,3kg Zn/año y 5.9kg Cu/año) presentes en los purines de cerdos, pueden ser también acumulados en el suelo a través del uso de estos residuos como fertilizantes en la agricultura, generando problemas de toxicidad (Choi, 2007; Torrallardona, 2008). Existen otros impactos importantes ocasionados por estos residuos son la eutroficación para los sistemas acuáticos y la contaminación al aire. La eutroficación es generada por el aporte excesivo de nutrientes a los cuerpos de agua, principalmente NH_4^+ y P ($> 300 \text{ mg/L NH}_4^+$, $> 100 \text{ mg/ P/L}$). El NH_4^+ , a parte del problema de eutroficación, también puede causar problemas de nitrificación de las aguas y de lluvia ácida a través de las emisiones de amoníaco (NH_3). Se estima que la producción ganadera causa alrededor del 90% del total de las emisiones de NH_3 al aire, esto es la fuente de la creciente sensibilización de la sociedad a los malos olores. La contaminación aérea es generada por las emisiones de gases de efecto invernadero. Los principales gases que contribuyen de forma muy significativa al efecto invernadero son el CH_4 y el óxido nitroso (N_2O), así como el N_2O a la reducción del ozono estratosférico. En los últimos 200 años, la concentración atmosférica del CH_4 y del N_2O se ha visto incrementada en un 151 y 17% respectivamente. Además, también están los problemas sanitarios y de salud pública por la presencia de patógenos, y la contaminación de suelos por el uso de excedentes de purines y estiércoles no estabilizados como fertilizantes, y a la vez esto puede traer como consecuencia la salinización de los suelos por la presencia de exceso de iones (NO_3^- , cloruros) y una alta conductividad (Choi, 2007; Mtnes-Almela *et al.*, 2001; Torrallardona, 2008).

Para minimizar los impactos ambientales generados por los purines de cerdo y lograr un control ambiental, es necesario implementar sistemas de tratamiento y desarrollar métodos de análisis que permitan determinar las concentraciones de antibióticos en los purines y poder así evaluar su eliminación en los sistemas de tratamiento y determinar si realmente

son eficaces y si el purín, una vez tratado, puede aplicarse como fertilizante en los campos sin ningún riesgo para la salud (Montes *et al.*, 2008).

Los sistemas de tratamiento, en general, se clasifican en tres: primario, cuyo objetivo es la separación de sólidos mediante la utilización de métodos físicos, químicos o mecánicos; secundario o biológico para la eliminación de la materia orgánica presente en los residuos, utilizando procesos biológicos (aeróbicas, anaeróbicas, mixtos, etc.); y terciario, focalizado para la eliminación de compuestos específicos como nutrientes, mediante procesos biológicos, físicos o químicos (e.g. humedales construidos para el tratamiento de carga de nutrientes, o tecnologías convencionales de nitrificación-desnitrificación, basadas en el ciclo del nitrógeno, entre otros) (Peralta, 2005; Ramalho, 1996; Cronk, 1996). La eliminación de compuestos específicos como los antibióticos, puede realizarse a través de plantas de depuración de fangos activados, con cogeneración de energía, es decir, utilizan gas natural para la producción de energía, y para la determinación de los residuos de tetraciclinas en las muestras puede realizarse mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) con detección ultravioleta mediante detector de fotodiodos (Montes *et al.*, 2008).

Una de las formas más adecuadas para reducir los impactos ambientales es la minimización en el origen, mediante la aplicación de una alimentación de precisión. Esto debido a que los niveles de excreción de los diferentes compuestos contaminantes se pueden modificar con el tipo de alimentación que reciben los animales. Las estrategias de alimentación, son básicamente el uso de un mayor número de fases de alimentación, y la reducción del contenido de proteína, fósforo y minerales. Debido a que los animales son capaces de fijar solo una parte de los nutrientes ingeridos en la alimentación. (excretando sobre el 60% del nitrógeno y del fósforo en los purines). Por tanto, es evidente que la eficacia en la alimentación del animal, desde el punto de vista medioambiental presenta un gran potencial de mejora.

Para mejorar la asimilación de los nutrientes en los animales, sin afectar el rendimiento crecimiento-engorde, existen cuatro factores a considerar: 1) evaluar el potencial nutritivo de los ingredientes de los alimentos, 2) determinar con precisión las necesidades nutritivas de los animales, 3) formular los alimentos de acuerdo a los requerimientos del animal (e.g. estado fisiológico), utilizando aditivos que favorezcan la digestibilidad de los minerales y proteínas; y 4) ajustar progresivamente los aportes en nutrientes a las necesidades cambiantes de los animales. Así mediante una mejora en la digestibilidad de los nutrientes, se reducirán los impactos ambientales ocasionados por estos compuestos, disminuyendo la concentración de estos en el residuo final (Torrallardona, 2008; Pomar *et al.*, 2008).

Otro tipo de minimización en origen, es reducir el volumen de consumo de agua de los animales para así controlar el volumen de purines generados en las granjas y economizar el coste de transporte de dichos residuos. La economización del costo de transporte se logra secando los purines, evaporando parte del agua, disminuyendo el volumen, y por tanto facilitando el transporte; y luego, separar las fracciones sólida y líquida, sometiendo a la fracción líquida al tratamiento necesario que permita su aplicación en la zona cercana a donde es generado, y a la fracción sólida a su estabilización y transporte a zonas geográficas no excedentarias. Para una correcta gestión del residuo, la fracción sólida debe ser estabilizada antes de su aplicación al suelo. La estabilización puede realizarse por compostaje aerobio o por digestión anaerobia (Mtnez-Almela *et al.*, 2001).

La digestión anaerobia, es considerada como uno de los procedimientos biológicos más adecuados para el tratamiento de efluente de purín de cerdo. Estos sistemas mediante la utilización de microorganismos, degradan la materia orgánica en ausencia de oxígeno, produciendo biogás, cuyos componentes principales son CO₂ (dióxido de carbono) y CH₄. Donde sólo el 10% de la materia orgánica degradada, en forma simultánea al tratamiento del vertido, es convertida en biomasa microbiana, debido al lento crecimiento de las poblaciones microbianas asociadas (bacterias anaeróbicas). Es decir, este tipo de procesos tienen la ventaja de producir una baja cantidad de lodo (< 20% en comparación con el tratamiento aeróbico), obteniendo una disminución en los costos de disposición final de

éstos residuos. Otras ventajas, basadas en el tratamiento anaeróbico son: la recuperación de energía mediante la obtención de metano (biogás); reducción de patógenos, vectores y malos olores; transformación de desechos orgánicos (purines) en fertilizante de alta calidad; no se requiere aireación en el proceso, lo que implica menores costos energéticos, de operación y mantenimiento del tratamiento; es capaz de degradar altas cargas orgánicas (en el caso del presente trabajo, la concentración de carga es de $36,80 \pm 2,05$ g DQO/L); además de la sustitución de energías convencionales por energías renovables como el biogás, como una buena alternativa a la matriz energética (Metcalf and Eddy, 1995; Sánchez *et al.*, 2005; Mosquera, 1998; Soto *et al.*, 1992; Montalvo y Guerrero, 2003; Peralta, 2005).

Para efectuar el tratamiento de un efluente mediante este proceso anaeróbico, es importante evaluar previamente la toxicidad metanogénica y la biodegradabilidad anaeróbica de éste. De esta manera se puede evaluar la existencia de sustancias inhibidoras, tóxicas o bactericidas, presentes en los efluentes sobre las poblaciones bacterianas, lo que ocasionaría una disminución en la producción de CH_4 (Soto *et al.*, 1992). En términos generales, un proceso de digestión anaeróbica se realiza a través de una serie de poblaciones de microorganismos, que participan en las diversas etapas de transformación de los compuestos constituyentes del efluente. Entre las bacterias anaeróbicas presentes en este proceso se destacan: bacterias hidrolíticas, fermentativas, acetogénicas, homoacetogénicas, metanogénicas acetoclastas, metanogénicas hidrogenófilas y sulfato-reductoras o nitrato reductoras. Dichos microorganismos actúan en alguna de las cuatro etapas del proceso anaerobio, que corresponden a la etapa de: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, obteniendo como producto final el CH_4 mediante la degradación de materia orgánica (Lema *et al.*, 1992). Sin embargo, la etapa limitante dentro de este proceso biológico corresponde a la metanogénesis, debido a que es la fase más lenta y donde las bacterias metanogénicas son más sensibles a ser inhibidas. En el purín de cerdo compuestos específicos tal como antibióticos y desinfectantes, podrían ocasionar la inhibición de estas bacterias, por la consiguiente disminución en la producción de CH_4 .

La toxicidad metanogénica depende particularmente de las condiciones experimentales de la actividad metanogénica y de las características de las aguas residuales (Vidal y Diez, 2005; Field *et al.*, 1988). El efluente de purín de cerdo se caracteriza por la presencia de varias sustancias tóxicas, por ejemplo: amoníaco (NH₃), metales pesados (Zn y Cu), antibióticos y desinfectantes, entre otros, los cuales pueden actuar de forma letal inhibiendo el proceso de las bacterias metanogénicas (Choi, 2007; An *et al.*, 2007; Montalvo y Guerrero, 2003).

Los antibióticos encontrados en efluente de purín de cerdo son principalmente: clortetraciclina sulfatiazol, tilosina sulfametacina, clortetraciclina, bacitracina, oxitetraciclina, lincomicina, tilosina y oleandomicina. Siendo los antibióticos con mayor concentración, la clortetraciclina sulfatiazol y tilosina sulfametacina con valores de 133,0 y 89,0 g/L respectivamente (Chio, 2007). El efecto principal ocasionado por estos compuestos, es la inhibición en el proceso de nitrificación y la actividad bacteriana del sistema anaerobio (Choi, 2007). La toxicidad de cualquiera de estos antibióticos dependerá, fundamentalmente, de la concentración en que se encuentren en el agua residual, existiendo un rango de concentración inhibitoria para el proceso anaerobio, que para el caso de los antibióticos se encuentra entre 1,0 y 100,0 mg/L (Montalvo y Guerrero, 2003). Pruebas de toxicidad aguda experimentadas por Park y Choi (2008), señalan que la mayoría de los antibióticos poseen un 50% de inhibición sobre la bacteria *V. fischeri*, especialmente la clortetraciclina y oxitetraciclina, las cuales poseen valores de concentraciones efectivas que producen un 50% de inhibición (IC₅₀) de 13,0 y 87,0 mg/L respectivamente. Otras pruebas de toxicidad aguda o crónica realizadas sobre especies como algas, invertebrados y peces, tienen como resultados, que compuestos como la oxitetraciclina y trimetoprim, son los antibióticos que afectan más a algas e invertebrados, mientras que para peces son clortetraciclina y sulfametoxazol. Por tanto, es necesario realizar ensayos de toxicidad metanogénica para analizar los efectos tóxicos de dichos compuestos.

La actividad metanogénica, como señalamos anteriormente, depende de las condiciones experimentales, tales como: i) temperatura, la cual debe ser igual a la mantenida en la

planta de tratamiento del que proviene el lodo; ii) concentración de sustrato (AGV) y lodo. En este punto, es importante considerar la concentración de AGV, ya que si esta es demasiado alta se produce toxicidad por el mismo sustrato (AGV) o por el Na^+ introducido para su neutralización. Cuando en el ensayo la concentración de lodo es alta y la de sustrato es baja, la constante de solubilidad (K_s) aparente será mayor que la correspondiente a un cultivo puro. En estos casos, la concentración efectiva de sustrato disponible por las bacterias puede ser muy inferior a la concentración de sustrato en el medio debido a limitaciones de transporte a través de biopelículas o del lecho de lodo. En los ensayos estáticos el lodo sedimenta formando una capa que limita la difusión del sustrato. Otra condición experimental es iii) la adaptación al sustrato. Es decir, durante la primera alimentación el lodo se adapta a la degradación del sustrato en este caso AGV. La actividad será normalmente mayor en la segunda alimentación, en comparación con la primera. Luego de adaptado el lodo es posible observar un pequeño incremento en la actividad en alimentaciones consecutivas debido al crecimiento de nuevas bacterias. Por último otro factor es iv) el pH, ya que la disolución de AGV debe neutralizarse con NaOH a $\text{pH}=7$ para evitar que la metanogénesis se vea inhibida debido al bajo pH y a la presencia de altas concentraciones de AGV no disociados (Field *et al.*, 1988).

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la toxicidad metanogénica de un purín de cerdo y compuestos específicos mediante ensayos discontinuos. Para evaluar la toxicidad metanogénica se determinarán los efectos tóxicos generados por el efluente de purín de cerdo crudo, para luego evaluar compuestos específicos como la clortetraciclina, un antibiótico presente en estos residuos que es utilizado durante el proceso de crecimiento y que podría inhibir las bacterias metanogénicas, mediante la determinación de la concentración efectiva que produce un 50% de inhibición de las bacterias metanogénicas.

1.1 Hipótesis.

Como hipótesis de trabajo, se plantea que un vertido de purín de cerdo presenta toxicidad a un consorcio de bacterias metanogénicas y que dicha toxicidad puede ser explicada parcialmente a través de compuestos específicos (antibióticos) presentes en el vertido.

1.2 Objetivos.

1.2.1 Objetivo general.

Evaluar la toxicidad metanogénica de un efluente de purín de cerdo.

1.2.2 Objetivos específicos.

- Determinar la caracterización física-química de un efluente de purín de cerdo.
- Evaluar la toxicidad metanogénica de un purín de cerdo expuesto a un consorcio bacteriano anaeróbico, mediante ensayos en discontinuo.
- Evaluar el efecto tóxico de compuestos específicos como la clortetraciclina, sobre la actividad de bacterias metanogénicas, mediante ensayos en discontinuo.
- Determinar la concentración efectiva, cuando el efluente y compuestos específicos producen un 50% de inhibición a las bacterias metanogénica.

CAPÍTULO II: ANTECEDENTES DE LA INSTITUCIÓN.

2. DESCRIPCIÓN GENERAL.

El Centro de Investigación y Formación en Ciencias Ambientales, Centro EULA-Chile, creado por la Universidad de Concepción con el aporte de la cooperación italiana, en el año 1990 (Proyecto EULA-Chile, "Gestión integrada de la cuenca del río Bio bío y su área costera marina adyacente", 1990-1993), es una unidad académica interdisciplinaria enfocada a la investigación, formación, extensión y asistencia técnica en ciencias ambientales.

Los objetivos generales del Centro EULA-Chile son:

- Desarrollar y coordinar investigaciones en ciencias ambientales, particularmente en gestión ambiental de recursos naturales y en planificación territorial, considerando la gestión integrada de cuencas hidrográficas y la gestión integrada de la zona costera como áreas de mayor atención.
- Fomentar y ejecutar programas formativos a nivel de postgrado (Diplomado, Magíster y Doctorado) en ciencias ambientales, gestión ambiental de recursos naturales y planificación del territorio.
- Promover y organizar la transferencia de conocimientos y la prestación de servicios por medio de la capacitación profesional, la divulgación de resultados de investigación científica, la educación ambiental y el fomento de relaciones estables con organismos gubernamentales nacionales, regionales, del sector productivo, público y privado.
- Fomentar el desarrollo de la colaboración científica interdisciplinaria con otras universidades chilenas y extranjeras en el marco de la cooperación interuniversitaria.

2.1 Estructura institucional y unidades académicas.

La estructura y organización de la unidad académica, esta definida en los estatutos del Centro y por el cual se rige y constituye su orgánica institucional. Así, el rector de la Universidad de Concepción, es quien designa al director del centro, quien nombra a su vez a los subdirectores, coordinadores de áreas y jefes de programas de formación. El director una o dos veces al año solicita reuniones al consejo consultivo, integrado por Decanos y Directores de áreas de la universidad; en esta instancia se presentan, discuten y se solicitan opiniones sobre los planes, programas y actividades a ejecutar por el Centro.

Las unidades de investigación presentes en este centro son:

- Unidad de Sistemas Acuáticos.
- Unidad de Planificación Territorial.
- Unidad de Ingeniería Ambiental

Mediante el trabajo de las unidades de investigación se ha generado un vasto conocimiento ambiental de la problemática regional y nacional, que ha favorecido notablemente el desarrollo de numerosas investigaciones y actividades de transferencia tecnológica, tanto básicas como aplicadas.

2.1.1 Unidad de Sistemas Acuáticos.

La Unidad de Investigación en Sistemas Acuáticos realiza investigación relativa a los efectos que las diversas actividades humanas generan sobre los componentes bióticos y abióticos y sus respectivas interacciones en los ecosistemas acuáticos continentales y marinos. Especial interés se brinda a actividades o acciones que afectan sistemas frágiles o singulares, en los que se utiliza un enfoque sistemático, integrando los diversos componentes que definen la estructura y funcionamiento de los sistemas acuáticos, promoviendo una gestión sustentable de los recursos acuáticos. Este aspecto se apoya con técnicas y métodos que permitan reconocer respuestas desde el ámbito molecular hasta el

ecosistémico, teniendo como referentes espaciales la cuenca hidrográfica y el borde marino costero.

2.1.2 Unidad de Planificación Territorial.

La investigación de esta unidad esta orientada al estudio y comprensión de los procesos de ocupación territorial en el marco del desarrollo sustentable, con el objetivo de fomentar metodologías de planificación territorial, incorporando conceptos como ecosistemas urbanos, calidad de vida y participación ciudadana. Este enfoque implica abordar la investigación en forma sistemática e interdisciplinaria con el aporte de Arquitectos, Geógrafos, Sociólogos, Historiadores, Economistas, Biólogos e ingenieros, en las áreas del desarrollo urbano regional, procesos demográficos y sociales, desarrollo rural e indígena, paisaje y entorno urbano, segregación y pobreza, cultura e identidad local.

2.1.3 Unidad de Ingeniería Ambiental.

Esta unidad desarrolla investigación en temas relativos a diferentes áreas de interés relacionadas con la actividad humana, específicamente industrial, y sus efectos en los ecosistemas. Destacan líneas específicas de investigación en torno al manejo, gestión y biorremediación de residuos industriales (líquidos y sólidos) y sitios contaminados, calidad del aire y contaminación atmosférica, utilización sustentable de energías fósiles y renovables y gestión ambiental. La Unidad tiene como misión fundamental identificar y cuantificar los aspectos e impactos ambientales de la actividad humana, proyectos industriales e infraestructura civil, asociados al uso de recursos naturales, a la generación de desechos y a la intervención directa sobre el entorno, proponiendo las acciones de prevención, corrección, mitigación y/o remediación correspondientes.

2.2 Laboratorios del Centro EULA-Chile.

Las dependencias del Centro de Ciencias Ambientales EULA-Chile se sitúan, en el campus de la Universidad de Concepción, en cuatro edificios que abarcan alrededor de 3000m² de superficie. Con el fin de facilitar la coordinación y el desarrollo de las actividades propias del Centro, la investigación esta apoyada por la existencia de laboratorios que permiten enfrentar y cumplir los desafíos y exigencias de las distintas áreas involucradas en la problemática ambiental.

Los laboratorios de investigación cuentan con un profesional responsable y técnicos de laboratorio con formación especializada y de tiempo completo. Estos laboratorios son:

2.2.1 Biología Ambiental.

El personal técnico y científico especializado en el estudio de ecosistemas acuáticos, junto con un completo equipamiento de laboratorio y de terreno, permiten al laboratorio de biología ambiental desarrollar docencia e investigación en ciencia básica y aplicada en el ámbito de los recursos acuáticos continentales y marinos.

Este laboratorio, con sus secciones de: biomarcadores bioquímicos, bioindicadores ecológicos, bioensayos de toxicidad, microbiología, sedimentología, morfometría, hidrodinámica y modulación de sistemas acuáticos, tiene implementada todas las técnicas analíticas necesarias para el estudio de los componentes y procesos básicos existentes en estos ecosistemas.

2.2.2 Informática y Geomática.

Realiza investigación y asistencia técnica en dos importantes áreas de la computación y la informática aplicada: el procesamiento digital de imágenes y la aplicación de sistemas de

información geográfica, ambas, tecnologías de última generación ampliamente usadas en el análisis y modulación de procesos naturales y socioeconómicos en un área geográfica determinada.

2.2.3 Meteorología y Contaminación Atmosférica.

El laboratorio cuenta con diez estaciones meteorológicas equipadas para la recopilación digital de información en terreno. Además, cuenta con equipos para las mediciones de ruido y material particulado respirable PM10, los que cumplen con los requisitos básicos de la normativa vigente.

El laboratorio también dispone de instrumentos que le permiten conocer a través de los métodos estándar a nivel mundial, de las emisiones de dióxido de azufre y monóxido de carbono desde fuentes fijas (chimeneas), información indispensable en el estudio de la calidad del aire. El laboratorio también está capacitado para analizar y modelar el impacto antropogénico sobre la calidad del aire, basado en los más rigurosos métodos y herramientas.

2.2.4 Química Ambiental.

La estructura y funcionamiento del laboratorio, le permiten cumplir los requerimientos de docencia, investigación y asistencia técnica en temas ambientales. Está organizado en cuatro secciones: volumetría/gravimetría, espectrofotometría de absorción molecular, espectrofotometría de absorción atómica y cromatografía. Cada sección cuenta con personal calificado y en continuo perfeccionamiento, apoyado con instrumentación moderna que permite obtener una caracterización analítica acorde a un programa de aseguramiento de calidad. La participación en ejercicios a nivel nacional como internacional, resguardan la calidad de los datos analíticos.

Este laboratorio posee los siguientes equipamientos:

- Espectrofotómetro de absorción atómica Mod. 3110 (Accesorios: Autosampler As 90; Sistema de amalgama para Hg; FIAS 400)
- Espectrofotómetro de absorción atómica Mod. 1100 B (Accesorios: Autosampler As 70; HGA 700)
- Cromatógrafo de gases CARLO ERBA Serie Mega Mod. 5160 MS, Detector FID
- Cromatógrafo de gases CARLO ERBA Serie Vega Mod 6000, Detector ECD
- Cromatógrafo de gases PERKIN ELMER Autosystem, Detector ECD y NPD
- Turbidímetro HACH Ratio/XR

2.2.5 Laboratorio de Biotecnología Ambiental.

Este laboratorio tiene como principal objetivo desarrollar investigaciones, aplicadas y dirigidas a resolver problemas de contaminación de residuos líquidos, a través de la biotecnología y tecnologías ambientales alternativas.

Se encuentra constituido por un Investigador responsable de los proyectos, un Químico Analista encargado del trabajo y puestas en marchas de equipos y técnicas analíticas en el laboratorio. Además alumnos de pre y post-grado, los cuales desarrollan sus trabajos de titulación, de fin de carrera y de investigaciones de doctorado.

El laboratorio en cuestión cuenta con el equipamiento necesario para desarrollar la investigación antes señalada. Al mismo tiempo, se trabaja en cooperación con otros Grupos de Investigación a Nivel nacional e internacional. A nivel nacional trabaja en conjunto con laboratorios de investigación de la misma universidad (Departamento de microbiología, laboratorio de recursos renovables), y de otras universidades, como la Universidad de la Frontera (UFRO), entre otras.

Este laboratorio cuenta con 3 laboratorios más, los cuales son:

- **Laboratorio para análisis físico-químico.** Material de laboratorio y montaje adecuado para realizar experimentación aeróbica y anaeróbica, cuenta con reactores de tipo lodos activados, lagunas aeróbicas y reactores anaeróbicos tipo filtro y UASB. Además se cuenta con baños hemostático de temperatura controlada con recirculación (Julabo y Memmert), agitador orbital (LAB-Line 3527-1), balanza analítica (Precisa) y granataria (Scaltec), reactor de DQO con control de temperatura y tiempo (HACH/001200008338), celda de ultrafiltración (Cole-parmer/ ϕ :76mm, cap:450 ml). Refrigeradores, temporizadores, agitadores magnéticos con control de temperatura (Fisatom 735-A, 144286), centrifuga, entre otros.
- **Laboratorio para biosensores.** Este laboratorio cuenta con equipamiento necesario para trabajar con biosensores, esto es: Lector de placas EL x 800, Bio-Tex, para diagnóstico in Vitro (199757), con filtros específicos de longitud de onda de trabajo 570 y 630 nm, con conector a impresora y/o computador. Impresora de punto Panasonic modelo KX-P1695. Multipipetas c/puntas y canales de -8/ -12 (20-200uL) Brand, modelo 703610, pipetas de embolo automática (25-250uL/Brand/704176; 0,5-5,0ml/Brand/08Z3904; 100-1000uL/Brand/09C1030; 100-1000UI/Socores; 10-100 uL/Brand/09x1593). Campana con sistema UV (60x60x140cm), refrigerador Electrolux modelo Double DC360, cámara de flujo laminar Micsonix Modelo PCR 6, Estufa incubadora Thermo Areus modelo B6 (72 L). El laboratorio además, dispone de servicios generales de preparación de reactivos, balanzas analíticas (Precisa), agitadores magnéticos con control de temperatura (Fisatom 735-A 144286), sistema de filtración (Advantec MFS, INC) para la realización de los análisis físico-químicos. Además, se dispone de material fungible y vidrio apropiados para los análisis de materia orgánica.
- **Planta Piloto-Invernadero.** En que se pueden realizar montajes a escala piloto para trabajo con sistemas biológicos y plantas.

2.3 Asistencia Técnica y Prestación de Servicios.

El Centro EULA-CHILE cuenta con un equipo propio de 45 profesionales a tiempo completo, de carácter multidisciplinario, con grados académicos obtenidos en el país y el extranjero, con una amplia experiencia docente de investigación aplicada a diversas áreas del medio ambiente. Este es apoyado por un equipo administrativo y técnico del laboratorio. Este conjunto asociado a la disponibilidad de una infraestructura de laboratorios y equipos en terreno, de amplio espectro y tecnología, le permiten ofrecer a instituciones y empresas del área pública y privada, asesorías integrales en los campos de la docencia, capacitación y asistencia técnica medioambiental. Además, el Centro EULA opera integrado a los diversos laboratorios y áreas de servicios de las facultades de la Universidad de Concepción, a los cuales puede derivar servicios y análisis, potenciando significativamente sus áreas de acción y consultarías a la comunidad.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.

3. METODOLOGÍA DE TRABAJO.

3.1 Efluente.

El efluente de estudio corresponde a la fase líquida de purín de cerdo proveniente de un plantel de engorda de cerdos (“Fundo San Guillermo” de propiedad de Sucesión Salvador Yanine Abadi). El efluente fue extraído a la salida del tratamiento primario. Este efluente fue transportado y almacenado en bidones de 50 L y refrigerado a 4°C en oscuridad, para su mantenimiento y posterior caracterización físico-químico y uso en laboratorio.

3.2 Inóculo.

El inóculo empleado para los distintos ensayos, provienen de la planta de tratamiento de agua residual urbana Bío-Bío de ESSBIO, el cual fue caracterizado en relación a concentración de sólidos (sólidos totales, ST y sólidos volátiles, SV).

3.3 Ensayos de toxicidad metanogénica.

El objetivo de este ensayo, fue evaluar la toxicidad del efluente de purín de cerdo en la población de bacterias metanogénicas mediante la determinación del porcentaje de actividad metanogénica (AM%) que pierde un lodo en presencia del efluente de purín de cerdo y de compuestos específicos como el antibiótico clortetraciclina, presente en este tipo de residuos, expresados en la concentración de inhibición al 50% de las bacterias metanogénicas (CI 50%).

3.3.1 Materiales.

Los materiales y reactivos utilizados para este ensayo se muestran en las Tablas I, II y III, respectivamente.

Tabla I. Materiales utilizados durante el ensayo.

Material	Cantidad	Material	Cantidad
Botellas ámbar de 126 mL	12	Vasos de precipitado 250 mL	12
Probetas de 50 mL	12	Tubos de ensayo con tapa rosca	13
Frascos de Mariotte	12	Jeringa de 5 mL	1
Frascos de depósito antirretorno	12	Jeringa de 10 mL	1
Conexión de teflón	1	Soporte para membranas Wathman	1
Pinzas para soporte de manguera	12	Membranas wathman de 0.45 μ m de poro	1
Pipeta automática de 1 mL	1	Matraces aforado volumétricos de 50mL	3
Pipeta automática de 5 mL	1	Matraces aforado volumétricos de 100mL	5
Micropipeta de 100 μ L	1	Matraces Erlenmeyer de 125 mL	6
Micropipeta de 1000 μ L	1	Cápsulas	2
Pipeta graduada volumétrica de 5 mL	1	Cubetas de vidrio	2
Pipeta graduada volumétrica de 10 mL	1	Puntas de transfer	varias
Pipeta pasteur	2		

Tabla II. Equipamiento utilizado durante el ensayo.

EQUIPAMIENTOS	
Agitador orbital (LAB-Line 3527-1)	Estufa 0 - 200°C, Memmert
Balance analítica, Precisa XB 120 A	pHmetro, WTW Inolab, pH level 1
Mufla	Baño termostático, Julabo y Equilab
Reactor de DQO (HACH/001200008338)	Espectrofotómetro, Genesys 10 UV
Conductivímetro	Digestor
Cámara fría	Temporizadores

Tabla III. Reactivos químicos usados durante el ensayo.

SOLUCIONES (marca comercial)	
Ácido acético (C ₂), Merck	NH ₄ Cl, Equilab
Ácido propiónico (C ₃), Merck	KH ₂ PO ₄ , Merck
Ácido butírico (C ₄), Merck	MgSO ₄ , Merck
NaOH 20 g/L	CaCl ₂ , Equilab
NaHCO ₃ , Fluka	Na ₂ S·9H ₂ O, Merck
HCl, Fisher	NaOH 0,1 N y 0,5 N
N ₂ (g)	H ₂ SO ₄ , Fisher
K ₂ Cr ₂ O ₇ , Scharlau	AgSO ₄ , Sudelab

Las soluciones preparadas para este ensayo, fueron:

- Solución de nutrientes
- Solución sulfuro (Na₂S·9H₂O)
- Soluciones para el ajuste de pH (NaOH, HCl)
- Solución digestora K₂Cr₂O₇

- Solución catalítica AgSO_4
- Solución H_2SO_4
- Solución del Ácidos Grasos Volátiles (AGV)
- Solución de NaOH 25g/L

La preparación de cada una de estas soluciones es resumida en la Tabla IV.

Tabla IV. Soluciones de nutrientes, de sulfuro y de ajuste de pH.

Reactivo	Masa	Volumen de solución	Cantidad adicionada al reactor de 100 mL
Solución de nutrientes			
NH_4Cl	2,8 g		
K_2HPO_4	2,5 g		
MgSO_4	0,1 g	100 mL	10 mL
CaCl_2	0,076 g		
NaHCO_3	4,0 g		
Solución de sulfuro			
$\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$	1,0 g	100 mL	1 mL
Solución de ajuste de pH			
NaOH (5 mol/L)	20,0 g	100 mL	Gotas
HCl (5 mol/L)	-	42 mL en 100 mL	Gotas

3.3.2 Procedimiento.

Los ensayos de toxicidad metanogénica, fueron realizados en equipos de 126 mL de volumen total y 100 mL de volumen útil (Figura 1). Cada reactor fue conectado a un frasco Mariotte de 250 mL de volumen, relleno de una solución alcalina (25 g NaOH /L) que

retiene el CO_2 formado durante el proceso, generando una medida directa y continua del CH_4 producido. Las concentraciones del inóculo evaluadas fueron 2,0, 5,0 y 10,0 g SSV/L, correspondientes a biomasa floculante de lodo anaeróbico, y 2,0 g SSV/L de biomasa granular, el cual fue transferido a las botellas que contienen como sustrato una mezcla de AGV (2,0 g/L ac. acético, 0,5 g/L ac. propiónico, y 0,5 g/L ac. butírico) con 3,8 g DQO/L. Las condiciones anaeróbicas del medio, fueron aseguradas añadiendo 100 mg $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ /L, mientras que el pH inicial fue ajustado a $7,00 \pm 0,05$ añadiendo gotas de HCl o NaOH (0,5 N, 1,0 N, 5,0 N y 10,0 N). Cada botella fue sellada y burbujeadada con una mezcla de gas N_2/CO_2 (70%:30%, respectivamente) durante 2 minutos, para mantener las condiciones anaeróbicas (Soto *et al.*, 1993).

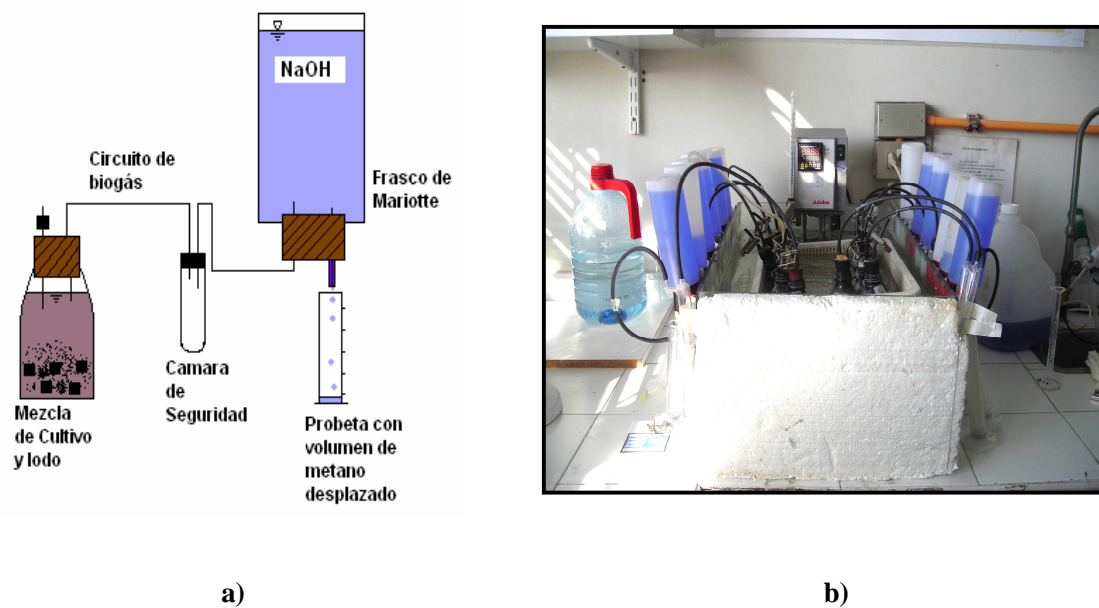


Figura 1. Ensayo de toxicidad metanogénica: a) esquema del montaje y b) fotografía del montaje.

Cada ensayo consistió en tres alimentaciones sucesivas. El lodo fue sometido a una primera alimentación de exposición con diferentes diluciones del efluente de purín cerdo (0, 5, 10, 25, 50 y 100%), una mezcla de AGV de 3,8 g DQO/L, solución de nutrientes y sulfuros, como fueron señalados en el ensayo de actividad metanogénica. Cada dilución evaluada fue realizada en duplicado. Una vez agotado el sustrato metanizable (AGV), se procedió a

decantar el medio, con cuidado de no perder lodo, el cual fue sometido a una segunda alimentación que contenía nuevamente sustrato (AGV) y efluente de purín de cerdo, en las mismas concentraciones. Agotado el sustrato metanizable, se procedió a la recuperación del lodo, sometiéndolo a una tercera alimentación, que incluye sólo AGV como sustrato. Cada alimentación tuvo una duración aproximada de 9 días. Al final de cada alimentación, el lodo de cada frasco fue decantado, y el medio líquido extraído para su posterior análisis físico-químico (medición de DQO, alcalinidad y conductividad eléctrica) (Vidal y Diez, 2005)

3.3.3 Montaje de ensayos.

En el ensayo 1, a una concentración de 2,0 g SSV/L de biomasa floculenta, fueron evaluados distintas diluciones del efluente de purín de cerdo crudo (0, 5, 10, 25, 50 y 100%). En la Tabla V, se detallan los contenidos de cada botella para las primeras 2 alimentaciones del ensayo 1.

Tabla V. Contenidos y porcentajes de muestras de efluente en cada una de las botellas para la primera y segunda alimentación del ensayo 1.

Concentración del efluente * (g DQO/L)	Lodo (mL)	Nutrientes (mL)	AGV (mL)	Na ₂ S (mL)	Efluente (mL)	Agua (mL)	Total (mL)
0	15	10	2	1	-	72	100
18,23	15	10	2	1	72	-	100
10,85	15	10	2	1	36	36	100
7,16	15	10	2	1	18	54	100
4,94	15	10	2	1	7,2	64,8	100
4,20	15	10	2	1	3,6	68,4	100

(*) Cada concentración en duplicado.

En el ensayo 2, a una concentración de 5,0 g SSV/L de biomasa floculenta, fueron evaluados distintas diluciones del efluente de purín de cerdo crudo (0, 10, 50 y 100%). En la Tabla VI, se detallan los contenidos de cada botella para las primeras 2 alimentaciones del ensayo 2.

Tabla VI. Contenidos y porcentajes de muestras de efluente en cada una de las botellas para la primera y segunda alimentación del ensayo 2.

Concentración del efluente * (g DQO/L)	Lodo (mL)	Nutrientes (mL)	AGV (mL)	Na ₂ S (mL)	Efluente (mL)	Agua (mL)	Total (mL)
0	24,5	10	2	1	-	62,5	100
0	49	10	2	1	-	38	100
14,76	24,5	10	2	1	62,5	-	100
7,38	24,5	10	2	1	31,25	31,25	100
1,47	24,5	10	2	1	6,25	56,25	100

(*) Cada concentración en duplicado.

En el ensayo 3, a una concentración de 5,0 g SSV/L de biomasa floculenta, fueron evaluados distintas diluciones del efluente de purín de cerdo filtrado (0, 10, 50 y 100%). En la Tabla VII, se detallan los contenidos de cada botella para las primeras 2 alimentaciones del ensayo 3.

Tabla VII. Contenidos y porcentajes de muestras de efluente en cada una de las botellas para la primera y segunda alimentación del ensayo 3.

Concentración del efluente * (g DQO/L)	Lodo (mL)	Nutrientes (mL)	AGV (mL)	Na₂S (mL)	Efluente (mL)	Agua (mL)	Total (mL)
0	21	10	2	1	-	66	100
0	42	10	2	1	-	45	100
12,03	21	10	2	1	66	-	100
6,02	21	10	2	1	33	33	100
1,20	21	10	2	1	6,6	59,4	100

(*) Cada concentración en duplicado.

En el ensayo 4, se evaluó efluente de purín de cerdo crudo y filtrado (0, 50 y 100%), sobre una biomasa granular anaeróbica de concentración de 2,5 g SSV/L. En la Tabla VIII, se detallan los contenidos de cada botella para las primeras 2 alimentaciones del ensayo 4.

Tabla VIII. Contenidos y porcentajes de muestras de efluente en cada una de las botellas para la primera y segunda alimentación del ensayo 4 (c: crudo, f: filtrado).

Concentración del efluente * (g DQO/L)	Lodo (mL)	Nutrientes (mL)	AGV (mL)	Na₂S (mL)	Efluente (mL)	Agua (mL)	Agua (mL)
0	5,2	10	2	1	-	81,8	81,8
23,49 (c)	5,2	10	2	1	81,8	-	-
11,74 (c)	5,2	10	2	1	40,9	40,9	40,9
12,03 (f)	5,2	10	2	1	81,8	-	-
6,02 (f)	5,2	10	2	1	40,9	40,9	40,9

(*): Cada concentración en duplicado; (c): crudo; (f): filtrado.

3.3.4 Monitoreo del ensayo.

Para evaluar el comportamiento del ensayo, se realizaron monitoreos para la fase líquida y gaseosa. Para la fase líquida, se midieron parámetros como: alcalinidad, pH, DQO soluble, y conductividad. Mientras que para la fase gaseosa, se determinó la producción del CH₄ en el tiempo, mediante el método de desplazamiento de líquidos.

3.3.5 Cálculo y expresión de actividad metanogénica.

La actividad metanogénica es expresada como g DQO·g SSV⁻¹·d⁻¹ y calculada a partir de la velocidad máxima de producción de metano (dV_{CH₄}/dt), la cual es expresada como mL CH₄/d. Así, el modelo a utilizar para determinar el cálculo de la actividad metanogénica, de acuerdo a Field *et al.* (1988), es la siguiente:}

$$A_{c_{mCH_4}} \text{ (g DQO}_{CH_4} \text{ g SSV}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}) = (dV_{CH_4}/dt) / (X_0 V_R f_1) \quad (1)$$

Donde:

$A_{c_{mCH_4}}$: Actividad metanogénica (g DQO_{CH₄} g SSV⁻¹·d⁻¹)

V_{CH_4} : Producción acumulada de volumen de metano (mL)

t: Tiempo (día)

X_0 : Concentración inicial del inóculo (g SSV/L)

V_R : Volumen útil del reactor (L)

f_1 : Factor de conversión (g DQO·mL⁻¹CH₄)

El factor de conversión (f_1) representa el valor de DQO de la unidad de volumen de metano. Este factor depende de la temperatura y de la humedad del gas, por tanto si se considera una temperatura ambiente de 20° C, f_1 tiene un valor 385 g DQO por cada mL de CH₄ húmedo (Field *et al.*, 1988; Soto *et al.*, 1993).

3.3.6 Cálculo de la inhibición.

Para calcular la inhibición se debe determinar la actividad metanogénica del control, y de los distintos tratamientos. El porcentaje de actividad de cada tratamiento es en relación a la actividad del control, la cual es calculada de la siguiente manera:

$$\%ACT = (ACT_T / ACT_C) 100 \quad (2)$$

Donde:

%ACT: Actividad metanogénica en porcentaje

ACT_T: Actividad metanogénica de los tratamientos

ACT_C: Actividad metanogénica del control

Por tanto, para calcular el porcentaje de inhibición se aplica la siguiente expresión:

$$\%INHIB = 100 - \%ACT \quad (3)$$

Donde:

%INHIB: Inhibición en porcentaje

%ACT: Actividad metanogénica en porcentaje

La concentración de inhibición del 50% de las bacterias metanogénicas (CI 50%), se determina a partir de una representación gráfica de la tasa de producción de metano a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo. A partir de esta gráfica, se

extrapola el 50% del valor máximo de la tasa de producción, y se observa en el gráfico la correspondiente concentración del efluente en g DQO/L, la cual es el valor de IC 50%.

3.4 Métodos analíticos.

Para determinar las características física-químicas del efluente, se evaluaron distintos parámetros como: DQO (s: soluble y t: total), ST, SV, SST, SSV, N-NO₂⁻, SO₄⁻², Cl⁻ de acuerdo con los protocolos establecidos en Standard Methods (APHA, 1985). DBO₅ mediante método manométrico. Otros parámetros como COT, NT, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻ y PT mediante kit específicos de Spectroquant NOVA-60 de la Merck, cuyas metodologías se resumen en la Tabla IX. Parámetros como: pH, y conductividad eléctrica (CE) mediante electrodos (pHmetro: Hi Tech Instruments Modelo PHB-4, conectado a un medidor de pH/mV/°C; conductivímetro: Hi Tech Instruments Modelo DDB-303A). La alcalinidad (AT y AP), se determinó según lo establecido por Rozzi (1986), siendo la AI la diferencia entre la AT y AP, junto con la relación con los AGV (AI/AT: < 0,3-0,4).

Tabla IX. Métodos evaluado mediante Spectrocuant NOVA-60.

Parámetro	Código Merck	Rango (mg/L)	Método	Comentarios
N-NH₄⁺	1.14752.0001	0,010-3,00 (N-NH ₄ ⁺) 0,013-3,86 (NH ₄ ⁺)	Indophenol Blue	Análogo a EPA 350.1, APHA 4500-NH ₃ D, ISO 7150/1, DIN 38406 E ₅
NT	1.00613.0001	0,5-15,0 (mg N/L)	Koroleff digestion, 2,6-dimethylphenol	Digestión análoga a: DIN EN ISO 11905-1 H36, determinación análoga ISO 7890/1, DIN 38405 D ₉
N-NO₃⁻	1.14563.0001	0,5-25,0 (N-NO ₃ ⁻) 2,2-110,7 (NO ₃ ⁻)	2,6-Dimethylphenol	Análogo a: ISO 7890/1, DIN 38405 D ₉
PT	1.14729.0001	0,5-25,0 P-PO ₄ ⁻ 1,5-76,7 PO ₄ ⁻ 1,1-57,3 P ₂ O ₅	Phosphor-molybdenum blue	Análogo a EPA 365.2 + 3, APHA 4500-P E, DIN EN ISO 6878
COT	1.14378.0001	5,0-80,0	Indicador	-

Para el análisis de las muestras líquidas extraídas en cada alimentación, fue determinada la DQO soluble de la mezcla de reacción al inicio y final del procedimiento, con el fin de estimar el porcentaje de eliminación de AGV y del efluente. Para la obtención de la DQO inicial, se procedió a extraer 3 mL de alícuota del sobrenadante presente en cada reactor, para su posterior filtración mediante membranas Wathman de 0,45 µm de poro. Se realizaron diluciones, para luego tomar 2,5 mL de cada muestra, añadiendo 3,5 mL de solución catalítica y 1,5 mL de solución digestora, para ser incubados por 2 horas a 150°C, para ser leído posteriormente en espectrofotómetro a 660 nm (Figura 2) (APHA, 1985). Este mismo procedimiento, fue realizado para extraer muestras de DQO al final de cada alimentación.



Figura 2. Equipo espectrofotómetro.

Para evaluar los sólidos totales y en suspensión, fueron pesados/filtrados un volumen determinado de muestra, para luego ser secados en estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ (Figura 3), para luego su posterior calcinación en la mufla a 545°C (Mosquera, 1998).



a)



b)

Figura 3. a) Proceso de secado a 105°C (ST y SST);
y b) proceso de calcinación a 545°C (SV y SSV).

En relación al parámetro de alcalinidad (Figura 4), esta corresponden a una medida indicadora de estabilidad en digestores anaeróbicos (0,3-0,4) del buen funcionamiento del sistema. En el caso de la alcalinidad total (AT), esta equivale a la suma de la alcalinidad parcial (AP) y la alcalinidad intermedia (AI), donde AP está relacionada a la presencia del bicarbonato, y AI asociada a la presencia de AGV, en el sistema. En el caso de la AP, la muestra es valorada con ácido sulfúrico de concentración conocida hasta un pH de 5,75, para luego seguir la valoración hasta pH 4,3, correspondiente a la AT. De esta manera los resultados obtenidos son expresados como mg CaCO₃/L (Mosquera, 1998).

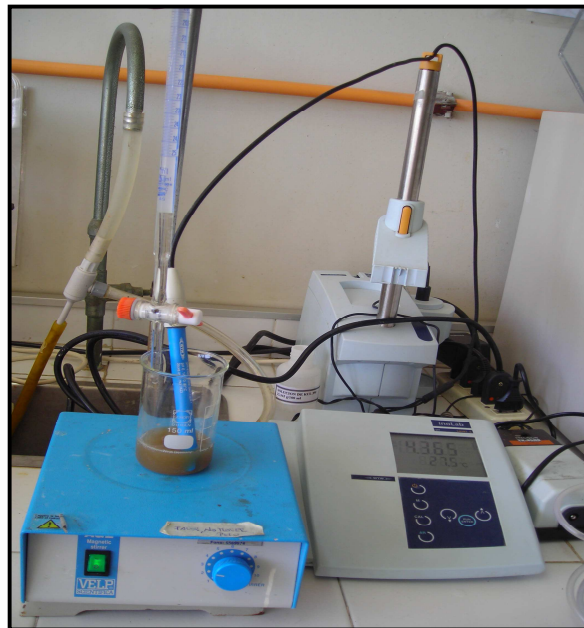


Figura 4. Determinación de AT y AP, mediante el uso de un agitador magnético y pH-metro.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS.

4. RESULTADOS.

4.1 Caracterizaciones del efluente de purín de cerdo.

En la Tabla X, se muestran los resultados obtenidos de la caracterización física-química del efluente de purín de cerdo. Encontrando altos valores en cuanto a sólidos (20,4 g ST/L y 14,6 g SV/L), materia orgánica (expresada como $DQO_{(T)}$: 36,8 g O_2 /L; $DQO_{(S)}$: 20,5 g O_2 /L; y DBO_5 : 2,6 g O_2 /L), y nutrientes (NT: 2083,3 mg N/L; $N-NH_4^+$: 1884,8 mg $N-NH_4^+$ /L; y PT: 178,5 mg P/L), corroborando con los valores reportado en literatura para este tipo de residuo.

Tabla X. Valores promedio y desviación estándar (D.S.) de 3 muestras de efluente de purín de cerdo extraído a la salida del tratamiento primario.

Parámetros	Unidades	Promedio \pm D.S.
Conductividad	mS/cm	9,27 \pm 0,50
pH	-	7,27 \pm 0,50
Alcal. Total	mg CaCO ₃ /L	11208,33 \pm 1188,05
Alcal. Parcial	mg CaCO ₃ /L	6750,00 \pm 3098,01
Alcal. Intermedia	mg CaCO ₃ /L	4458,33 \pm 1916,55
DQO _(T)	g/L	36,80 \pm 2,05
DQO _(s)	g/L	20,49 \pm 3,47
DBO ₅	g/L	2,55 \pm 0,47
COT	g/L	4,07 \pm 1,41
ST	g/L	20,42 \pm 2,90
SV	g/L	14,64 \pm 1,65
Masa seca	%	2,03 \pm 0,28
Humedad	%	97,97 \pm 0,28
N Total	mg N/L	2083,33 \pm 150,85
N-NH ₄ ⁺	mg N-NH ₄ ⁺ /L	1884,81 \pm 175,01
N-NO ₂ ⁻	mg N-NO ₂ ⁻ /L	3,81 \pm 1,94
N-NO ₃ ⁻	mg N-NO ₃ ⁻ /L	2,27 \pm 2,51
P total	mg P/L	178,52 \pm 69,24
Cl ⁻	mg/L	612,73 \pm 91,41

4.2 Ensayos de toxicidad metanogénica: purín de cerdo.

4.2.1 Producción de CH₄ en el tiempo.

La Figura 5, se muestra la producción de CH₄ durante la primera, segunda y tercera alimentación del primer ensayo de toxicidad metanogénica, utilizando una concentración de inóculo de 2 g SSV/L de lodo floculento, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo (0 - 0,73 - 1,47 - 3,69 - 7,38 y 14,78 g DQO/L), durante un periodo de 9 días aproximadamente.

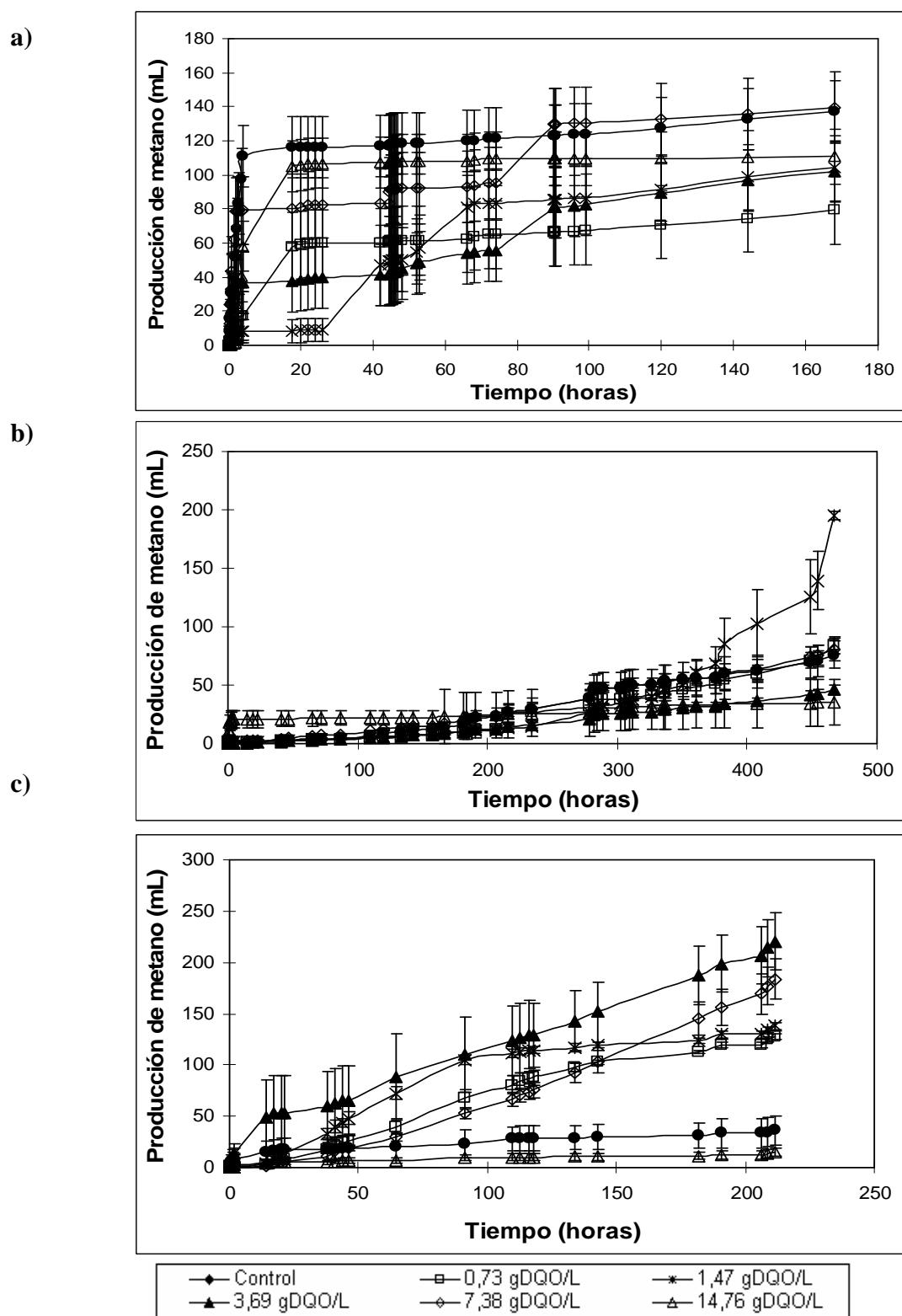


Figura 5. Producción de metano en el tiempo durante el primer ensayo. Alimentaciones: a) primera; b) segunda; y c) tercera.

La Figura 6, se muestra la producción de CH_4 durante la primera, segunda y tercera alimentación del segundo ensayo de toxicidad metanogénica, utilizando una concentración de inóculo de 5 g SSV/L de lodo floculento, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo (0 - 1,28 - 6,41 y 12,81 g DQO/L), durante un periodo de 9 días aproximadamente.

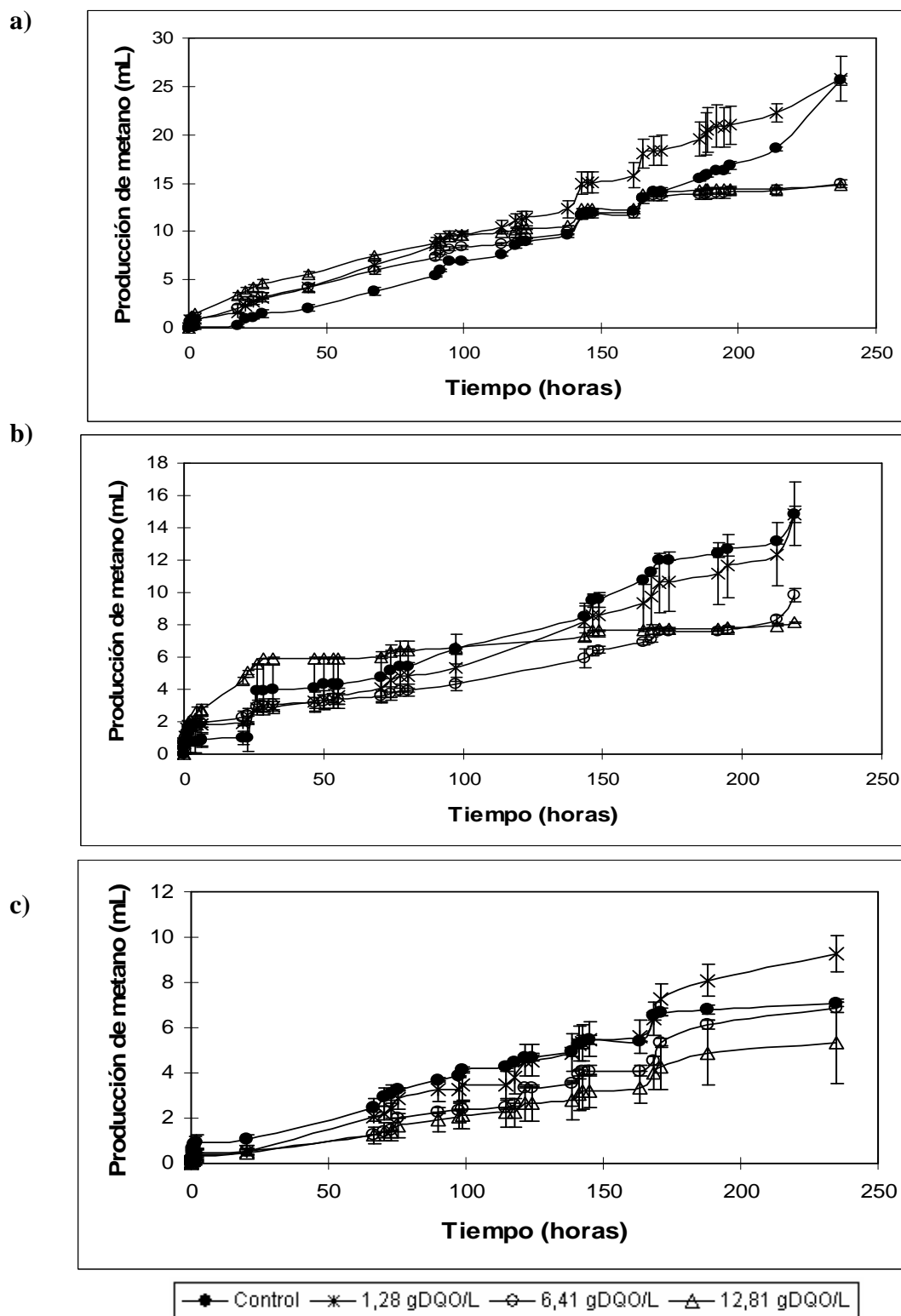


Figura 6. Producción de metano en el tiempo durante el segundo ensayo. Alimentaciones: a) primera; b) segunda; y c) tercera.

La Figura 7, se muestra la producción de CH_4 durante la primera, segunda y tercera alimentación del tercer ensayo de toxicidad metanogénica, utilizando una concentración de inóculo de 5 g SSV/L de lodo floculento, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo (0 - 1,20 - 6,02 y 12,03 g DQO/L), durante un periodo de 9 días aproximadamente.

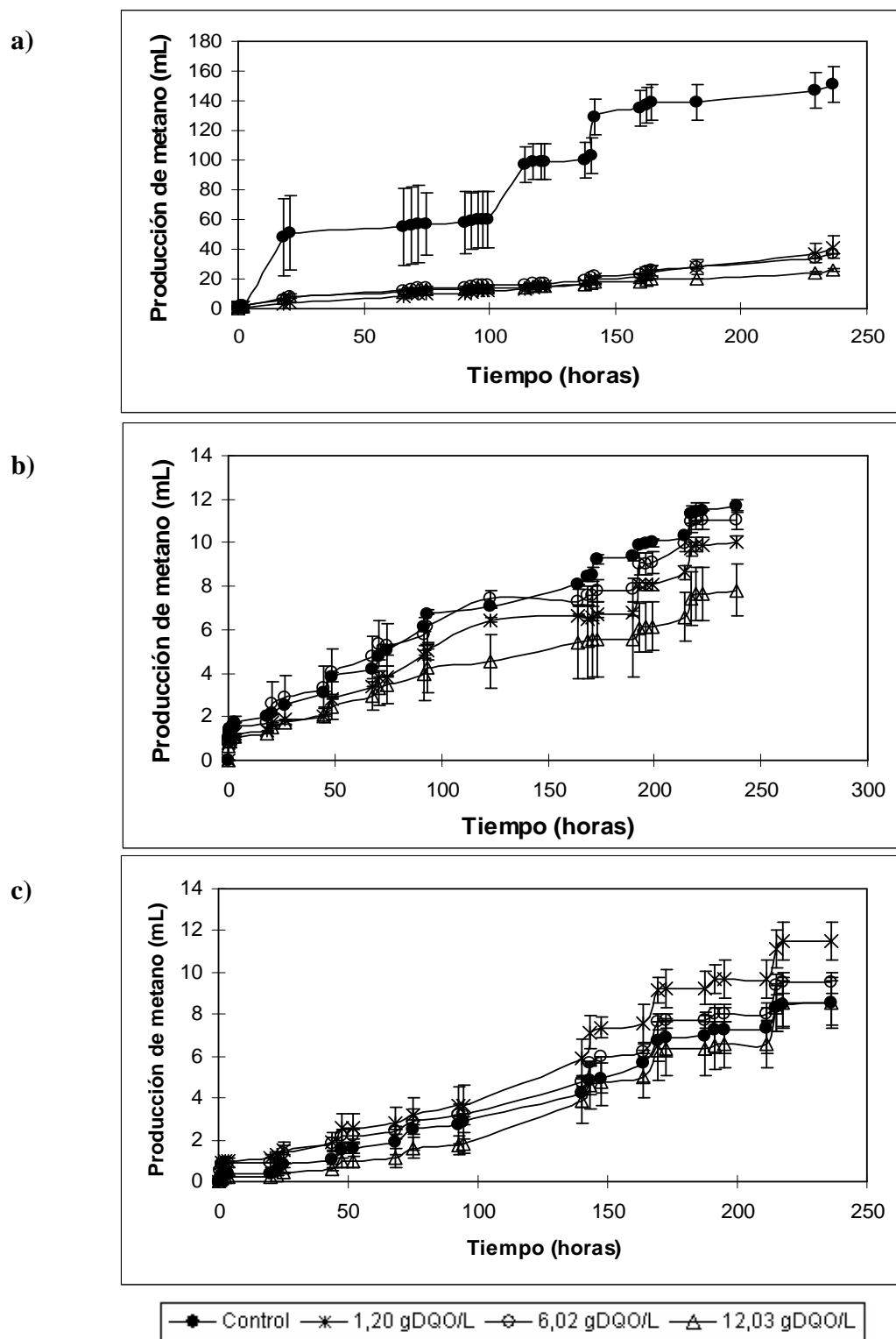


Figura 7. Producción de metano en el tiempo durante el tercer ensayo. Alimentaciones: a) primera; b) segunda; c) tercera.

La Figura 8, se muestra la producción de CH_4 durante la primera, segunda y tercera alimentación del cuarto ensayo de toxicidad metanogénica, utilizando una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de lodo granular, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo (0 - 6,02 - 11,74 - 12,03 y 23,49 g DQO/L), durante un periodo de 7 días aproximadamente.

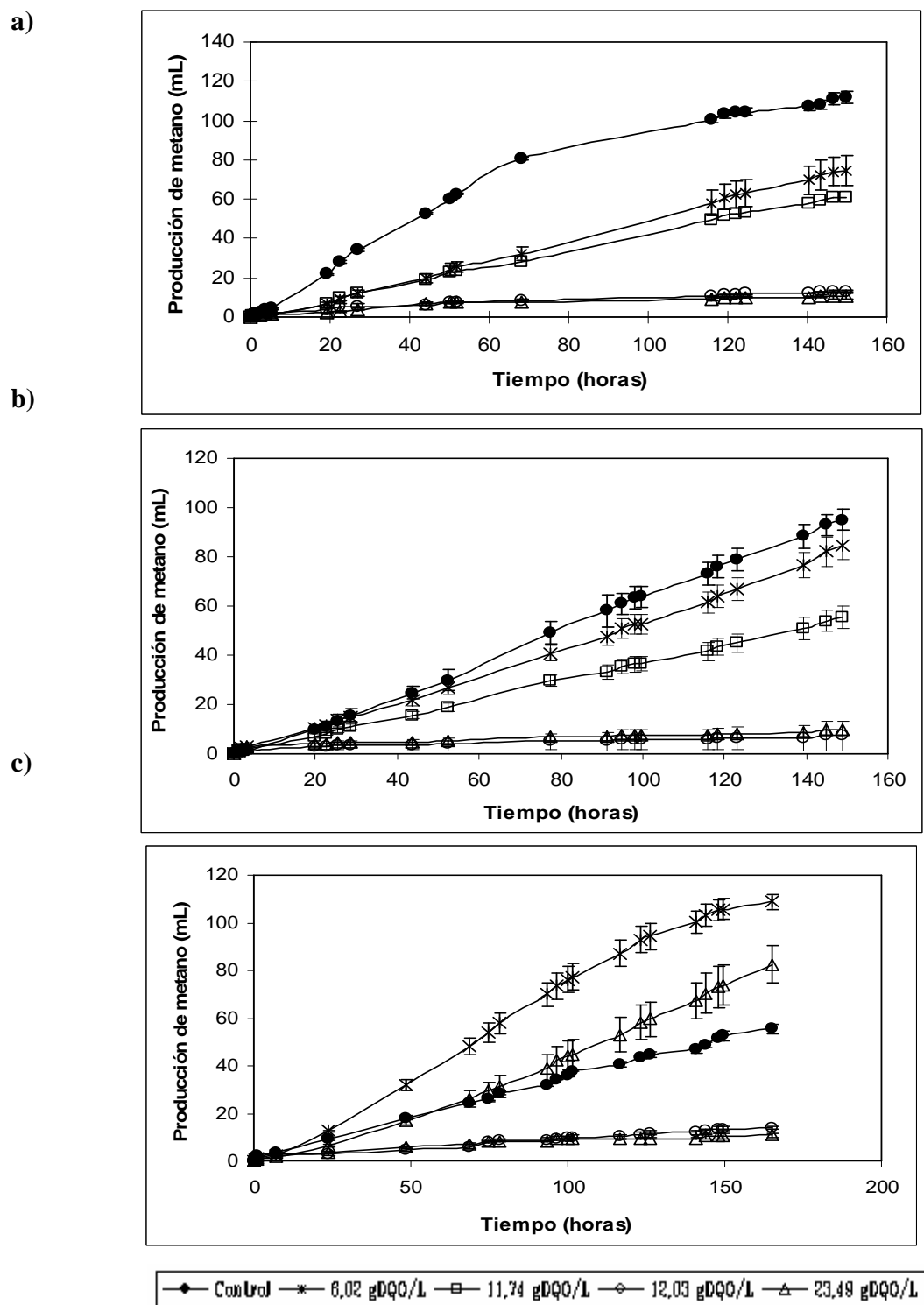


Figura 8. Producción de metano en el tiempo durante el cuarto ensayo. Alimentaciones: a) primera; b) segunda; c) tercera.

4.2.2 Actividad metanogénica.

La Figura 9 presenta una gráfica de barra correspondiente a las actividades metanogénicas expresadas en porcentaje de las distintas alimentaciones para el primer ensayo. Evaluando diluciones del efluente de purín de cerdo de 5, 10, 25, 50 y 100% (0,73 - 1,47 - 3,69 - 7,38 y 14,78 g DQO/L) a una concentración de inóculo de 2,0 g SSV/L de biomasa floclulenta anaeróbica.

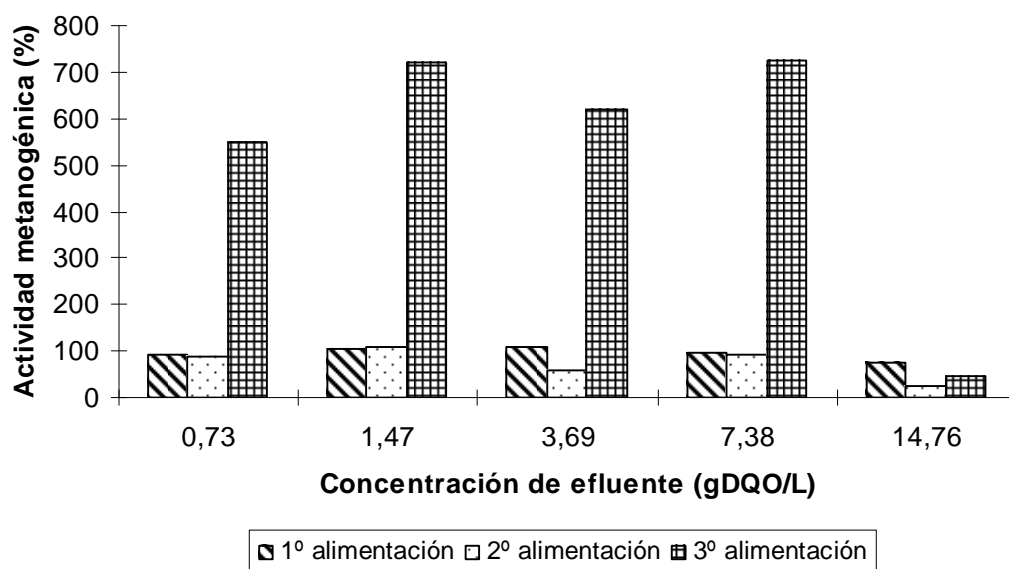


Figura 9. Actividad metanogénica (%) para el primer ensayo (2,0 g SSV/L) con efluente de purín de cerdo crudo (5, 10, 25, 50 y 100%).

La Figura 10 presenta actividad metanogénica obtenidas para la primera, segunda y tercera alimentación, correspondiente al segundo ensayo, con una concentración de inóculo de 5,0 g SSV/L y a concentraciones del efluente de purín de cerdo de 10, 50 y 100% (1,28 - 6,41 y 12,81 g DQO/L).

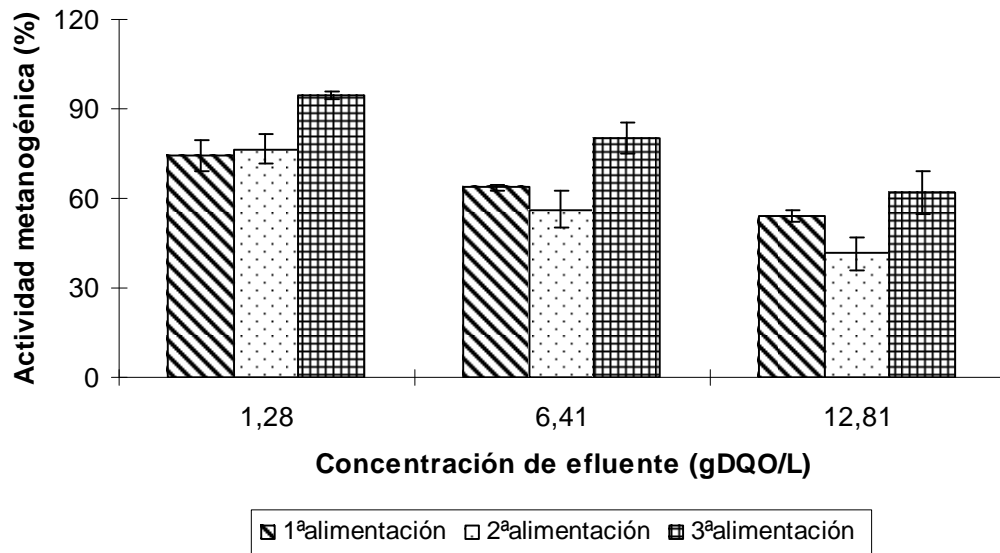


Figura 10. Actividad metanogénica (%) para el segundo ensayo (5,0 g SSV/L) con efluente de purín de cerdo crudo (0, 10, 50 y 100%).

En la Figura 11, se presentan los resultados obtenidos para la actividad metanogénica de las distintas alimentaciones del tercer ensayo, correspondiente a una concentración de inóculo de 5,0 g SSV/L y distintas diluciones del efluente de purín de cerdo filtrado (10, 50 y 100%, porcentajes correspondientes a 1,20 - 6,02 - y 12,03 g DQO/L).

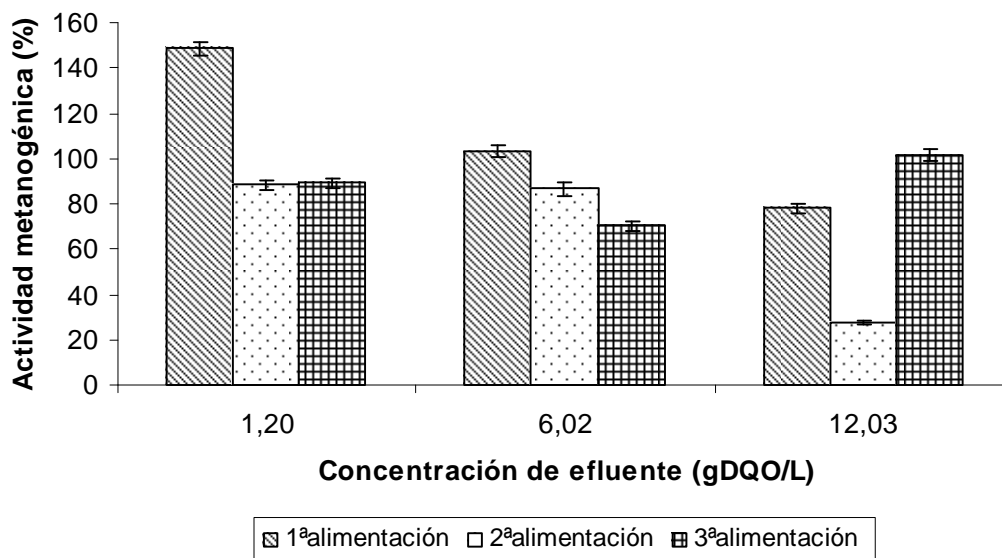


Figura 11. Actividad metanogénica (%) para el tercer ensayo (5,0 g SSV/L) con efluente de purín de cerdo filtrado (0, 10, 50 y 100%).

La Figura 12, muestra las distintas actividades metanogénicas (%) del cuarto ensayo, considerando una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de biomasa granular y evaluando distintas diluciones (50 y 100%, que corresponden a 6,02 - 11,75 y 12,03 - 23.49 g DQO/L) de efluente de purín de cerdo filtrado y crudo.

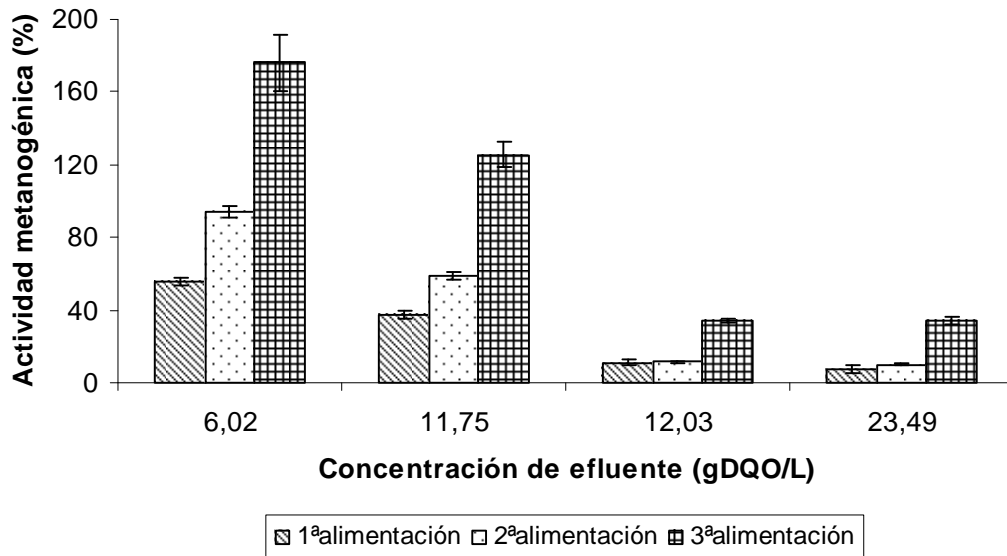


Figura 12. Actividad metanogénica (%) para el cuarto ensayo (2,5 g SSV/L) con efluente de purín de cerdo crudo y filtrado (0, 50 y 100%).

4.2.3 Eficiencia de eliminación (%).

En la Figura 13, se presenta las eficiencias de eliminación de materia orgánica correspondientes al primer ensayo para cada una de las alimentaciones, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo crudo.

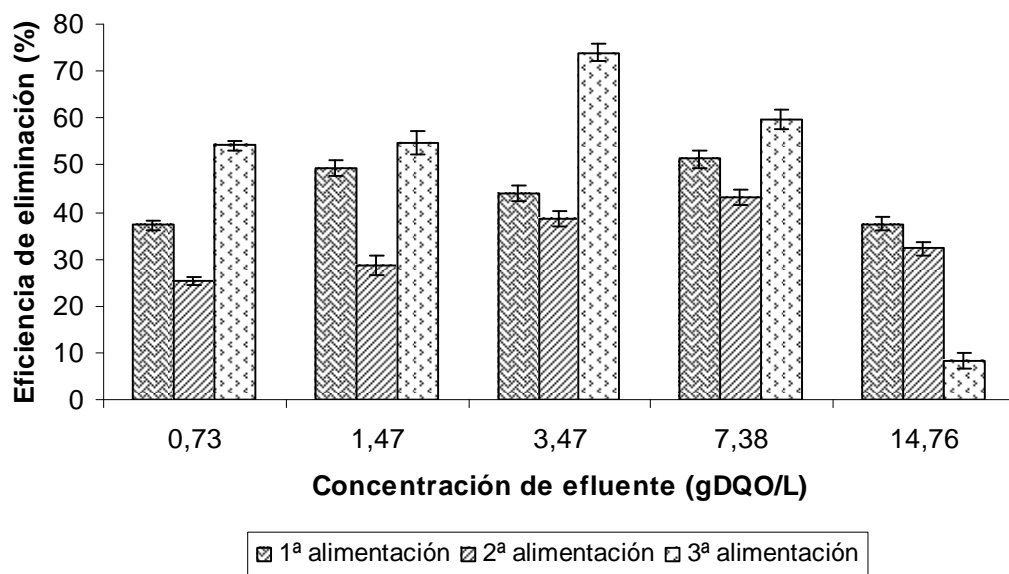


Figura 13. Eficiencia de eliminación de materia orgánica (%), para el primer ensayo.

En la Figura 14, se presenta las eficiencias de eliminación de materia orgánica correspondientes al segundo ensayo para cada una de las alimentaciones, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo crudo

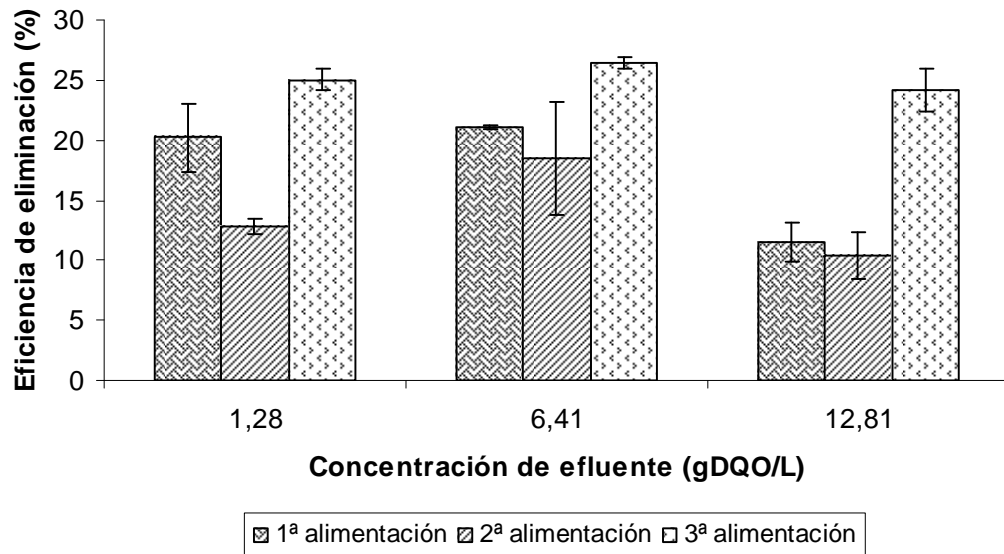


Figura 14. Eficiencia de eliminación de materia orgánica (%), para el segundo ensayo.

En la Figura 15, se presenta las eficiencias de eliminación de materia orgánica correspondientes al tercer ensayo para cada una de las alimentaciones, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo filtrado.

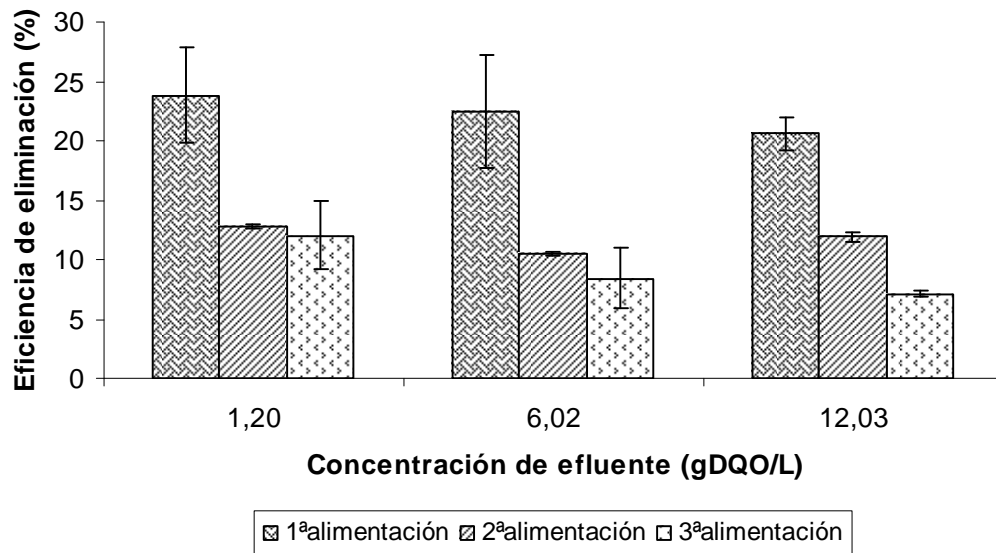


Figura 15. Eficiencia de eliminación de materia orgánica (%), para el tercer ensayo.

En la Figura 16, se presenta las eficiencias de eliminación de materia orgánica correspondientes al cuarto ensayo para cada una de las alimentaciones, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo crudo y filtrado.

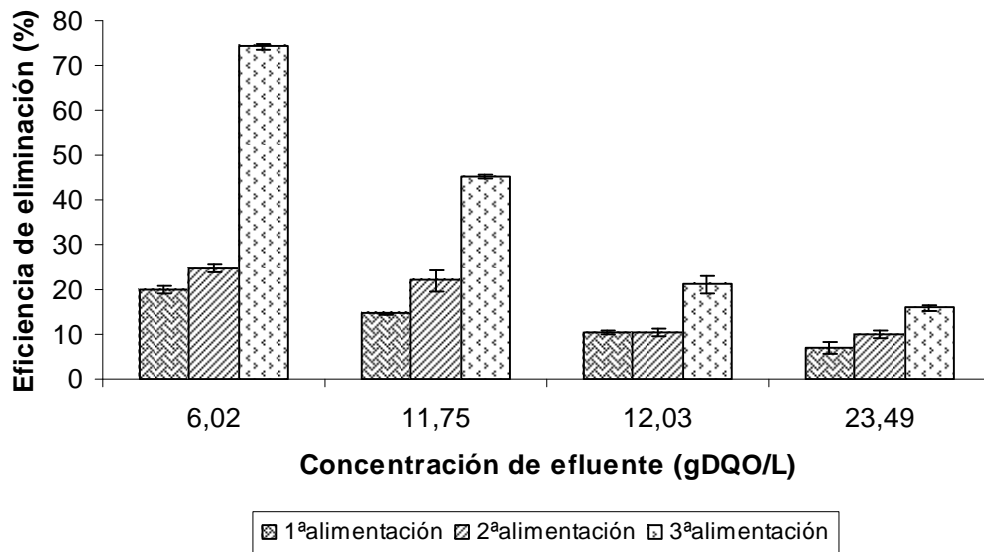


Figura 16. Eficiencia de eliminación de materia orgánica (%), para el cuarto ensayo.

En la Figura 17, se muestran eficiencias de eliminación de materia orgánica (%), correspondientes a la primera, segunda y tercera alimentación de los controles del segundo y cuarto ensayo, con concentraciones de 5 y 2,5 g SSV/L de lodo floculento y granular respectivamente.

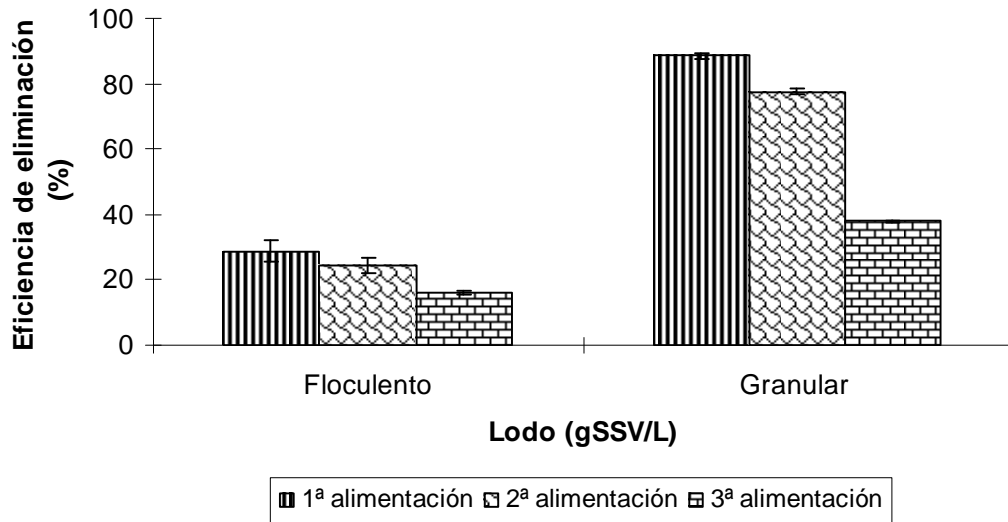


Figura 17. Comparación de eficiencia de eliminación de materia orgánica (%), para los controles con distinto tipo de biomasa (segundo y cuarto ensayo).

4.2.4 CI50%.

En la Tabla XI, se muestran los valores de CI50% obtenidos de los distintos ensayos de toxicidad metanogénica, teniendo como sustrato purín de cerdo crudo y filtrado.

Tabla XI. Resumen de los distintos ensayos y su CI50% determinado para cada uno de ellos.

Ensayo	Sustrato	Inóculo		Alimentación	CI50% (gDQO/L)
		Tipo	Concentración (g SSV/L)		
1	EPCC	Floculento	2,0	1°	-
				2°	12,3
				3°	-
2	EPCC	Floculento	5,0	1°	12,8
				2°	9,0
				3°	-
3	EPCF	Floculento	5,0	1°	12,03
				2°	10,0
				3°	-
4	EPCC	Granular	2,5	1°	9,0
				2°	13,8
				3°	-
	EPCF	Granular	2,5	1°	6,8
				2°	9,5
				3°	-

EPCC: Efluente de purín de cerdo crudo; EPCF: Efluente de purín de cerdo filtrado.

4.2.5 Conductividad eléctrica.

La Figura 18, se muestra la conductividad eléctrica (mS/cm) durante la primera, segunda y tercera alimentación del segundo ensayo de toxicidad metanogénica, utilizando una concentración de inóculo de 5 g SSV/L de lodo flocculento, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo (0 - 1,28 - 6,41 y 12,81 g DQO/L).

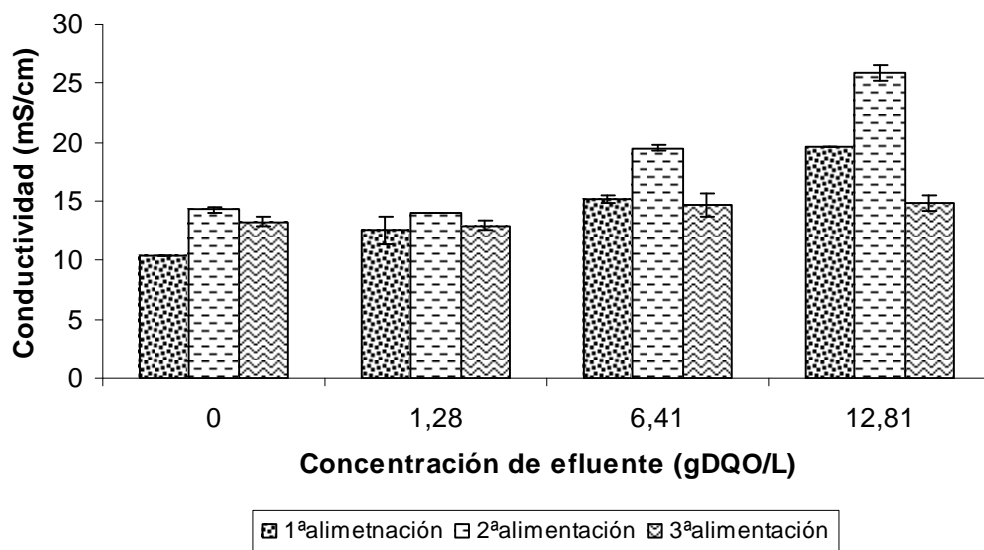


Figura 18. Conductividad eléctrica (mS/cm), correspondiente al segundo ensayo, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo.

La Figura 19, se muestra la conductividad eléctrica (mS/cm) durante la primera, segunda y tercera alimentación del tercer ensayo de toxicidad metanogénica, utilizando una concentración de inóculo de 5 g SSV/L de lodo flocculento, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo (0 - 1,20 - 6,02 y 12,03 g DQO/L).

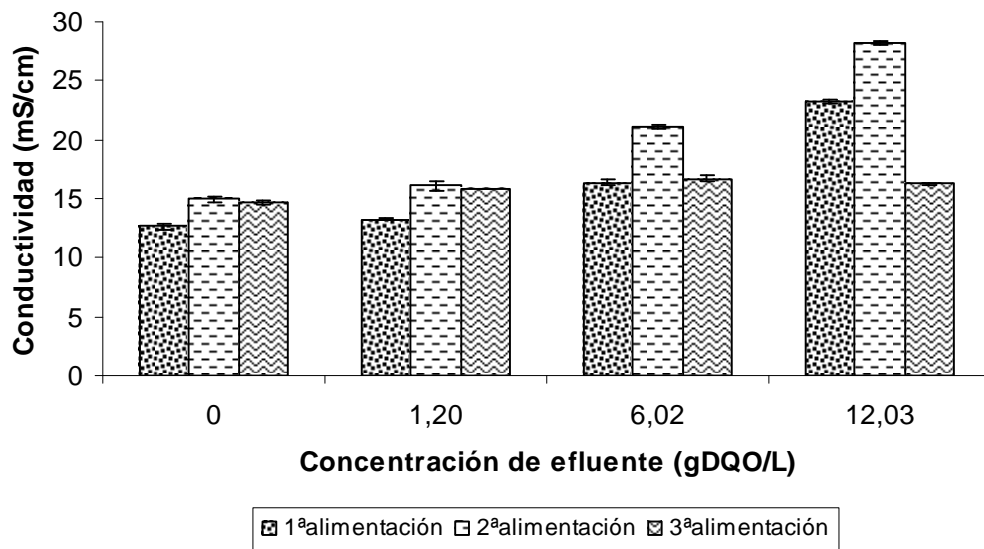


Figura 19. Conductividad eléctrica (mS/cm), correspondiente al tercer ensayo, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo.

La Figura 20, se muestra la conductividad eléctrica (mS/cm) durante la primera, segunda y tercera alimentación del cuarto ensayo de toxicidad metanogénica, utilizando una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de lodo granular, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo (0 - 6,02 - 11,75 - 12,03 y 23,49 g DQO/L).

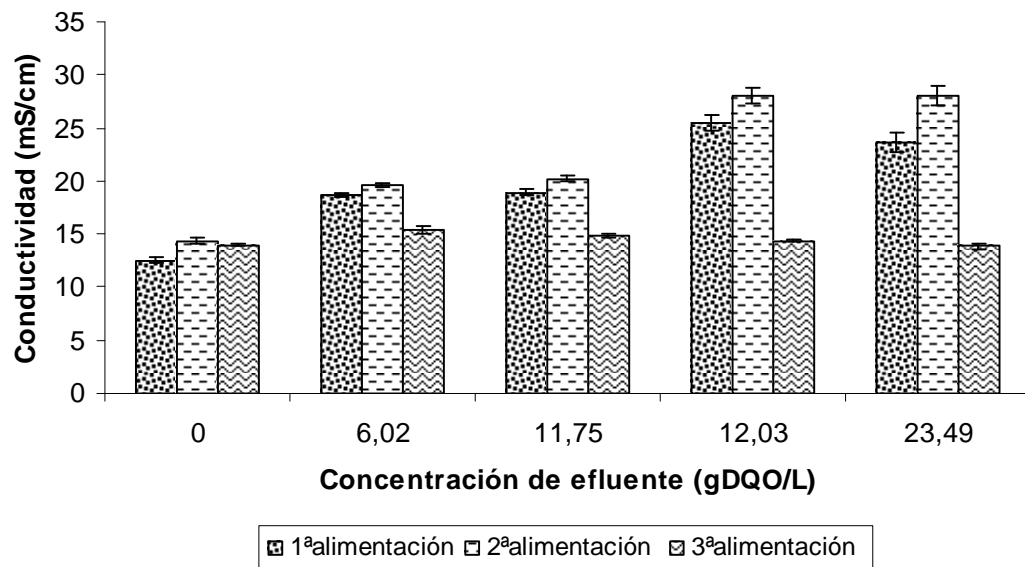


Figura 20. Conductividad eléctrica (mS/cm), correspondiente al cuarto ensayo, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo.

4.2.6 Alcalinidad y pH.

En la Figura 21, se muestra la relación de alcalinidad intermedia y total (AI/AT) con respecto al pH de la primera, segunda y tercera alimentación final del segundo ensayo, utilizando una concentración de inóculo de 5,0 g SSV/L de lodo floculento, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo crudo (0 - 1,28 - 6,41 y 12,81 g DQO/L).

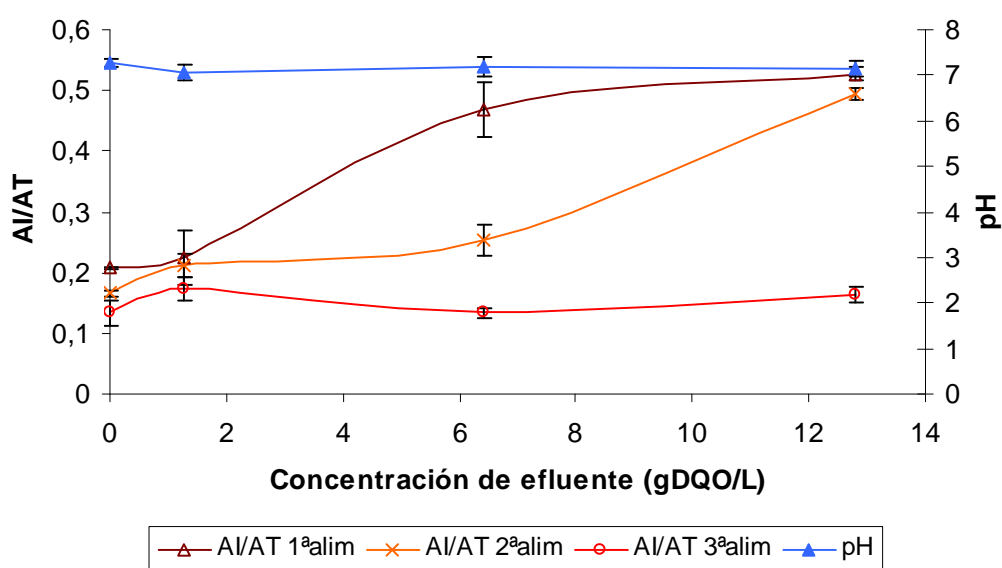


Figura 21. AI/AT y pH correspondientes a las tres alimentaciones del segundo ensayo.

En la Figura 22, se muestra la relación de alcalinidad intermedia y total (AI/AT) con respecto al pH de la primera, segunda y tercera alimentación final del tercer ensayo, utilizando una concentración de inóculo de 5,0 g SSV/L de lodo floculento, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo crudo (0 - 1,20 - 6,02 y 12,03 g DQO/L).

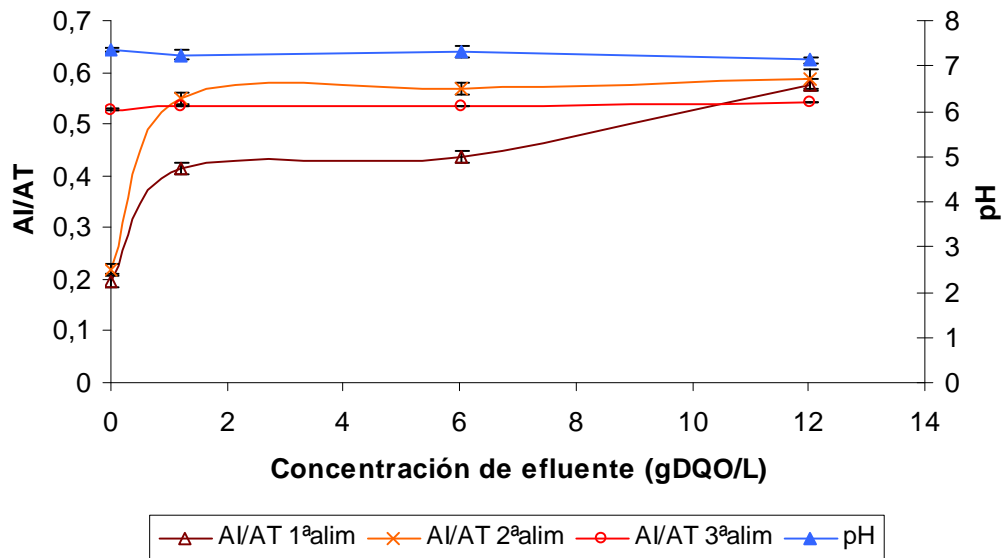


Figura 22. AI/AT y pH correspondientes a las tres alimentaciones del tercer ensayo.

En la Figura 23, se muestra la relación de AI/AT con respecto al pH de la primera, segunda y tercera alimentación final del cuarto ensayo, utilizando una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de lodo granular, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo crudo (0 - 11,75 y 23,49 g DQO/L).

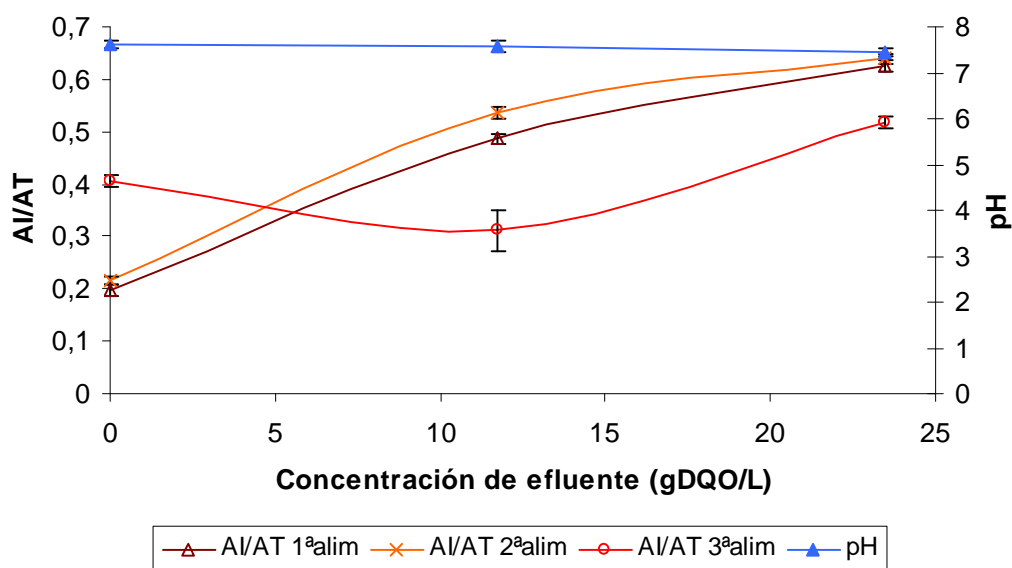


Figura 23. AI/AT y pH correspondientes a las tres alimentaciones del cuarto ensayo.

En la Figura 24, se muestra la relación de AI/AT con respecto a pH de la primera, segunda y tercera alimentación final del cuarto ensayo, utilizando una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de lodo granular, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo filtrado (0 - 6,02 y 12,03 g DQO/L).

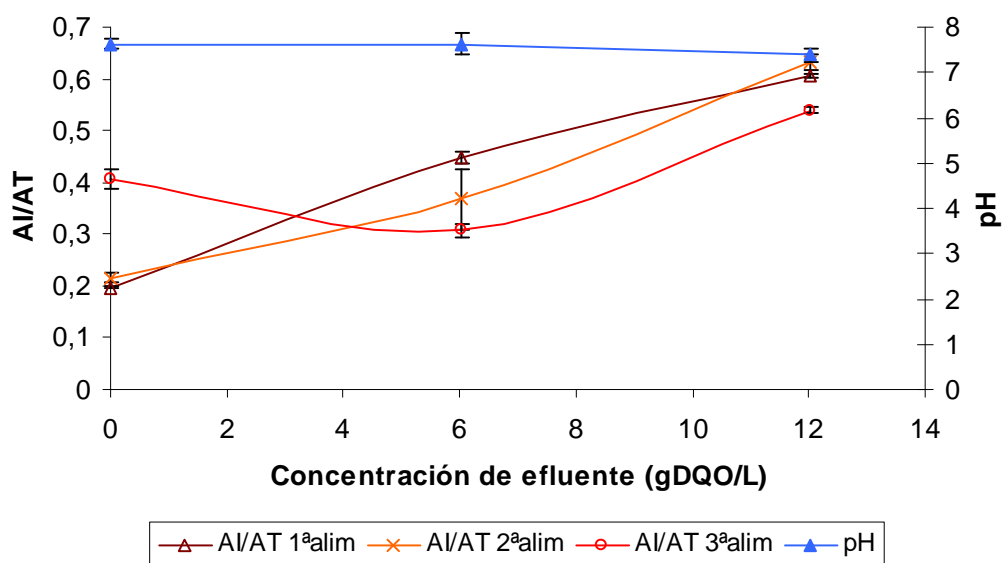


Figura 24. AI/AT y pH correspondientes a las tres alimentaciones del cuarto ensayo.

4.3 Ensayos de toxicidad metanogénica: compuesto específico, clortetraciclina.

4.3.1 Producción de CH₄ en el tiempo.

La Figura 25, se muestra la producción de CH₄ durante la primera, segunda y tercera alimentación del quinto ensayo de toxicidad metanogénica, utilizando una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de lodo granular, a distintas concentraciones del antibiótico clortetraciclina (1, 7, 13 y 24 mg/L), durante un periodo de 7 días aproximadamente.

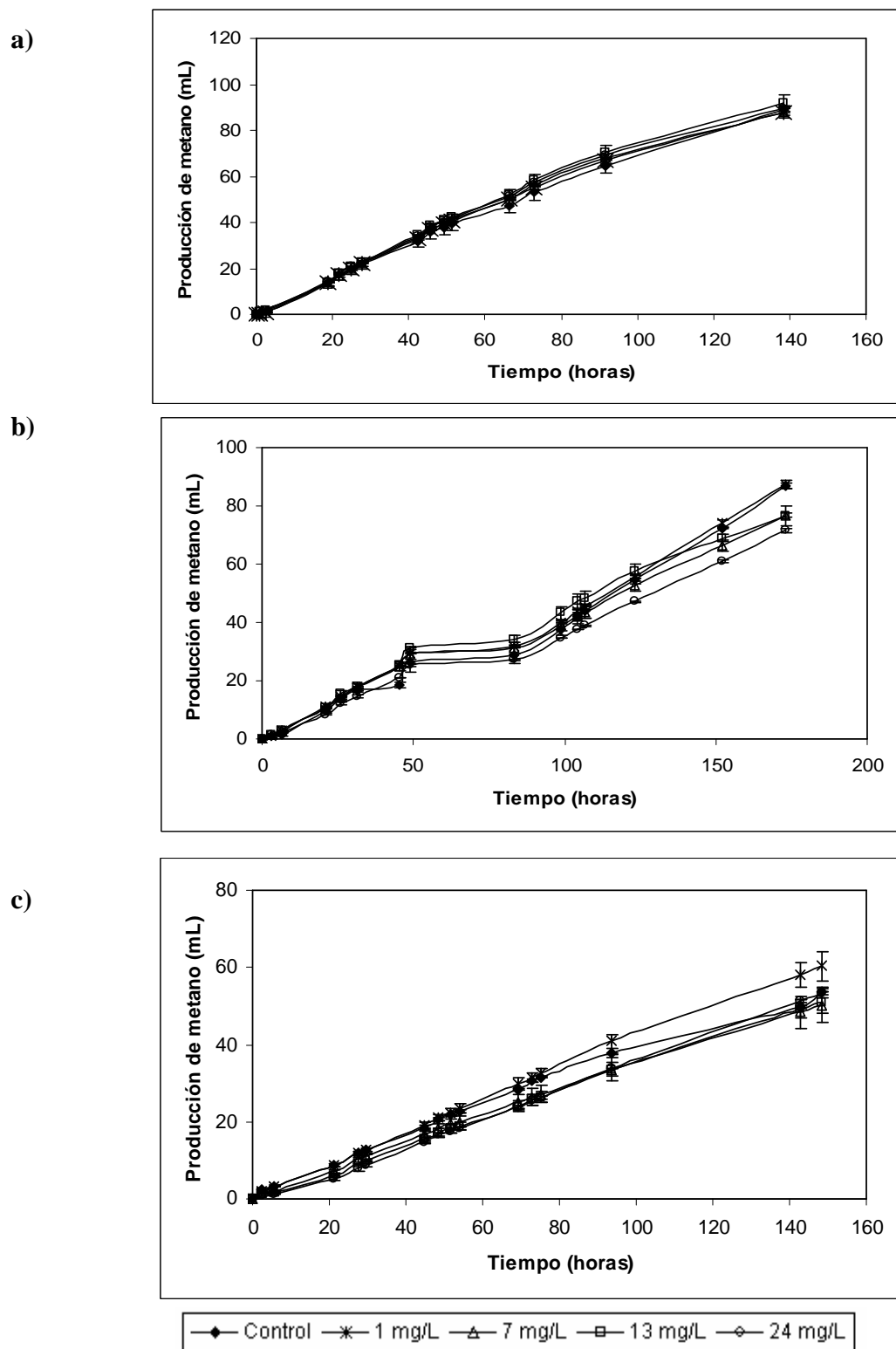


Figura 25. Producción de metano en el tiempo durante el quinto ensayo. Alimentaciones: a) primera; b) segunda; y c) tercera.

4.3.2 Actividad metanogénica.

La Figura 26, muestra las distintas actividades metanogénicas (%) del quinto ensayo, considerando una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de biomasa granular y evaluando distintas concentraciones (1, 7, 13 y 24 mg/L) de antibiótico clortetraciclina.

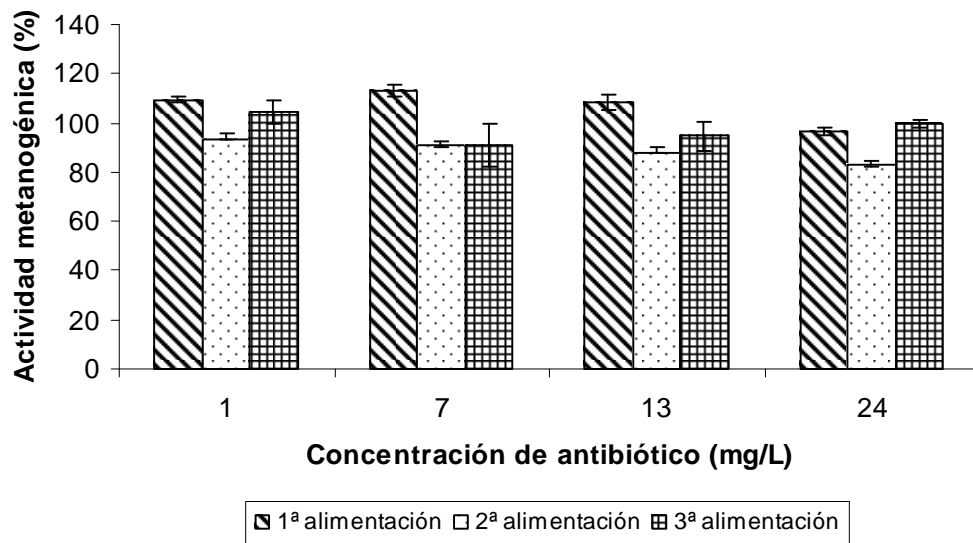


Figura 26. Actividad metanogénica (%) para el quinto ensayo (2,5 g SSV/L) con antibiótico clortetraciclina (1, 7, 13 y 24 mg/L).

4.3.2 Eliminación de materia orgánica.

En la Figura 27, se presenta las eficiencias de eliminación de materia orgánica correspondientes a las tres alimentaciones del quinto ensayo considerando una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de biomasa granular y evaluando distintas concentraciones (1, 7, 13 y 24 mg/L) de antibiótico clortetraciclina.

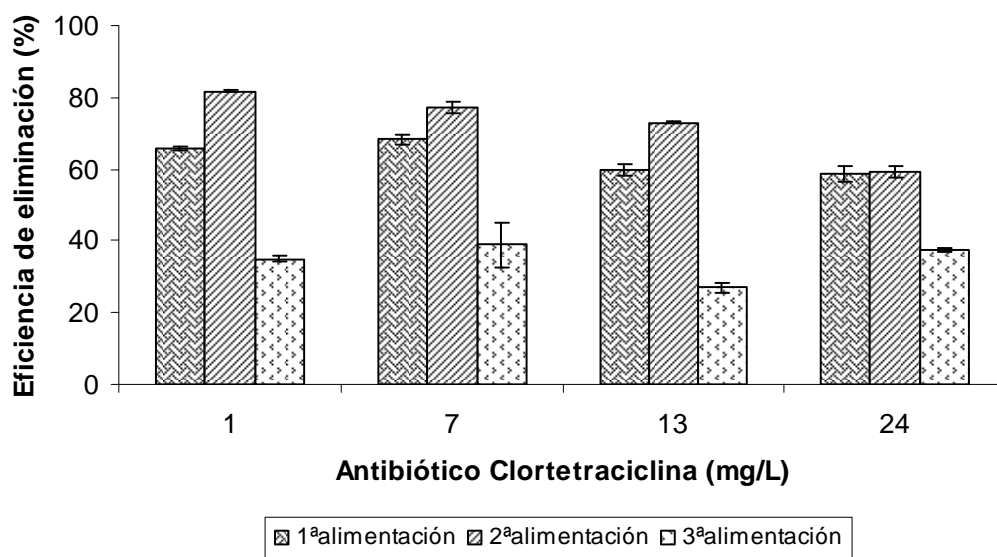


Figura 27. Eficiencia de eliminación de materia orgánica (%), para el quinto ensayo con clortetraciclina.

4.3.4 CI50%.

En la Tabla XII, se muestran los valores de CI50% obtenidos del quinto ensayo de toxicidad metanogénica, teniendo como sustrato compuesto específico clortetraciclina.

Tabla XII. CI50% obtenido de las distintas alimentaciones del quinto ensayo.

Ensayo	Sustrato	Inóculo		Alimentación	CI50% (gDQO/L)
		Tipo	Concentración (g SSV/L)		
5	AC	Granular	2,5	1°	-
				2°	-
				3°	-

AC: Antibiótico Clortetraciclina.

4.3.5 Conductividad eléctrica.

La Figura 28, se muestra la conductividad eléctrica (mS/cm) durante la primera, segunda y tercera alimentación del quinto ensayo de toxicidad metanogénica, utilizando una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de lodo granular, a distintas concentraciones antibiótico clortetraciclina (1, 7, 13 y 24 mg/L).

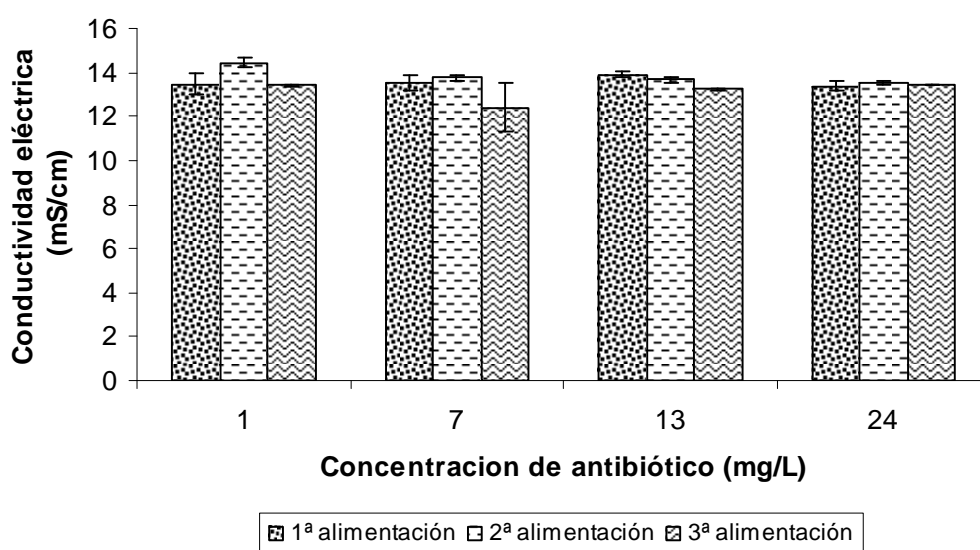


Figura 28. Conductividad eléctrica (mS/cm), correspondiente al quinto ensayo.

4.3.6 Alcalinidad y pH.

En la Figura 29, se muestra la relación de AI/AT con respecto al pH de la primera, segunda y tercera alimentación final del quinto ensayo, utilizando una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de lodo granular, a distintas concentraciones de antibiótico clortetraciclina (1, 7, 13 y 24 mg/L).

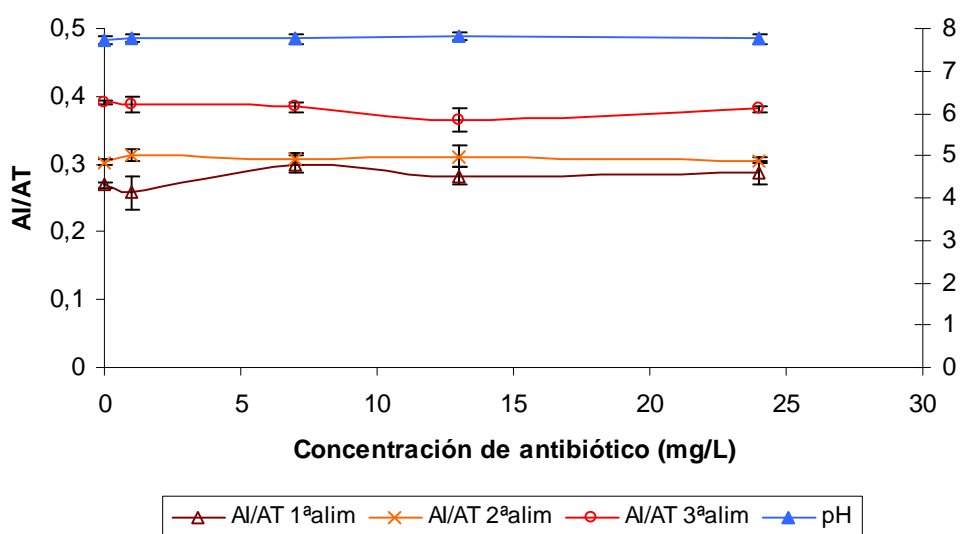


Figura 29. AI/AT y pH correspondientes a las tres alimentaciones del quinto ensayo.

CAPÍTULO V: DISCUSIONES

5. DISCUSIONES.

5.1 Caracterizaciones de efluente de purín de cerdo.

Como se mencionó anteriormente en la introducción, los purines de cerdo se caracterizan por tener altos valores de sólidos totales y volátiles, elevadas concentraciones de materia orgánica evaluada como DQO y DBO₅, nutrientes y otros compuestos específicos.

La cantidad de sólidos totales y volátiles se debe a que la excreta de cerdo presenta un 55% de heces que contienen sólidos flotantes y además, sólidos que sedimentan y sólidos en suspensión. Debido a la presencia de aquellos, la DQO_(T) (DQO total) posee mayor concentración que la DQO_(S) (DQO soluble), con 36,8 y 20,5 g O₂/L respectivamente. Los valores de la DQO_(T) y de DBO₅ son levemente más bajos que los valores indicados por Morales *et al.*, (2007), la razón posible de esa diferencia puede ser que el volumen de agua utilizado para la limpieza de los planteles de este caso fue mayor, y de esta manera la mezcla resultó más diluida (Morales *et al.*, 2007).

El pH varía entre 6 y 8, tiende a la neutralidad mientras sean más frescas las excretas (Peralta, 2005). En el caso de la alcalinidad, esta es definida como un parámetro que mide el poder tampón que tiene un agua, esto debido a la presencia de distintos compuestos (ejemplos, hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos). El purín de cerdo presenta altas concentraciones de alcalinidad medidos como mg CaCO₃/L, es decir, el efluente de purín de cerdo presenta una alta capacidad tampón, ya que la alcalinidad mide la capacidad tampón del agua residual. Para el caso de sistema anaeróbico, este parámetro es un indicador de estabilidad de estos sistemas, y eso se ve reflejado en la alcalinidad intermedia.

La medida de la alcalinidad intermedia es la diferencia entre la alcalinidad total y parcial, y esto se muestra en la tabla de caracterización anterior, la alcalinidad intermedia resultó alrededor de 4460 mg CaCO₃/L, similar al valor obtenido por Kebede-Westhead *et al.*, (2006) que fue aproximadamente 4680 mg CaCO₃/L.

La conductividad eléctrica resultó alrededor de 9,3 mS/cm, la cual es inferior al ser comparada con los valores observados por los investigadores Morales *et al.*(2007) o Llona M. y Faz A. (2006), probablemente se debe a una menor concentración de sales y proteínas en las dietas alimenticias. Con respecto al Cl⁻, tiene un papel importante en la salinidad de esta área de estudio, ya que con un valor promedio de 550 mg/L en las aguas superficiales, podrían causar problemas de toxicidad en aguas de regadío. En este caso, los valores altos de Cl⁻, posiblemente se debe a la alta cantidad de concentración de sal para obtener una mayor retención de agua en los animales (Morales *et al.*, 2007).

Por el otro lado, la composición del purín de cerdo contiene principalmente excretas de los animales y aguas del lavado de las instalaciones, por lo tanto, el purín presenta una forma líquida y posee alto porcentaje de humedad, en este caso, de 97%, porcentaje análogo al resultado obtenido por Llona M. y Faz A. (2006).

En el caso de los nutrientes, el nitrógeno (N) es uno de los elementos más abundante en el purín de cerdo, y así genera contaminación al ambiente. En cuanto al N total, el valor obtenido de la caracterización fue alrededor de 2,0 g N/L, la cual es similar al estudio realizado por Llona M. y Faz A. (2006), sin embargo, es doblemente menor al ser relacionado con los valores obtenidos por J.-H. Kim *et al.* (2004) o Y.-H. Ahn *et al.* (2004), quienes observaron mayores concentraciones de fósforo total (P total). Para nitrógeno amoniacal (N-NH₄⁺), se obtuvo una concentración de alrededor de 1,9 g N-NH₄⁺/L, similar a los resultados obtenidos por Morales *et al.*(2007) o Llona M. y Faz A. (2006), pero es menor con respecto al estudio desarrollado por Y.-H. Ahn *et al.* (2004). Esto se debe a las variadas concentraciones de minerales y proteínas contenidas en los alimentos de cerdos.

5.2 Ensayos de toxicidad metanogénica: Purín de cerdo.

5.2.1 Producción de CH_4 en el tiempo.

a) Primer ensayo.

En el primer ensayo, se utilizaron como sustrato efluente de purín de cerdo crudo a distintas concentraciones (0 - 0,73 - 1,47 - 3,69 - 7,38 y 14,76 g DQO/L) y como biomasa, el lodo floculento a una concentración de 2 g SSV/L. Durante la primera alimentación, en las 20 horas iniciales se observó una mayor velocidad de producción en la gran mayoría de las concentraciones, y no así inhibición evidente sobre la producción de metano, la cual fue entre 60 y 110 mL (Figura 5a). En la segunda alimentación, disminuyó la velocidad de producción de metano, cuyo volumen fue entre 30 y 60 mL (Figura 5b), esto implicó efecto inhibitorio sobre la actividad bacteriana, debido a la toxicidad del purín de cerdo por la presencia de alta concentración de materia orgánica ($36,80 \pm 2,05$ g DQO/L), sólidos totales y volátiles ($20,42 \pm 2,90$ y $14,64 \pm 1,65$ g/L respectivamente), y compuestos específicos tales como antibióticos o desinfectantes, etc. (Peralta, 2005; Kim and Aga, 2007). Luego, en la tercera alimentación, se observó una recuperación en la producción de metano en casi todas las concentraciones, salvo a 14,8 g DQO/L, la cual corresponde a 100% de concentración de purín de cerdo crudo. La razón podría ser la inhibición por la presencia de materia orgánica, sólidos totales y volátiles, etc. durante las alimentaciones anteriores (Figura 5c).

b) Segundo ensayo.

Se realizó un segundo ensayo teniendo como sustrato efluente de purín de cerdo crudo a distintas concentraciones (0 - 1,28 - 6,41 y 12,81 g DQO/L) y como biomasa, el lodo floculento a una concentración de 5 g SSV/L. Al comparar la velocidad de producción de metano de este ensayo con el anterior, se observó que en general disminuyó bastante la velocidad en el último, lo cual fue inesperado ya que debería haber incrementado la velocidad, ya que existe una mayor concentración de lodo en el segundo ensayo (Figura 6 a

y b). Sin embargo, el resultado no fue lo esperado, probablemente a que el lodo extraído en ese período tenía muy baja actividad metanogénica. Durante la tercera alimentación, tampoco se observó ninguna recuperación de la producción de metano (Figura 6c).

c) Tercer ensayo.

Los purines de cerdo contienen excretas en forma líquida y sólida (45% orina y 55% feca), y el agua del lavado de los planteles (Peralta, 2005). El efecto inhibitorio producido por el efluente se debe a su nivel de toxicidad. Se realizó un tercer ensayo de toxicidad metanogénica, usando una concentración de inóculo de 5 g SSV/L de biomasa flocculenta y el efluente de purín filtrado a distintas concentraciones (0 - 1,20 - 6,02 y 12,03 g DQO/L), con el fin de comprobar si la presencia de los sólidos influye en forma positiva al efecto inhibitorio comparando los resultados de este ensayo con los ensayos anteriores. Al comparar la velocidad de producción de metano de este ensayo con la de los ensayos anteriores, generalmente no se observó ningún incremento en la velocidad de producción, salvo el control de la primera alimentación que produjo un volumen de metano de alrededor de 150 mL (Figura 7 a y b). La razón de esta baja velocidad de producción, podría ser que la planta de tratamiento haya sufrido una pérdida en la calidad del lodo por el mal tiempo antes del periodo, cuando el lodo fue extraído. Durante las tres alimentaciones, se pudo observar que mientras la concentración del efluente incrementaba, la velocidad de producción de metano disminuía, y en la tercera alimentación, tampoco hubo ninguna recuperación evidente sobre la producción del metano (mL) (Figura 7 abc).

Sabry (2008) indica que el lodo granular tiene un mejor funcionamiento que el lodo flocculento para el tratamiento de aguas residuales, ya que el lodo flocculento se desintegra fácilmente bajo condiciones de mezcla suave, en cambio, el lodo granular permanece intacto aún bajo una tensión hidráulica.

d) Cuarto ensayo.

Se efectuó un cuarto ensayo, se usó efluente de purín crudo y filtrado. Para ambos casos, las concentraciones de efluentes usadas fueron 50 y 100%, las cuales corresponden a 11,75 y 23,49 g DQO/L respectivamente para el purín crudo, y 6,02 y 12,03 g DQO/L para el purín filtrado. La biomasa utilizada fue el lodo granular con una concentración de 2,5 g SSV/L. Durante la primera alimentación, que se extendió un periodo de 6-7 días, al comparar las producciones de metano en distintas concentraciones, se hallaron muy bajas producciones de metano de 12,03 y 23,49 g DQO/L, que corresponden al 100% de concentración de efluente filtrado y crudo respectivamente (Figura 8a), implicando efectos inhibitorios sobre la actividad de las bacterias metanogénicas, debido a la toxicidad que posee el efluente de purín en 100% de concentración. En la segunda alimentación, se obtuvo resultados muy similares que la primera alimentación, muy bajas producciones de metano fueron encontrados en concentraciones de 12,03 y 23,49 g DQO/L, que corresponden al 100% de concentración de efluente filtrado y crudo respectivamente. Indicando inhibición sobre las bacterias metanogénicas (Figura 8b). Luego para la tercera alimentación del mismo ensayo, se obtuvo una recuperación en la producción de metano con 6,02 y 11,75 g DQO/L, los cuales corresponden al 50% de concentración de efluente filtrado y crudo respectivamente. Al igual que las dos alimentaciones anteriores, muy bajas producciones de metano fueron observados en los valores de 12,03 y 23,49 g DQO/L nuevamente, no hubo recuperación alguna (Figura 8c). Por lo cual, se concluye que a 100% de concentración de efluente de purín de cerdo, produce toxicidad metanogénica, ya que existen efectos inhibitorios evidentes sobre la actividad del consorcio bacteriano durante las tres alimentaciones del ensayo, debido a la alta concentración la alta carga de materia orgánica (> 4,0 g DQO/L), sólidos totales y volátiles (> 3,0 g/L para ambos casos), y compuestos específicos tales como antibióticos o desinfectantes, etc. (Peralta, 2005; Kim and Aga, 2007).

5.2.2 Actividad metanogénica.

Los efectos inhibitorios de bacterias metanogénicas producidos por distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo (g DQO/L), también se evidencian analizando la actividad metanogénica en porcentaje, de la primera, segunda y tercera alimentación de cada ensayo de toxicidad.

a) Primer ensayo.

En el primer ensayo, se utilizó una concentración de inóculo de 2 g SSV/L de biomasa floculenta. Al comparar entre la primera y segunda alimentación, en donde el lodo fue expuesto a efluente en forma continua, se observó que la actividad metanogénica producida por los valores de 0,7, 1,5 y 7,4 g DQO/L fueron muy similares, sólo se obtuvo un incremento del efecto inhibitorio en concentraciones de 14,8 y 3,7 g DQO/L. En la tercera alimentación, cuando el efluente fue eliminado del medio reactor, evidentemente la actividad del lodo fue recuperada notoriamente en todas las concentraciones que fue expuesto anteriormente, salvo la concentración de 14.8 g DQO/L, valor correspondiente al 100% de concentración de efluente (Figura 9). Esto implica que el efluente de purín de cerdo no produce toxicidad letal sobre las bacterias metanogénicas, sino solamente inhibición causada por los compuestos específicos tales como antibióticos clortetraciclina u otros (Kim and Aga, 2007).

b) Segundo ensayo.

Debido a los resultados anteriores, no hubo diferencia notoria sobre la actividad metanogénica entre las concentraciones de 0,70 - 1,50 - 3,70 y 7,40 g DQO/L de efluente, que corresponden a 5, 10, 25 y 50% de concentración, se realizó un segundo ensayo, en el cual la biomasa utilizada fue el lodo floculento con una concentración de 5 g SSV/L, y efluente de purín crudo de 100, 50 y 10% concentración, correspondientes a valores de 12,81, 6,41 y 1,28 g DQO/L respectivamente. El efecto inhibitorio del efluente, al comparar entre la primera y segunda alimentación, en las cuales el lodo fue expuesto a efluente en

forma continúa. Se observó la presencia del efecto inhibitorio en concentraciones de 6,41 y 12,81 g DQO/L durante la segunda alimentación. En la tercera alimentación, cuando el efluente fue eliminado, la actividad del lodo fue recuperada notoriamente (Figura 10). Esto implica que el efluente de purín de cerdo no produce toxicidad letal sobre las bacterias metanogénicas, sino solamente inhibición, provocada por los compuestos específicos presentes en el vertido (Kim and Aga, 2007).

c) Tercer ensayo.

Los purines de cerdo contienen excretas en forma líquida y sólida (45% orina y 55% fecea), y el agua del lavado de los planteles (Peralta, 2005). El efecto inhibitorio producido por el efluente se debe a su nivel de toxicidad. Se realizó un tercer ensayo de toxicidad metanogénica, usando una concentración de inóculo de 5 g SSV/L de biomasa floculenta y el efluente de purín filtrado, con el fin de comprobar si la presencia de los sólidos influye en forma positiva al efecto inhibitorio comparando los resultados de este ensayo con los ensayos anteriores. Al comparar entre la primera y segunda alimentación, en las cuales el lodo fue expuesto a efluente filtrado en forma continua, se observó un incremento del efecto inhibitorio en todas las concentraciones, especialmente en 1,20 y 12,03 g DQO/L, valores correspondiente a 10 y 100% de concentración de efluente filtrado, en donde la actividad fue disminuida alrededor de un 75%. Luego, para la tercera alimentación, en que el efluente fue eliminado del medio reactor, la actividad del lodo no fue recuperada de forma evidente. Sólo en 12,03 g DQO/L, valor correspondiente al 100% de concentración de efluente filtrado, se observó una pequeña restauración (Figura 11). La causa de esto, podría ser por la baja actividad del lodo extraído de la planta de tratamiento durante ese período.

d) Cuarto ensayo.

En el cuarto ensayo de toxicidad metanogénica, utilizando una biomasa de lodo granular de 2,5 g SSV/L de concentración y efluente de purín de cerdo crudo y filtrado, durante un periodo de alrededor de 6-7 días para cada alimentación. Las concentraciones de efluentes

usadas fueron 50 y 100%, porcentajes correspondientes a 11,75 y 23,49 g DQO/L respectivamente para el purín crudo, y 6,02 y 12,03 g DQO/L para el purín filtrado.

Al comparar la primera y segunda alimentación, en donde el lodo fue expuesto a efluente en forma continúa, hubo incremento en la actividad metanogénica, es decir, no hubo aumento en el efecto inhibitorio. Para ambas alimentaciones, fueron similares las actividades entre 12,03 y 23,49 g DQO/L de efluente, valores correspondientes a 100% de concentraciones de efluente filtrado y crudo respectivamente. Sin embargo, al comparar las actividades generadas por 6,02 y 11,75 g DQO/L de efluente, valores correspondientes a 50% de concentraciones de efluente filtrado y crudo respectivamente, se encontró una actividad mayor en 6,02 g DQO/L durante la primera y segunda alimentación (Figura 12). Debido a que la presencia de los sólidos de purín de cerdo, puede incrementar el efecto inhibitorio sobre las bacterias metanogénicas.

5.2.3 Eliminación de materia orgánica.

Los efectos inhibitorios de bacterias metanogénicas producidos por distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo (g DQO/L), también se evidencian analizando la eficiencia de eliminación de materia orgánica en porcentaje, de la primera, segunda y tercera alimentación de cada ensayo de toxicidad.

a) Primer ensayo.

En el primer ensayo, se usó una concentración de 2 g SSV/L de inóculo de biomasa floculenta. Según los resultados obtenidos, de la primera a la segunda alimentación, se encontró una leve disminución en eficiencias de eliminación de materia orgánica en todas las concentraciones. Y en la tercera alimentación, se observó una recuperación evidente en casi todas las concentraciones, principalmente en 3,7 g DQO/L de efluente que alcanzó una eficiencia de casi 80%, y excepto el 14,8 g DQO/L de efluente, valor correspondiente a concentración en 100% (Figura 13). Una mayor concentración de efluente, implica un mayor efecto inhibitorio sobre el consorcio bacteriano, por lo tanto, disminuye la eficiencia

de eliminación de materia orgánica (Vidal y Diez, 2005), ya que posee mayor toxicidad por la presencia de mayor concentración de sólidos y compuestos específicos.

b) Segundo ensayo.

En el segundo ensayo, se utilizó una concentración de 5 g SSV/L de inóculo de biomasa floculenta, concentración doblemente mayor que el ensayo anterior, con el fin de observar si producirá mayores eficiencias de eliminación de cargas orgánicas, debido a la mayor concentración de lodo en contacto con la mezcla del sustrato AGV y efluente (Field *et al.*, 1988). Al observar los resultados obtenidos, hubo un mayor rendimiento en la primera alimentación para las distintas concentraciones (10, 50 y 100% que corresponden a 1,28, 6,41 y 12,81 g DQO/L de efluente respectivamente), obteniendo un incremento del efecto inhibitorio en la segunda alimentación. Y en la tercera alimentación, aumentó la eficiencia debido a la ausencia del efluente (Figura 14). Al hacer una comparación entre el primer ensayo con el segundo, no fueron mayores los rendimientos de este último, debido a la baja actividad del lodo.

c) Tercer ensayo.

Como mencionado en el punto anterior, la actividad metanogénica pudo verse influenciada por la presencia de los sólidos en el efluente. Por lo tanto, se realizó análisis sobre la eficiencia de eliminación obtenida en el tercer ensayo, en el cual se utilizó efluente filtrado manteniendo la misma concentración de biomasa del ensayo anterior. Se observó una mayor eficiencia en la primera alimentación de cada concentración de efluente, y en la segunda alimentación, en la cual hubo una disminución de más de 50% en su rendimiento. Y en la tercera alimentación, no se encontró recuperación evidente (Figura 15).

d) Cuarto ensayo.

En el cuarto ensayo, se encontró un diminuto incremento en la segunda alimentación relacionando con la primera. Y en la tercera alimentación, hubo mayores rendimientos con respecto a las dos alimentaciones anteriores, ya que el efluente fue retirado del medio. Se

pudo evidenciar que el efluente filtrado tiene mayor eficiencia que el efluente crudo, observando en el gráfico, el rendimiento fue mayor en 6,02 g DQO/L que en 11,75 g DQO/L, valores correspondientes a 50% de concentración de efluente filtrado y crudo respectivamente, aunque no hubo diferencia notoria en la eficiencia entre 12,03 y 23,49 g DQO/L, valores correspondientes a 100% de concentración de efluente filtrado y crudo respectivamente. En la tercera alimentación, hubo recuperación evidente en la eficiencia de eliminación, mayormente en 6,02 g DQO/L de efluente, alcanzando un rendimiento de alrededor de 75%. El rendimiento fue descendiendo mientras iba aumentando la concentración del efluente en donde el lodo estuvo expuesto durante las primeras dos alimentaciones (Figura 16).

Se pudo percibir claramente la diferencia de eficiencia de eliminación entre el lodo floculento y granular, relacionando los porcentajes de rendimientos obtenidos de los controles del segundo y cuarto ensayo (Figura 17). En la primera y segunda alimentación de cada ensayo, con 5 y 2,5 g SSV/L de lodo floculento y granular respectivamente, pese a que el lodo granular tenía una concentración menor que el floculento en 50%, sin embargo, obtuvo un mejor rendimiento alcanzando entre 80 y 90%, en cambio, el lodo floculento sólo estuvo entre 20 y 30%.

5.2.4 CI50%.

Para determinar la concentración inhibitoria 50% (CI50%), se realizó interpolación en los gráfico de actividad metanogénica (%) versus g DQO/L de efluente, se determinó valores de concentración de efluente con 50% de actividad metanogénica de las tres alimentaciones de cada ensayo. Según los resultados obtenidos, considerando las segundas alimentaciones de los ensayos, se observó que el valor de CI50% varió entre 9 y 14 g DQO/L de efluente de purín crudo, y para el purín filtrado, estuvo entre 9,5 y 10 g DQO/L de efluente (Tabla XI). Normalmente no se encontró valor de CI50% en las terceras alimentaciones, ya que no estaba presente el efluente, por lo tanto no hubo inhibición.

5.2.5 Conductividad eléctrica.

Se realizó análisis de conductividad eléctrica al término de cada alimentación del segundo, tercero y cuarto ensayo. Se observó en los resultados, la conductividad eléctrica crece a medida aumenta la concentración de efluente. Y debido a la presencia de mayor cantidad de iones. En la primera alimentación de cada ensayo, la conductividad aumentaba desde 10 a 25 ms/cm a medida incrementaba la concentración de efluente. En la segunda alimentación, la conductividad estuvo entre 15 y 30 ms/cm, y para la tercera alimentación, varió de 10 a 15 ms/cm solamente, ya que el efluente fue eliminado del medio reactor (Figuras 18, 19 y 20). Al relacionar las tres alimentaciones de cada ensayo, se encontró mayor conductividad eléctrica en las segundas alimentaciones, debido a la acumulación de iones de la alimentación anterior en la biomasa.

5.2.6 Alcalinidad y pH.

Se procedieron mediciones de alcalinidad y pH al término de cada alimentación, con el objetivo de estimar la presencia de los contaminantes y si existían problemas de acidificación. Con respecto a la alcalinidad, se midió la alcalinidad parcil y total, para luego determinar la alcalinidad intermedia y obtener la razón de alcalinidad intermedia y total (AI/AT). En cuanto al pH, se tomó mediciones de pH antes y después de cada alimentación, para determinar su variación.

a) Segundo ensayo.

En el segundo ensayo, se utilizó una concentración de inóculo de 5 g SSV/L de lodo floculento, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo crudo (0, 1,28, 6,41 y 12.81 g DQO/L). Según los resultados observados, para la primera y segunda alimentación, la AI/AT estuvo desde 0,15 hasta 0,5, mientras mayor fue la concentración de efluente, mayor también la AI/AT (Figura 21). Majumder y Gupta, (2008), realizaron estudio del

efecto de alcalinidad sobre la eliminación de clorofenoles del influente mediante reactores secuenciales anaerobios y aeróbicos, como datos obtenidos sobre la alcalinidad, a mayor concentración del contaminante (clorofenol), mayor resultó también la alcalinidad, además, con una alta proporción de alcalinidad, se observó inhibición en el proceso de eliminar contaminantes, es decir, menor eficiencia de eliminación de clorofenol.

Durante la tercera alimentación, la AI/AT se mantuvo entre 0,1 y 0,2 para todas las concentraciones de efluente, debido a la ausencia de efluente. El pH se mantuvo entre 7 y 7,5 durante todo el ensayo, esto implicó que no hubo problemas de acidificación.

b) Tercer ensayo.

En el tercer ensayo, se utilizó una concentración de inóculo de 5 g SSV/L de lodo floculento, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo crudo (0 - 1,20 - 6,02 y 12,03 g DQO/L). Según los resultados observados, para la primera y segunda alimentación, la AI/AT estuvo desde 0,2 hasta 0,55, mientras mayor era la concentración de efluente, mayor también la AI/AT (Figura 22). Durante la tercera alimentación, la AI/AT se mantuvo alrededor de 0,5 para todas las concentraciones de efluente, debido a la ausencia de efluente. El pH se mantuvo entre 7 y 7,5 durante todo el ensayo, esto implicó que no hubo problemas de acidificación.

c) Cuarto ensayo.

En el cuarto ensayo, se utilizó una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de biomasa granular, a distintas concentraciones de efluente de purín de cerdo crudo (0, 11,75 y 23,49 g DQO/L) y purín de cerdo filtrado (0, 6,02 y 12,03 g DQO/L). Según los resultados obtenidos, el valor de AI/AT fue similar para ambos efluentes, durante la primera y segunda alimentación, la AI/AT estuvo desde 0,2 hasta 0,6, mientras mayor era la concentración de efluente, mayor también la AI/AT (Figura 23, 24). Durante la tercera alimentación, la AI/AT estuvo entre 0,3 y 0,5, debido a la ausencia del efluente, el pH se

mantuvo entre 7 y 8 durante todo el ensayo, esto implicó que no hubo problemas de acidificación.

5.3 Ensayos de toxicidad metanogénica: compuesto específico, clortetraciclina.

5.3.1 Producción de CH₄ en el tiempo.

En el quinto ensayo, se utilizó una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de biomasa granular, a distintas concentraciones del compuesto específico clortetraciclina (1, 7, 13 y 24 mg/L). Se utilizó este rango de concentraciones de clortetraciclina, ya que Park y Choi, (2008) indican que con una concentración de 13 mg/L de clortetraciclina, provoca CI50% en bacteria *V.fischeri* a los 15 minutos.

Durante la primera alimentación, no se observó efecto inhibitorio, la velocidad de producción de metano fue muy similar en las distintas concentraciones de clortetraciclina (Figura 25a). En la segunda alimentación, se encontró una leve disminución en el volumen de metano producido para 7, 13 y 24 mg/L, teniendo alrededor de 25 mL menos que la producción máxima (Figura 25b). Y durante la tercera alimentación, casi todas las concentraciones de clortetraciclina tuvieron la misma velocidad de producción, salvo 1 mg/L que produjo alrededor de 10 mL más que el resto (Figura 25c). En el ensayo, no hubo inhibición evidente con este rango de concentración de clortetraciclina (1-24 mg/L). Es posible que haya efecto inhibitorio a mayores concentraciones (> 24 mg/L).

5.3.2 Actividad metanogénica.

En el quinto ensayo, se utilizó una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de biomasa granular. Al comparar entre la primera y segunda alimentación, en donde el lodo fue expuesto a efluente en forma continua, se observó que la actividad disminuyó en la

segunda, pero se mantuvo en las distintas concentraciones (1, 7, 13 y 24 mg/L) de clortetraciclina. Y en la tercera alimentación, fue levemente mayor la actividad comparada con la segunda. No se observó efecto inhibitorio notable durante este ensayo, es posible que haya efecto inhibitorio a mayores concentraciones (> 24 mg/L).

5.3.3 Eliminación de materia orgánica.

En el quinto ensayo, se usó una concentración de 2,5 g SSV/L de inóculo de biomasa granular. Según los resultados obtenidos, de la primera a la segunda alimentación, se encontró un leve incremento en eficiencias de eliminación de materia orgánica. Y en la tercera alimentación, no se observó recuperación evidente en ninguna concentración (Figura 26).

5.3.4 CI50%.

Según los resultados obtenidos, en el quinto ensayo no se observó valor de CI50% en ninguna alimentación (Tabla XII). Es decir, no hubo efecto inhibitorio con las concentraciones de 1, 7, 13 y 24 mg/L de clortetraciclina. Es posible que haya efecto inhibitorio a mayores concentraciones de clortetraciclina (> 24 mg/L).

5.3.5 Conductividad eléctrica.

Al realizar análisis de conductividad eléctrica al término de cada alimentación del quinto ensayo. Se observó en los resultados, la conductividad eléctrica resultó similar en las distintas concentraciones de clortetraciclina (1, 7, 13 y 24 mg/L) durante el ensayo, salvo en las concentraciones 1 y 7 mg/L, donde la conductividad fue levemente mayor en la segunda alimentación (Figura 28).

5.3.6 Alcalinidad y pH.

En el quinto ensayo, se utilizó una concentración de inóculo de 2,5 g SSV/L de biomasa granular, a distintas concentraciones de clortetraciclina (1, 7, 13 y 24 mg/L). Según los resultados obtenidos, para la primera y segunda alimentación, la AI/AT se mantuvo entre 0,25 y 0,3 para las distintas concentraciones, y para la tercera alimentación, la AI/AT resultó un poco mayor, estuvo alrededor de 0,4 para las distintas concentraciones de clortetraciclina. El pH se mantuvo entre 7,5 y 8,0 durante todo el ensayo, esto implicó que no hubo problemas de acidificación (Figura 29). A mayor concentración de clortetraciclina, no fue mayor la relación AI/AT, esto implicó que la concentración de clortetraciclina no influyó en la alcalinidad. Al hacer una comparación con los gráficos de alcalinidad y pH de los ensayos anteriores, se observó que es menor la alcalinidad de clortetraciclina que el purín de cerdo, lo cual implica que hay menor presencia de contaminantes en clortetraciclina.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES.

◇ Se determinó la caracterización fisico-química de un efluente de purín de cerdo, realizando análisis de los siguientes parámetros: pH, alcalinidad total, parcial e intermedia (mg CaCO₃), DQO total, DQO soluble, sólidos totales, sólidos volátiles (g/L), y nutrientes, etc. Se concluyó que el efluente de purín de cerdo, se caracteriza principalmente por tener un pH entre 7,0 y 7,5, altas concentraciones de DQO total y soluble (36,80 y 20,49 g DQO/L), altas cantidades de sólidos totales y volátiles (20,42 y 14,64 g/L), altos valores de nutrientes, especialmente en N y P (2083,33 mg/L y 178 mg/L) y alta alcalinidad (>4400 mg CaCO₃/L).

◇ Se evaluó la toxicidad metanogénica del efluente de purín de cerdo expuesto a las bacterias anaeróbicas mediante los ensayos en discontinuo, y se concluyó lo siguiente:

- Al incrementar la concentración de efluente de purín de cerdo, se incrementaban también la conductividad, la alcalinidad y el efecto inhibitorio sobre las bacterias anaeróbicas. No hubo variación de pH en forma evidente, se mantuvo entre 7,0 y 7,5 para las distintas concentraciones.
- Mientras mayor es la concentración de efluente de purín de cerdo, menor es la velocidad de producción de metano y la eficiencia de eliminación de materia orgánica.

◇ Se evaluó el efecto tóxico de clortetraciclina sobre la actividad metanogénica mediante ensayos en discontinuo, y se determinó que al utilizar la clortetraciclina como sustrato, con un rango de concentraciones de 1-24 mg/L, no provocó efecto inhibitorio evidente sobre las bacterias anaeróbicas. No hubo variación relevante al comparar el comportamiento entre las distintas concentraciones de clortetraciclina con respecto a pH, conductividad, alcalinidad y DQO.

◇ La CI 50% del efluente de purín de cerdo estuvo entre 9 y 13,8 g DQO/L para la segunda alimentación de cada ensayo. Sin embargo, no se detectó concentración inhibitoria en el caso de clortetraciclina, ya que no produjo efecto inhibitorio evidente sobre las bacterias metanogénicas.

◇ Según los resultados del último ensayo, se determinó que el antibiótico clortetraciclina no fue el principal factor de la inhibición, se recomienda utilizar un mayor rango de concentración del antibiótico (>24 mg/L), o bien, investigar efectos inhibitorios que podrían provocar otros compuestos específicos presentes en el purín de cerdo, como por ejemplo: los metales pesados, tales como Cu y Zn.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ◆ An, J., Kwon, J., Ahn, D., Shin, D., Shin, H. and Kim, B. 2007. Efficient nitrogen removal in a pilot system based on upflow multi-layer bioreactor for treatment of strong nitrogenous swine wastewater. *Process Biochemistry* 42: 764–772.
- ◆ American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Pollution Control Federation (WPCF). 1985. Standard methods for examination of water and wastewater 16th ed. Washington.
- ◆ Arslan-Alaton I. and Efe Caglayan A. 2006. Toxicity and biodegradability assessment of raw and ozonated procaine penicillin G formulation effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63:131–140.
- ◆ Babot, D., Rosa Teira M., Gallart R., Borrás M. y Boixadera J. 2008. Evaluación de factores condicionantes de la producción de purines de porcino en condiciones de campo. Libro de Actas, I Congreso Español de Gestión Integral de deyecciones Ganaderas, Editores: Magrí Aloy A., Prenafeta Boldú F. y Flotats Ripoll X.
- ◆ Campos, A. 2001. Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria. Tesis Doctoral. Universidad de Lleida. Pag: 63.
- ◆ Chen, Y., Cheng, J. and Creamer, K. 2007. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99: 4044-4064.
- ◆ Choi, E. 2007. Piggery waste management: towards a sustainable future. IWA Publishing, 174 pp.
- ◆ Constanzo S. D., Murby J. and Bates J., 2005. Ecosystem response to antibiotics entering the aquatic environment. *Marine Pollution Bulletin* 51: 218-223.
- ◆ Cronk, J. K., 1995. Constructed wetlands to treat wastewater from dairy and swine operations: A review. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 58: 97-114.
- ◆ Field, J., Sierra, A. and Lettinga, G. (1988). Ensayos anaeróbicos. Proc of 4th Symp. On Wastewater Anaerobic Treatment, Valladolid, Spain, 52-81.

- ◆ Kebede-Westhead, E., Pizarro, C., and Mulbry W. W., 2006. Treatment of swine manure effluent using freshwater algae: Production, nutrient recovery, and elemental composition of algal biomass at four effluent loading rates. *Journal of Applied Phycology*, 18: 41-46.
- ◆ Kim, S and Aga, D. S., 2007. Potencial ecological and human health impacts antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plants. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10: 559-573.
- ◆ Lema, J. M., Mendez, R. and Soto, M. 1992. Bases cinéticas y microbiologías en el diseño de digestores anaerobios. *Ingeniería Química*, Enero, 191-201.
- ◆ Llona, C. M. and Faz, C. A., 2006. Efectos en el sistema suelo-planta después de tres años de aplicación de purín de cerdo como fertilizante en un cultivo de Brocoli. Efectos en el sistema suelo-planta, 41-51. Universidad Católica de Temuco, Chile y Universidad Politécnica de Cartagena, España.
- ◆ Macauley, J. J., Qiang, Z., Adams, C. D., Surampalli, R. and Mormile, M. R., 2006. Disinfection of swine wastewater using chlorine, ultraviolet light and ozone. *Water Research*, 40: 2017–2026.
- ◆ Metcalf & Eddy.1995. Ingeniería de aguas residuales: tratamiento, vertido y reutilización, 3ª ed., Vol. I y II, McGraw-Hill, Madrid, 1485 pp.
- ◆ Montalvo, S. y Guerrero, L. 2003. Tratamiento anaerobio de residuos, producción de biogás. Universidad Técnica Federico Santa María, 413 pp.
- ◆ Moral, R., Perez-Murcia, M.D., Perez-Espinosa A., Moreno-Caselles, J., Paredes, C. and Rufete B., 2008. Salinity, organic content, micronutrients and heavy metals in pig slurries from South-eastern Spain. *Waste Management*, 367-371.
- ◆ Montes, N., Hijosa, M., Bécares, E., and Martín-Villacorta, J., 2008. Presencia de tetraciclinas en purines y estudio de su eliminación en procesos de fangos activados. I Simposio Iberoamericano de Ingeniería de Residuos. León, España.
- ◆ Mosquera, A. C. 1998. Eliminación biológica de carbono y nitrógeno de efluentes de la industria conservera de productos marinos. Tesis para optar al grado de Doctor,

Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Santiago de Compostela, España.

- ◆ Mtnez-Almela, J., Campos, E., Almirall, M., Flotats, X., Barrera, J. Digestión anaerobia de la fracción sólida de purines de cerdo, separada mediante el proceso SELCO-Ecopurín. *Anaporc científico* 1 (1), 2001. pp 41-51.
- ◆ Obaja, D., Mac_e, S., Costa, J., Sans, C., Mata-Alvarez, J. 2003. Nitrification, denitrification and biological phosphorus removal in piggery wastewater using a sequencing batch reactor. *Bioresource Technology*, 87: 103–111.
- ◆ Park, S. and Choi, K., 2008. Hazard assessment of commonly used agricultural antibiotics on aquatic ecosystems. *Ecotoxicology*, School of Public Health, Seoul National University, Seoul, Korea 110-799.
- ◆ Peralta, J. M. 2005. Recomendaciones técnicas para la gestión ambiental en el manejo de purines de la explotación porcina. Colección de Libros INIA (Instituto de Investigación Agropecuarias) N° 18, 206 pp.
- ◆ Pomar, C., Pomar, J. y Babot D. 2008. Mejora de la eficiencia y reducción del nitrógeno y del fósforo residual mediante aplicación de la alimentación de precisión en producción porcina. Libro de Actas, I Congreso Español de Gestión Integral de deyecciones Ganaderas, Editores: Magrí Aloy A., Prenafeta Boldú F. y Flotats Ripoll X.
- ◆ Ramalho, R. S. 1996. Tratamiento de aguas residuales. Editorial Reverté S. A., 705 pp.
- ◆ Rozzi, A. 1986. Parámetros de operación y control de los procesos anaerobios. 3^{er} Seminario: Depuración anaerobia de aguas residuales. Valladolid.
- ◆ Sabry, T. 2008. Application of the UASB inoculated with flocculent and granular sludge in treating sewage at different hydraulic shock loads. *Bioresource Technology* 99: 4073-4077.
- ◆ Sánchez, E., Boria, R., Travieso, L., Martín, A., Colmenarejo, M.F. 2005. Effect of organic loading rate on the stability, operational parameters and performance of a secondary upflow anaerobic sludge bed reactor treating piggery waste. *Bioresource Technology*, 96 (3): 335-344.

-
- ◆ Soto, M., Mendez, R. and Lema, J. M. 1992. Determinación de toxicidad y biodegradabilidad anaerobia de aguas residuales. *Tecnología del agua* N° 92, 70-81.
 - ◆ Soto, M., Mendez, R. and Lema, J. M. 1992. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. *Water Res.* 27, 1361-1376.
 - ◆ Torrallardona, D. 2008. Medidas alimentarias para reducir el impacto ambiental de las deyecciones. Libro de Actas, I Congreso Español de Gestión Integral de deyecciones Ganaderas, Editores: Magrí Aloy A., Prenafeta Boldú F. y Flotats Ripoll X.
 - ◆ Vidal G. and Diez M. C, 2005. Methanogenic toxicity and continuous anaerobic treatment of wood processing effluents. *Journal of Environmental Management* 74: 317–325.

Página web

- ◆ Asociación de Productores de Cerdo, Chile (ASPROCER). Último acceso: Abril de 2008, <http://www.asprocer.cl>